



HAL
open science

Processus évolutifs contribuant au succès envahissant de l'ajonc d'Europe, *Ulex europaeus*

Benjamin Hornoy

► **To cite this version:**

Benjamin Hornoy. Processus évolutifs contribuant au succès envahissant de l'ajonc d'Europe, *Ulex europaeus*. Sciences de l'environnement. Université Rennes 1, 2012. Français. NNT: . tel-00740154

HAL Id: tel-00740154

<https://theses.hal.science/tel-00740154>

Submitted on 9 Oct 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne
pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1
Mention : Biologie



présentée par

Benjamin Hornoy

préparée à l'UMR 6553 « ECOBIO » - CNRS/Université de Rennes 1

Ecole doctorale « Vie Agro Santé »

UFR « Sciences de la Vie et de l'Environnement »

**PROCESSUS EVOLUTIFS CONTRIBUANT AU SUCCES
ENVAHISSANT DE L'AJONC D'EUROPE, *ULEX EUROPAEUS***



Thèse soutenue à Rennes le **20 janvier 2012** devant le jury composé de :

M. Christoph KÜFFER, Assistant Professor, ETH Zurich, Suisse

Rapporteur

Mme Frédérique VIARD, Directrice de Recherche CNRS,

Station biologique de Roscoff

Rapporteuse

Mme Gabrielle THIEBAUT, Professeure, UMR ECOBIO, Rennes

Examinatrice

Mme Martine HOSSAERT-McKEY, Directrice de Recherche CNRS,

CEFE, Montpellier

Examinatrice

Mme Anne ATLAN, Chargée de Recherche CNRS, UMR ECOBIO, Rennes

Directrice

Mme Michèle TARAYRE, Maître de Conférence, UMR ECOBIO, Rennes

Co-directrice

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont en premier lieu à **Anne** et **Michèle** pour ces trois années passées sous leur direction. J'aurais appris énormément à vos côtés, aux niveaux scientifique, technique, relationnel et humain, pédagogique. Merci de m'avoir fait profiter de toute votre expérience pour m'apprendre le métier. Je vous remercie aussi pour l'avoir fait de manière pédagogue, patiente et sereine, d'avoir été très présentes et disponibles du début jusqu'à la fin. Cette dernière année a été très stimulante, « notamment » durant la phase d'écriture de ce mémoire, grâce à vous. Merci aussi de m'avoir permis de rencontrer des collègues de tous horizons, de la Bretagne à La Réunion en passant par l'Allemagne.

Je tiens à remercier sincèrement Gabrielle Thiébaud, Christoph Küffer, Frédérique Viard, et Martine Hossaert-McKey pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Merci à **Louis** pour son aide et sa gentillesse. Merci pour ces moments passés à mesurer des ajoncs, ouvrir des gousses, broyer des rameaux, collecter des apions, compter des graines, *etc*, souvent avec beaucoup d'humour et de musique, yeah ! J'ai aussi apprécié ta compagnie masculine, pour ne pas dire virile, au sein de notre petite sous-équipe.

Merci, *trugarez, merssi, thank you, danke schön*, aux chercheurs de tous horizons avec qui j'ai eu la chance de travailler sur les manuscrits de cette thèse : Luc Gigord, Valérie Roussel, Jean-Sébastien Pierre, Sébastien Dugravot, Yvonne Buckley, et Michael Wink. Leur collaboration m'a beaucoup apporté dans divers domaines techniques et scientifiques. Je tiens à remercier en particulier Jean-Séb pour son aide statistique, et Michael Wink pour m'avoir accueilli très chaleureusement à Heidelberg pour deux mois.

Je remercie également les étudiants avec qui j'ai eu la chance de travailler durant ces trois ans. Merci à eux pour la fraîcheur qu'ils ont apporté, leur humour et l'ambiance de travail fertile qu'ils ont contribué à créer. Merci à Maxime Hervé pour son aide précieuse dans la collecte et l'analyse des données de première année. Merci à Guillaume « *nigga* » Cossard pour m'avoir converti à Black Sabbath entre deux extractions d'ADN. Merci à Stéphane Pélletier, Elissa Agudo Del Pozo et Nicolas Chazot pour leur aide avec les sympathiques apions, et les moins sympathiques collectes de gousses et de fleurs, parfois sous la pluie, souvent épineuses.

Les travaux réalisés dans cette thèse n'auraient pas non plus été possibles sans l'aide technique ou d'échantillonnage de Fouad Nassur, Thierry Fontaine, Magui Basanta, Kristina Schierenbeck, Gavin Blosser, Stéphane Dréano, Armelle Racapé, Mireille Jourdan, et Frank Sporer. Merci en particulier à Astrid Backhaus pour son aide, sa patience, et sa capacité à se faire comprendre malgré son « *terrible English* ».

Un grand merci également à toutes les personnes avec qui j'ai pu interagir et discuter de mes résultats. Je remercie en particulier les membres de mon comité de thèse : Eric Petit, Myriam

Valéro, Anne Bonis, Sébastien Dugravot, Françoise Hennion, ainsi qu'Agnès Schermann. Leurs conseils au moment des bilans intermédiaires nous ont grandement aidé à faire les bons choix. Je remercie également Annie Guiller, Dominique Vallet, et les membres de l'équipe SCA, Joan van Baaren, Julie Jaquiéry, Jean-Francois Arnaud, Lily et Kader Ainouche, les habitués du couloir SCA/MOB, et les autres membres d'Ecobio et de Bio3P avec qui j'ai pu avoir des échanges fructueux.

Pour le néo-rennais que j'étais, ces trois années m'ont également permis de rencontrer des amis. Je remercie donc les autres doctorants, ATERs et autres post-doc, non seulement pour les discussions scientifiques qu'on a pu avoir (au Journal Club par exemple), mais surtout pour leur soutien, les soirées où l'on oublie la thèse, et les repas au RU parfois mémorables (ou pas). Par ordre d'apparition, je remercie plus particulièrement Philippe, que j'ai la chance de connaître depuis plus de deux ans et un séjour à l'ESEB de Turin sous le signe des *gnocchi alla bava*, et Stéphane-mâle pour ses vidéos que je ne regarde jamais, nos parties de bad accrochées, et l'excellente organisation des Apéro Clubs. Merci également à tous les autres, dans le désordre le plus total : Stéph-femelle, Ben, Damien, Véro S., Benoît, Jean-Claude, Carine, Laurent, Julie, Joffrey, Nico, Marie, Mathieu, Tanguy, Guillaume, Fred, Lise, Pierre, Céline, Gaëlle, *et al.* (puisque j'en oublie probablement). Merci également à Steve Harris et James Hetfield, et leur groupe respectif.

Merci à ma famille pour son soutien durant ces trois années de thèse en particulier, et pendant toutes ces années d'étude en général. Mille mercis à mes parents, mes frères et soeur pour leur confiance et leur intérêt. Je partage avec eux la fierté d'être arrivé au bout de toutes ces années d'étude et de travail.

Enfin merci à Véro pour ses deux années passées ensemble, et son soutien quotidien dans les derniers mois de ma thèse. Merci ma blonde, comme j'te parle, pour m'avoir fait profiter de tes quelques années d'expérience supplémentaires. Merci mauditeusement pour tous ces moments de détente en compagnie de zombies, de colons de Catane, tritons des plaines, et autres créatures de la Crypte, c'était ben le fun.

Merci à tous !

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
I - Les invasions biologiques.....	2
II - Processus évolutifs et invasions biologiques.....	9
III - L'ajonc d'Europe, un bon modèle pour l'étude des processus évolutifs liés aux invasions biologiques	20
IV - Objectif et plan de la thèse	23
PARTIE A - EVOLUTION DE L'AJONC DANS SA ZONE D'ORIGINE ET MODE D'INTRODUCTION	25
Chapitre 1 - Présentation du modèle biologique	27
Chapitre 2 - Plasticité phénotypique chez l'ajonc	39
Chapitre 3 - Synthèse des données historiques sur l'introduction de l'ajonc dans le monde	47
Chapitre 4 - Two colonisation stages generate two different patterns of genetic diversity within native and invasive ranges of gorse, <i>Ulex europaeus</i>	53
PARTIE B - EVOLUTION DE L'AJONC LORS DU PROCESSUS D'INVASION	73
Chapitre 5 - Synthèse sur les populations d'ajonc dans le monde.....	75
Chapitre 6A - Invasive plants and Enemy Release : evolution of trait means and trait correlations in <i>Ulex europaeus</i>	85
Chapitre 6B - Etude préliminaire de la plasticité phénotypique dans les populations natives et introduites d'ajonc.....	107
Chapitre 7 - The specific seed-eating weevil <i>Exapion ulicis</i> uses both external and internal cues for oviposition in pods of <i>Ulex europaeus</i>	113
Chapitre 8 - Alkaloid content of the invasive plant species <i>Ulex europaeus</i> in relation to geographic origin and herbivory	133
DISCUSSION GENERALE	151
I - L'ajonc : un modèle d'étude pour le polymorphisme de stratégies	151
II - Vers une meilleure connaissance de l'invasion biologique par l'ajonc	155
III - Apports en biologie des invasions et perspectives de recherche.....	167
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	173
ANNEXES.....	191
Annexe 1 - Plasticité phénotypique pour l'année 2009	193
Annexe 2 - Synthèse des données historiques sur l'introduction de l'ajonc dans le monde	195
Annexe 3 - Synthèse des mesures en populations naturelles d'ajonc	199
Annexe 4 - Etude préliminaire des conditions déclenchant le vol chez <i>Exapion ulicis</i>	203

INTRODUCTION GENERALE

Les invasions biologiques sont un acteur à part entière du changement global, de par leurs impacts sur la biodiversité, les écosystèmes, et les activités humaines (Mack *et al.*, 2000). Beaucoup de recherches ont été menées ces 30 dernières années sur l'écologie des invasions, dans le but de prévoir quels milieux sont susceptibles d'être envahis, et quelles espèces sont susceptibles d'être envahissantes (Noble, 1989 ; Alpert *et al.*, 2000 ; Kolar & Lodge, 2001; Richardson & Pysek, 2006 ; Gurevitch *et al.*, 2011). Alors qu'aucune généralisation ne semble réellement possible, les processus évolutifs sont de plus en plus étudiés dans le cadre des invasions biologiques, et paraissent jouer un rôle important dans de nombreux cas (Lee, 2002; Lee & Gelembiuk, 2008 ; Suarez & Tsutsui, 2008). L'implication des processus évolutifs dans les invasions biologiques peut se situer à trois échelles temporelles et spatiales : (i) avant l'invasion, dans la zone d'origine (ou native) de l'espèce, (ii) pendant le transport et l'introduction dans un nouveau milieu, (iii) après introduction, dans la région envahie.

Cette thèse concerne les liens entre les processus évolutifs agissant à ces trois échelles et le succès envahissant d'une espèce, en utilisant comme modèle l'ajonc d'Europe (*Ulex europaeus* ssp. *europaeus*). L'objectif global de la thèse étant d'étudier la contribution des processus évolutifs dans le succès envahissant de l'ajonc à travers le monde.

L'introduction générale se structure en quatre parties. Les deux premières ont pour but de poser les bases théoriques, et les observations empiriques, sur (i) le phénomène d'invasion biologique, (ii) les processus évolutifs lors des invasions biologiques. La troisième partie présente les caractéristiques principales du modèle biologique utilisé, et son intérêt dans le cadre d'une étude sur les invasions biologiques. La quatrième et dernière partie présente les objectifs et le plan de la thèse.

I - Les invasions biologiques

I.1 - Définition et importance

I.1.1 - Définition du phénomène d'invasion biologique

Il existe plusieurs définitions du phénomène d'invasion biologique, et beaucoup de synonymes pour désigner une espèce envahissante (Valéry *et al.*, 2008). Alpert *et al.* (2000) notent que toutes les définitions du mot « invasion » (médecine, droit, philosophie, *etc*) dans le *Oxford English Dictionary*, contiennent deux éléments communs : un mouvement vers un endroit, et un effet négatif sur ce qui s'y trouve (ce qui est également le cas en Français, par exemple dans le Larousse). C'est ce que Valéry *et al.* (2008) appellent le critère géographique et le critère d'impact. En ce qui concerne le **critère géographique**, certains auteurs ne considèrent une espèce comme envahissante que si elle a été transportée par l'Homme à travers des barrières géographiques (par exemple océan, montagnes) qu'elle ne pouvait pas traverser naturellement, alors que d'autres auteurs considèrent envahissantes également les espèces natives d'un milieu, mais qui vont proliférer dans cet environnement après un changement dans l'environnement par exemple (Richardson *et al.*, 2000 ; Catford *et al.*, 2009). Le **critère d'impact**, quant à lui, amène certains auteurs à ne classer une espèce comme envahissante que si elle a un impact majeur sur l'environnement dans lequel elle se trouve ; c'est notamment la position de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN ; McNeely *et al.*, 2001). Valéry *et al.* (2008) notent que le critère géographique n'est pas pertinent, puisque même une espèce native peut devenir envahissante, et que le critère d'impact n'est pas pertinent puisqu'il est subjectif, peu précis, et qu'il correspond aux conséquences de l'invasion plutôt qu'au processus lui-même. Ces auteurs proposent donc une **définition mécanistique** des invasions biologiques : « *une invasion biologique consiste en une espèce qui acquiert un avantage compétitif suite à la disparition d'obstacles naturels à sa prolifération, ce qui lui permet de s'étendre rapidement et de conquérir de nouvelles aires dans les écosystèmes receveurs, dans lesquelles elle devient une population dominante* ».

En Anglais, les mots « invasion/envahissant » se traduisent par « invasion/invasive », mais en Français, à la fois les mots « envahissant » et « invasif » sont utilisés, certains auteurs les utilisant même pour distinguer les invasions par des espèces introduites ou natives (Muller, 2005). Ici, nous utiliserons le terme « envahissant » en Français (et « invasive » en

Anglais). De plus, nous adopterons la classification proposée par Alpert *et al.* (2000) qui distingue les espèces selon qu'elles soient natives ou introduites, et selon qu'elles s'étendent géographiquement ou non. Ainsi une espèce introduite pourra être envahissante ou non-envahissante, et une espèce envahissante pourra être native ou introduite. Même si le processus de colonisation reste similaire dans l'invasion par une espèce native ou introduite (Catford *et al.*, 2009), un certain nombre de différences existent, car contrairement aux espèces natives, (i) les espèces introduites subissent des étapes supplémentaires de transport et d'introduction, et (ii) une espèce introduite dans un nouvel environnement va rencontrer des conditions biotiques très différentes de celles de sa zone d'origine, et en particulier elle n'aura pas ou peu d'ennemis naturels spécifiques dans son nouveau milieu. Dans cette thèse, nous nous intéressons surtout aux espèces exotiques envahissantes, c'est-à-dire les espèces envahissantes ayant été introduites, car ce sont ces espèces pour lesquelles les processus évolutifs sont potentiellement plus impliqués dans le succès envahissant (Facon *et al.*, 2006).

Enfin, on peut distinguer les « invasions naturelles », correspondant principalement à des changements climatiques ou géologiques et qui se sont déroulées avant que l'Homme n'ait un impact direct sur son environnement, et les « invasions anthropogéniques », liées à l'action de l'Homme, et donc plus récentes (di Castri, 1989; Pons *et al.*, 1990). Les **invasions naturelles** correspondent par exemple au remplacement de la toundra, des steppes et de la calotte glaciaire par des forêts, après la fin de la dernière ère glaciaire, il y a environ 13000 ans, ou à la colonisation de l'Amérique du Sud par des espèces nord-américaines après la formation de l'isthme de Panama. Les **invasions anthropogéniques** ont commencé quand l'Homme est devenu sédentaire, éleveur et cultivateur, c'est-à-dire au Néolithique (qui a débuté au Moyen-Orient il y a environ 10000 ans). Dans les derniers millénaires, les invasions biologiques ont eu lieu directement à partir d'espèces introduites par l'Homme (volontairement ou non), ou à cause de changements environnementaux dus à l'Homme (Pons *et al.*, 1990). Les introductions de plantes étant devenues envahissantes par la suite sont documentées pour les Polynésiens, les Egyptiens, ou les Pré-Colombiens, mais c'est avec les Grandes Explorations (débutant il y a environ 600 ans) puis la phase coloniale et la mondialisation que les introductions d'espèces se sont accélérées (di Castri, 1989; Heywood, 1989 ; Pascal *et al.*, 2006). Dans cette thèse, on s'intéresse plus particulièrement aux invasions anthropogéniques récentes (datant de quelques siècles), car elles sont plus documentées, et sont majoritairement dues à des espèces exotiques. Il faut cependant noter qu'un certain nombre de processus écologiques et évolutifs (au niveau de l'espèce envahissante et de l'environnement envahi) sont communs entre les invasions naturelles et anthropogéniques, et

entre les invasions par des espèces natives et introduites. Enfin, la théorie et les références présentes dans cette thèse font surtout partie du domaine des invasions biologiques par des espèces végétales.

I.1.2 - Importance et impacts des invasions biologiques

De nombreuses familles de plantes contiennent des espèces envahissantes, mais quelques unes contribuent plus largement aux invasions biologiques (principalement les Asteraceae, Poaceae, Fabaceae ; Heywood, 1989). Toutes les régions du monde (à part peut-être les latitudes extrêmes) sont touchées par les invasions biologiques, même si certains milieux semblent plus touchés (par exemple les îles) ou moins touchés (par exemple les déserts et savanes ; Lonsdale, 1999). L'analyse des flores révèle que la proportion d'espèces introduites dans une région peut atteindre 47% de la flore totale (en Nouvelle-Zélande), et est généralement de l'ordre de 10-20% (Heywood, 1989). Le nombre d'espèces de plantes envahissantes à travers le monde est estimé à plusieurs centaines, voire plusieurs milliers (Heywood, 1989 ; Richardson & Pysek, 2006).

Les invasions biologiques ont des impacts divers et parfois très importants sur les écosystèmes, la biodiversité, les activités humaines, et l'économie (Mack *et al.*, 2000). Au niveau populationnel, l'introduction de pathogènes, de prédateurs, d'herbivores, de compétiteurs, ainsi que d'espèces pouvant s'hybrider avec des espèces locales, peut engendrer le déclin de populations d'espèces natives (revue dans Mack *et al.*, 2000 ; Vila *et al.*, 2011). Au niveau écosystémique, les espèces envahissantes peuvent modifier le fonctionnement des écosystèmes à travers l'altération de la composition biotique ou de l'environnement abiotique des communautés, changer un paysage entier, voire avoir un impact sur le changement climatique (Mack *et al.*, 2000 ; Strayer *et al.*, 2006). Les effets des espèces envahissantes sur les populations et écosystèmes natifs peuvent aussi amener à l'altération des pressions de sélection dans les populations locales, voire conduire à des changements évolutifs rapides (voir Mooney & Cleland, 2001 ; Suarez & Tsutsui, 2008). Enfin, il faut noter que l'effet des espèces envahissantes peut évoluer dans le temps (Strayer *et al.*, 2006). Tout ceci fait que les invasions biologiques sont considérées comme la deuxième plus importante cause d'érosion de la biodiversité dans le monde, après la destruction directe des habitats (Walker & Steffen, 1997). Au niveau économique, la perturbation par les espèces envahissantes des activités agricoles et de foresterie, des activités touristiques, des services écosystémiques, et de la santé humaine, entraîne de fortes pertes financières, auxquelles s'ajoute le prix du contrôle et de la

lutte contre ces espèces (Mack *et al.*, 2000). A titre d'exemple, Pimentel *et al.* (2000) estiment à plus de 138 milliards de dollars par an le coût engendré directement et indirectement par les espèces envahissantes aux Etats-Unis. Enfin, il faut noter que les espèces envahissantes peuvent aussi avoir des conséquences positives, par exemple en termes de services écosystémiques ou de conservation d'espèces rares (par exemple Hill & Sandrey, 1986 ; Schlaepfer *et al.*, 2011). Outre l'économie, l'aspect sociologique des invasions est aussi crucial, car les actions de l'Homme vis-à-vis d'une espèce exotique (introduction volontaire, pratiques agricoles et de gestion), et la perception de cette espèce dans la société locale influencent directement ou indirectement le succès et les conséquences (positives et négatives) d'une invasion biologique (Barbault & Atramentowicz, 2010 ; Atlan & Darrot, 2011).

L'ampleur des conséquences des invasions biologiques à travers le monde a fortement stimulé la recherche ces dernières décennies. De plus, les invasions biologiques sont aussi de très bons modèles en écologie et en évolution, et leur étude a aussi produit des avancées fondamentales dans ces domaines (Callaway & Maron, 2006 ; Sax *et al.*, 2007). Ainsi, depuis les années 1950, le nombre de publications parues sur l'écologie des invasions a augmenté de façon exponentielle, avec environ 10000 publications ces 30 dernières années, dont environ 7000 depuis l'an 2000 (Gurevitch *et al.*, 2011). Ces recherches sont stimulées par trois questions fondamentales : quelles espèces sont envahissantes et pourquoi ? quels habitats et communautés sont susceptibles d'être envahis ? comment prévenir et gérer les invasions biologiques ?

I.2 - Comment expliquer le succès envahissant de certaines espèces ?

De nombreuses hypothèses et processus ont été mis en avant pour expliquer le succès des espèces végétales envahissantes (voir la revue de Catford *et al.*, 2009). Chez les plantes, de nombreux auteurs ont tenté de généraliser des **traits prédictifs** pouvant aider à déterminer quelles espèces sont susceptibles d'être envahissantes, en commençant avec la « *ideal weed* » (Baker & Stebbins, 1965). Depuis, des comparaisons interspécifiques ont dégagé quelques caractéristiques des plantes envahissantes, comme de bonnes capacités de reproduction et de dispersion, la possibilité de se reproduire de façon végétative, une large distribution géographique, une forte abondance dans la zone native, *etc* (Noble, 1989 ; Kolar & Lodge, 2001 ; Richardson & Pysek, 2006 ; Hayes & Barry, 2008 ; Firm *et al.*, 2011). Mais comme certaines plantes envahissantes ne possèdent pas tous ces traits, et que certaines plantes

possédant ces traits ne sont pas envahissantes, il est maintenant clair que trouver des traits pouvant prédire les espèces potentiellement envahissantes ne sera efficace qu'à une échelle taxonomique relativement restreinte (Richardson & Pysek, 2006 ; Hayes & Barry, 2008). Par exemple, à l'échelle du genre, Rejmanek & Richardson (1996) ont pu correctement distinguer les espèces envahissantes parmi 34 espèces de *Pinus*, à partir de leurs traits. Enfin, la capacité des populations introduites à répondre à la sélection (leur potentiel évolutif) semble un caractère assez communément associé aux espèces envahissantes (Lee, 2000 ; Lee & Gelembiuk, 2008), puisqu'on observe beaucoup de cas de changements évolutifs post-introduction (revues dans Müller-Scharer & Steinger, 2004, et Bossdorf *et al.*, 2005), et d'adaptation locale des espèces envahissantes à leur nouveau milieu (par exemple Keller *et al.*, 2009 ; Montague *et al.*, 2008 ; Monty & Mahy, 2009 ; Xu *et al.*, 2010).

Les auteurs ont également tenté d'identifier des **caractéristiques écologiques des milieux et des communautés** qui les rendraient plus susceptibles aux invasions biologiques. Certaines caractéristiques abiotiques semblent faciliter les invasions, comme la perturbation, la disponibilité en ressources, et un faible niveau de stress environnemental (Rejmanek, 1989 ; Alpert *et al.*, 2000 ; Lake & Leishman, 2004). L'environnement biotique est aussi un élément essentiel du niveau de résistance d'un système aux invasions (Mitchell *et al.*, 2006). La présence d'herbivores de l'espèce introduite, une forte richesse spécifique, et l'absence de mutualistes tendent à rendre une communauté plutôt résistante aux invasions (Loope & Mueller-Dombois, 1989 ; Levine *et al.*, 2004 ; Richardson *et al.*, 2000 ; Richardson & Pysek, 2006). Un des facteurs les plus étudiés est l'**Enemy Release**, qui correspond au fait que les espèces introduites sont la plupart du temps introduites sans leurs ennemis spécifiques (Mitchell & Power, 2003 ; Torchin *et al.*, 2003). Les populations de plantes introduites bénéficient donc d'une réduction des dégâts causés par leurs ennemis naturels (herbivores, pathogènes) par rapport aux populations de la zone native (Liu & Stiling, 2006), résultant en une meilleure performance individuelle et en un contrôle démographique moindre des populations introduites, en particulier relativement aux espèces de plantes locales qui sont encore associées à leurs ennemis naturels (*Enemy Release Hypothesis* ; voir Keane & Crawley, 2002).

Même si certains traits des espèces introduites et des milieux récepteurs ont été identifiés, il semble qu'aucune généralisation ne soit réellement possible (Richardson & Pysek, 2006). Il apparaît que le succès d'une invasion biologique dépende plus de la correspondance entre des facteurs écologiques et évolutifs liés à une espèce introduite donnée (*invasiveness*) et à son environnement récepteur (*invasibility* ; Alpert *et al.*, 2000 ; Facon *et*

al., 2006), processus dans lequel le hasard a aussi un grand rôle (Crawley, 1989 ; Barrett *et al.*, 2008 ; Keller & Taylor, 2008). Le nombre de propagules introduites semble aussi être un facteur déterminant dans le succès envahissant (von Holle & Simberloff, 2005). Etant donné qu'aucun facteur unique ne pourra expliquer le succès de toutes les espèces envahissantes, Gurevitch *et al.* (2011) ont proposé un nouveau cadre conceptuel de travail qui (i) propose d'utiliser des termes et concepts basiques d'écologie et d'évolution, plutôt que des termes propres à la biologie des invasions, (ii) connecte tous les éléments écologiques et évolutifs liés à l'espèce introduite et au milieu récepteur jouant un rôle dans les invasions biologiques (l'Homme compris), (iii) est centré autour de la démographie de l'espèce introduite, puisque sa démographie est l'élément central dans son établissement et son expansion.

I.3 - Le processus d'invasion biologique

Le processus d'invasion est défini par une succession d'étapes que doit passer une espèce pour devenir envahissante. A chacune de ces étapes correspondent des processus écologiques et évolutifs parfois différents, et des mesures de gestion différentes (Sakai *et al.*, 2001; Figure 1). Globalement, une espèce exotique devra être transportée (de façon volontaire ou accidentelle) vers une nouvelle région et survivre au transport, puis s'établir, *i.e.* former des populations auto-entretenues. Ensuite, l'espèce introduite établie (ou naturalisée) sera considérée envahissante si elle s'étend géographiquement et devient une population dominante. A chacune de ces étapes, des processus et/ou barrières démographiques, écologiques, génétiques, géographiques peuvent intervenir, rendant la probabilité de transition à chaque étape relativement faible, si bien que les invasions biologiques sont un processus finalement peu probable (Mack *et al.*, 2000 ; Lambrinos, 2004 ; Richardson & Pysek, 2006 ; Figure 1). La règle des 10% (*tens rule*) illustre bien ce fait : il a été observé que globalement, sur toutes les espèces transportées, environ 10% (entre 5 et 20%) vont être introduites avec succès, parmi lesquelles environ 10% vont s'établir, parmi lesquelles finalement environ 10% vont devenir envahissantes (Williamson & Fitter, 1996). Cependant, un nombre important d'espèces introduites augmente les chances d'observer une invasion à fort impact négatif. De plus, une ou quelques espèces envahissantes suffisent à engendrer des effets très importants dans le milieu envahi.

Avant la phase d'expansion géographique, les espèces introduites présentent souvent une phase de latence (*lag phase*) pouvant atteindre plusieurs dizaines d'années, durant laquelle il est difficile de distinguer les futures populations envahissantes des populations qui

ne le deviendront pas ou qui vont s'éteindre (Mack *et al.*, 2000). De nombreuses hypothèses ont été avancées pour expliquer cette phase de latence, dont la croissance démographique des populations (d'abord lente puis exponentielle), le besoin d'acquérir des mutations ou d'accumuler de la variance génétique dans les populations introduites, le temps de purge des allèles délétères, l'adaptation locale, ou une perturbation dans l'environnement récepteur (Mack *et al.*, 2000 ; Lee, 2002 ; Facon *et al.*, 2006).

Durant toutes les étapes et transitions du processus d'invasion, des processus évolutifs neutres et sélectifs agissent et altèrent les traits, leur diversité génétique et sa structuration, dans les populations.

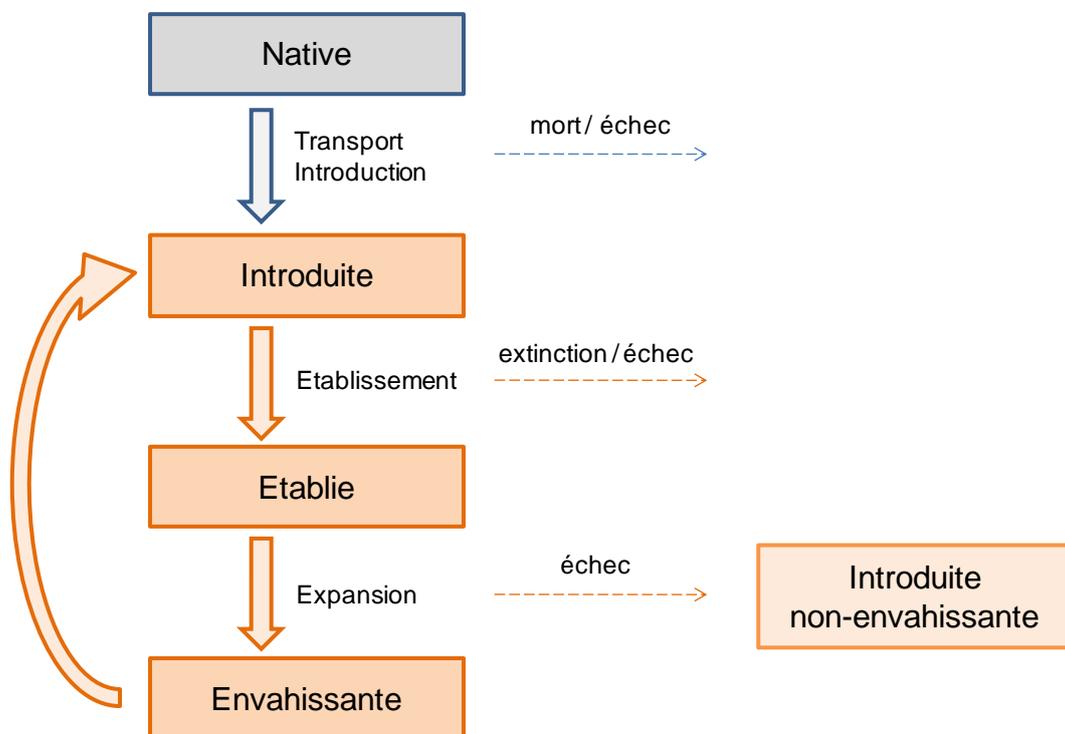


Figure 1 - Etapes générales du processus d'invasion biologique par une espèce exotique. Le processus amenant à l'invasion est caractérisé par une série d'états (rectangles) de l'espèce, qu'elle atteint par une série de transitions (flèches pleines) à chacune desquelles l'échec conduit à l'extinction de l'espèce dans la zone d'introduction, ou à un caractère non-envahissant. Quand l'espèce est devenue envahissante et qu'elle s'étend géographiquement, les propagules produites par la population établie doivent subir globalement les mêmes transitions/états, de la survie durant le transport ou la migration (flèche courbe), jusqu'à la production de nouvelles propagules. En orange : zone d'introduction. Adapté de Kolar & Lodge (2001).

II - Processus évolutifs et invasions biologiques

Initialement, les invasions biologiques ont été étudiées d'un point de vue écologique, et les changements évolutifs liés à l'introduction et/ou à l'invasion d'une espèce n'ont été pris en compte qu'à partir de la fin des années 1990 (Blossey & Nötzold, 1995 ; Thompson, 1998). La génétique évolutive des espèces envahissantes a été fortement étudiée, car (i) le processus d'introduction peut avoir des conséquences évolutives importantes (goulot d'étranglement, dépression de consanguinité, dérive génétique), (ii) les espèces introduites sont confrontées à un environnement nouveau entraînant des pressions de sélection nouvelles, (iii) l'expansion d'une espèce envahissante dans une gamme d'environnements nécessite une adaptation par plasticité ou par évolution, (iv) les espèces envahissantes offrent beaucoup de cas d'évolution rapide (Thompson, 1998 ; Reznick & Ghalambor, 2001 ; Lee, 2002). En outre, les changements évolutifs chez les espèces envahissantes ont des implications pour le succès de la lutte chimique, biologique, *etc* (Lee, 2002 ; Müller-Scharer *et al.*, 2004).

Les facteurs évolutifs impliqués dans le succès d'une espèce envahissante agissent à plusieurs niveaux (Figure 2) : (i) dans la zone native, dans laquelle l'évolution détermine les propriétés intrinsèques des populations qui vont conditionner leurs réponses dans le nouvel environnement, comme la plasticité et le potentiel évolutif, (ii) lors de l'introduction, où le nombre et l'origine des propagules vont affecter la démographie de la population introduite et la variabilité génétique des populations, (iii) au moment de l'établissement, où une réponse évolutive rapide peut être indispensable à la survie de la population introduite dans le nouvel environnement, (iv) lors de l'expansion, où d'autres traits, principalement en rapport avec le mode de reproduction, la dispersion et l'adaptation aux conditions locales, seront sélectionnés (Müller-Scharer & Steinger, 2004 ; Dlugosch & Parker, 2008a ; Lee, 2010). Le succès d'établissement et d'expansion d'une espèce envahissante peut donc dépendre de facteurs évolutifs, comme la dérive génétique et les effets liés aux populations de petite taille, les flux de gènes et l'hybridation, et la sélection naturelle et l'adaptation (Allendorf & Lundquist, 2003). Garcia-Ramos & Rodriguez (2002) ont de plus développé un modèle qui montre que la vitesse d'expansion d'une espèce introduite dépend de son taux d'adaptation.

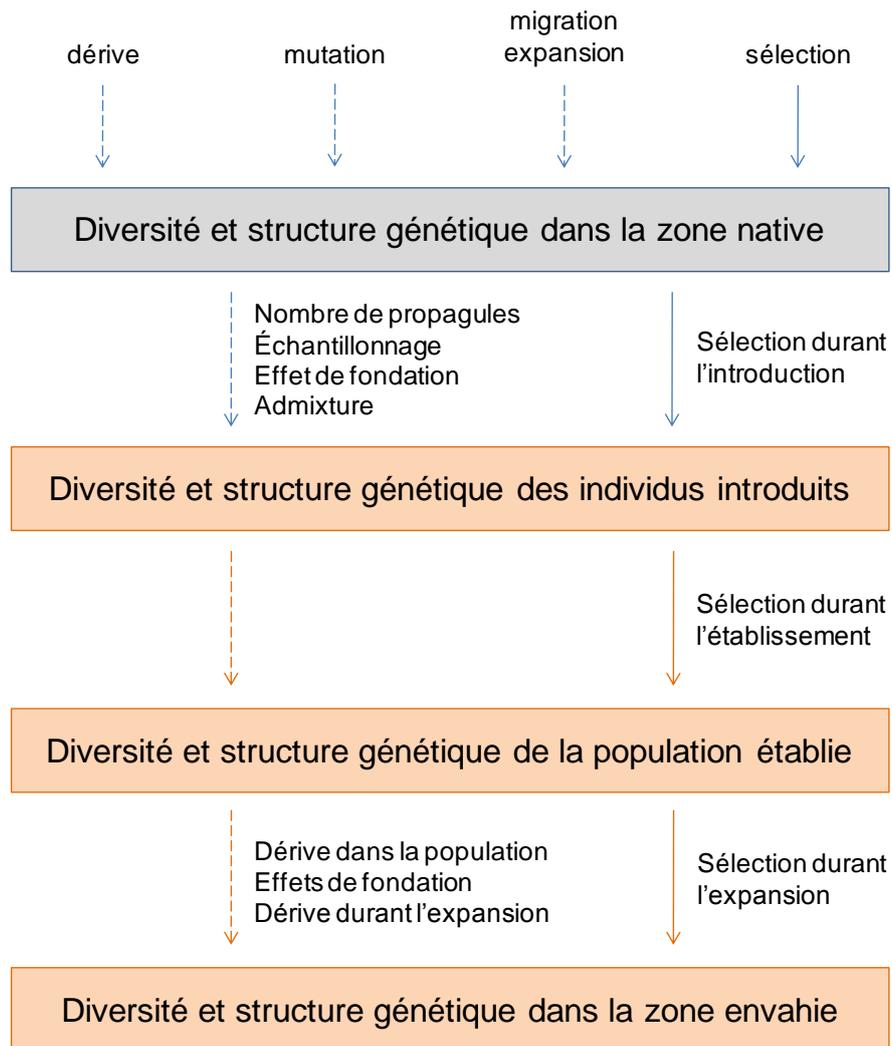


Figure 2 - Schéma illustrant la contribution des processus évolutifs dans le niveau de diversité génétique, et sa structuration, dans les populations introduites. Flèches en tirets : processus stochastiques ; flèches continues : processus sélectifs. Les éléments en orange représentent les processus et la situation dans la zone d'introduction. Ce schéma illustre bien la nécessité de considérer les processus neutres dans l'étude des changements évolutifs, car outre la sélection, les processus stochastiques interviennent durant toutes les transitions du processus d'invasion. Adapté de Keller & Taylor (2008).

II.1 - Histoire évolutive dans la zone d'origine

Etudier l'histoire évolutive des espèces dans leur zone d'origine est essentiel, car celle-ci détermine quels habitats pourraient être envahis sans nécessité de devoir subir une évolution de niche écologique. En outre, on s'attend à ce que les espèces envahissantes soient des espèces qui ont évolué, dans leur zone native, des traits qui les prédisposent à avoir une dispersion très efficace, à être transportées par l'Homme, et à survivre aux pressions de

sélection rencontrées durant le transport, l'introduction, l'établissement, et/ou l'expansion (Suarez & Tsutsui, 2008). Enfin, le niveau de plasticité, de tolérance et de variabilité génétique dans les populations natives, et donc indirectement aussi la réponse des populations introduites à leur nouvel environnement, vont dépendre des processus évolutifs dans la zone d'origine comme la réponse à la sélection, les colonisations, ou les flux de gènes (Lee, 2002 ; Lee & Gelembiuk, 2008 ; Lee, 2010). L'histoire évolutive dans la zone native a donc une grande influence sur la capacité des populations d'une espèce à envahir un nouvel habitat (di Castri, 1989 ; Lee & Gelembiuk, 2008).

II.1.1 - Traits facilitant l'invasion

Certains traits ayant évolué au cours de l'histoire évolutive des espèces et des populations peuvent conférer une plus grande probabilité d'introduction, d'établissement et/ou d'expansion dans un nouvel environnement. Les espèces ayant évolué de bonnes capacités de dispersion dans leur zone native ont une probabilité plus grande d'être introduites, et/ou de s'étendre géographiquement (Levin, 2006 ; Suarez & Tsutsui, 2008). Une association avec l'Homme augmente les chances de transport et d'introduction d'une espèce donnée, de façon volontaire ou involontaire, *via* une grande variété de vecteurs (Crooks & Suarez, 2006). Une meilleure probabilité de dispersion et/ou de transport augmente la pression de propagules dans le nouvel environnement, permettant aux populations introduites de croître plus rapidement, de limiter les effets négatifs des populations de petite taille (consanguinité, difficulté à trouver un partenaire, *etc*), et de conserver un haut niveau de diversité génétique (Dlugosch & Parker, 2008a).

D'autres traits des espèces, comme une bonne capacité de reproduction, semblent également associés à la probabilité d'invasion (Noble, 1989 ; Barrett *et al.*, 2008 ; Hayes & Barry, 2008). La plasticité phénotypique peut aussi être intéressante pour survivre dans un environnement nouveau, et peut donc faciliter l'établissement d'une population et l'expansion des populations dans des habitats différents. Dans une méta-analyse incluant 75 comparaisons de paires de plantes envahissantes *vs* non-envahissantes, Davidson *et al.* (2011) ont trouvé que globalement, les espèces envahissantes ont une plus grande plasticité phénotypique que les espèces non-envahissantes. Enfin, le potentiel évolutif est un trait aussi capable d'évoluer, et qui peut permettre aux populations introduites de répondre rapidement à la sélection au moment de l'établissement, et permettre l'adaptation locale à une gamme d'habitats (Lee, 2002 ; Lavergne & Molofsky, 2007 ; Keller *et al.*, 2009 ; Lee & Gelembiuk, 2008).

II.1.2 - Rôle de l'hybridation inter-spécifique et de la polyploïdisation

La polyploïdisation est l'acquisition de plus de deux jeux de chromosomes par doublement du génome au niveau intraspécifique (autopolyploïdisation), ou par hybridation interspécifique suivie d'une duplication du génome (allopolyploïdisation). L'hybridité n'engendre pas forcément d'allopolyploïdisation, mais cette dernière permet de la stabiliser (*i.e.* éviter la stérilité de l'hybride), tout comme la reproduction clonale ou l'apomixie. Même si la polyploïdisation peut occasionner des problèmes, comme un choc génomique ou la stérilité (Comai, 2005), elle est considérée comme un événement ayant des avantages écologiques et évolutifs (Comai, 2005 ; te Beest *et al.*, 2011).

L'hybridation et la polyploïdisation semblent jouer un rôle dans le succès de nombreuses espèces envahissantes (revues dans Ellstrand & Schierenbeck, 2000 ; te Beest *et al.*, 2011). En particulier, la méta-analyse de Pandit *et al.* (2011) montre que les espèces menacées sont plus souvent diploïdes, et que les espèces envahissantes sont plus souvent polyploïdes et possèdent plus de chromosomes. De même, te Beest *et al.* (2011) montrent que les polyploïdes sont majoritaires dans les 128 espèces de plantes envahissantes les plus répandues. Chez beaucoup d'espèces envahissantes présentant un polymorphisme de ploïdie dans la zone d'origine, seuls des individus polyploïdes sont retrouvés dans les populations envahissantes, suggérant une préadaptation des polyploïdes à l'invasion (par exemple *Senecio inaequidens*, Lafuma *et al.*, 2003 ; *Centaurea maculosa*, Treier *et al.*, 2009). D'autre part, certaines espèces subissent une polyploïdisation dans leur nouvel environnement, après introduction. C'est le cas de *Spartina anglica*, une espèce envahissante résultant de l'hybridation entre deux espèces aux génomes différenciés (la native *S. maritima* et l'introduite *S. alterniflora*), puis d'une duplication du génome, conférant à cette espèce de nouvelles potentialités écologiques, et un fort succès envahissant (Ainouche *et al.*, 2004).

Toutes ces observations suggèrent fortement que la polyploïdie engendre des caractéristiques intervenant dans le succès envahissant des espèces. Les effets immédiats d'une augmentation de la taille du génome, et donc de la taille des cellules, sont des changements morphologiques (augmentation de la taille des tiges, feuilles et fleurs) et physiologiques (par exemple dans la production de métabolites secondaires ; revue dans te Beest *et al.*, 2011). La polyploïdisation peut aussi avoir des conséquences directes sur la tolérance écologique, les capacités colonisatrices, le niveau de plasticité phénotypique, le potentiel compétiteur, et les interactions biotiques, mais la revue de littérature de te Beest *et*

al. (2011) montrent que l'intensité et le sens des changements varient selon l'espèce considérée.

L'hybridation et la polyploïdisation produisent également des changements génétiques pouvant altérer l'expression des traits, créer des nouveautés évolutives et augmenter le potentiel évolutif (Ellstrand & Schierenbeck, 2000 ; te Beest *et al.*, 2011). Les avantages génétiques conférés par l'hybridation et la polyploïdisation font l'objet de revues récentes par Ellstrand & Schierenbeck (2000, 2009), Comai (2005), et te Beest *et al.* (2011). En effet, une hybridation entre génomes différenciés (voire ensuite une allopolyploïdisation) permet de masquer les allèles délétères, et de diminuer la dépression de consanguinité. Ensuite, l'altération de l'expression des gènes peut entraîner une augmentation de la variance phénotypique. De plus, la redondance des gènes dans un génome polyploïde peut permettre une divergence adaptative des copies de gènes. Les espèces polyploïdes possèdent également plus d'allèles à chaque locus, et donc une plus grande variabilité génétique. En outre, les hybrides stabilisés (par allopolyploïdisation éventuellement) peuvent présenter une hétérozygotie et une hétérosis (viguer hybride) fixée. L'hybridation peut également entraîner de forts changements épigénétiques (par exemple Salmon *et al.*, 2005), affectant potentiellement l'expression des gènes.

Une analyse récente de Whitney *et al.* (2009) révèle pourtant que les familles de plantes plus enclines à former des hybrides ne fournissent pas plus d'espèces envahissantes. Le succès envahissant serait donc peut-être plus lié à la polyploïdisation qu'à l'hybridation. Cependant, un événement d'hybridation inter-spécifique et/ou de polyploïdisation n'est pas toujours suffisant ni nécessaire pour expliquer le succès envahissant des espèces de plantes (Ellstrand & Schierenbeck, 2009 ; te Beest *et al.*, 2011).

II.1.3 - Rôle de l'écologie dans les régions d'origine

Une espèce introduite aura souvent un succès d'établissement et d'expansion important dans des habitats similaires à ceux dans lesquels elle a évolué (*i.e.* les génotypes introduits seront « pré-adaptés » au nouvel environnement), comme le suggèrent les bonnes correspondances entre les prédictions de distribution basées sur la modélisation de niche écologique et la distribution effectivement observée de certaines espèces envahissantes (Peterson, 2003). De plus, une histoire d'association avec l'Homme confère à certaines espèces une plus grande probabilité de devenir envahissante, car elles sont pré-adaptées aux environnements altérés par l'Homme (Suarez & Tsutsui, 2008). De même, une histoire évolutive dans un milieu avec

beaucoup de compétiteurs pourra sélectionner des espèces avec un fort potentiel compétiteur, facilitant l'invasion après introduction dans un nouvel environnement (Callaway & Aschehoug, 2000).

D'autre part, il semble que les espèces ou populations envahissantes tendent à provenir d'habitats perturbés (Lee & Gelembiuk, 2008). Le type de traits sélectionnés dans un habitat perturbé dépend en théorie de la fréquence des perturbations. En effet, des perturbations à l'échelle d'une génération ou moins vont plutôt sélectionner des traits liés à une stratégie généraliste, *i.e.* pour pouvoir (i) tolérer ou s'accomoder à la perturbation (grande tolérance, plasticité phénotypique), (ii) disperser dans le temps ou l'espace (par exemple, bonnes capacités de dispersion, banque de graines), ou (iii) avoir une forte croissance de population (par exemple, précocité reproductive, croissance rapide ; revue dans Lee & Gelembiuk, 2008). Au contraire, des perturbations sur un nombre de générations plus élevé (dans une certaine limite), sélectionneront pour un meilleur potentiel évolutif (une plus grande variabilité génétique), et leurs fluctuations spatio-temporelles pourront permettre le maintien de cette variabilité génétique. Ce potentiel évolutif accru peut être issu d'une évolution des taux de mutation et de recombinaison (revue dans Lee & Gelembiuk, 2008). Enfin, di Castri (1989) note un relais entre les perturbations naturelles et les perturbations anthropiques commençant au Néolithique et liées à l'agriculture, l'usage du feu et l'élevage. Ce relais aurait renforcé certaines tendances de la sélection naturelle à favoriser des espèces adaptées aux perturbations naturelles, puis anthropiques, et aurait créé une correspondance forte entre des actions humaines spécifiques et des espèces envahissantes (di Castri, 1989). Dans tous les cas, les perturbations sélectionnent des individus avec un fort potentiel envahissant, puisque très tolérants, plastiques, dispersants, ayant une croissance populationnelle importante, ou ayant un fort potentiel évolutif. De plus, des habitats perturbés et stressants peuvent augmenter le taux de gamètes non-réduits, et donc la formation de polyploïdes (Ramsey & Schemske, 1998).

II.2 - Effet du mode d'introduction sur l'évolution post-introduction

Pour les espèces envahissantes introduites, le mode d'introduction est un facteur essentiel dans le succès envahissant, puisqu'il impacte la démographie et la capacité à répondre à la sélection. Les populations introduites peuvent évoluer par dérive génétique dans les populations fondatrices, par hybridation intra-spécifique entre des génotypes différenciés, et en réponse aux nouvelles pressions de sélection (Ellstrand & Schierenbeck, 2000 ; Tsutsui *et*

al., 2000 ; Müller-Scharer & Steinger, 2004). Ces processus évolutifs sont dépendants du mode d'introduction, puisque (i) le nombre de propagules introduits va conditionner l'importance de l'effet de fondation, la possibilité de trouver des partenaires, le niveau de consanguinité, la démographie de la population introduite, et donc aussi la dérive génétique, (ii) l'introduction et la mise en contact de génotypes provenant de populations différenciées de la zone native peuvent créer de nouvelles combinaisons de traits, (iii) le nombre de propagules, le nombre d'introductions et leur origine, conditionnent la quantité de diversité génétique introduite permettant de répondre à la sélection (Figure 2).

La réponse évolutive d'une population dépend de la quantité de variance génétique additive dans la population, ainsi que de la force de la sélection (Stockwell *et al.*, 2003). Un goulot d'étranglement démographique diminuera la vitesse d'évolution adaptative dans une population introduite (Prentis *et al.*, 2008), même si parfois une évolution post-introduction est observée après un goulot d'étranglement démographique (par exemple chez *Hypericum canariense*, Dlugosch & Parker, 2008b). La perte de diversité suite à un goulot d'étranglement dépend aussi du mode de reproduction de l'espèce (Barrett *et al.*, 2008). Même si au niveau démographique, les espèces à reproduction asexuée ou autogame ont une assurance reproductive comparé aux espèces allogames, suite à un goulot d'étranglement leur diversité génétique restera faible (Brown & Marshall, 1981). Au contraire, chez les espèces allogames, la recombinaison participera au maintien de la diversité génétique. Un des facteurs essentiels dans la quantité de diversité génétique introduite est la taille de la population introduite. En effet, une population introduite de grande taille contiendra probablement une plus grande diversité génétique qu'une petite population, et elle permettra une croissance populationnelle plus rapide, limitant la perte de diversité génétique par effet de fondation et par dérive génétique (Nei *et al.*, 1975).

Contrairement aux attendus passés (Barrett & Husband, 1990 ; Allendorf & Lundquist, 2003), de forts goulots d'étranglement lors de l'introduction sont aujourd'hui considérés comme l'exception plutôt que la règle. En effet, la comparaison de la diversité génétique neutre chez les plantes montre que globalement, la diversité génétique dans les populations introduites est similaire à celle des populations natives (Bossdorf *et al.*, 2005 ; Dlugosch & Parker, 2008a). Ce résultat s'explique dans beaucoup de cas par des introductions multiples, qui participent à la préservation de la diversité génétique dans les populations introduites (Dlugosch & Parker, 2008a). L'effet des introductions multiples réside principalement dans l'augmentation de la taille efficace des populations introduites, ce qui limite la perte de diversité par effet de fondation et par dérive génétique. De multiples introductions à partir de

populations sources différentes peuvent aussi créer de nouvelles combinaisons de traits (Ellstrand & Schierenbeck, 2000 ; Lavergne & Molofsky, 2007).

Müller-Scharer & Steinger (2004) rappellent que la corrélation entre la diversité génétique neutre et la diversité génétique quantitative peut être faible, notamment puisque la diversité quantitative dépend de l'environnement et qu'elle suit une hérédité polygénique complexe, alors que la diversité neutre est indépendante de l'environnement et que sa transmission est mendélienne. De plus, alors que la diversité génétique neutre est généralement réduite lors d'un goulot d'étranglement, la variance génétique additive est moins sensible à la perte d'allèles rares, et peut même augmenter par conversion de variance épistatique et de dominance en variance génétique additive (Dlugosch & Parker, 2008a). Même si peu de comparaisons explicites existent, il semble cependant que chez les plantes la variabilité génétique pour les traits quantitatifs soit généralement similaire entre les populations introduites et les populations natives (Bossdorf *et al.*, 2005 ; Dlugosch & Parker, 2008a).

II.3 - Evolution durant le processus d'invasion

II.3.1 - Rôle de l'architecture génétique

Le potentiel évolutif joue un rôle prépondérant dans la divergence des populations entre zones native et introduite, et dans la zone introduite. La présence de variance génétique additive dans la direction de la sélection est nécessaire pour qu'une population réponde efficacement à la sélection dans le nouvel environnement (Blows & Hoffmann, 2005). Le potentiel évolutif dépend donc de la variance génétique pour les traits, mais aussi de leur covariance génétique (Walsh & Blows, 2009), qui peut contraindre la divergence des populations introduites (par exemple chez *Lythrum salicaria*, Colautti & Barrett, 2010), et limiter le potentiel adaptatif aux marges de la nouvelle aire de répartition (par exemple *Lythrum salicaria*, Colautti *et al.*, 2010 ; *Phalaris arundinacea*, Calsbeek *et al.*, 2011). Outre l'existence de contraintes génétiques éventuelles, l'architecture génétique détermine aussi le potentiel évolutif de par le nombre de gènes impliqués ou la taille de la cible mutationnelle d'un trait (Lee, 2002 ; Lee & Gelembiuk, 2008). Enfin, dans la zone d'origine ou dans la zone d'introduction, l'hybridation (intra- ou inter-spécifique), et la polyploïdisation peuvent engendrer d'importants changements évolutifs, en créant des altérations au niveau du génome (Ellstrand & Schierenbeck, 2000 ; Prentis *et al.*, 2008). Il apparaît aujourd'hui que l'étude des changements

épigénétiques est également nécessaire pour une meilleure compréhension des changements évolutifs chez les espèces envahissantes (Lee, 2010 ; Ainouche *et al.*, 2009b).

II.3.2 - Changements évolutifs attendus durant le processus d'invasion

Les traits liés à une dispersion rapide semblent être de bons prédicteurs de la première phase de l'invasion - l'introduction. Ainsi, on s'attend à une sélection, au moment de l'introduction, favorisant les géotypes avec un temps de génération court, une période de fructification longue, une faible taille de graines, la viabilité des graines, et le transport par les animaux ou le vent. En effet, tous ces traits augmentent la probabilité de transport et d'introduction (Alpert *et al.*, 2000 ; Müller-Scharer & Steinger, 2004).

Après l'introduction, les forces évolutives agissant sur les populations vont influencer la vitesse et l'étendue de leur expansion, ainsi que leur persistance à long terme (Lee, 2010). Ces pressions peuvent différer entre les toutes premières étapes de l'invasion et la phase d'expansion (Alpert *et al.*, 2000 ; Müller-Scharer & Steinger, 2004).

Quand une population est introduite dans un nouveau milieu, elle est confrontée à un nouvel environnement abiotique et biotique, et sa survie peut nécessiter une adaptation rapide, par plasticité et/ou par adaptation génétique. Une évolution phénotypique est alors attendue dans les régions introduites, et dépend des conditions locales (Lee, 2010). De plus, dans les premières phases de l'invasion, on s'attend à ce que les traits conférant une meilleure croissance individuelle et populationnelle soient sélectionnés, comme l'autogamie, la reproduction asexuée, et l'allocation de ressources vers la croissance et la reproduction (Blossey & Nötzold, 1995 ; Barrett *et al.*, 2008 ; Lee, 2010).

Enfin, durant la phase d'expansion géographique dans le nouvel environnement, on s'attend également à une sélection des traits liés à la dispersion, mais surtout à l'adaptation locale aux habitats rencontrés, car la phase d'expansion est habitat-spécifique (Alpert *et al.*, 2000 ; Müller-Scharer & Steinger, 2004). On s'attend donc à observer des réponses aux communautés biotiques locales (compétiteurs, ennemis, mutualistes), ainsi qu'aux conditions abiotiques, par exemple en termes de phénologie de floraison, de croissance, *etc* (Müller-Scharer & Steinger, 2004). La vitesse d'adaptation locale, sa persistance et son expansion dans le paysage envahi dépendent des interactions entre la dispersion, les effets de fondation, les traits d'histoire de vie de l'espèce envahissante et de son système de reproduction (Lambrinos, 2004).

II.3.3 - L'hypothèse EICA

En se basant sur la théorie de la défense optimale, et sur le fait que les espèces envahissantes sont souvent introduites sans leurs ennemis naturels, Blossey & Nötzold (1995) ont développé l'**hypothèse EICA** (*Evolution of Increase Competitive Ability*, évolution d'un potentiel compétiteur accru). Cette hypothèse propose que puisqu'une plante a une quantité de ressources limitées, qu'elle doit investir dans la défense contre ses ennemis, la croissance et la reproduction, une espèce introduite dans un environnement dépourvu de ses ennemis devrait évoluer vers une allocation de ressources moindre pour les défenses, et une allocation de ressources d'autant plus forte pour les autres composantes de la *fitness*. La meilleure croissance et/ou reproduction qui en résulterait fournirait à l'espèce introduite un meilleur potentiel compétiteur, contribuant à expliquer son succès envahissant.

II.3.4 - Changements évolutifs observés

Des changements évolutifs ont été observés dans les populations introduites de beaucoup d'espèces végétales envahissantes. Ces changements concernent une grande diversité de traits, dont les plus étudiés sont ceux liés à la **croissance**, la **reproduction**, la **phénologie**, et les **défenses** contre les ennemis naturels (Müller-Scharer & Steinger, 2004 ; Bossdorf *et al.*, 2005 ; Orians & Ward, 2010). De très nombreuses études ont notamment testé les attendus de l'**hypothèse EICA** dans un environnement homogène (serre ou jardin expérimental) pour pouvoir détecter des différences d'origine génétique entre les populations des régions envahies et les populations des régions d'origine. Dans ce cadre, on s'attend à ce que les individus des populations introduites aient une meilleure croissance et/ou une meilleure production de graines, et qu'ils soient plus sensibles aux ennemis naturels, que les individus des populations natives. Les résultats, concernant plus de 20 espèces différentes, apportent un support modéré à l'hypothèse, et même si certains attendus sont vérifiés, tous sont rarement vérifiés simultanément (Bossdorf *et al.*, 2005 ; Orians & Ward, 2010). Il faut cependant noter que certaines études ont validé partiellement les attendus de l'hypothèse EICA, que d'autres n'ont montré aucune différence entre les populations des deux zones, mais que les études ayant trouvé des résultats inverses à ceux prédits par EICA sont très rares (Bossdorf *et al.*, 2005). Il a plus tard été proposé que l'évolution des défenses devrait être différente selon qu'elles soient dirigées contre les ennemis spécialistes (principalement les défenses chimiques quantitatives) ou contre les ennemis généralistes (principalement les défenses chimiques qualitatives;

Müller-Scharer *et al.*, 2004). Cependant, le support à l'hypothèse EICA varie aussi entre études ayant testé spécifiquement des ennemis spécialistes ou généralistes (par exemple Siemann & Rogers, 2003 ; Maron *et al.*, 2004a ; Leger & Forister, 2005 ; Ridenour *et al.*, 2008 ; voir aussi Bossdorf *et al.*, 2005). Pour d'autres auteurs, l'évolution des défenses (et la possible réallocation de ressources vers la croissance et/ou la reproduction) serait plutôt liée à la différence de composition en herbivores généralistes et spécialistes entre la zone d'origine et la zone d'introduction (Mitchell *et al.*, 2006 ; Orians & Ward, 2010). Enfin, elle peut aussi concerner la tolérance à l'herbivorie, et pas seulement la résistance (par exemple Zou *et al.*, 2008). Globalement, il semble donc que l'hypothèse EICA ne soit un mécanisme important que chez certaines espèces de plantes envahissantes, comme l'arbre à suif *Sapium sebiferum* (Siemann & Rogers, 2001 ; Zou *et al.*, 2008) ou le compagnon *Silene latifolia* (Blair & Wolfe, 2004 ; Wolfe *et al.*, 2004).

De nombreuses études ont également mis en évidence, à partir d'expérimentations en jardins expérimentaux, des **clines** d'origine génétique dans la zone envahie (principalement latitudinaux), suggérant que les populations introduites aient pu s'adapter localement à leurs nouvelles conditions. Ces clines concernent principalement la phénologie de floraison et la hauteur des plantes (par exemple *Solidago altissima* et *S. gigantea*, Weber & Schmid, 1998 ; *Hypericum perforatum*, Maron *et al.*, 2004b ; *Lythrum salicaria*, Montague *et al.*, 2008 ; *Senecio inaequidens*, Monty & Mahy, 2009). Ils peuvent rendre difficile l'interprétation de la comparaison des populations natives et introduites, surtout si les gammes de latitudes des populations natives et introduites ne se chevauchent pas (Colautti *et al.*, 2009).

Des changements ont aussi été observés vers un cycle de vie polycarpique (par exemple *Centaurea maculosa*, Treier *et al.*, 2009), un système de reproduction clonale, uniparentale, ou permettant l'autogamie (par exemple *Rubus alceifolius*, Amsellem *et al.*, 2001 ; voir Barrett *et al.*, 2008), une meilleure capacité de dispersion (par exemple *Senecio inaequidens*, Monty & Mahy, 2010), une plus grande plasticité (voir Bossdorf *et al.*, 2005). Les espèces envahissantes doivent aussi s'adapter aux nouvelles communautés biotiques, mais cet aspect a été moins étudié (mais voir par exemple, chez *Hypericum perforatum*, Seifert *et al.*, 2009).

Dans beaucoup de cas, les changements observés semblent adaptatifs, et contribuent apparemment au succès envahissant de l'espèce étudiée. Cependant, ces changements évolutifs peuvent aussi résulter, au moins en partie, de **processus non-sélectifs** tels que des effets de fondation ou la dérive génétique (Keller & Taylor, 2008 ; Figure 2). Pour la plupart des modèles étudiés, les études en jardins expérimentaux sont souvent couplées à des études

de génétique des populations pour détecter d'éventuels goulots d'étranglement démographiques, ou des événements d'hybridation, qui pourraient expliquer les différences évolutives dans les traits (par exemple Lavergne & Molofsky, 2007 ; DeWalt *et al.*, 2011), et pour distinguer la part des processus neutres et sélectifs dans la formation des clines latitudinaux (par exemple Keller *et al.*, 2009 ; Xu *et al.*, 2010). Enfin, il faut noter que les changements évolutifs observés peuvent simplement être des changements collatéraux liés à l'absence d'une pression de sélection qui était présente dans la zone d'origine (Lee, 2010). Ainsi, en l'absence d'une pression de sélection, certains traits peuvent évoluer de façon neutre, par dérive génétique, ou parce qu'ils sont corrélés génétiquement à un trait sélectionné (Lahti *et al.*, 2009).

Toutes ces études reflètent plusieurs points importants lorsque l'on considère l'évolution des espèces envahissantes : (i) les changements évolutifs rapides sont fréquents (Thompson, 1998 ; Stockwell *et al.*, 2003), (ii) ils peuvent contribuer au succès envahissant d'une espèce (Lavergne & Molofsky, 2007), (iii) il est essentiel de considérer les processus neutres (Dlugosch & Parker, 2008a ; Keller & Taylor, 2008).

III - L'ajonc d'Europe, un bon modèle pour l'étude des processus évolutifs liés aux invasions biologiques

III.1 - Distribution géographique

L'ajonc d'Europe est un arbuste allopolyploïde de la Famille des Fabaceae. Il est originaire de la façade atlantique de l'Europe de l'ouest, de la péninsule ibérique jusqu'aux îles britanniques et au Danemark (Tutin *et al.*, 1968). Il a été introduit dans de nombreuses régions du monde, principalement au début du XIX^{ème} siècle, pour ses utilisations agricoles ou comme plante ornementale (Hoshovsky, 1989 ; Richardson & Hill, 1998). Aujourd'hui, l'ajonc est considéré comme une peste végétale dans plus de 15 pays, dont les Etats-Unis, le Canada, le Chili, la Colombie, le Brésil, l'Afrique du Sud, le Sri Lanka, l'Australie, la Nouvelle-Zélande (Holm *et al.*, 1997). On trouve donc l'ajonc sur tous les continents, et dans de très larges gammes de latitudes (de 5° à plus de 50°S nord et sud) et d'altitudes (de 0 à plus de 3500 m ; Figure 3). L'ajonc s'est développé dans des environnements beaucoup plus divers que dans sa zone d'origine, suggérant une expansion de niche écologique chez cette espèce (voir CHAPITRE 5).

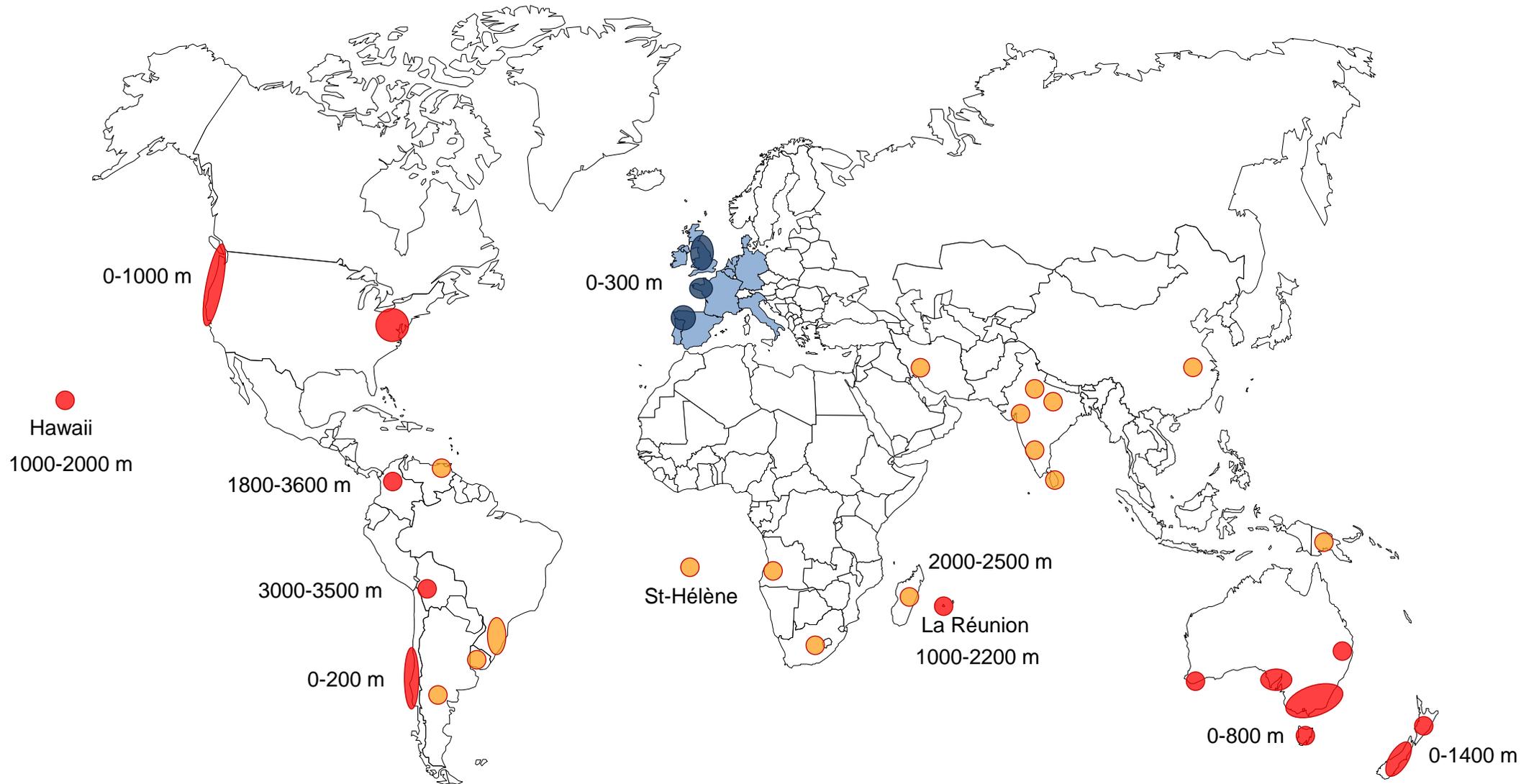


Figure 3 - Distribution géographique de *Ulex europaeus ssp. europaeus*. En bleu : pays de la zone d'origine où l'ajonc est présent; pastilles bleues : régions d'origine où l'ajonc est particulièrement abondant; pastilles oranges : régions dans lesquelles l'ajonc est établi; pastilles rouges : régions dans lesquelles l'ajonc a le statut de plante envahissante. Les régions où le statut de l'ajonc n'est pas documenté sont marquées avec une pastille orange. Altitudes : Cf ANNEXE 2. D'après Holm *et al.* (1997) et CHAPITRE 5.

III.2 - Impacts de l'ajonc sur les milieux envahis

L'ajonc d'Europe est considéré comme l'une des pires plantes envahissantes au monde par l'UICN (Lowe *et al.*, 2000). Il se développe dans des sites naturels, où il menace la biodiversité locale et transforme les paysages, et dans des sites cultivés où il rend les terrains impropres à la culture ou l'élevage (revues dans Richardson & Hill, 1998 ; Clements *et al.*, 2001 ; Figure 4). Il altère aussi les écosystèmes natifs, en acidifiant le sol par exemple (Leary *et al.*, 2006), mais surtout car c'est une espèce pyrophile (Forgeard & Lebouvier, 1991). Les incendies des populations d'ajonc détruisent également les espèces locales, mais favorisent la germination des graines d'ajonc. Enfin, l'ajonc occasionne de forts coûts financiers, de par les mesures de prévention et de lutte engagées pour limiter ses impacts, les pertes agricoles qu'il engendre, et à cause des incendies qu'il provoque (Clements *et al.*, 2001).

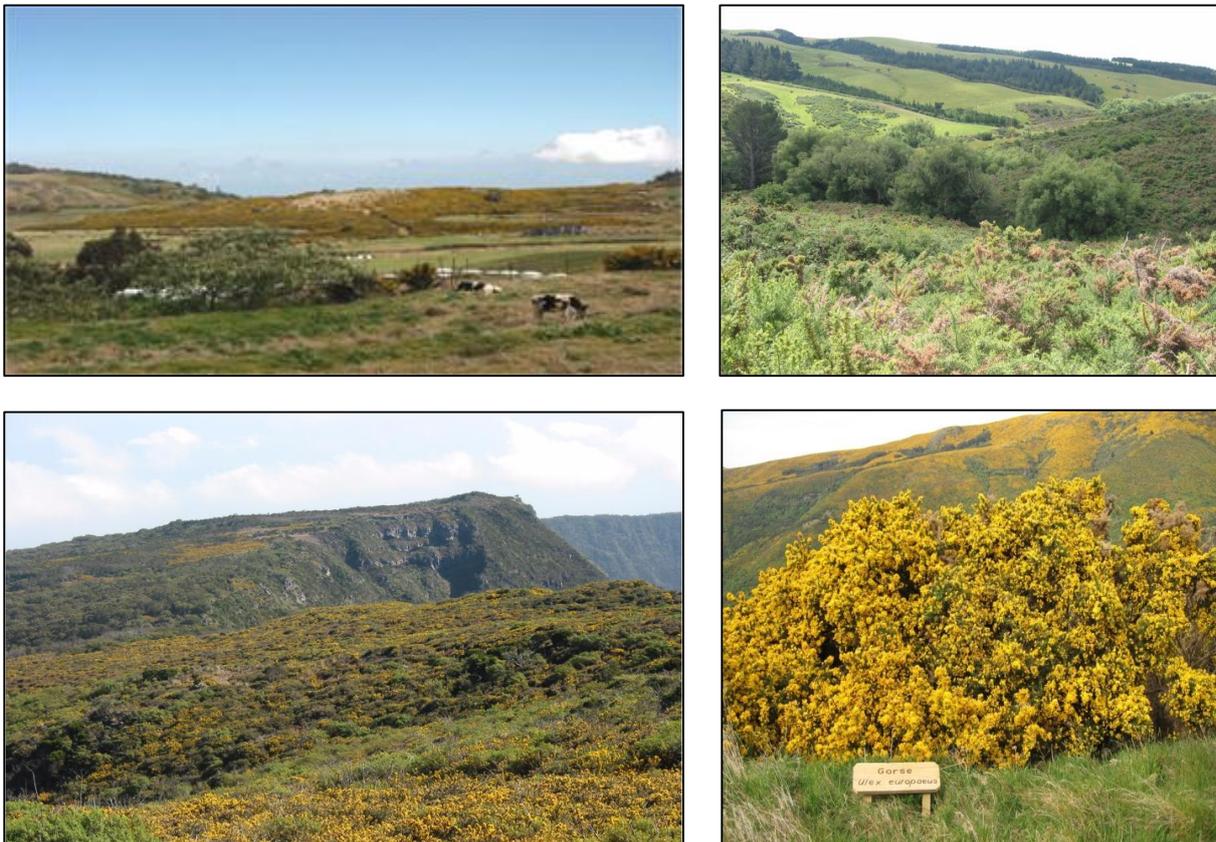


Figure 4 - Photos de l'invasion par l'ajonc de sites agricoles (en haut) et naturels (en bas) de La Réunion (à gauche) et de Nouvelle-Zélande (à droite). En haut : dans les zones agricoles, l'ajonc rend certains terrains inutilisables pour l'élevage du bétail et la culture. En bas : dans les sites naturels, l'ajonc exclut des espèces natives parfois endémiques, comme au Piton Maïdo (La Réunion; photo de gauche), et modifie l'aspect du paysage. Les taches jaunes sont des *patches* d'ajonc. Dans la photo en haut à droite, l'ajonc est au premier plan et dans les pâtures en arrière-plan. Photos : Anne Atlan, Jon Sullivan.

III.3 - *Enemy Release* chez l'ajonc d'Europe

En Europe, l'ajonc est associé à plusieurs herbivores et pathogènes, dont les prédateurs de graines spécialistes sont les plus importants, puisqu'ils peuvent parasiter jusqu'à plus de 90% des gousses d'une plante. Le charançon *Exapion ulicis* (Coleoptera : Apionidae) est le principal ennemi de l'ajonc, dont il est spécifique (Barat *et al.*, 2007, 2008). Les gousses d'ajonc sont aussi parasitées par la teigne *Cydia succedana* (Lepidoptera : Tortricidae ; Zwölfer, 1962 ; Barat *et al.*, 2007). L'ajonc est également attaqué par d'autres ennemis spécifiques, dont les principaux, en Bretagne, sont l'acarien rouge *Tetranychus lintearius* (Acari : Tetranychidae), le champignon pathogène *Uromyces genistae-tinctoriae* (Pucciniaceae), et le puceron *Aphis ulicis* (Zwölfer, 1962 ; Mireill Jourdan, com. pers.). Dans les régions d'introduction, l'ajonc a initialement été introduit sans ses ennemis naturels. Certains d'entre eux ont cependant été introduits plus tard dans le cadre du contrôle biologique. En Nouvelle-Zélande par exemple, l'ajonc était présent avant 1835, et *E. ulicis* a été introduit en 1931 et *C. succedana* en 1992 (Hill & Gourlay, 2002). Dans d'autres régions, comme à La Réunion, aucun contrôle biologique de l'ajonc n'a été entrepris, et il n'a donc toujours aucun ennemi naturel sur l'île (Atlan & Tarayre, obs. pers.).

En conclusion, l'ajonc d'Europe est un excellent modèle pour étudier les processus évolutifs impliqués dans le succès envahissant, car (i) l'ajonc est une allopolyploïde et fait partie des espèces de plantes les plus envahissantes au monde, (ii) il a connu un relâchement de la pression de ses ennemis naturels après introduction (*Enemy Release*), et (iii) il a colonisé des habitats très variés, et probablement étendu sa niche écologique. Enfin, les études récentes de l'équipe ont permis de mieux connaître l'ajonc dans sa zone d'origine, en termes d'écologie et d'évolution (voir CHAPITRE 1), ce qui est nécessaire mais encore rare dans la biologie des invasions (Hierro *et al.*, 2005).

IV - Objectif et plan de la thèse

L'objectif global de ce travail est de (i) déterminer si des changements évolutifs peuvent contribuer à expliquer le succès envahissant de l'ajonc à travers le monde, et (ii) à travers le cas de l'ajonc d'Europe, participer à une meilleure compréhension des processus liés aux

invasions, de façon plus générale. La présente thèse s'articule autour de deux parties, reflétant les grandes étapes spatiales et temporelles caractérisant les invasions :

(A) l'objectif de cette première partie est de caractériser la variation dans les populations naturelles d'ajonc dans la zone native et déterminer comment a été introduit l'ajonc : de façon massive et/ou multiple ? ou plutôt *via* de petites populations ? Les CHAPITRES 1 et 2 posent les bases de la biologie et l'écologie de l'ajonc dans sa zone d'origine. Les CHAPITRES 3 et 4 s'intéressent au mode d'introduction de l'ajonc, en adoptant une approche historique et moléculaire.

(B) cette deuxième partie explore l'évolution des traits de l'ajonc dans des régions envahies. En particulier, nous nous intéresserons au lien entre *Enemy Release* et les changements potentiellement observés. Le CHAPITRE 5 fait la synthèse des données disponibles pour la croissance et la reproduction des populations naturelles d'ajonc dans le monde. Le CHAPITRE 6 concerne la comparaison des traits de l'ajonc entre des régions d'origine et envahies, en jardin expérimental. Le CHAPITRE 7 s'intéresse au comportement de choix du charançon spécifique *Exapion ulicis*. Dans le CHAPITRE 8, nous étudions l'évolution du contenu en alcaloïdes des ajoncs dans les différentes régions natives et envahies étudiées.

Enfin, la dernière partie de cette thèse synthétise l'ensemble de ces résultats dans le cadre de ce qu'ils signifient pour le succès envahissant de l'ajonc dans le monde, et de ce qu'ils apportent dans la compréhension globale du processus d'invasion par les plantes.

PARTIE A

EVOLUTION DE L'AJONC DANS SA ZONE D'ORIGINE ET MODE D'INTRODUCTION

L'objectif de cette partie est de caractériser la variation dans les populations naturelles d'ajonc dans la zone native, et de déterminer comment a été introduit l'ajonc.

Le CHAPITRE 1 fait la synthèse des connaissances générées par des études antérieures, principalement dans l'équipe, sur la variation des traits dans les populations naturelles de la zone d'origine, et sur le déterminisme génétique de cette variation. Le CHAPITRE 2 contient de nouvelles données provenant d'une étude plus récente à laquelle j'ai participé durant ma thèse, sur le niveau de plasticité phénotypique chez l'ajonc, dans la zone d'origine. Ces données permettront de poser les bases de la variation chez l'ajonc dans la zone native, ce qui est fondamental pour comprendre les processus ayant amené à la variation présente dans les régions envahies.

Le CHAPITRE 3 fait la synthèse des données historiques sur l'ajonc dans le monde. Nous avons plus particulièrement cherché à déterminer quand et comment il a été introduit, et quand il a été déclaré envahissant. Ces données permettront (i) d'avoir une idée de l'échelle de temps à laquelle l'invasion et les changements évolutifs ont eu lieu, et (ii) d'interpréter les données de diversité génétique. Le CHAPITRE 4 utilise une approche de génétique des populations pour (i) caractériser la diversité et la structuration génétique dans la zone d'origine, permettant d'inférer l'action des processus neutres dans les populations d'ajonc, (ii) inférer le mode d'introduction de l'ajonc, en comparant la diversité génétique introduite dans des régions envahies à la diversité génétique dans la zone d'origine.

CHAPITRE 1

PRESENTATION DU MODELE BIOLOGIQUE

Introduction

L'histoire évolutive dans la zone d'origine a probablement une grande influence sur le succès envahissant d'une espèce, puisqu'elle détermine en partie les traits des individus, la variabilité génétique dans les populations, le potentiel évolutif de celles-ci, et le niveau de plasticité des individus (Lee & Gelembiuk, 2008 ; Suarez & Tsutsui, 2008). Il était donc important, avant de s'intéresser à l'ajonc dans les régions qu'il envahit, de récapituler, dans les populations naturelles de la zone d'origine, la diversité des traits liés à la croissance, la reproduction, la résistance aux ennemis naturels. Ce chapitre fait la synthèse des connaissances obtenues avant la thèse sur la diversité des traits dans les populations naturelles d'ajonc et sur le déterminisme génétique, l'origine et le maintien du polymorphisme chez l'ajonc. Ce chapitre permettra d'appréhender la diversité des traits chez l'ajonc, en Europe, et posera les bases de la comparaison avec les populations des régions envahies (PARTIE B).

I - L'ajonc d'Europe, *Ulex europaeus*

I.1 - Origine de l'espèce

Le genre *Ulex* est un groupe jeune au sein de la tribu des Genistae (Fabaceae), qui est probablement apparu il y a quatre ou cinq millions d'années (Kader Ainouche, com. pers.). La péninsule ibérique est considérée comme le centre de diversification du genre, parce que c'est dans cette zone qu'on trouve la plus grande diversité d'espèces (Feoli-Chiapella & Cristofolini, 1981 ; Cubas *et al.*, 2005). L'espèce *U. europaeus* regroupe deux sous-espèces : *U. europaeus* ssp. *europaeus* (6x), et *U. europaeus* ssp. *latebracteatus* (4x). L'ajonc d'Europe, *Ulex europaeus* ssp. *europaeus*, est l'une des espèces les plus jeunes du genre, et est une espèce hexaploïde ($2n=6x=96$ chromosomes ; Misset & Gourret, 1996). Les analyses

phylogénétiques à l'intérieur du genre *Ulex*, fondées sur les séquences des nrDNA ITS et ETS, ont révélé que *Ulex europaeus* ssp. *europaeus*, la seule espèce envahissante du genre, avait une origine allopolyploïde (Ainouche *et al.*, 2009a). Bien que les espèces parentales ne soient pas encore précisément connues, il est clair que *U. europaeus* ssp. *europaeus* est issu d'une espèce tétraploïde et d'une espèce diploïde provenant de deux lignées distinctes du genre *Ulex* (Ainouche *et al.*, 2003 ; Ainouche *et al.*, 2009a). Dans la suite de ce mémoire, par souci de concision et de simplicité, nous désignerons l'espèce étudiée par *Ulex europaeus* (sans le nom de sous-espèce *europaeus*), « ajonc » en Français, ou « gorse » dans les parties en Anglais.

I.2 - Caractéristiques biologiques et écologiques de l'ajonc

L'ajonc est un arbuste épineux pérenne (Figure 5) pouvant vivre jusqu'à 30 ans, et sa taille adulte peut atteindre plusieurs mètres en hauteur et en largeur (Chater, 1931 ; Lee *et al.*, 1986 ; Figure 4). Ses fleurs sont hermaphrodites, et sont pollinisées par de gros insectes comme les abeilles ou les bourdons (Herrera 1999 ; Bowman *et al.* 2008).

La dispersion des graines se fait principalement par éjection lors de la déhiscence des gousses, dans un rayon de quelques mètres autour de la plante-mère (Norambuena & Piper, 2000), même si les graines peuvent être dispersées de façon secondaire par les fourmis, l'eau, l'Homme, des mammifères, et possiblement les oiseaux et le vent (Ridley, 1930 ; Moss, 1959 ; Hill *et al.*, 1996). Les graines d'ajonc peuvent germer sur une période allant jusqu'à 30 ans (Moss, 1959 ; Zabkiewicz, 1976), formant des banques de graines pérennes très importantes (Hill *et al.*, 1996 ; Hill *et al.*, 2001).

En Europe, l'ajonc occupe principalement les landes et les friches, sur tous types de sols, exceptés les sols calcaires. C'est une espèce pionnière des terrains négligés ou perturbés, notamment grâce à son association avec des bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique. L'ajonc est une espèce atlantique voire subatlantique (Des Abbayes *et al.*, 1971), et ses populations se développent dans les régions où les gelées importantes sont rares, et où les précipitations sont réparties sur toute l'année (Zwölfer, 1962 ; Richardson & Hill, 1998). Les conditions abiotiques dans lesquelles les populations se développent sont synthétisées par Richardson & Hill (1998) et Clements *et al.* (2001).



Figure 5 - Planche représentant la morphologie d'un rameau d'ajonc et des organes reproducteurs. A : rameau entier ; 1 : fleur papilionacée ; 2,3,4 : pétales ; 5 : gynécée uniloculaire entourée de l'androcée ; 6 : androcée soudée par les filets des étamines ; 7,8 : gousse fermée et ouverte, respectivement ; 9 : graine d'ajonc avec son arille ; 10 : coupe transversale d'une graine. Tiré de Thomé (1885).

L'ajonc adulte est protégé des gros herbivores par ses épines, et ses ennemis, en Europe, sont des herbivores et pathogènes spécialistes. Parmi eux, les plus importants sont les prédateurs de graines, et notamment *Exapion ulicis* (Figure 6). Ce charançon spécifique (appelé aussi « apion » dans ce mémoire) est une espèce univoltine dont les femelles pondent les oeufs au printemps dans les jeunes gousses tendres. Les larves en résultant se développent aux dépens des graines, et les adultes émergent environ deux mois plus tard, quand les gousses s'ouvrent. Les adultes passent ensuite l'hiver sur un ajonc, et se nourrissent des parties vertes, et de fleurs quand elles sont disponibles. Les larves de la teigne *Cydia succedana* (Figure 6) peuvent entrer et sortir des gousses en creusant la paroi de la gousse. Une larve consomme généralement toutes les graines à l'intérieur d'une gousse, et peut ainsi détruire le contenu de plusieurs gousses avant de puper. Les autres ennemis importants de l'ajonc incluent le pathogène *Uromyces genistae-tinctoriae* et les herbivores *Tetranychus lintearius* et *Aphis ulicis*, attaquant les parties vertes.

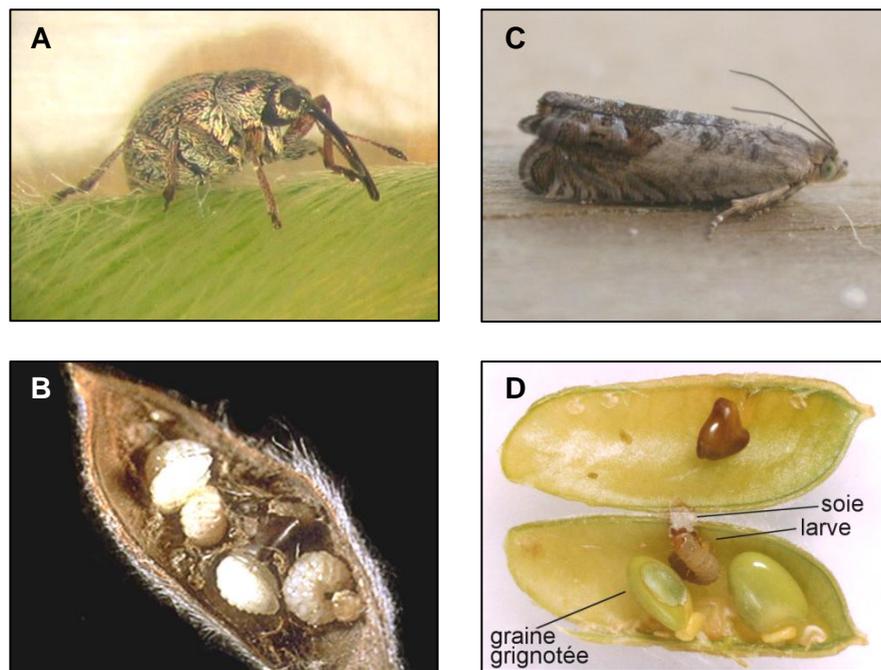


Figure 6 - Prédateurs de graines de l'ajonc. (A) femelle adulte de *Exapion ulicis* (environ 2 mm de long) sur une gousse jeune d'ajonc. La femelle de cette espèce creuse à travers la paroi de la gousse avec son rostre, avant d'insérer son ovipositeur pour pondre des oeufs sur les graines. (B) gousse d'ajonc ouverte (environ 15 mm de long), laissant apparaître les larves blanches de *E. ulicis* et les débris des graines qu'elles ont consommées. (C) adulte de *Cydia succedana* (environ 10 mm de long). La femelle de cette espèce pond sur la plante, en dehors de la gousse. (D) gousse d'ajonc ouverte laissant apparaître une larve de *C. succedana* (environ 6 mm de long), la soie qu'elle produit, et des graines encore jeunes qu'elle a commencé à consommer. Crédits photos : (A) Benjamin Hornoy, (B) Gillianne Bowman, (C) Donald Hobern (licence Creative Commons Attribution 2.0 Generic), (D) Ian Smith (Copyright).

II - Variabilité dans les populations natives d'ajonc

Dans la zone d'origine, les principales études menées sur la variabilité des traits de l'ajonc en populations naturelles ont été réalisées avant le début de ma thèse par notre équipe, en Bretagne, où l'ajonc est très présent (Barat *et al.*, 2007 ; Tarayre *et al.* 2007 ; Bowman *et al.*, 2008 ; et données non publiées de l'équipe). Ces études révèlent la variabilité entre individus et entre populations de beaucoup de traits liés à la phénologie, la croissance, la reproduction, et la résistance aux principaux ennemis de l'ajonc : les prédateurs de graines *Exapion ulicis* et *Cydia succedana*.

II.1 - Variabilité architecturale et de croissance

Dans les populations bretonnes, la hauteur des ajoncs adultes montre une forte variabilité entre individus (entre 50 et 400 cm), et entre populations, avec des individus à port prostré et d'autres avec un port érigé. En particulier, les individus des populations côtières ont tendance à être plus prostrés que les individus des populations à l'intérieur des terres (Des Abbayes *et al.*, 1971 ; Hornoy *et al.*, données non publiées).

II.2 - Variabilité de phénologie reproductive

Chez l'ajonc, la phénologie de floraison présente une variabilité extraordinaire, même au niveau intra-populationnel. En effet, en Bretagne, certaines plantes fleurissent de l'automne au printemps (plantes à floraison longue), alors que d'autres ne fleurissent qu'au printemps (plantes à floraison courte ; Tarayre *et al.*, 2007 ; Figure 7). La durée de floraison présente donc aussi une variabilité peu commune : entre individus, elle peut varier de trois semaines à plus de six mois (Tarayre *et al.*, 2007 ; Atlan *et al.*, 2010). Une variabilité temporelle existe aussi entre années pour la phénologie de floraison, mais elle est relativement faible. Le polymorphisme de floraison a été observé dans toutes les populations étudiées jusqu'à présent. Au niveau inter-populationnel, des variations significatives mais beaucoup moins fortes existent aussi dans la date de début de floraison moyenne en Bretagne même si la proportion d'individus à floraison longue est très variable entre populations bretonnes (de 0 à 78%, N=17 populations ; Tarayre *et al.*, 2007). Au niveau de l'Europe, il semble que dans la péninsule ibérique et dans les îles britanniques, la floraison de l'ajonc se réalise également entre

l'automne et le printemps, avec un pic principal au printemps (Hill, 1982 ; Cubas, 1999 ; Atlan & Tarayre, obs. pers.).

II.3 - Variabilité de l'effort reproducteur

La production de fleurs et de gousses est très variable entre individus d'une même population, notamment en lien avec la phénologie de floraison : les individus à floraison longue produisent moins de fleurs et de gousses à la fois, mais sur une période plus longue, que les individus à floraison courte qui produisent beaucoup de fleurs puis de gousses, en une seule fois (Tarayre *et al.*, 2007). La taille des fleurs, la quantité et la taille des grains de pollen varient entre individus d'une même population, mais ne sont pas significativement différentes entre les cinq populations bretonnes étudiées par Bowman *et al.* (2008).

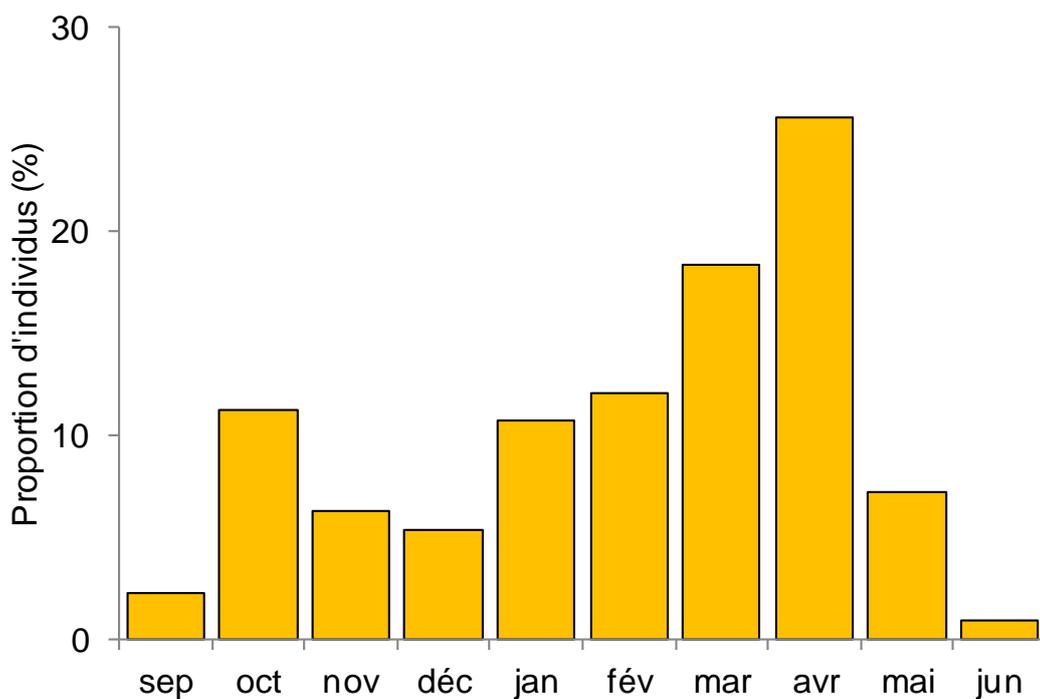


Figure 7 - Distribution bimodale des dates de début de floraison de 60 individus d'ajonc de cinq populations naturelles bretonnes, regroupées sur cinq années. Toutes les plantes fleurissant jusqu'au printemps, les individus commençant à fleurir en automne/hiver ont donc une durée de floraison beaucoup plus longue que les individus ne commençant à fleurir qu'au printemps.

Le nombre de graines par gousse varie généralement entre 0 et 10 en Bretagne (Barat *et al.*, 2007). Il varie parfois entre populations (Barat *et al.*, 2007 ; Tarayre *et al.*, 2007) et au cours de la saison (Atlan *et al.*, en préparation), mais varie peu au niveau intra-population et entre années (Tarayre *et al.*, 2007). En particulier, il ne diffère pas entre les plantes à floraison courte et les plantes à floraison longue (Tarayre *et al.*, 2007).

II.4 - Variabilité de la résistance aux prédateurs de graines

Les deux ennemis principaux de l'ajonc, *Exapion ulicis* et *Cydia succedana*, attaquent l'ajonc au printemps. La proportion de gousses infestées peut varier entre individus de 20 à 98% (Barat *et al.*, 2007). Elle varie aussi entre populations, entre années, et au cours de la saison (Tarayre *et al.*, 2007). En particulier, le taux d'infestation des gousses par les prédateurs de graines augmente au cours du printemps, avant d'atteindre son maximum au début de l'été.

En conclusion, la variabilité dans les populations naturelles d'ajonc est extrêmement forte, pour des traits liés à la croissance, la phénologie, l'effort reproducteur, et la résistance aux ennemis naturels. Cette forte diversité intra-population signifie que même une introduction de propagules d'une seule ou de quelques populations peut potentiellement contenir une grande proportion de la diversité des traits.

III - Déterminisme, origine et maintien du polymorphisme en Europe

Le déterminisme, l'origine et le maintien du polymorphisme observé ont été étudiés par Atlan *et al.* (2010), ainsi que Tarayre *et al.* (2007), avant le début de ma thèse.

III.1 - Déterminisme du polymorphisme de traits observé en populations naturelles

Afin d'étudier précisément le déterminisme de la variabilité de la croissance, la phénologie de floraison, la production de gousses, et le taux d'infestation des gousses, ainsi que les

corrélations potentielles entre ces traits, Atlan *et al.* (2010) ont randomisé et cultivé des familles de demi-frères provenant de plantes-mères de quatre populations bretonnes (deux populations côtières et deux populations de l'intérieur des terres), dans un jardin expérimental à Rennes. Leur étude confirme la très forte variabilité pour les traits liés à la croissance, la phénologie de floraison, la production de gousses, et le taux d'infestation des gousses, entre individus et entre populations, observée dans les populations naturelles. De plus, leurs résultats montrent que pour ces traits le déterminisme de la variabilité est en partie génétique (Atlan *et al.*, 2010 ; Figure 8). Enfin, cette étude révèle que la hauteur des plantes, la date de début de floraison, la densité de gousses produites au printemps, et le taux d'infestation des gousses par les prédateurs de graines au printemps sont liés entre eux par des corrélations génétiques. En particulier, les individus à floraison longue vont produire peu de fleurs et peu de gousses à la fois, être plus sensibles aux prédateurs de graines au printemps, et auront tendance à être plus grands. Au contraire, les individus à floraison courte vont produire une très forte densité de fleurs à la fois, puis une forte densité de gousses, et seront moins susceptibles à la prédation des graines au printemps, et auront tendance à être plus petits (Atlan *et al.*, 2010).



Figure 8 - Illustration du polymorphisme et de son origine génétique. Les photos sont tirées du jardin expérimental de Atlan *et al.* (2010). Les individus ont trois ans. En haut : la variabilité architecturale est très forte, avec des plantes voisines prostrées (au centre de la photo) ou érigées. En bas : la variabilité phénologique entre individus peut être très grande également, avec des individus en pleine floraison alors que d'autres n'ont pas encore commencé à fleurir.

III.2 - Origine du polymorphisme

L'hypothèse sur l'origine de ce polymorphisme exceptionnel chez l'ajonc fait intervenir la pression de sélection très forte des prédateurs de graines, en particulier *Exapion ulicis*, sur la phénologie de floraison de la plante. En effet, les plantes à floraison longue produisent une partie de leurs gousses en hiver, quand les apions ne sont pas encore actifs au niveau reproducteur, profitant ainsi d'un **évitement de la prédation dans le temps** d'une partie de leurs gousses (Tarayre *et al.*, 2007 ; Atlan *et al.*, 2010). Au contraire, les plantes à floraison courte produisent toutes leurs gousses au printemps, au moment du pic d'activité des charançons, mais elles ont un taux d'infestation des gousses inférieur aux plantes à floraison longues, grâce à l'effet de **satiété du prédateur** (Atlan *et al.*, 2010).

Atlan *et al.* (2010) proposent ainsi que les deux stratégies de floraison (longue ou courte) ont pu évoluer en réponse à la pression forte des charançons au printemps. Cette hypothèse est supportée par l'observation dans leur étude que les plantes à floraison courte ou longue ont un taux d'infestation des gousses annuel équivalent, alors que toutes les plantes ayant une floraison intermédiaire (commençant à fleurir en hiver), ont un taux d'infestation des gousses annuel plus fort (Atlan *et al.*, 2010). Ceci suggère qu'un régime de sélection disruptive a pu créer ce polymorphisme de stratégies dans les populations naturelles d'ajonc. De plus, l'existence de ces deux stratégies peut expliquer les corrélations génétiques entre les traits liés à la croissance, la phénologie, l'effort reproducteur et la résistance aux prédateurs de graines, par sélection corrélationnelle.

III.3 - Maintien du polymorphisme

Ce fort polymorphisme peut être maintenu dans les populations naturelles par différents mécanismes. D'abord, les conditions environnementales (biotiques et abiotiques) varient dans le temps et dans l'espace, et ne sont pas forcément prévisibles. En particulier, les températures hivernales, ainsi que la pression des prédateurs de graines peuvent varier dans le temps et dans l'espace (Atlan *et al.*, en préparation). Par exemple, dans les populations (et/ou durant une année) où l'hiver est rude, les plantes à floraison courte vont produire plus de graines. De même, dans une population (et/ou durant une année) où la prédation par les prédateurs de graines est très forte, les individus à floraison longue vont produire plus de graines saines au total de la saison. Ces variations spatio-temporelles des conditions biotiques et abiotiques et

des traits (Figure 9) peuvent aider à maintenir le polymorphisme, ou au moins ralentir son érosion (Roff & Fairbairn, 2007).

Deuxièmement, au niveau populationnel, des effets de fréquence-dépendance peuvent apparaître. En effet, plus la proportion d'individus à floraison longue augmente, moins l'effet de satiété du prédateur est fort au niveau populationnel, et plus les plantes à floraison longue vont subir un taux de parasitisme important (Tarayre *et al.*, 2007).

Troisièmement, puisque les individus à floraison courte sont les seuls à pouvoir se reproduire en automne-hiver et qu'ils vont produire une très grande partie des fleurs au niveau populationnel au printemps, la probabilité d'homogamie est très forte. Etant donné le déterminisme génétique du polymorphisme entre ces deux stratégies (Atlan *et al.*, 2010), l'homogamie peut contribuer au maintien de ce polymorphisme.

Enfin, la sélection corrélationnelle participe probablement au maintien des deux stratégies, et donc à la forte variabilité des traits qui leurs sont associés (Sinervo & Svensson, 2002 ; Roff & Fairbairn, 2007), *i.e.* la taille des plantes, la phénologie reproductive, la production de gousses, et la résistance aux prédateurs de graines.

En conclusion, la forte variabilité observée dans les populations naturelles d'ajonc a une base génétique. Dans la zone d'origine, la pression exercée par les conditions biotiques et abiotiques sur la phénologie de floraison a entraîné un fort potentiel évolutif dans les populations natives pour des traits liés à la croissance, la reproduction, et la résistance aux ennemis naturels. Cependant, les corrélations génétiques liant ces différents traits ont le pouvoir de contraindre (ou faciliter) l'adaptation, selon la direction et la force de la sélection dans les habitats d'introduction (Etterson & Shaw, 2001).

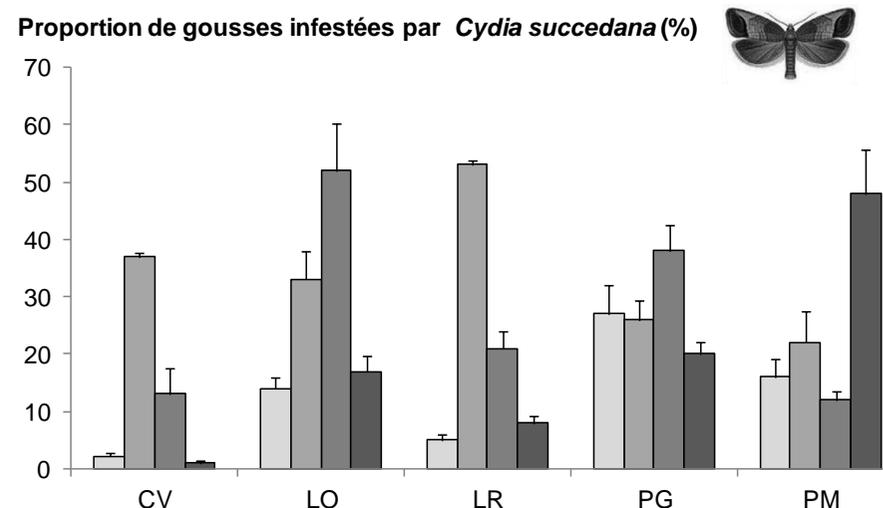
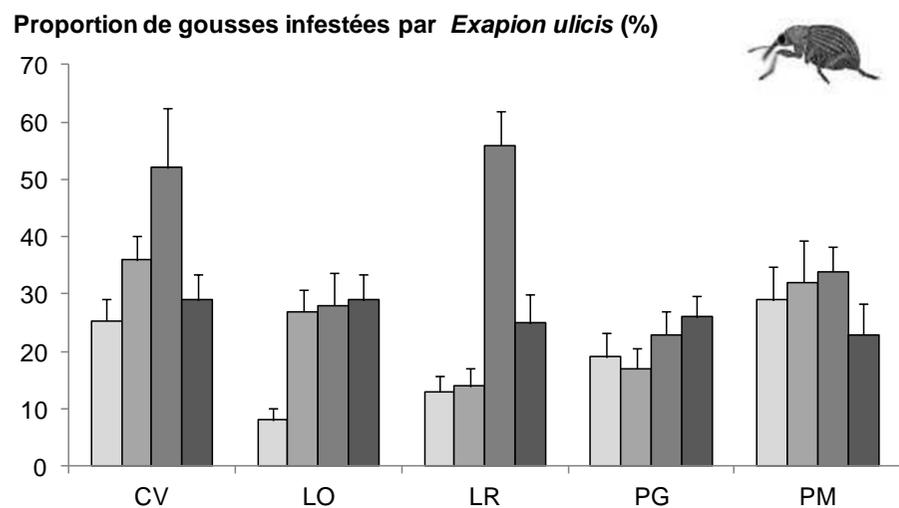
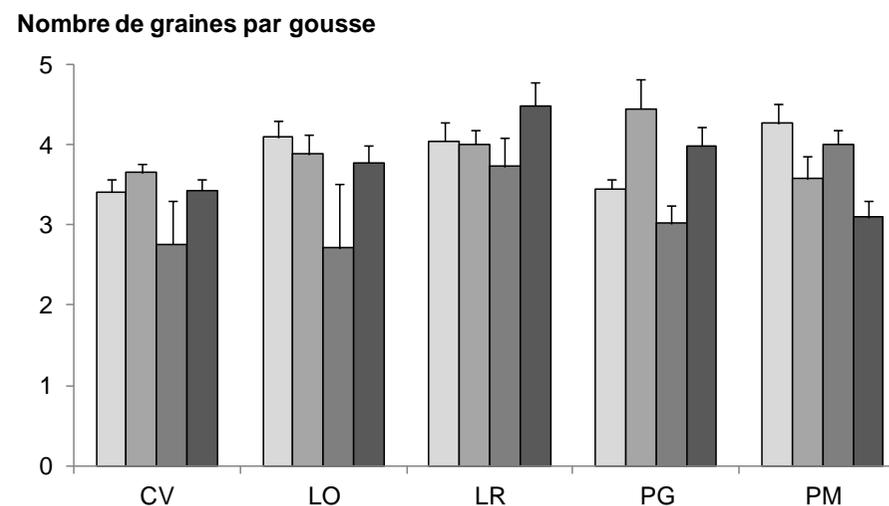
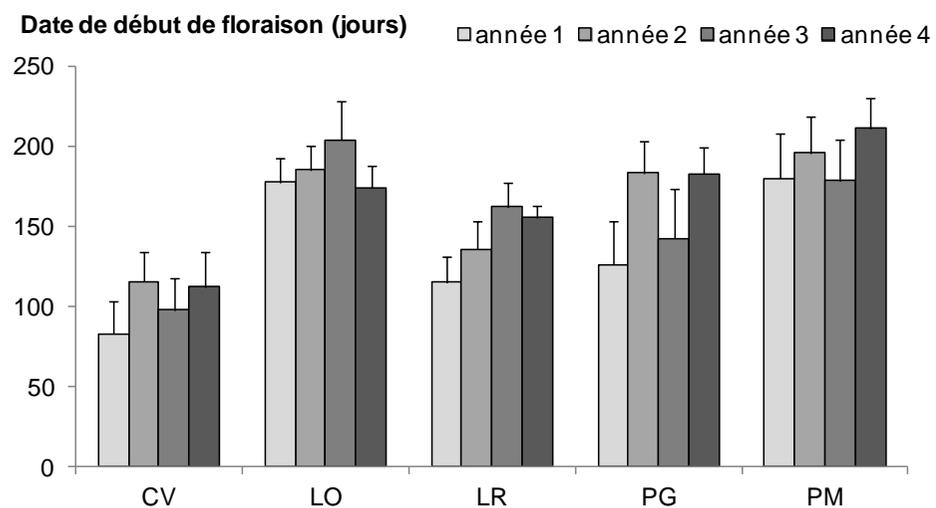


Figure 9 - Variabilité spatio-temporelle des traits liés à la reproduction et au parasitisme des gousses au printemps dans cinq populations bretonnes (CV, LO, LR, PG, PM) pour quatre années successives (niveaux de gris). Les barres représentent l'erreur standard. Une analyse de variance a révélé que les effets « population », « année », et leur interaction sont significatifs pour la date de début de floraison, et l'infestation par *E. ulicis* et *C. succedana*, mais pas pour le nombre de graines par gousse. D'après Atlan *et al.* (en préparation).

CHAPITRE 2

PLASTICITE PHENOTYPIQUE CHEZ L'AJONC

Ce chapitre est un extrait d'un manuscrit en préparation, par M. Tarayre, B. Hornoy, L. Parize et A. Atlan.

Introduction

Le CHAPITRE 1 a montré que l'ajonc est une espèce présentant une variabilité génétique et phénotypique exceptionnelle pour les traits d'histoire de vie liés à la croissance, la reproduction et l'évitement de la prédation des graines. Cependant, les variations observées entre années (Atlan *et al.*, 2010 ; et résultats non publiés) suggèrent que l'environnement peut expliquer aussi en partie la variabilité observée. Nous avons donc cherché à caractériser l'effet de l'environnement sur ces traits, *i.e.* la plasticité phénotypique. Pour ce faire, il nous fallait élever des plantes de génotypes identiques dans des environnements différents. Les études préliminaires ont montré que cloner l'ajonc était difficile mais réalisable. Par contre, l'ajonc ne peut pas être cultivé en serre jusqu'à sa floraison. La plasticité environnementale ne peut donc être testée qu'en jardin expérimental, ce qui limite la nature des paramètres pouvant être contrôlés. Nous avons choisi de tester un effet de l'ombrage, ce qui revient à tester à la fois un effet de la luminosité et de la température.

Matériel et méthodes

Clonage

Les plantes clonées sont issues du jardin expérimental décrit dans Atlan *et al.* (2010). Nous avons choisi cinq plantes-mères ayant des durées de floraison contrastées. Pour chacune de ces plantes-mères, nous avons produit par bouturage 10 clones. Les boutures ont été réalisées en septembre 2005, en coupant une extrémité de rameau en croissance végétative non lignifié. Afin de faciliter le développement racinaire, nous avons trempé les extrémités coupées des

rameaux dans de l'acide β -indole butyrique à 0,25% (hormone de bouturage), avant la plantation en plaque de culture contenant des godets remplis des mêmes proportions de sable, de terreau et de vermiculite. Les plaques ont ensuite été disposées dans une chambre de culture et soumises à une photopériode de 18h de jour et 6h de nuit, jusqu'à enracinement. Pour chacune des plantes-mères, nous avons ainsi produit par bouturage 10 clones, qui ont été transplantées en pots de 10 cm de diamètre et cultivés en serre durant un an.

A l'âge d'un an, les boutures ont été transférées en jardin expérimental sur le campus de Rennes 1, en deux blocs randomisés contenant chacun la moitié des boutures de chaque génotype (plante-mère). En juillet 2007, alors que les plantules avaient deux ans et n'avaient pas commencé à fleurir, une ombrière faisant 65% d'ombrage a été installée sur l'un des blocs, l'autre étant laissé découvert (Figure 10). L'ombrière a été remplacée par une autre ne faisant que 30% d'ombrage en août 2009 après la fructification des plantes.



Figure 10 - Le jardin expérimental en septembre 2007, après la pose de l'ombrière à 65%.

Mesures

Les dates de début de floraison, la densité de gousses (nombre de gousses par rameau), la densité de fleurs (nombre de fleurs par rameau) et le taux de parasitisme (proportion de

gousses infestées par *Exapion ulicis* et/ou *Cydia succedana*) ont été mesurés en 2008, 2009, et 2010 suivant le même protocole que celui présenté dans Atlan *et al.* (2010). La hauteur des plantes et la longueur des fleurs ont été mesurées uniquement en 2009.

Analyses statistiques

Toutes les analyses ont été effectuées avec SAS (SAS Institute, 2005). Les effets « environnement » (ombré vs découvert), « génotype » et « année » ont été testés grâce à une ANOVA à trois facteurs, en utilisant la PROC GLM. Les corrélations ont été testées avec la PROC CORR.

Résultats

Effet de l'ombrage

L'ombrage a eu un effet sur toutes les variables mesurées. Trois variables ont montré un effet fort : les plantes à l'ombre ont produit en moyenne 3,2 fois moins de fleurs et 4,0 fois moins de gousses que les plantes au soleil, et leurs gousses ont été 5,8 fois moins parasitées. Les trois autres variables ont montré un effet de l'ombrage significatif mais plus faible : les plantes à l'ombre étaient plus grandes de 11%, et leurs fleurs plus grandes de 11% que celles au soleil, leur date de début de floraison a été retardée de 12%. Ces différences sont significatives (Tableau 1 pour les variables mesurées les trois années ; voir ANNEXE 1 pour les autres variables mesurées en 2009).

L'effet le plus important a concerné la densité de fleurs par rameau, et consécutivement la densité de gousses. Alors que la production moyenne de fleurs par rameau varie peu entre les années à la lumière (33 en 2008, 36 en 2009, 29 en 2010), l'effet de l'ombrage sur la production de fleurs a dépendu des années. A l'ombre, la production de fleurs a fortement diminué passant de 20 fleurs par rameau en 2008, après une année d'ombrage, à moins de deux fleurs par rameau en 2009 après deux années d'ombrage, certaines plantes ne fleurissant pas du tout. Afin de maintenir une floraison qui permette l'estimation des variables étudiées, nous avons changé l'ombrière qui faisait 65% d'ombrage

pour une ombrière faisant 30% d'ombrage à la fin de la saison reproductive 2008-2009. Dès la saison reproductive suivante, les plantes ombrées ont retrouvé un niveau de floraison plus important (en moyenne 12 fleurs par rameau en 2010).

Effets croisés de l'ombrage, du génotype et de l'année

Pour les variables pour lesquelles nous disposons des données pour les trois années, le modèle statistique incluant les effets « génotype », « environnement », « année » et leurs interactions explique entre 71 et 83% de la variance selon le trait. La date de début de floraison présente une interaction « génotype x année » très significative (Tableau 1), suggérant que les différences entre les génotypes varient fortement suivant les années. Pour la production de gousses, toutes les interactions sont significatives, mais l'interaction « environnement x année » est la plus forte : la variabilité d'origine environnementale varie donc fortement entre les années. Pour le taux d'infestation des gousses, l'interaction « environnement x année » est significative, signifiant que l'effet de l'ombrage est différent pour les trois années d'étude.

Tableau 1 - Résultats de l'ANOVA pour les trois années d'étude.

	début de floraison			densité de gousses			taux de gousses infestées		
	ddl	F	P	ddl	F	P	ddl	F	P
génotype	4	35.71	<0.0001	4	6.96	<0.0001	4	2.97	0.02
environnement	1	23.10	<0.0001	1	154.14	<0.0001	1	88.78	<0.0001
année	2	140.71	<0.0001	2	17.87	<0.0001	2	51.85	<0.0001
génotype x envt	4	5.71	0.0003	4	3.05	0.02	4	0.62	0.65
génotype x année	8	15.46	<0.0001	8	2.10	0.04	8	3.60	0.01
envt x année	2	1.36	0.26	2	22.17	<0.0001	2	27.36	<0.0001

L'année 2009 est celle pour laquelle nous disposons des données pour les 6 variables (voir ANNEXE 1). Pour cette année, le modèle statistique incluant les effets « génotype », « environnement » et leur interaction, explique entre 67 et 90% de la variance des traits. Tous

les traits présentent des effets « génotype » et « environnement » significatifs, mais seuls les traits liés à la reproduction présentent aussi une interaction « génotype x environnement » significative (Cf ANNEXE 1). Pour la date de début de floraison et la hauteur des plantes, l'effet le plus important est dû au génotype. Pour la densité de fleurs et de gousses et la taille des fleurs et des plantes, l'effet le plus important est dû à l'environnement.

Plasticité des différents génotypes pour la date de début de floraison

La date de début de floraison étant la variable la plus importante dans la stratégie d'évitement du parasitisme, nous avons cherché à mieux comprendre sa plasticité entre les différents génotypes. Quelles que soient les années, l'ombrage a comme effet de retarder la date de floraison (Figure 11). Cependant, cet effet est d'autant plus marqué que la floraison est précoce. De plus, la variation interannuelle est plus importante chez les plantes commençant à fleurir tôt que chez celles qui commencent à fleurir tard (Figure 11).

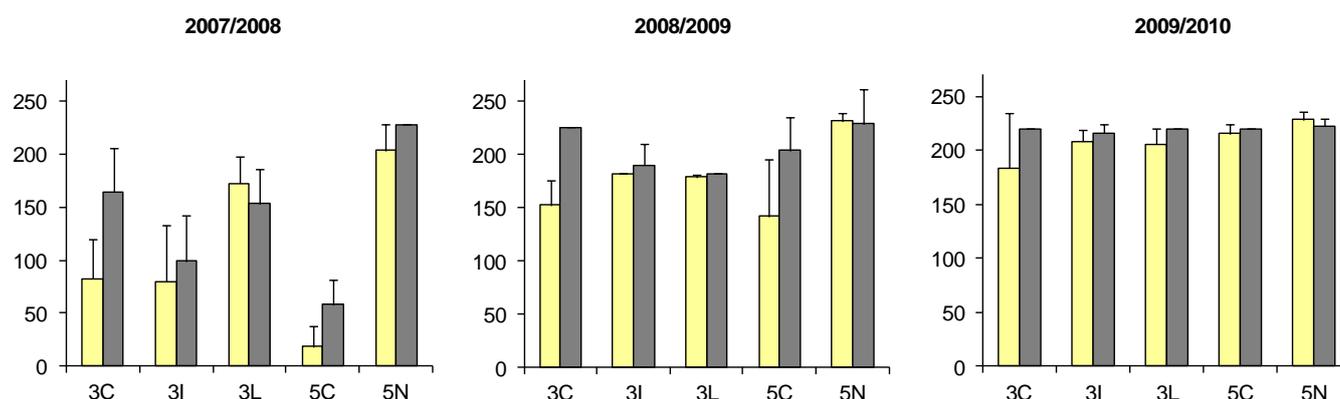


Figure 11 - Date de début de floraison (jours) à la lumière (en jaune) et à l'ombre (en gris) pour les cinq génotypes étudiés. Les barres représentent l'écart-type.

Le niveau de plasticité phénotypique des différents génotypes a été quantifié par la différence de date de début de floraison entre l'ombre et la lumière. Il varie grandement suivant les génotypes les trois années (Figure 11). De plus, la plasticité est plus élevée pour les individus précoces que pour les individus tardifs. En effet, sur l'ensemble des trois années, la plasticité moyenne des cinq génotypes est fortement corrélée à leur date de début de floraison moyenne, bien que cette corrélation ne soit pas significative du fait du faible nombre de génotypes ($R=0,71$; $N=5$; $P>0,05$). Enfin, le niveau de plasticité est également corrélé à

l'écart-type interannuel dans la date de début de floraison, cette corrélation étant plus importante à la lumière qu'à l'ombre (Figure 12). La corrélation à la lumière est quasi-totale ($R=0,98$; $N=5$; $P<0,01$). La différence de date de début de floraison entre années, à la lumière, est donc une très bonne estimation de la plasticité induite par l'ombrage.

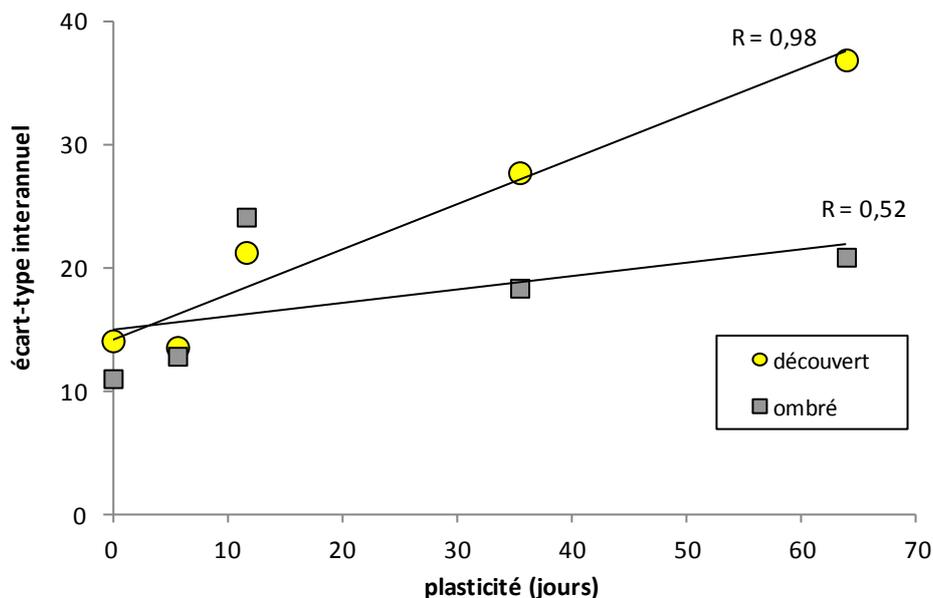


Figure 12 - Relation entre la plasticité et la variabilité interannuelle des dates de début de floraison. Chaque point représente un génotype. La plasticité est mesurée comme la différence de date de début de floraison entre les clones à l'ombre et les clones découverts. L'écart-type interannuel des dates de début de floraison a été calculé séparément pour les clones à l'ombre et les clones découverts. Les lignes représentent une régression linéaire simple, avec le coefficient de corrélation associé.

Discussion

Effets de l'ombrage sur les différents traits d'histoire de vie

Tous les traits mesurés ont eu des valeurs significativement différentes à découvert ou sous l'ombrière, montrant que les variations environnementales peuvent contribuer à la variabilité phénotypique observée dans les populations d'ajonc (CHAPITRES 1 ET 5). Pour la date de début

de floraison et la hauteur des plantes, l'effet le plus important est dû au génotype, ce qui indique que dans nos conditions expérimentales, les différentes stratégies de floraison et les différents types d'architectures sont moins influencés par la lumière et la température que par le génotype de la plante. La date de début de floraison et la durée de floraison étant liées, on peut en déduire que les différents types de phénologie de floraison dépendent davantage du génotype que de l'environnement. L'ombrage a eu un effet plus important sur la quantité de fleurs et de gousses produites que sur la date de début de floraison. Pour les taux de parasitisme, l'effet de l'ombrage est particulièrement important. Le faible taux de parasitisme sous l'ombrière peut s'expliquer par le fort tropisme des apions pour la lumière, une plus grande difficulté pour accéder aux plantes, ou une plus faible attractivité des plantes ombrées.

Les interactions significatives entre les effets « génotype » et « environnement » suggèrent que certains génotypes sont plus plastiques que d'autres, pour les traits liés à la reproduction : date de début de floraison, taille des fleurs, densité de fleurs, densité de gousses. Autrement dit, il existe un polymorphisme génétique du niveau de plasticité pour ces traits. Ce résultat est trouvé chez de nombreuses autres espèces (revues dans Scheiner, 1993 ; van Kleunen & Fischer, 2005). Cependant, le niveau de variation de la plasticité observé chez l'ajonc est exceptionnellement élevé, notamment pour la date de début de floraison où les coefficients de variation entre environnements varient de 0,72 à 73% selon les génotypes. Les variations importantes observées pour les valeurs des traits (Tarayre *et al.*, 2007 ; Atlan *et al.*, 2010) se retrouvent donc également au niveau de la plasticité. Ce niveau de variation élevé pourrait résulter de la polyploïdie de l'ajonc, laquelle est fréquemment associée à une forte plasticité phénotypique (te Beest *et al.*, 2011).

Stratégies de floraison et plasticité

Pour tous les génotypes testés, l'ombrage a eu comme effet de retarder la date de début de floraison. Ce résultat est classique et se retrouve chez la plupart des espèces. Cependant, chez l'ajonc, le niveau de plasticité est plus important pour les plantes à floraison précoce (à floraison longue) que pour les plantes à floraison tardive (à floraison courte). En effet, aussi bien les différences entre clones découverts ou ombrés que les différences interannuelles sont plus importantes chez les plantes à floraison précoce. Ceci suggère que le phénotype « floraison courte » implique des génotypes qui ne fleurissent qu'au printemps quelles que soient les conditions environnementales (avec cependant des variations, mais minimales), alors que le phénotype « floraison longue » concerne des génotypes qui peuvent commencer à

fleurir très tôt lorsque les conditions le permettent (par exemple en 2007-2008) mais également fleurir à des dates presque similaires à celles des plantes à floraison courte (par exemple en 2009-2010). La différence de capacité de réponse aux conditions environnementales serait donc l'un des facteurs principaux qui différencie les deux stratégies.

Enfin, la très bonne corrélation entre la variation de date de début de floraison due à l'ombrage et la variation interannuelle montre qu'il est possible d'utiliser la variation entre années pour estimer la plasticité due à la température et/ou la lumière, sans avoir à passer par une étape de bouturage.

En conclusion, nos données montrent que chez l'ajonc il existe une variabilité importante de plasticité entre différents génotypes présents dans la zone d'origine. L'existence d'une forte composante génétique de la plasticité de phénologie de floraison peut lui permettre d'évoluer dans les régions d'introduction. Cette hypothèse sera testée au CHAPITRE 6B.

CHAPITRE 3

SYNTHESE DES DONNEES HISTORIQUES SUR L'INTRODUCTION DE L'AJONC DANS LE MONDE

Introduction

Connaître l'historique d'introduction et d'expansion d'une espèce envahissante est essentiel dans la compréhension du processus d'invasion dans sa dimension spatiale et temporelle (Strayer *et al.*, 2006). Cela nécessite l'obtention de données historiques datées, et/ou de données moléculaires pour inférer l'histoire d'invasion à partir de la diversité génétique neutre et de sa structuration (Sakai *et al.*, 2001). Cette dernière approche, indirecte, est très utilisée car elle permet en plus d'avoir des informations sur le potentiel évolutif des populations introduites et sur les processus évolutifs neutres ayant agi sur ces populations (Dlugosch & Parker, 2008a). Cependant, les données historiques, quand elles sont disponibles, sont essentielles car elles seules permettent de dater les différentes étapes du processus d'invasion et de savoir à quelle échelle de temps des changements évolutifs éventuels ont eu lieu. De plus, les données historiques permettent d'interpréter avec plus de confiance et de précision les données moléculaires, par exemple en termes de populations sources et de mode d'introduction.

Dans le cadre de cette étude, nous avons adopté une approche fondée sur une synthèse des données historiques datées disponibles sur l'introduction et l'expansion de l'ajonc dans le monde, pour apporter des éléments de réponse aux questions suivantes: (i) quand l'ajonc a-t-il été introduit, pourquoi, et à partir d'où ? (ii) l'ajonc a-t-il été introduit de façon massive et/ou multiple ou de façon isolée ? (iii) combien de temps après introduction l'ajonc est-il devenu envahissant ?

Méthode

Une recherche dans la littérature a été effectuée à partir de plusieurs moteurs de recherche bibliographiques ou génériques, en utilisant en mots-clés le nom latin de l'ajonc, et son nom vernaculaire en anglais, français, espagnol et portugais. Les références citées dans les publications trouvées ont aussi été inspectées pour trouver d'autres publications liées. Les données utilisées pour cette synthèse historique proviennent donc de la littérature sur l'ajonc, mais aussi de flores. Les informations datées ont été vérifiées dans les publications sources lorsqu'elles étaient disponibles, et recoupées entre plusieurs sources si possible. Les données datées ainsi recueillies étaient soit des dates d'introduction précises, soit la date de parution d'une flore ancienne, permettant d'avoir une limite supérieure de la date d'introduction.

Des données historiques datées ont été obtenues pour les régions suivantes : la Nouvelle-Zélande, l'Australie, l'île de La Réunion, l'île de Sainte-Hélène, le Chili, la Colombie, l'archipel de Hawaï, et les côtes est et ouest de l'Amérique du Nord. Une synthèse en est faite ci-dessous, mais les données disponibles, classées par région, ont été consignées en ANNEXE 2.

Résultats et discussion

Les usages de l'ajonc dans sa zone d'origine

Un projet d'ingénieur agronome réalisé en 2010 à l'école d'agronomie de Rennes (Alonso *et al.*, 2010 sous la direction de Catherine Darrot) nous a permis de connaître et dater les usages de l'ajonc en Bretagne. Ce rapport précise qu'on retrouve des traces de l'utilisation de l'ajonc dès la fin du Moyen-Age (XVI^{ème} siècle). A cette époque, l'ajonc n'était pas cultivé mais on le trouvait dans la lande bretonne. Il était généralement coupé et taillé à la faucille. Progressivement au cours du temps, sa culture s'est développée et son utilisation s'est généralisée. La même chose s'observe dans d'autres pays d'Europe, notamment en Grande-Bretagne et en Espagne. De nombreux ouvrages y font d'ailleurs référence et de nombreux agronomes ont agi pour faire connaître et apprécier cette plante. Les usages préconisés

incluent le fourrage, le combustible, l'engrais vert, la litière et la formation de haies. Si ce dernier usage est le seul qui persiste de nos jours, la perception de l'ajonc est encore très positive : « *l'ajonc c'est du soja, l'ajonc c'est de l'or en barre* » dira un agriculteur lors d'une enquête menée par l'équipe en 2003 (Morvan, 2003).

La perception de l'ajonc comme un auxiliaire agricole de premier plan a conduit à encourager sa culture outremer, notamment dans les colonies. Comme le dit l'agronome Etienne Calvel dans son Mémoire sur l'ajonc de 1809 : « *Cet arbuste, la principale, et souvent la seule ressource dans des terrains que la nature semblait avoir frappés d'une éternelle stérilité, offre, dans quelques endroits, des avantages précieux pour l'agriculture, avantages qui sont presque inconnus dans d'autres pays, ou qu'on néglige trop de se procurer. En me livrant au désir de les faire connaître, de rendre plus générale sa culture dans les terrains où la nécessité la réclame, je m'empresse de répondre à la confiance qui l'interroge. [...] Elle pourra fixer l'attention et l'intérêt de quelques propriétaires ou cultivateurs qui s'occupent, souvent sans succès, de tirer parti des terrains stériles ou infirmes*», et ce d'autant plus que « *Cette plante précieuse a l'avantage de résister, dans tous les climats, à l'intensité de la chaleur et du froid. On la voit prospérer sous l'équateur, comme dans les glaces du nord.* »

Dates des introductions et des invasions

L'ajonc a majoritairement été introduit au début du XIX^{ème} siècle, durant l'installation et l'expansion des colons européens. C'est le cas pour la Nouvelle-Zélande (Darwin, 1839), l'Australie (Parsons & Cuthbertson, 2001), le Chili (Opazo, 1930), et les Etats-Unis (Mack, 1991). L'ajonc a été introduit plus tard à Hawaï (probablement au début du XX^{ème} siècle ; Daehler, 2005), voire même très récemment en Colombie (en 1946 ; Leon *et al.*, 2009). L'ajonc a souvent été déclaré envahissant ou nuisible plusieurs dizaines d'années après son introduction. Par exemple, en Australie, il a été introduit au tout début du XIX^{ème} siècle, et a été officiellement déclaré comme peste végétale en 1900 (Ewart, 1909). Cette évolution progressive du statut de précieux auxiliaire agricole à celui de peste végétale est bien relatée par l'historien américain Thomas Isern (2007) : « *It proved to be, as a South Canterbury correspondent of the New Zealand Farmer pointed out in 1889, "a good servant but a tyrannous master" (New Zealand Farmer June, 1889). The first life of gorse in New Zealand, then, was that of the good servant—enclosing fields, sheltering livestock, and fashioning a comfort landscape for immigrant farmers. Its second life was that of a noxious weed, a persistent problem in the paddocks of a pastoral country. The third life, that of invasive*

species displacing native species, has prompted its designation, in the recent rhetoric of Kiwi ecology, as one of the “alien pests” destroying “our indigenous plants, animals, landscapes and seascapes” in “incomparable New Zealand”.»

Il semble que l'ajonc ait mis au moins quelques dizaines d'années avant de devenir envahissant. Ce pas de temps est cohérent avec l'existence d'une phase de latence dans le phénomène d'invasion (voir INTRODUCTION GENERALE). De plus, ces données montrent que les populations d'ajonc introduites ont eu entre 60 et 220 ans, selon les régions, pour s'adapter à leur nouveau milieu et s'étendre géographiquement.

Sources et modes d'introduction

Dans la plupart des cas documentés, l'introduction semble avoir été due à des colons européens plutôt du nord (britanniques principalement, et français pour La Réunion), même dans des pays d'Amérique du sud comme le Chili (Gay, 1846). De plus, toutes les références convergent vers une introduction de l'ajonc pour ses usages agricoles, principalement pour constituer des haies impénétrables entre les parcelles, et pour enclore le bétail. Une introduction volontaire par l'Homme d'une plante très utilisée est souvent synonyme d'introductions multiples et/ou massives. Ceci est confirmé dans le cas de l'ajonc, par le fait que son usage était encouragé (en Nouvelle-Zélande au moins), et que ses graines étaient distribuées et/ou vendues dans certaines régions, comme aux Etats-Unis, en Nouvelle-Zélande, et en Australie (Lee *et al.*, 1986 ; Mack, 1991 ; Parsons & Cuthbertson, 2001 ; Myers & Bazely, 2003 ; Isern, 2007).

En somme, l'ajonc a été introduit principalement par des colons de Grande-Bretagne et de Bretagne. Il l'a été pour ses usages agricoles, et donc de façon massive et très probablement répétée.

Conséquences pour le succès envahissant de l'ajonc

Ces résultats ont des conséquences directes sur la dynamique évolutive de l'invasion par l'ajonc, notamment en termes de diversité génétique. En effet, l'introduction d'un grand nombre de graines ou de plantes va permettre aux populations introduites d'avoir une bonne démographie. De plus, les introductions massives et/ou multiples chez les plantes fournissent souvent aux populations introduites une diversité génétique similaire à celle des populations natives (Dlugosch & Parker, 2008a). Enfin, étant donné l'échelle de temps de l'invasion par

l'ajonc, si des changements évolutifs sont détectés, ils résulteraient d'une évolution très rapide après l'introduction.

L'étude de la diversité génétique neutre (CHAPITRE 4), couplée à ces informations historiques, permettra de mieux comprendre le mode d'introduction, et son lien avec le potentiel évolutif des populations introduites. De plus, l'étude des changements évolutifs dans les populations introduites d'ajonc (PARTIE B), associée aux informations temporelles sur l'invasion par l'ajonc, permettra d'appréhender dans quelle mesure l'évolution a pu contribuer au succès envahissant de l'ajonc.

CHAPITRE 4

TWO COLONISATION STAGES GENERATE TWO DIFFERENT PATTERNS OF GENETIC DIVERSITY WITHIN NATIVE AND INVASIVE RANGES OF GORSE, *ULEX EUROPAEUS*

Ce chapitre fait l'objet d'un manuscrit soumis, par Hornoy B., Atlan A., Roussel V., Buckley Y. M., Tarayre M.

Résumé

Chez les espèces envahissantes, la diversité génétique et son mode d'introduction influencent la capacité des populations à persister et s'adapter dans leur nouvel environnement. La diversité introduite affecte le potentiel évolutif des populations, qui est potentiellement critique chez les espèces qui ont réussi à envahir une large gamme d'habitats et de climats, comme l'ajonc, *Ulex europaeus*. Cette plante, originaire de la péninsule ibérique, a colonisé l'Europe au Néolithique, et a été introduite durant les deux derniers siècles par l'Homme sur les autres continents, où elle est souvent devenue envahissante. Nous avons caractérisé la diversité génétique neutre et sa structure chez l'ajonc, dans sa zone d'origine et la zone envahie. En couplant ces résultats avec des données historiques, nous avons tenté d'identifier le mode d'introduction des populations d'ajonc et ses conséquences sur la diversité génétique. Notre étude se fonde sur le génotypage d'individus de 18 populations à six locus microsatellites. L'ajonc étant une espèce allohexaploïde, nous avons utilisé des outils récemment développés et qui prennent en compte l'ambiguïté génotypique. Nos résultats montrent que la diversité génétique neutre est très forte chez l'ajonc, et qu'elle est contenue principalement à l'intérieur des populations. Ils confirment de plus que la colonisation par l'ajonc s'est déroulée en deux phases. Durant la première phase, l'ajonc s'est répandu naturellement vers le nord de l'Europe à partir de l'Espagne, en perdant une partie de sa diversité génétique. Pendant la deuxième phase, l'ajonc a été introduit par l'Homme dans différentes régions du monde, à partir de l'Europe du nord (au nord de la péninsule ibérique). Ces introductions ont entraîné la perte d'allèles rares, mais n'ont pas significativement réduit la diversité génétique et donc le potentiel évolutif de cette espèce envahissante.

Introduction

Invasive species represent the second most important cause of loss of biodiversity across the world (Walker & Steffen 1997). To understand the mechanisms leading to invasion is thus an essential objective for the prevention and control of these biological invasions and for the conservation of biodiversity (Stockwell *et al.* 2003). A critical stage in the invasive success of an exotic species is its introduction, since the way this happens can affect the capacity of the species to persist and to adapt to its new environment. In fact the number of propagules introduced will influence the importance of the founder effect, the possibility of finding mates, the level of inbreeding, the demography of the colony and hence also genetic drift (Nei *et al.* 1975; Dlugosch & Parker 2008a). The introduction and bringing into contact of genotypes originating from differentiated populations from the native range can create new trait combinations (e.g., Lavergne & Molofsky 2007). Hence the number of introduction events and the number of propagules and their origin determine the amount of genetic diversity in the introduced populations of a given species, with consequences for response to selection (Müller-Scharer & Steinger 2004; Dlugosch & Parker 2008a). A single introduction of a few individuals will lead to a loss of diversity in the introduced populations compared with the native populations (e.g., *Hypericum canariense*, Dlugosch & Parker 2008b), whereas a massive and/or multiple introduction will produce similar diversity to that of the native populations (e.g., *Centaurea stoebe micranthos*, Marrs *et al.* 2008). In extreme cases, the introduction of propagules coming from different populations can lead to greater diversity in the introduced populations than in the native populations (e.g., *Anolis sagrei*, Kolbe *et al.* 2004). Without the help of man, the colonisation of new territories (in the native range or after introduction) mainly occurs gradually, and we usually observe a decline in genetic diversity due to successive founder effects (Hewitt 2000). In fact the colonising populations only contain a fraction of the genetic diversity of the source population, and because they are often of small size, undergo considerable drift after colonisation (Nei *et al.* 1975).

The study of neutral genetic diversity makes it possible to retrace the routes of introduction and of colonisation of a species, and to estimate the genetic diversity introduced. This in turn enables one to infer the evolutionary potential of populations, and also to find out whether non-selective processes (e.g., founder effects) have contributed to the evolution of the introduced populations (Amsellem *et al.* 2000; Lavergne & Molofsky 2007; Keller & Taylor 2008). In invasive species, several studies have therefore aimed to compare the diversity in

the introduced and native populations (reviewed in Bosssdorf *et al.* 2005; Dlugosch & Parker 2008a). In plants, most studies show a genetic diversity of the introduced populations similar to or greater than that of the native populations. The increase in diversity is attributed by the authors to multiple introductions from multiple sources, which can provide the introduced populations with a strong evolutionary potential (e.g., Kolbe *et al.* 2004; Marrs *et al.* 2008; Calsbeek *et al.* 2011). Certain studies however show a loss of diversity in the introduced populations (e.g., *Rubus alceifolius*, Amsellem *et al.* 2000), but even in this case, post-introduction evolution was sometimes observed (e.g., *Hypericum canariense*, Dlugosch & Parker 2008b). The capacity of species to respond to selection seems therefore to be a determining factor in their invasive success (Lee 2002; Lee & Gelembiuk 2008). This can explain why, in plants, the majority of invasive species are polyploids (te Beest *et al.* 2011). In fact in such species, in particular in allopolyploids (resulting from the hybridisation of different species), individuals bear numerous alleles per locus and can show fixed heterozygosity, increasing the genetic diversity introduced and reducing genetic drift (Ellstrand & Schierenbeck 2000; te Beest *et al.* 2011).

The evolutionary potential of introduced populations is a potentially very important element in species that have succeeded in invading a very wide range of habitats and climates, possibly even wider than in their native range. This is the case with gorse, *Ulex europaeus*, which has invaded very different geographical areas. This shrub originated in Europe, where it is found at sea level on the Atlantic coast, from Spain to Denmark (Tutin *et al.* 1968). In the invaded regions it is present at all latitudes, from the equator to 50°N and 54°S, and at altitudes from zero to more than 3500 metres. Its introduction has been mainly deliberate: gorse was used in Europe in pastoral practices (e.g., to make hedges or forage ; Calvel 1809; Cubas 1999), and it was introduced into European colonies mainly in the 19th century for agricultural uses (Darwin 1839; Gay 1846; Mack 1991; Parsons & Cuthbertson 2001). It is now considered by the International Union for Conservation of Nature as one of the world's worst invasive species (Lowe *et al.* 2000), causing problems in many regions in every continent, such as on the west coast of north and south America, Hawaii, the island of Reunion, Australia and New Zealand (Holm *et al.* 1997). Thus, to characterise genetic diversity of gorse in its native and invaded ranges would allow us to better understand the nature of the ecological and evolutionary processes behind the invasive success and the niche expansion of an introduced species.

In spite of the large number of studies on gorse in both the native and invaded regions, no study of its neutral genetic diversity has yet been undertaken. One of the reasons is that

gorse is an allohexaploid species ($2n=6x=96$ chromosomes; Misset & Gourret 1996), which complicates studies of its nuclear diversity (Clark & Jasieniuk 2011). Also, very few cytoplasmic diversity has been found in the *Ulex* genus (Cubas *et al.* 2005; Kader Ainouche pers. com.). However it has been shown that the phenotypic diversity is great, both in the native range and in the invaded regions (Hill *et al.* 1991; Tarayre *et al.* 2007; Hornoy *et al.* 2011), and that it has a genetic basis (Atlan *et al.* 2010). The study of genetic diversity in allopolyploids like *Ulex europaeus* has now become possible by methods recently developed for nuclear markers such as allozymes or microsatellites (Obbard *et al.* 2006; Falush *et al.* 2007).

Our objective is to obtain information on the action of neutral processes and on genetic diversity in populations of *Ulex europaeus*, to infer how it was introduced into the invaded regions and the evolutionary potential of the introduced populations. In this study we use nuclear microsatellite markers and recently developed analytical methods in order to answer the following questions (i) what are the diversity and the genetic structure in the regions of the native range? (ii) what are the diversity and genetic structure in the regions of the invaded range? (iii) what can we conclude about the modes of introduction and colonisation of gorse?

Materials and Methods

Study species

Gorse, *Ulex europaeus* ssp. *europaeus*, is a perennial plant that can live up to 30 years, and the adult plant can reach several metres high and wide (Chater 1931; Lee *et al.* 1986). Flowers are hermaphrodite, and are pollinated by large insects such as honeybees or bumblebees (Bowman *et al.* 2008). Seed dispersal occurs primarily by ejection from the pod within a few meters around the mother plant, but seeds can be further dispersed by ants, water, humans, mammals, and possibly birds and wind (Ridley 1930; Moss 1959; Hill *et al.* 1996). Seeds are very long-lasting, and may germinate over a period of up to 30 years (Moss 1959; Zabkiewicz 1976), forming very large perennial seed banks (Hill *et al.* 1996; Hill *et al.* 2001).

The genus *Ulex* belongs to the Genistae tribe. It is a young genus (four or five million years old), within which few cytoplasmic variation has yet been found (Cubas *et al.* 2005; Kader Ainouche pers. com.). The Iberian peninsula (Spain and Portugal) is regarded as the

centre of diversification of the *Ulex* genus, because it hosts a dozen *Ulex* species, with various ploidy levels (Feoli-Chiapella & Cristofolini 1981). Three of these species are found outside the Iberian Peninsula, but *Ulex europaeus* ssp. *europaeus* is the only species found outside Europe. This species is hexaploid ($2n=6x=96$ chromosomes, Misset & Gourret 1996) and originated from hybridisation between a tetraploid and a diploid ancestor belonging to two different *Ulex* lineages (Ainouche *et al.* 2003; Ainouche *et al.* 2009a).

Population sampling

Seeds used in this study were collected from 1999 to 2009 in gorse populations from its native range and from invaded regions (see Table 2). In Europe, seeds were sampled in three regions where gorse is very common: north western Spain, Brittany (western France), and Scotland. In the invaded range, we chose different regions where gorse is a serious weed and for which we could get seeds: Chile, New Zealand, Reunion (Indian Ocean), and the west coast of the USA. We aimed at sampling three populations per region, to estimate population diversity as well as regional genetic structure. However, we got only two samples from Chile, and one from California, resulting in a total of 18 populations analysed. Population names were encoded with the first letter of the population representing the region it comes from: E for Spain (*España*), B for Brittany, S for Scotland, C for Chile, Z for New Zealand, R for Reunion, and U for the USA.

In each population, gorse pods were collected separately on 30 individuals (except for Chilean populations where seeds were bulked per population). Seeds were kept for at least four months at 4°C to break dormancy. Then for each population, seeds from each individual were allowed to germinate and grow to small seedlings. One seedling per mother plant was retained for further analysis. DNA was extracted from aerial parts of these seedlings. We were able to extract and analyse 17 to 25 samples per population (see Table 2).

Microsatellite analysis

Aerial parts were ground in liquid nitrogen with a pestle and mortar, and total genomic DNA was then extracted with a NucleoSpin Plant II Kit (Macherey-Nagel), following the manufacturer's recommendations. DNA quality was checked on a 2% agarose gel, and extract samples were assayed using a ND-1000 spectrophotometer (NanoDrop®).

Eight nuclear microsatellite loci were developed from *Ulex europaeus* ssp. *europaeus* samples from Brittany by GIS (Genetic Identification Services, Chatsworth, California), and we then optimized PCR conditions for each locus (Table 1). We obtained clear results from six of them. All six appeared to be highly polymorphic, and displayed one to six alleles per individual, consistent with the hexaploidy of gorse.

PCR reactions were performed separately for each locus, in 25µL containing 12.5µL of 2X GoTaq[®] Colorless Master Mix (Promega), 0.20-0.35 µM of each primer (Table 1), 150ng template DNA, completed to 25µL with water. PCR included an initial denaturation step at 94°C for 3min, then 35 cycles with 40s denaturation at 94°C, 40s hybridisation of primers at T_m (Table 1), and 30s elongation at 72°C, with a final elongation step at 72°C for 4min, using a Mastercycler egradient S (Eppendorf).

For each locus, the forward primer was labelled with a fluorescent dye (Table 1). After PCR and before electrophoresis, two multiplexes were done: multiplex A involved loci A110, A125, and C12; multiplex B involved loci B4, B104, and B123. For each multiplex, 1.15µL of each PCR product was added to 10µL Hi-Di[™] Formamide (Applied Biosystems), containing 3% GeneScan[™] -500 LIZ[®] Size Standard (Applied Biosystems). Electrophoresis was then performed for each multiplex in a ABI PRISM[®] 3130x genetic analyser (Applied Biosystems - Hitachi), using POP-7[™] polymer (Applied Biosystems). Electrophoretic profiles were captured with the software ABI 3130xl Data Collection (Applied Biosystems), and allele scoring was performed manually in GeneMapper v4.1 (Applied Biosystems).

Data analysis

In polyploid species (e.g., hexaploid), microsatellites are not codominant markers: for each locus, the exact genotype could only be scored for homozygous individuals (bearing a single allele) or fully heterozygous individuals (bearing six different alleles). For the other individuals (bearing two to five alleles), there is a genotype ambiguity. For example, in an individual bearing alleles A, B and C at a locus, we cannot distinguish between 10 different genotypes (AAAABC, ABBBBBC, ABCCCC, etc). Although methods have been developed to infer allele copy number from peak dosage (Esselink *et al.* 2004), they are impracticable in high order polyploids such as *U. europaeus* (Helsen *et al.* 2009). Because allele and genotype frequencies cannot be estimated, it is impossible to use classical diversity and structure statistics such as H and F_{ST} . Instead, we used phenotype-based methods recently developed for polyploids (Obbard *et al.* 2006; Falush *et al.* 2007) which proved to be useful in

comparing genetic diversity and genetic structure at microsatellite loci between regions in plant species (e.g., Hamilton & Eckert 2007; Marrs *et al.* 2008).

Estimation of genetic diversity

Diversity was estimated within populations, regions, and within native and invaded ranges, as the mean number of alleles found per locus, as the number of alleles found across the six loci (A_e), and as the number of private alleles (found in only one population, or region, or range), which are statistics not affected by genotype ambiguity. We also used the recently-developed phenotype-based diversity statistic H' , which is defined as the number of alleles by which pairs of individuals differ, averaged over the loci (Obbard *et al.* 2006). This statistic was compared among regions (and ranges) by randomizing populations between regions or ranges 1000 times, and the p-value was the probability that the observed difference in diversity was greater than 95% of all randomized differences. Diversity statistics and permutation tests were computed with the FDASH software (Obbard *et al.* 2006).

Estimation of genetic structure

The F_{ST} value is a differentiation statistic based on H' : after estimating H' at the population and at the region levels, F'_{ST} was computed as $1 - (\text{mean } H'_{\text{pop}}) / H'_{\text{reg}}$. This estimate is analogous to and behaves like F_{ST} (Obbard *et al.* 2006). The F'_{ST} values were compared between ranges with 1000 permutations using FDASH. To test if geographical distance could reflect genetic distance, we performed a regression of pairwise F'_{ST} between populations on their pairwise geographical distances, and tested its significance with a Mantel's test (1000 permutations), using GENALEX 6.41 (Peakall & Smouse 2006).

We determined the hierarchical structure of genetic diversity among regions within ranges, among populations within regions, and among individuals within populations with an analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier *et al.* 1992) in GENALEX 6.41. To do so, we considered each allele as a single locus with two states, present or absent, as for dominant markers such as AFLP. Based on this presence/absence matrix, genetic variation was partitioned between regions, populations, and individuals (Huff *et al.* 1993). Differentiation statistics (Φ -statistics; Excoffier *et al.* 1992) were computed for each hierarchical level, and were tested for significance by 1000 permutations of individuals in the dataset, in GENALEX 6.41.

Genetic structure across native and introduced populations was investigated using the Bayesian clustering algorithm developed by Pritchard *et al.* (2000), which is now available for polyploids in the software STRUCTURE version 2.3.2 (Falush *et al.* 2007). This method aims at clustering individuals in K genetic groups, using the multi-locus genotypes of the individuals. It minimizes linkage disequilibria and departures from Hardy-Weinberg expectations within the K clusters. With polyploid data, where genotype ambiguity exists, the algorithm creates a full genotype for each individual based on the different alleles scored and the frequencies of individuals bearing them (Falush *et al.* 2007). We performed five independent runs with different proposals for K , testing each possible K from 1 to 18 using 100,000 iterations after a burn-in period of 50,000 iterations. All runs were conducted with the admixture model, and assuming correlated allele frequencies (Pritchard *et al.* 2000; Falush *et al.* 2003), without prior information on the population of origin of the individuals. To ensure convergence of the Markov Chain Monte Carlo (MCMC), the consistency of results was checked for the five replicates performed for each value of K . The most probable number of clusters (K) was then determined using the change in log likelihood of data between successive values of K , as described in Evanno *et al.* (2005).

Finally, to sum up and visually represent genetic variation between populations, we used pairwise F'_{ST} values, computed with FDASH, to perform a principal coordinate analysis (PCoA) with GENALEX 6.41. This method aims at producing a few axes containing most of the genetic variation in the dataset, and separating the populations. We also used the recently-developed Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC), which is a multivariate analysis aiming at identifying and describing clusters of genetically related individuals (Jombart *et al.* 2010).

Results

General analysis

Across the 412 genotyped individuals that could be analysed, we found 182 different alleles across the six loci. The total number of alleles per locus varied from 13 to 53, and H' ranged from 1.35 to 6.35 depending on the locus (Table 1). The estimates of genetic differentiation

were of the same order of magnitude for all loci, with F'_{ST} varying from 9.6% to 15.5% (Table 1). In the population analysis, we provide only the values averaged for all loci.

Some diversity statistics, such as the number of alleles found, can be sensitive to sample size. We thus performed all the analyses both with the total number of individuals per population, and for only 17 random individuals per population (the lowest sample size in our dataset). As expected, the diversity statistics were slightly lower with only 17 individuals per population relative to the entire dataset, but the observed patterns of difference between populations, regions, and ranges, were exactly the same, so results from the complete dataset are presented.

Table 1 - Characteristics of the six microsatellite loci used in the study.

Locus	Primers	Dye	[Primers] (μ M)	T_m ($^{\circ}$ C)	Allele size range (bp)	Number of alleles	H'_T	F'_{ST}
A110	F: 5' CTA TGG TGA ATT TGT GAT ACA C 3' R: 5' ACC TTG TTG CAT CTT TAC C 3'	PET	0.35	52	128-152	22	4.40	0.092
A125	F: 5' GCA TAT ACA TAC CCG AGG TAA G 3' R: 5' AAC CTG ATG AAA TGC ACT ATT C 3'	NED	0.26	58	152-232	53	6.54	0.096
B4	F: 5' GGG CTC TGG CTC TGA TAC 3' R: 5' TTG GAT TAA CCA ACT TTC CTC 3'	6-FAM	0.20	53	101-137	13	1.35	0.136
B104	F: 5' GAA CCT TAT TCA CTG GAA TCT G 3' R: 5' CCC TTT TCT TTC CTT TCT TAA C 3'	VIC	0.30	53	122-188	30	4.13	0.122
B123	F: 5' AAT TTG CCT GAC ATT GTT ACT C 3' R: 5' AGA CCG TGT TCA TTA TGG TTA G 3'	NED	0.22	53	206-269	48	6.35	0.116
C12	F: 5' GGA AAA TGG GAA GTT CTA AGG 3' R: 5' CCA CAG AAT TGA GGC AGT C 3'	VIC	0.30	50	120-320	16	1.77	0.155

H'_T : phenotype-based diversity statistics of Obbard *et al.* (2006) calculated across all individuals

F'_{ST} : phenotype-based differentiation statistics of Obbard *et al.* (2006) between all 18 populations

Genetic diversity

The total number of alleles across the six loci (A_e) ranged from 55 alleles in RLB to 109 alleles in ELA. Total H' was 4.12, ranging from 2.74 in RLB to 4.36 in ELA (Table 2). Values of A_e and H' were strongly correlated ($R_{\text{Spearman}}=0.91$, $P<0.0001$). Hereafter, we mainly discuss results of number of alleles and private alleles, which are not affected by genotype ambiguity.

In Europe, we found 179 different alleles, ranging from 61 in SST to 109 in ELA. Regional A_e displayed a gradient from south to north Europe, with 156 alleles in Spain, 115 in Brittany, and 91 in Scotland (Figure 1). The mean number of alleles per locus within populations differed significantly among these three regions (Spain: 17.47, Brittany: 14.25, Scotland: 11.74; 1000 permutations, $P < 0.001$). When considering the 182 alleles of the whole dataset, 60 were private to Europe, of which 47 were private to Spain, 7 were private to Brittany, and none were private to Scotland (Table 2). When reducing the dataset to European regions only, we found 57 alleles private to Spain, 8 alleles private to Brittany, and 2 alleles private to Scotland, revealing the same northward gradient as for total numbers of alleles found.

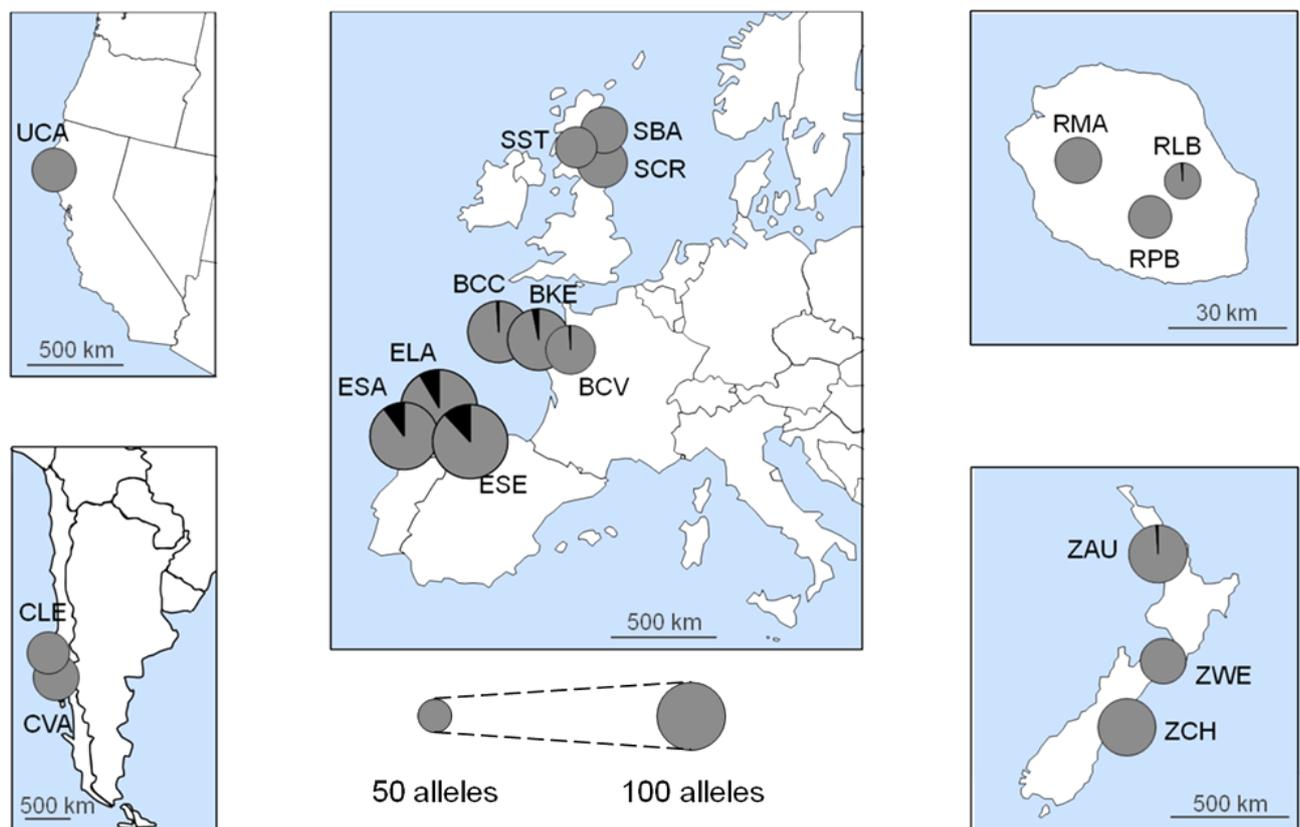


Figure 1 - Map of genetic diversity of the populations sampled. Circles represent the total number of alleles found across the six loci, in each population. The black area within each circle represent the number of private alleles. See also Table 2.

In the invaded range, we found 122 different alleles, ranging from 55 in RLB to 86 in ZCH. Regional A_e was similar in populations from Chile, Reunion, and California, but was

much higher in New Zealand (Table 2). Out of 182 different alleles found across the whole dataset, only three were private to the invaded range, one was private to Reunion and one to New Zealand (Figure 1). The mean number of alleles per locus found within populations was lower in the invaded populations (11.70 alleles) than in Europe (14.69 alleles). This difference was significant (FDASH, 1000 permutations, $P=0.02$).

Genetic structure

In Europe, population differentiation within regions, as estimated with F'_{ST} , ranged from 0.032 to 0.048 (Table 2). Pairwise comparisons of F'_{ST} between populations varied greatly (mean pairwise $F'_{ST}=0.060\pm 0.034$), but were not influenced by geographic distance between populations (Mantel's test: $R=-0.037$; 1000 permutations, $P=0.43$). Analysis of molecular variance revealed that in Europe, 90.83% of genetic variation laid within populations, while less than 5% of variation laid between populations within regions, and less than 5% laid between regions (Table 3).

In the invaded regions, F'_{ST} ranged from 0.026 to 0.148, and was not significantly different from the native range (native range: $F'_{ST}=0.099$, invaded range: $F'_{ST}=0.113$; 1000 permutations, $P=0.74$). Analysis of molecular variance revealed that 88.60% of genetic variation laid within populations, while 10.08% laid between populations within regions and only 1.32% laid between regions. In both ranges, ϕ -statistics were highly significant, meaning that genetic variation observed between populations and between regions was significantly different from zero.

The population clustering algorithm of STRUCTURE resulted in the most probable number of clusters being $K=2$. In the native range, individuals from Spain were all very strongly assigned to the first cluster, while populations from Brittany and Scotland displayed mixed assignment to the two clusters (Figure 2a). In the invaded range, Chilean population CLE was mainly assigned to the Spanish cluster, while other introduced populations displayed mixed assignment to the two clusters (Figure 2b). In short, populations can be divided into two groups, the first group including the Spanish populations and the Chilean population CLE, and the second group including all other populations.

Table 2 - Location of populations and genetic diversity per population, region, and range.

	GPS coordinates	N	A_e	Private alleles	H'	F'_{ST}
Native range		202	179	60	4.25	0.099
Spain		72	156	47	4.29	0.045
ELA	43.7°N - 07.8°W	25	109	10	4.36	
ESA	42.9°N - 08.5°W	24	108	12	3.90	
ESE	42.9°N - 07.1°W	23	97	13	3.91	
Brittany		71	115	7	4.14	0.032
BCC ^b	48.1°N - 04.5°W	25	90	1	4.08	
BCV ^b	48.0°N - 01.6°W	22	73	1	3.69	
BKE ^b	48.0°N - 03.2°W	24	91	3	4.21	
Scotland		59	91	0	3.66	0.048
SBA ^{a,b}	57.1°N - 02.5°W	17	70	0	3.61	
SCR ^{a,b}	56.1°N - 02.6°W	24	75	0	3.65	
SST ^{a,b}	56.0°N - 03.9°W	18	61	0	3.14	
Invaded range		210	122	3	3.91	0.113
Chile		47	88	0	3.76	0.148
CLE ^a	37.6°S - 73.6°W	23	63	0	2.84	
CVA ^a	39.8°S - 73.2°W	24	69	0	3.53	
Reunion		72	87	1	3.41	0.079
RLB ^b	21.1°S - 55.6°E	25	55	1	2.74	
RMA ^b	21.1°S - 55.4°E	24	69	0	3.38	
RPB ^b	21.2°S - 55.6°E	23	64	0	3.21	
New Zealand		67	103	1	4.18	0.026
ZAU ^{a,b}	36.3°S - 175.1°E	25	85	1	4.13	
ZCH ^b	43.6°S - 172.5°E	23	86	0	4.22	
ZWE ^b	41.3°S - 174.9°E	19	69	0	3.76	
USA						
UCA	39.4°N - 123.8°W	24	66	0	3.32	
Total		412	182		4.12	0.119

^apopulations studied in Buckley *et al.* (2003), ^bpopulations studied in Hornoy *et al.* (2011)

N: number of genotyped individuals

A_e : number of alleles found across the six loci

Private alleles is the number of alleles, across the six loci, that are found only in the considered subsample

H' : phenotype-based diversity statistic of Obbard *et al.* (2006)

F'_{ST} : phenotype-based differentiation statistic of Obbard *et al.* (2006)

Table 3 - Results of the analysis of variance within each range.

Source	Variance	% total	ϕ -statistics
Native range			
Among regions	0.641	4.26	$\phi_{RT} = 0.043$ ***
Among populations within regions	0.740	4.91	$\phi_{PR} = 0.051$ ***
Within populations	13.685	90.83	$\phi_{PT} = 0.092$ ***
Invaded range			
Among regions	0.186	1.32	$\phi_{RT} = 0.013$ ***
Among populations within regions	1.428	10.08	$\phi_{PR} = 0.102$ ***
Within populations	12.547	88.60	$\phi_{PT} = 0.114$ ***

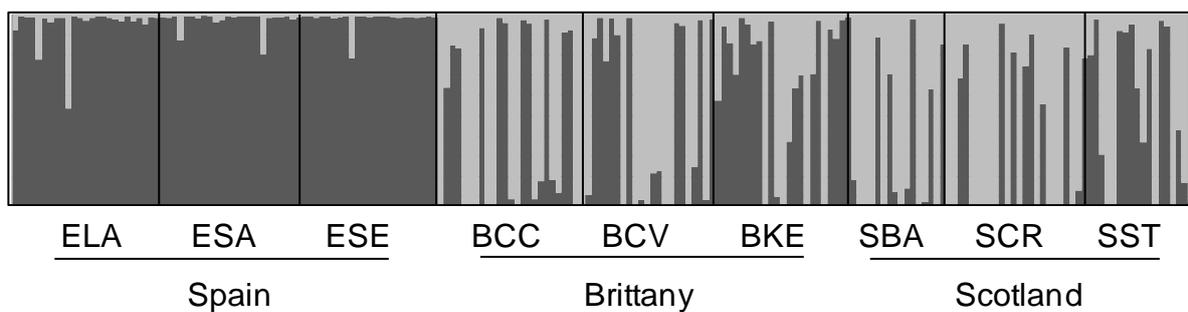
***: P=0.001

Principal coordinate analysis based on pairwise F'_{ST} comparisons between populations produced two axes explaining 41.40% and 21.50% of the genetic variation, respectively (Figure 3). Considering the two-dimensional space of genetic variation, there was great genetic variation in Europe, mainly between Spain on one hand, and Brittany and Scotland on the other. Genetic variation between introduced populations was lower, except that CLE appeared very different from the other introduced populations. The first axis separated the three populations of Spain and population CLE of Chile, from the other populations (Figure 3), consistently with the results of STRUCTURE. The second axis separated population CLE of Chile and population RLB of Reunion from a main group that contains all the other populations. In the European populations of that group, the second axis separated Brittany from Scotland. In the invaded populations of that group no clear pattern appeared (Figure 3). DAPC identified five genetic clusters: one comprising nearly all individuals from Spanish populations, one comprising nearly all individuals from the Chilean population CLE, and the three other clusters comprising a mix of the remaining individuals. Projection of the individuals on the first two principal components revealed a pattern roughly similar to the one found with the PCoA: the cluster corresponding to the Spanish populations and the cluster corresponding to CLE outlied, while the rest of the individuals were pooled in the same group.

Since results from coordinate analysis, from DAPC, and from STRUCTURE revealed that Spain formed a group differentiated from the other European populations, we compared

genetic diversity by separating Spain from the Brittany-Scotland group. The total number of alleles (A_e) found was 156 in Spain ($N=72$), 122 in Brittany-Scotland ($N=130$), and 122 in the invaded range ($N=210$). When reducing the number of samples to a random subset of 72 (the minimum sample size in the three compared groups), we found 156 alleles in Spain, 110 in Brittany-Scotland, and 104 in the invaded range. The mean number of alleles per locus within populations was 17.47 in Spain, 13.13 in Brittany-Scotland, and 11.70 in the invaded range. It was significantly higher in Spain than in Brittany-Scotland (FDASH, 1000 permutations, $P=0.007$) and than in the invaded range (1000 permutations, $P<0.0001$). By contrast, the difference between Brittany-Scotland and the invaded range was not significant (1000 permutations, $P=0.21$).

a) Native range



b) Invaded range

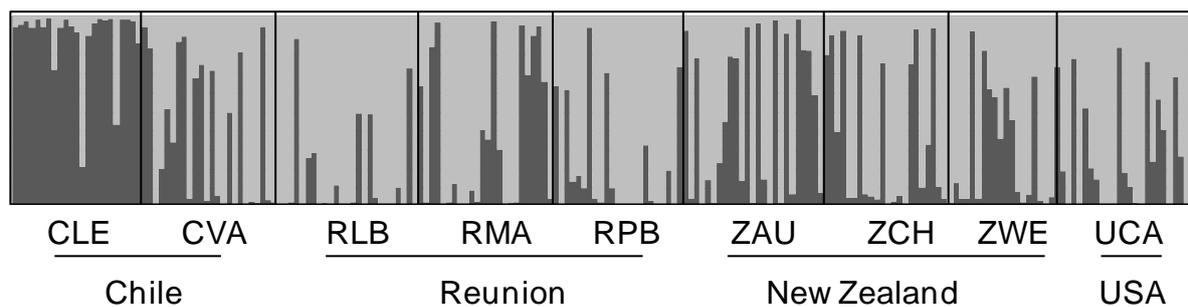


Figure 2 - Assignment probabilities of membership to the two inferred clusters, based on the multilocus genotypes. Each individual is represented as a vertical line with proportional assignment to cluster 1 in dark grey, and proportional assignment to cluster 2 in light grey. Vertical black lines separate the individuals from the different sampled populations.

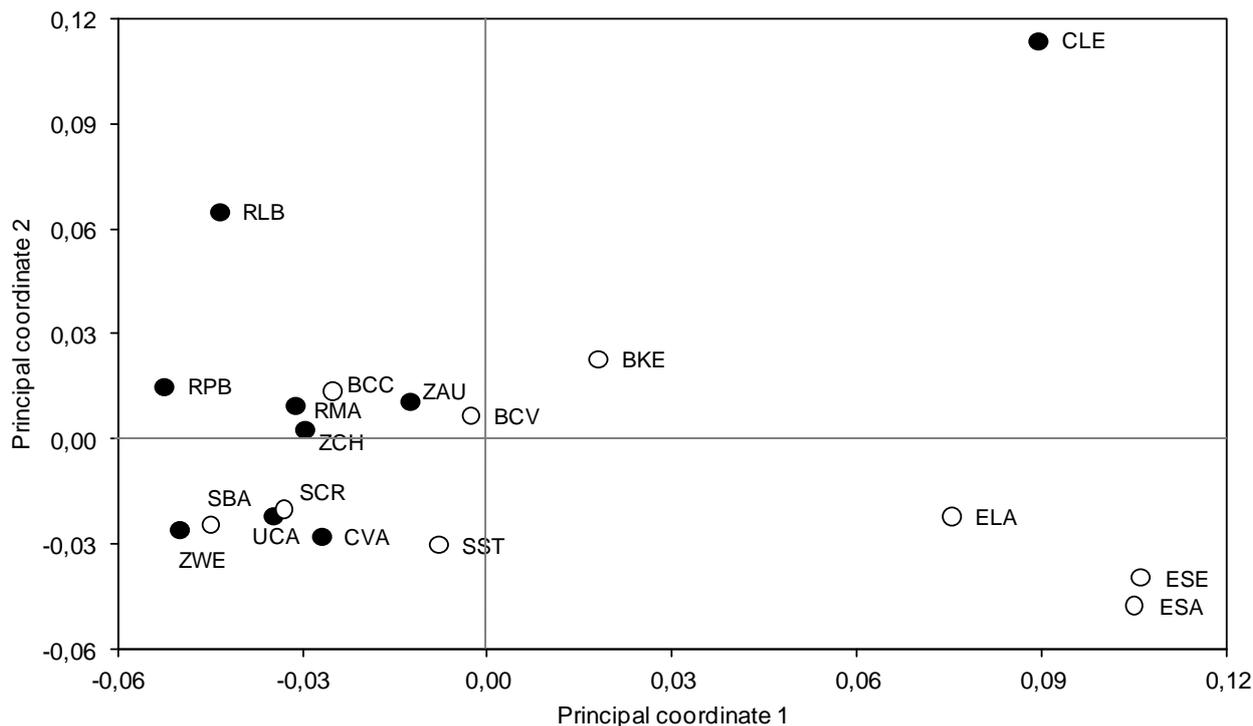


Figure 3 - Principal coordinate analysis based on pairwise F'_{ST} between the sampled populations. Open circles: native populations, closed circles: introduced populations.

Discussion

Although with polyploids the study of neutral genetic diversity can be complicated by genotype ambiguity (Clark & Jasieniuk 2011), recently developed methods have proven useful in estimating genetic diversity and its spatial structure (e.g., Hamilton & Eckert 2007; Marrs *et al.* 2008). Here, we found very congruent patterns of genetic diversity and structure between different methods. Further, these results were also very congruent with the existing historic data on gorse colonisation and history of introduction, giving us high confidence in the results of these analyses.

Genetic diversity in Europe

In Europe, the native range of *Ulex europaeus* ssp. *europaeus*, we have found very wide neutral genetic diversity within populations. This may result from the allohexaploid nature of

gorse, which means that each individual can carry up to six alleles at each locus. However other studies on allohexaploid species have found a genetic diversity (H') less than that found in gorse (e.g., in *Geum triflorum*, Hamilton & Eckert 2007; and in *Festuca arundinacea*, Sharifi Tehrani *et al.* 2009). The fact that gorse is an allogamous and a perennial species (living up to 30 years; Lee *et al.*, 1986) can also explain the high diversity observed (Nybom 2004). Also, gorse has a very large seed bank (several thousand seeds per square metre; Richardson & Hill 1998) which is long-lived (retaining a high germination capacity for 30 years; Moss 1959). Genetic diversity is thus maintained in two perennial reservoirs, the plants and the seeds, increasing the effective population size and limiting the loss of diversity by genetic drift (Loveless & Hamrick 1984; Honnay *et al.* 2008; Lundemo *et al.* 2009).

Genetic diversity and the number of private alleles are greatest in Spain. They decrease strongly from Spain to Brittany and less from Brittany to Scotland. This south-north gradient can be explained by the fact that the Iberian peninsula is the centre of origin of *Ulex europaeus* (Feoli-Chiapella & Cristofolini 1981). The smaller genetic diversity observed towards the north of Europe is in agreement with the colonisation (or recolonisation) of Europe by gorse from the Iberian peninsula. This colonisation probably took place 10,000 years ago when the icecap began its retreat from Europe. The sea level at that time allowed a land bridge between the north of Spain, Brittany and the British isles, allowing Iberian species to colonise Europe, despite the Pyrenees (Hewitt 2000). In fact the colonisation of Europe by gorse has mainly occurred since the Neolithic, with the deforestation by man and the expansion of the use of heathlands for agricultural purposes (Webb 1998). In Brittany, pollen profiles show that gorse really increased in abundance since the bronze age, at the expense of forest trees (van Zeist 1963, 1964). This natural (re)colonisation would have resulted in a loss of important genetic diversity because of successive bottlenecks (Hewitt 1996). Heather (*Calluna vulgaris*), a heathland plant often associated with gorse, shows moreover the same pattern of decreasing diversity from Spain to Scotland, also suggesting a loss of diversity during the colonisation of Europe from the Iberian peninsula (Mahy *et al.* 1997, 1999).

Genetic structure in Europe

The among-population genetic diversity is less than 5% within each region, and less than 10% on the scale of the three European regions studied, which represents a relatively small differentiation of populations. This weak genetic structure between populations could be due to gene flow between populations, and/or weak genetic drift. At the regional scale, gene flow

is possible between adjacent populations, but contemporary gene flow is less likely between regions as they are at least 500 km apart and separated by the natural barriers of the Pyrenees and the English Channel. Finally, hexaploidy and the longevity of gorse and its seed bank increase the effective size of the populations and limit the effects of drift, thus slowing down the differentiation of the populations (Loveless & Hamrick 1984; Honnay *et al.* 2008).

The absence of a link between the geographical distance and the genetic distance between the European populations may thus result from the neutral genetic dynamic of this species. However the allopolyploid character of gorse can also create an artefact which prevents the detection of such a relationship. In fact the genome of this species is formed from the union of at least two different genomes, and it is possible that the same genome in two different populations is more alike than two different genomes in a given population, thus masking the phylogeographic signal.

Introduced genetic diversity

In general, the genetic diversity found in the introduced populations is less than that of the European populations. However this difference only applies if Spain is included in the comparison, and our data seem to show that the introduced populations studied (except CLE from Chile) are genetically much closer to the Brittany-Scotland group than that of Spain. Also, introductions from France and Great Britain are in accord with the historical data. In fact gorse would have been imported into Reunion by the French, who colonised the island from 1665 (Gay 2007); into New Zealand by the British before 1835 (Darwin 1839; Isern 2007), and onto the American west coast from Ireland before 1912 (Pryor & Dana 1952). The case of Chile is unusual, as it was colonised mainly by the Spaniards (Loveman 2001), but gorse would have been introduced there at the beginning of the 19th century by the English botanist John Miers (Gay 1846).

The evolution of genetic diversity at the time of the introduction can therefore be observed by comparing the introduced populations with those of the Brittany-Scotland group. The two ranges exhibit similar diversities, suggesting that there had been no significant loss of diversity when gorse was introduced into the invaded regions studied. This probably results partly from the deliberate nature of the introduction of gorse by man for agricultural purposes (Opazo 1930; Pryor & Dana 1952; Mack 1991; Isern 2007). Gorse seeds were even sold or distributed, for example in the United States (Mack 1991) and New Zealand (Myers & Bazely 2003; Isern 2007). The great genetic diversity found outside Europe implies that most of the

introduced populations have not experienced a major bottleneck, and that the evolutionary potential of these populations is quite similar to that of the native populations. In fact although the introduced populations contain fewer total alleles and fewer private alleles, the distribution of quantitative traits in populations is relatively insensitive to the loss of rare alleles (Dlugosch & Parker 2008a). In the native range of gorse there is a lot of genetic variance for traits linked to growth, phenology and reproduction (Atlan *et al.* 2010). The present results suggest that this large variability was introduced in the invaded regions, which would agree with the high phenotypic diversity observed in the invaded regions. (Hill *et al.* 1991; Hornoy *et al.* 2011). This would also explain why gorse populations were able to adapt rapidly to such a variable geographical and climatic range.

Genetic structure in invaded regions

The genetic structure in the invaded regions is not significantly different from that found in Europe, although it varies between regions. The historical data can also help us interpret the differences observed between the invaded regions, notably the fact the largest genetic variation is found in Chile and the smallest in New Zealand. In Chile, this strong differentiation is due to the coexistence of CVA, a population associated with the Brittany-Scotland group, and CLE, the only population in our study associated with the Spanish genetic group. The Chilean populations would therefore have two different origins, one in Great Britain, possibly *via* the English botanist John Miers (Gay 1846), the other Spanish, probably *via* the main colonists. A larger sampling of this zone would be necessary to estimate the contribution of each origin. A complex origin of Chilean populations was also observed for another invasive species native to Europe, scotch broom *Cytisus scoparius* (Kang *et al.* 2007). In New Zealand, the weak differentiation among gorse populations over a large geographical area is in accord with the fact that planting of gorse hedges was encouraged, and the seeds widely distributed or sold (Lee *et al.* 1986; Myers & Bazely 2003; Isern 2007). Although the genetic diversity of the different invaded regions is similar, the history of introduction and spread of gorse has strongly influenced the intensity of population differentiation within the invaded regions.

Conclusion

Our results indicate a colonisation of gorse from its centre of origin, the Iberian peninsula, in two stages. During the first stage, the species spread naturally from Spain towards France and Great Britain, probably in the Neolithic. This colonisation of northern Europe was accompanied by a significant loss of genetic diversity. However the initial diversity was such that the diversity in northern Europe is still considerable. During the second stage, mainly from the 19th century, gorse was deliberately introduced by man into different regions of the world. These introductions would have been mostly massive, and mainly from northern Europe. They could have involved the loss of rare alleles, but without significantly reducing genetic diversity and therefore the evolutionary potential of the species.

The tools developed recently for the study of polyploids have therefore allowed important information to be obtained on gorse's genetic diversity, even though it is impossible to characterise the genotypes. These results, coupled with the historical data, have made it possible to retrace numerous elements of the history and of the genetic consequences of the worldwide introduction of an invasive, whose allopolyploidy and absence of cytoplasmic diversity make a classical phylogeographical study fundamentally difficult. They open up an interesting way to study other polyploid invasive species with similar properties.

Acknowledgements

The authors thank Louis Parize, Stéphane Dréano, and Dominique Vallet for technical assistance, Kristina Schierenbeck and Magui Basanta for providing seed samples, Eric Petit, Alex Baumel, Julie Jaquiéry, Jean-Francois Arnaud, Annie Guiller, and Kader Ainouche for helpful discussions and comments on the manuscript.

PARTIE B

EVOLUTION DE L'AJONC LORS DU PROCESSUS D'INVASION

L'objectif de cette partie est d'explorer le lien entre changements évolutifs et succès envahissant chez l'ajonc. La démarche a consisté à comparer des populations de régions d'origine et de régions envahies.

Le CHAPITRE 5 fait la synthèse des données disponibles sur les traits liés à la reproduction et la croissance dans les populations d'ajonc de diverses régions du monde. Les autres chapitres se basent sur des comparaisons en jardin expérimental et s'appuient sur la théorie d'évolution des défenses en l'absence d'ennemis naturels. Le CHAPITRE 6 compare les traits d'histoire de vie des ajoncs et leur plasticité. Le CHAPITRE 7 s'intéresse au comportement du principal ennemi de l'ajonc, le charançon *Exapion ulicis*. Enfin, le CHAPITRE 8 compare les défenses chimiques des ajoncs des différentes régions.

Le jardin expérimental utilisé (Figure 13) a été conçu et mis en place avant mon arrivée dans l'équipe. Les régions d'origine choisies sont la Bretagne et l'Ecosse, deux des régions dont sont originaires les ajoncs dispersés dans le monde, et la Nouvelle-Zélande et la Réunion, deux des régions colonisées par les ajoncs depuis plus de deux siècles. Dans chaque région, trois populations ont été échantillonnées, et dix individus ont été plantés dans le jardin expérimental de façon randomisée, soit un total de 120 ajoncs qui ont commencé à fleurir à l'automne 2008, au début de ma thèse.



Figure 13 - Jardin expérimental utilisé dans la comparaison des ajoncs des régions d'origine et envahies. A gauche : ajonc en fleurs en avril 2009 (individus de trois ans). A droite : ajoncs en gousses et en croissance végétative fin juin 2010 (individus de quatre ans). Les 120 individus sont randomisés sur trois plates-bandes.

CHAPITRE 5

SYNTHESE SUR LES POPULATIONS D'AJONC DANS LE MONDE

Introduction

La comparaison des populations natives et introduites d'une espèce envahissante permet de savoir si des changements ont eu lieu après introduction, et s'ils peuvent expliquer son succès envahissant. Chez les plantes, on s'attend à ce que les traits sélectionnés après l'établissement dans une région soient principalement la phénologie de floraison, l'effort reproducteur, la croissance, et les défenses contre les ennemis naturels (Blossey & Nötzold, 1995 ; Müller-Scharer & Steinger, 2004). Et en effet, on observe chez beaucoup d'espèces de plantes envahissantes une évolution après introduction de ces traits (revues dans Müller-Scharer & Steinger, 2004 ; Bossdorf *et al.*, 2005 ; Orians & Ward, 2010).

Ces changements peuvent être dus à la dérive génétique (notamment lors de la fondation), à une évolution par tri des génotypes au moment de l'introduction et/ou par sélection après introduction, ou encore à de la plasticité phénotypique. Pour savoir si des changements (plastiques ou évolutifs) ont contribué au succès envahissant d'une espèce, il faut donc comparer les traits liés à la croissance, la reproduction, et les défenses, entre populations natives et introduites *in situ*. L'origine plastique ou évolutive de ces changements pourra être déterminée à partir d'une comparaison en jardin expérimental.

L'objectif de cette synthèse est de recenser les données quantitatives disponibles sur les traits de *Ulex europaeus* dans les populations naturelles du monde entier, dans le but de pouvoir les comparer entre elles, et si possible avec les données de notre jardin expérimental (voir CHAPITRES 6, 7 ET 8). Si les données sont suffisamment complètes, elles permettront de répondre à la question : est-ce que les populations d'ajonc introduites diffèrent des populations d'ajonc natives pour des traits liés à la croissance, la reproduction, et les défenses contre les ennemis naturels ?

Matériel et Méthodes

Recherche bibliographique

La recherche dans la littérature a été effectuée à partir de plusieurs moteurs de recherche bibliographiques ou génériques, en utilisant en mots-clés le nom latin de l'ajonc, et son nom vernaculaire en anglais, français, espagnol et portugais. Les références citées dans les publications trouvées ont aussi été inspectées pour trouver d'autres publications liées. La plupart des publications trouvées concernent des études dans les régions envahies, dans une optique de restauration des milieux envahis ou de contrôle biologique de l'ajonc.

J'ai contribué à l'acquisition d'une partie des données en Bretagne et à La Réunion par notre équipe. Exceptées ces dernières, peu de données ont été générées dans la zone d'origine de l'ajonc. Enfin, une étude a déjà consisté en une comparaison globale des populations naturelles d'ajonc, celle de Buckley *et al.* (2003) sur la masse des graines.

Choix des traits

Etant donné que la plupart des études sur l'ajonc d'Europe ont pour cadre le contrôle biologique, principalement par les prédateurs de graines comme le charançon spécifique *Exapion ulicis*, les traits les plus communément mesurés sont : le taux de destruction des graines ou d'infestation des gousses, le nombre de graines par gousse, et la phénologie reproductive. Les données sur la croissance sont beaucoup plus rares, et concernent dans la plupart des cas la hauteur des plantes. Nous avons choisi de considérer les traits suivants: (i) la période et le pic de floraison, (ii) la hauteur des plantes adultes, (iii) le nombre de graines par gousse. Ces traits ont l'avantage d'être explicites et donc toujours mesurés de la même manière, si bien que même si les données proviennent de différentes études, le biais lié à la méthode de mesure est relativement limité. Le taux de parasitisme des gousses a été écarté, car au sein d'une même population, il augmente fortement au cours de la saison (Barat *et al.*, 2007 ; Davies *et al.*, 2008 ; Atlan *et al.*, 2010), si bien qu'il est difficilement comparable entre études. Le nombre de graines par gousse varie aussi au cours de la saison, mais ne montre pas forcément de tendance particulière (Atlan *et al.*, en préparation), si bien qu'aucun biais systématique n'est attendu, contrairement au taux d'infestation des gousses. Cette variable est donc retenue, mais l'analyse en résultant sera interprétée avec d'autant plus de prudence.

Pour chaque site d'étude pour lesquels nous avons extrait des données, nous avons également reporté les coordonnées GPS des populations, et l'altitude. Ces données sont souvent présentes dans la description des sites des publications concernées. Quand ce n'était pas le cas, les coordonnées ont été recherchées grâce à Google Map à partir du nom du site. Quand elle manquait, l'altitude des sites a été recherchée sur internet, quand cela était possible, et que le site n'était pas situé sur une pente à forte inclinaison, pour limiter l'erreur dans cette approche. Enfin, quand les données proviennent globalement d'une région assez large (par exemple la Colombie Britannique), les coordonnées prises étaient celles d'un site où l'on sait l'ajonc présent, de par la description des auteurs. Cette approche de complétion des coordonnées géographiques nous semble appropriée, étant donné que nous ne cherchons pas à caractériser des variations clinales fines, mais plutôt des variations à grande échelle (entre régions et continents).

Analyses numériques

Dans les publications trouvées, et pour chaque trait sélectionné, nous avons reporté, lorsque disponible : la taille d'échantillonnage, la gamme de valeurs du trait, la moyenne, l'écart-type. Pour la phénologie, la donnée la plus souvent reportée est la période de floraison, et plus rarement le pic. Quand la période floraison était reportée en figure, nous en avons aussi déterminé le pic, quand il n'était pas clairement déterminé dans le texte. Pour la hauteur des plantes, la donnée la plus reportée est la gamme de hauteur des plantes et l'effectif, et plus rarement la moyenne. Enfin, concernant le nombre de graines par gousse, la donnée la plus reportée est la moyenne et l'effectif, avec parfois un écart-type.

La gamme des valeurs n'a pas été analysée, mais permet d'avoir une indication visuelle sur la présence et l'ampleur de différences éventuelles. Pour pouvoir détecter des différences entre régions à l'aide d'une analyse de variance, on ne peut que considérer les cas où on connaît la taille d'échantillonnage, la moyenne et l'écart-type des sites d'une région donnée. Ces cas, plutôt rares, nous obligent à réduire fortement le nombre de sites et de régions comparés. Pour conserver un maximum d'information, nous avons décidé d'utiliser deux calculs de moyennes régionales, en fonction des informations disponibles : (i) une moyenne non-pondérée, permettant d'inclure toutes les moyennes recueillies par site, même celles sans taille d'échantillonnage associée, (ii) une moyenne pondérée avec un écart-type, ne regroupant que les moyennes par site pour lesquelles un effectif et un écart-type ont été reportés. Dans ce dernier cas, l'écart-type régional a été calculé à partir de la moyenne pondérée des variances

populationnelles (Sokal & Rohlf, 1995), et une analyse de variance a été réalisée, lorsque possible, *i.e.* pour la hauteur, et pour le nombre de graines par gousse. Etant donné que pour ces deux traits, des données d'une seule région de la zone native étaient suffisamment complètes pour réaliser l'ANOVA, nous n'avons pas pu tester l'effet zone (native *vs* envahie). Nous avons donc réalisé une ANOVA hiérarchique, dans laquelle les régions étaient des effets fixes et les populations dans les régions des effets aléatoires. Puisque les données brutes n'étaient pas disponibles, les calculs ont été faits manuellement à partir des effectifs, moyennes, et écart-types, suivant la méthode décrite dans Sokal & Rohlf (1995).

Pour étudier la relation entre la latitude et l'altitude où les populations d'ajonc se développent, nous avons inclus les données des sites présentés dans les Tableaux A1, A2, et A3 (ANNEXE 3), ainsi que d'autres sites pour lesquels aucune information sur les traits n'était disponible, mais pour lesquels nous connaissions la latitude et l'altitude. La corrélation entre la latitude et l'altitude a été testée par régression, en utilisant la fonction `lm` de R (R Development Core Team, 2010), et en choisissant le meilleur modèle, parmi la régression linéaire et la régression polynomiale de différents ordres, en suivant la méthode de Crawley (2007).

Résultats

Distribution des sites étudiés

Les données d'altitude et de latitude étaient disponibles pour 46 sites, dont 11 en Europe, et 35 dans les régions envahies. Les sites documentés de la zone d'origine couvrent l'aire native de l'ajonc, de l'Espagne à l'Ecosse, en passant par la France et l'Angleterre. Les sites documentés pour les régions envahies couvrent la majeure partie de la zone envahie, dans les deux hémisphères et à des latitudes très différentes : des régions tropicales (Sri Lanka, Bolivie, Pérou, Colombie, La Réunion, Hawaii, Madagascar) aux régions tempérées (Australie, Nouvelle-Zélande, Chili, Patagonie, Californie, Canada). Cette bonne couverture de l'aire de répartition de l'ajonc dans le monde (voir aussi la Figure 3) nous a permis d'étudier le lien entre la latitude et l'altitude de ces populations. Les populations introduites d'ajonc se sont développées dans des gammes de latitudes et d'altitudes très larges, et bien plus larges que les gammes trouvées dans les populations natives, en Europe : on trouve des populations d'ajonc

(i) globalement de 60° de latitude sud à 60° de latitude nord, en passant par les tropiques, (ii) du niveau de la mer jusqu'à plus de 3500 mètres d'altitude (Figure 14). D'autre part, il existe une corrélation forte entre l'altitude et la latitude des populations d'ajonc, à travers le monde (régression polynomiale d'ordre 4 ; $R^2=0,84$; $N=51$; $P<0,0001$; Figure 14). En effet, entre les tropiques, les populations d'ajonc se développent en altitude (au-dessus de 1000 m), alors que dans les zones tempérées, les populations d'ajonc se développent sous 1000 m, et la plupart du temps entre le niveau de la mer et 500 m d'altitude (Figure 14). Ce patron est identique dans les deux hémisphères, et donc en valeur absolue, plus la latitude est faible, plus les populations d'ajonc vont se développer en altitude ($R_{\text{Spearman}}=-0,73$; $N=51$; $P<0,0001$).

Les corrélations entre les moyennes populationnelles des traits mesurés et la latitude ou l'altitude des populations n'ont pas pu être testées pour la hauteur des plantes, et la masse des graines, par manque de puissance statistique, et parce que les effets « latitude », « altitude » et « région » sont confondus, ainsi que l'effet « proximité de la mer » est parfois confondu avec l'effet « altitude », du fait du faible nombre de sites pour lesquels les données étaient disponibles.

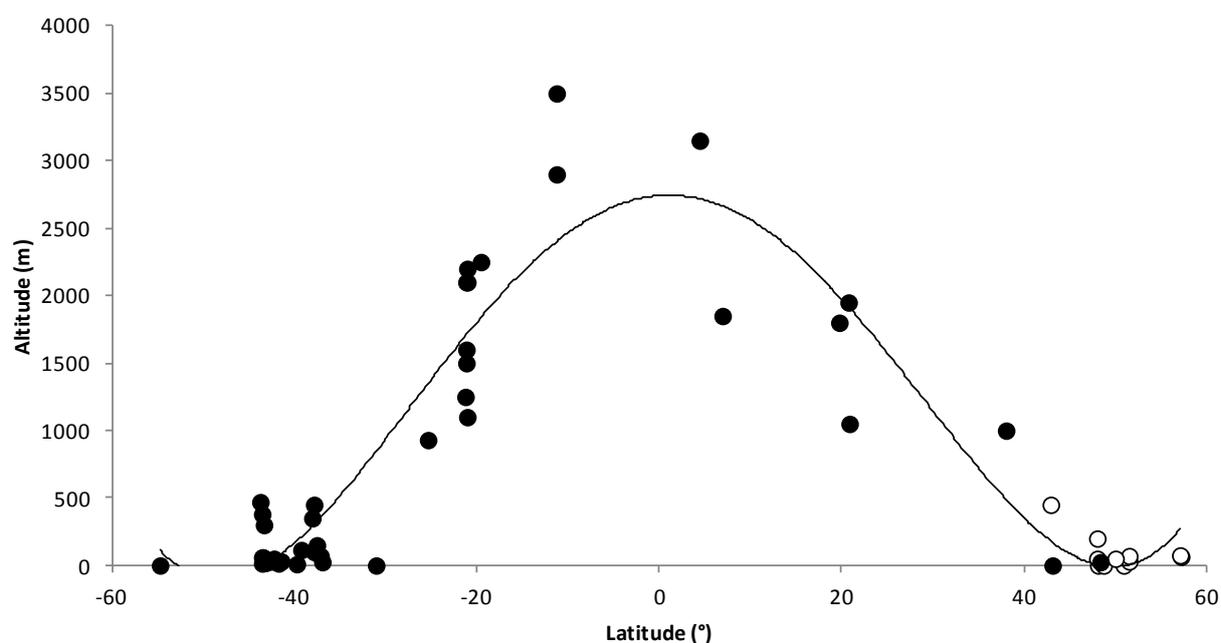


Figure 14 - Relation entre la latitude et l'altitude des sites dans lesquels l'ajonc est présent, à travers le monde. Cercles blancs : sites de la zone d'origine; cercles noirs : sites de la zone envahie. La courbe représente une régression polynomiale d'ordre 4 (voir texte).

Hauteur des plantes adultes

Les sites pour lesquels des données étaient disponibles recouvrent une grande partie de la zone d'origine (Bretagne et Espagne), et de la zone envahie (La Réunion, Nouvelle-Zélande, Tasmanie, Colombie, et Canada). Globalement, la hauteur des ajoncs en populations naturelles varie entre 50 et 700 cm (Tableau 2 ; voir aussi ANNEXE 3). Elle est comprise entre 58 et 400 cm dans les sites étudiés en Europe, et entre 50 et 700 cm dans les sites envahis étudiés. Il faut noter que le maximum de 700 cm a été obtenu par Lee *et al.* (1986) en Nouvelle-Zélande, mais que leur taille d'échantillonnage est au moins 10 fois supérieure aux autres sites, et relativement peu d'individus dépassent les 500 cm de hauteur dans leur étude (voir leur Figure 2). Globalement donc, il semble que la hauteur des ajoncs des deux zones soit comprise dans des gammes de hauteur très largement chevauchantes, même si la hauteur maximale est plus forte en Nouvelle-Zélande.

L'analyse de variance a permis de comparer la hauteur des ajoncs entre les sites de Bretagne (moyenne±se : 164±6cm), Nouvelle-Zélande (111±8cm), et La Réunion (158±6cm). Les résultats révèlent que les fortes différences observées entre populations à l'intérieur des régions sont hautement significatives ($F_{7,136}=17,88$; $P<0.0001$), mais que la hauteur ne diffère pas entre les trois régions ($F_{2,7}=0,71$; $P=0,52$). Clairement, étant donné la variabilité entre populations, plus de populations seraient nécessaires pour tester correctement l'effet région.

Nombre de graines par gousse

Les données disponibles sur le nombre de graines par gousse recouvrent très bien la zone d'origine (péninsule ibérique, France, îles britanniques), et la zone envahie (La Réunion, Nouvelle-Zélande, Tasmanie, Chili, Californie). Globalement, le nombre de graines par gousse varie entre 0 et 12. Il varie entre 1 et 12 dans la zone d'origine (3,69 en moyenne, non-pondérée), et entre 0 et 11 dans la zone envahie (3,63 en moyenne, non-pondérée; Tableau 2 ; voir aussi ANNEXE 3). L'analyse de variance entre les sites de France (moyenne±se : 4,87±0,09 graines par gousse), La Réunion (3,72±0,08 graines par gousse), et la Tasmanie (3,18±0,05 graines par gousse) révèle que la variation se situe principalement entre

Tableau 2 - Synthèse des valeurs de hauteur, de graines par gousse et de phénologie de floraison pour les sites d'ajonc à travers le monde.

Site	Latitude	Alt. (m)	Hauteur (cm)			Graines / gousse mûre			Floraison	
			Ninds(Nsites)	gamme	moyenne	Ngou(Nsites)	gamme	moyenne	gamme	pic
Zone d'origine		0-500	121(5)	58-400	169	>1365(28)	1-12	3,69		
Iles britanniques	50-59°N	-	-	-	-	958(5)	-	3,52	automne-printemps	printemps
France	43-51°N	-	66(4)	58-400	169	407(3)	1-12	4,26	automne-printemps	printemps
Péninsule ibérique	32-44°N	-	55(1)	<150	-	-(20)	-	2,84	automne-printemps	printemps
Zone envahie		0-3600	95(11)	50-700	140	>2591(14)	0-11	3,63		
Côte ouest Am. du Nord	39-49°N	0-1000	-	<480	-	-(1)	-	4,50	automne-été	printemps
Nord-Est Etats-Unis	37°N	-	-	-	-	-	-	-	printemps-été	-
Hawaii	21°N	1000-2000	-	-	-	-	-	-	automne-été ou été-hiver	hiver
Colombie	5°N	1800-3600	-(1)	50-340	-	-	-	-	-	-
Brésil	32°S-4°N	-	-	-	-	-	-	-	automne-printemps	-
Chili (Carillanca)	39°S	-	-	-	-	-(1)	-	3,44	-	-
La Réunion	21°S	1000-2200	60(4)	60-280	158	295(4)	1-11	3,79	automne-été	hiver et printemps
Tasmanie	42°S	0-800	-(2)	100-300	-	2296(2)	0-10	3,20	automne-printemps	printemps
Nouvelle-Zélande	47-35°S	0-1400	35(4)	50-700	117	-(6)	-	3,55	automne-été	automne et/ou printemps

Les latitudes sont exprimées en gamme quand l'amplitude est grande pour la région donnée, ou par une valeur quand elle est faible

Les moyennes présentées sont des moyennes non-pondérées

N_{inds} : nombre d'individus mesurés

N_{gou} : nombre de gousses ouvertes

N_{sites} : nombre de sites étudiés

Les références par type de mesure et par région sont disponibles dans l'ANNEXE 3.

populations ($F_{6,2989}=50,81$; $P<0,0001$) et peu entre régions ($F_{2,6}=3,98$; $P=0,08$). Aucune corrélation significative, ni tendance, n'a été détectée entre le nombre de graines par gousse et la latitude absolue ($R_{\text{Spearman}}=-0,01$; $N=22$; $P=0,96$) ou l'altitude ($R_{\text{Spearman}}=-0,09$; $N=16$; $P=0,75$) des populations sources.

Masse des graines

Buckley *et al.* (2003) ont comparé la masse des graines mûres d'ajoncs dans quatre sites différents de la zone native (en Angleterre et en Ecosse), et dans 15 sites de la zone envahie (en Nouvelle-Zélande, au Sri Lanka, au Chili, et en Californie). Leur analyse montre que la variabilité dans la masse des graines se trouve principalement aux niveaux intra- et inter-sites, mais qu'il n'y a pas de différences entre régions, ni entre la zone envahie et la zone d'origine (Buckley *et al.*, 2003). Notons que la masse des graines moyenne reportée indépendamment par Gutierrez *et al.* (1996) portant sur plusieurs sites du nord-ouest de l'Espagne tombe dans la gamme de valeurs reportées par Buckley *et al.* (2003).

Phénologie de floraison

La phénologie de floraison varie fortement entre les différents sites étudiés, avec un début de floraison pouvant avoir lieu en automne, en hiver, au printemps ou en été, selon les régions, avec un pic variant de l'automne au printemps (Tableau 2 ; voir aussi ANNEXE 3). Pour étudier le lien entre latitude, altitude, et phénologie, nous avons codé en chiffre la saison du pic de floraison (1 : automne, 2 : hiver, 3 : printemps, 4 : été) en prenant en compte le pic principal quand il y en avait plus d'un. Les mois ont été convertis en saisons en tenant compte de l'hémisphère considéré. Une corrélation existe entre la latitude absolue des populations et la saison dans laquelle a lieu le pic de floraison ($R_{\text{Spearman}}=0,60$; $N=16$; $P=0,01$). Cette corrélation reste forte et significative quand l'altitude est prise en covariable ($R_{\text{Spearman}}=0,54$; $N=14$; $P=0,03$). Dans ce cas, les données recouvrent plusieurs régions différentes dans des latitudes similaires, si bien que ces deux effets (région et latitude) ne sont pas confondus. Cette corrélation traduit l'observation que la floraison a plutôt lieu au printemps-été dans les régions tempérées, et plutôt en hiver dans les régions tropicales (Tableau 2). La phénologie de floraison n'est pas associée à l'altitude des populations ($R_{\text{Spearman}}=-0,21$; $N=14$; $P=0,46$).

Discussion

Distribution des populations d'ajonc dans le monde

La distribution des populations d'ajonc dans le monde recouvre une gamme extraordinaire de latitudes (de l'équateur jusqu'à 60° de latitude nord et sud) et d'altitudes (du niveau de la mer jusqu'à plus de 3500 mètres d'altitude). De plus, ces gammes de latitudes et d'altitudes sont beaucoup plus grandes que celles trouvées dans la zone d'origine, où l'ajonc pousse globalement entre 40° et 60° de latitude nord, et entre le niveau de la mer et 500 mètres d'altitude. L'ajonc a donc aujourd'hui une niche beaucoup plus large que celle réalisée en Europe. Ce phénomène peut s'expliquer par (i) la perte de contraintes qui obligeaient les populations de l'espèce à se développer dans une niche réalisée plus petite que sa niche fondamentale, comme les antagonistes, les facteurs génétiques empêchant l'adaptation (par exemple un manque de variance génétique ou des corrélations génétiques), ou des barrières à la dispersion (Alexander & Edwards, 2010), et/ou (ii) une évolution des populations introduites conduisant au développement des populations dans de nouveaux habitats (Broennimann *et al.*, 2007 ; Treier *et al.*, 2009). L'ajonc d'Europe a pu franchir de nombreuses barrières géographiques à sa dispersion et atteindre tous les continents, grâce à l'Homme (voir CHAPITRES 3 ET 4). De plus, il a été introduit initialement sans ses ennemis naturels. Ces deux éléments ont pu participer à l'expansion de niche évidente chez l'ajonc d'Europe. L'étude de la plasticité phénotypique, de la diversité génétique et des corrélations génétiques dans les régions d'introduction, ainsi que des changements évolutifs post-introduction potentiels, fournira d'autres éléments pour comprendre le succès de l'ajonc dans des environnements aussi variés.

Nos résultats mettent également en évidence un lien très fort entre la latitude et l'altitude auxquelles les ajoncs peuvent se développer. En effet, les populations d'ajonc se développent globalement sous 1000 mètres d'altitude dans les régions tempérées, et entre 1000 et plus de 3500 mètres dans les régions tropicales. Ce patron très net est de plus retrouvé dans les deux hémisphères. Ce lien pourrait résulter des conséquences du froid chez l'ajonc d'Europe : les graines d'ajonc ont besoin de froid pour lever la dormance avant de germer, mais les froids trop extrêmes peuvent tuer les plantes (Richardson & Hill, 1998). La limite supérieure d'altitude pourrait donc s'expliquer par l'effet néfaste de froids trop extrêmes sur l'ajonc, et la limite inférieure d'altitude pourrait s'expliquer par le besoin de températures

relativement froides pour la levée de la dormance des graines (Atlan & Tarayre, obs. pers. ; Probert, 2000). Dans tous les cas, ce lien clair entre latitude et altitude est intéressant dans un cadre de conservation et de lutte, car il permet de prédire grossièrement (avant son introduction, ou pendant son expansion) quelles régions et habitats sont susceptibles d'être envahis par l'ajonc, selon la latitude. Il faut toutefois noter que des changements évolutifs pourraient permettre à l'ajonc de se développer dans d'autres conditions.

Structuration géographique de la variabilité des traits

Les données synthétisées ici montrent que la variation dans les traits de l'ajonc se situent davantage entre populations (et à l'intérieur de celles-ci) qu'entre régions, pour la hauteur et le nombre et la masse des graines. Cette variation entre populations pourrait refléter des différences génétiques entre populations, dues à la sélection et/ou à des processus neutres, ainsi qu'à de la plasticité phénotypique (voir CHAPITRE 2). Les données récoltées n'ont pas toujours permis de comparer les zones d'origine et envahie. Cependant, pour la hauteur des adultes, il semble qu'il n'existe pas de grande différence entre les deux zones, même si la hauteur maximale observée est plus grande dans la zone envahie que dans la zone d'origine. Pour ce trait, des données plus complètes sont nécessaires. En ce qui concerne le nombre et la masse des graines, les moyennes entre zones sont très similaires, et il ne semble donc pas avoir eu évolution de ces traits lors du processus d'invasion. Cependant, une comparaison de populations natives et introduites dans un environnement commun est nécessaire pour tester l'origine génétique et plastique de ces différences ou absences de différences (voir CHAPITRES 6-8).

La phénologie de floraison semble montrer des différences entre régions, expliquées par une corrélation avec la latitude, suggérant qu'au moins pour ce trait la plasticité ou l'adaptation locale sont responsables des variations observées. Une étude en jardin expérimental permettra d'étudier l'aspect génétique de ces différences (voir CHAPITRE 6). Enfin, il sera aussi intéressant de comparer, en conditions homogènes, la résistance à leurs ennemis naturels d'ajoncs de populations natives et introduites, pour savoir si les défenses ont évolué pendant le processus d'invasion (CHAPITRES 6A, 7 ET 8).

CHAPITRE 6A

INVASIVE PLANTS AND ENEMY RELEASE: EVOLUTION OF TRAIT MEANS AND TRAIT CORRELATIONS IN *ULEX EUROPAEUS*

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication : Hornoy B., Tarayre M., Hervé M., Gigord L., Atlan A. (2011) Invasive plants and Enemy Release: evolution of trait means and trait correlations in *Ulex europaeus*. PLoS ONE, 6(10): e26275.

Résumé

Plusieurs hypothèses visant à expliquer le processus d'invasion biologique sont fondées sur le fait que les plantes sont introduites sans leurs ennemis naturels. Parmi elles, la plus influente est l'hypothèse EICA (*Evolution of Increased Competitive Ability*, évolution d'un potentiel compétiteur accru). Celle-ci propose que du fait de l'*Enemy Release*, les plantes introduites vont évoluer une réallocation des ressources des défenses vers la croissance et/ou la reproduction. Dans la zone d'origine de l'espèce envahissante *Ulex europaeus*, il a été montré que les traits impliqués dans la croissance et la reproduction sont très variables et corrélés génétiquement. Ainsi, dans le but d'explorer l'évolution des traits d'histoire de vie et la susceptibilité aux prédateurs de graines chez cette espèce, nous avons étudié les changements dans les moyennes de traits mais aussi dans les corrélations entre traits. Pour ce faire nous avons comparé des individus d'ajonc provenant de régions d'origine et envahies, cultivés dans un jardin expérimental. Comme attendu sous l'hypothèse EICA, nous avons observé une meilleure croissance des plantules, chez les plantes issues des populations introduites. Cependant, nous n'avons détecté que très peu de changements dans les moyennes des autres traits. Par contre, les corrélations ont révélé un patron clair : les corrélations entre les traits d'histoire de vie et le taux d'infestation par les prédateurs de graines étaient toujours plus faibles dans les régions envahies que dans les régions d'origine. Chez *Ulex europaeus*, le rôle joué par l'*Enemy Release* dans l'évolution des traits d'histoire de vie semble donc impliquer les corrélations plutôt que les moyennes de traits. Dans les régions envahies étudiées, les corrélations liant le taux d'infestation et les traits d'histoire de vie importants comme la phénologie de floraison, la croissance et la densité de fruits, ont été réduites, permettant une évolution plus indépendante de ces traits d'histoire de vie et facilitant potentiellement l'adaptation locale à une large gamme d'environnements. Ces résultats nous amènent à proposer qu'un relâchement des corrélations génétiques peut être impliqué dans l'expansion des espèces envahissantes.

Introduction

Biological invasions are a major threat to global biodiversity, and thus many studies aimed at identifying species that are potential invaders and habitats that are prone to invasion. If some characteristics of invaded environments have been identified, such as a high level of disturbance or low species diversity (Alpert *et al.*, 2000; Mitchell *et al.*, 2006), no general biological properties of invasive species were identified (Kolar & Lodge, 2001; Richardson & Pysek, 2006). One explanation is that the spreading phase of an invasion process is habitat-specific so that invasive success is associated with different traits in different environments (Alpert *et al.*, 2000; Müller-Scharer & Steinger, 2004). Another explanation is that it is not the nature of life history traits but their capacity to adapt to a novel environment that is relevant. Indeed, the evolutionary potential of introduced populations is often considered a key factor in their invasiveness (Gilchrist & Lee, 2007; Lee & Gelembiuk, 2008). This is supported by the observation of rapid evolutionary changes in many invasive species (e.g. in allelopathic chemicals, reproductive phenology or vegetative growth) in response to new biotic interactions or abiotic conditions (Callaway & Ridenour, 2004; Montague *et al.*, 2008; Monty & Mahy, 2009).

Biotic interactions are always different in the native and introduced ranges, partly because exotic plants have usually been introduced without their pathogens, parasites or herbivores (Mitchell *et al.*, 2006). This release from natural enemies has been proposed as one of the most important ecological factors contributing to the invasiveness of numerous species (Wolfe *et al.*, 2004; Zou *et al.*, 2008; Norghauer *et al.*, 2011). Arguments on this Enemy Release Hypothesis (ERH) have been reviewed by Keane and Crawley (2002) and Liu and Stiling (2006). Based on this release from natural enemies, an evolutionary mechanism was proposed by Blossey and Nötzold (1995): the Evolution of Increased Competitive Ability (EICA) hypothesis states that, because a plant has limited resources to invest in defence against enemies, growth and reproduction, an exotic species in an environment devoid of natural enemies will evolve to invest less in defence and more in other fitness components. The resulting increase in vegetative growth and/or reproductive effort would result in a better competitive ability of the species. This hypothesis makes clear and testable predictions: genotypes from the invaded regions should (i) be less well defended against natural enemies than genotypes from the native regions, and (ii) grow faster and/or produce more seeds.

The EICA hypothesis has been tested on many invasive plant species. It seems to play an important role in species such as *Silene latifolia* (Wolfe *et al.*, 2004) and *Sapium sebiferum* (Zou *et al.*, 2008), but in many others, evidence for increased susceptibility to natural enemies or increased growth and reproduction were not found (Bossdorf *et al.*, 2005; Orians & Ward, 2010). A shift in resources from defence to growth and/or reproduction is expected only if these defences are costly and directed against specialist enemies (Müller-Scharer & Steinger, 2004; Joshi & Vrieling, 2005; Ridenour *et al.*, 2008). Moreover, the traits usually measured to test the EICA hypothesis (growth, reproduction, resistance to natural enemies) are often genetically correlated with one another or with other life history traits (Roff, 2002; Johnson *et al.*, 2009). This may prevent the evolution of traits predicted by the EICA hypothesis because the rate of trait evolution is affected by the respective intensity and direction of genetic correlations and selection (Agrawal & Stinchcombe, 2009). More generally, genetic correlations can constrain the local adaptation of ecologically important traits such as vegetative growth and flowering phenology, and hence prevent further range expansion of introduced species (Colautti *et al.*, 2010). In studies that aim to compare plants from native and invaded regions, it might thus be important to compare not only the trait means, but also the correlations among traits. Yet, due to the release from natural enemies in the introduced regions of the species, we might expect a relaxation of the strength of genetic correlations between defence against these enemies and life history traits, potentially leaving these life history traits more free to evolve during invasion.

The common gorse (*Ulex europaeus*, Fabaceae) is a suitable model for this type of comparison. It is one of the 30 most invasive plant species in the world according to IUCN (Lowe *et al.*, 2000). In its native range, the Atlantic face of western Europe, the climate is oceanic and temperate and gorse populations are always found at the sea level (below 300 meters). The species is considered as invasive in many parts of the world at different latitudes, including New Zealand, Australia, South and North America (Chile, Colombia, California, Oregon...) and tropical islands (Hawaii, Reunion), in altitudes that vary from zero to 4000 meters (Lowe *et al.*, 2000; and pers. obs). Introduced populations had thus to adapt to a wide range of climates. In Europe, gorse is associated with several pathogens and herbivores, of which the specific seed-eating herbivores, the weevil *Exapion ulicis* and the moth *Cydia succedana*, are the most harmful, since they can infest 90% of a plant's pods (Davies, 1928). In the invaded range, *U. europaeus* was initially introduced without any natural enemies. Some seed predators were later introduced for biological control (Hill *et al.*, 1991), but in all the invaded areas, gorse experienced a release of selective pressures induced by seed

predators for over a century. Previous studies have shown that in the native range, seed predation occurs in spring and is reduced by a genetically-based polymorphism of flowering strategy: long flowering individuals that flower in both winter and spring partly escape seed predation in time, while short flowering individuals that flower in spring reduce seed predation through mass bloom and predator satiation (Tarayre *et al.*, 2007). This polymorphism of strategy is present within all gorse populations studied and maintains a high genetic diversity for reproductive phenology (implied in escape in time), and for pod density and plant size (implied in predator satiation; Atlan *et al.*, 2010). As a consequence, the coexistence of these two strategies induces strong genetic correlations between these traits and infestation rates (Atlan *et al.*, 2010). Therefore, one can expect that in the absence of selective pressure induced by seed predators, not only the trait means, but also the strength of genetic correlations among traits, may have evolved in the invaded regions.

While gorse is a good model to explore the evolution of trait means and trait correlations, it is however not suitable to produce large experimental samples: this big perennial shrub flowers at the age of three, and reaches four meters high and two meters wide. This clearly limits the number of plants that can be cultivated in an experimental garden. Since most studies were performed in annual herbaceous plants, the study of such perennial shrubs is however needed to enlarge our understanding of the invasion process. Furthermore, we knew from previous studies (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010) that population differences and trait correlations were so strong that they can generate significant effects even with a low number of individuals.

The aim of the present study was to explore the potential evolutionary changes that occurred in gorse invasive populations in the absence of natural enemies. We focused on seed predators, but we also considered predators that attack vegetative parts, when present. Our goals were (i) to test whether plants from invaded regions have an increased growth, reproduction, and susceptibility to seed predators compared with gorse from native regions (EICA hypothesis), (ii) to compare other life history traits related to environmental adaptation and strongly associated with susceptibility to seed predators in the native range (growth pattern and reproductive phenology), and (iii) to explore the evolution of the correlations among these traits in native and introduced regions. For this purpose we used a common garden in which gorse plants from two native regions and two invaded regions were randomly grown, and measured their trait means and trait correlations. The results were interpreted in regard of previous knowledge on gorse and theoretical expectations.

Materials and methods

Study species

The common gorse *Ulex europaeus* is a spiny hexaploid shrub. It lives up to 30 years, and its adult height varies from 1 to 4 m. Plants begin to flower during their third year. Flowers are hermaphrodite and contain 10 stamens and an ovary with up to 12 ovules, enclosed in a carina. They are pollinated by large insects such as honeybees or bumblebees (Herrera, 1999; Bowman *et al.*, 2008). In Europe, the peak of flowering is in spring, but there is a genetically based polymorphism of flowering phenology, with the co-existence of long-flowering individuals that flower from autumn to spring and short-flowering individuals that only flower in spring (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010). Seed dispersal is primarily by ejection from the pod. Gorse seeds are very long-lasting, and may germinate over a period of up to 30 years (Chater, 1931).

In Europe, the most common and harmful herbivores attacking adult gorses (that are thus used for biological control), are two specific seed-eaters: the weevil *Exapion ulicis* (Coleoptera: Apionidae; Barat *et al.*, 2007, 2008), and to a lesser extent the moth *Cydia succedana* (Lepidoptera: Tortricidae; Barat *et al.*, 2007). *Exapion ulicis* is univoltine and lays its eggs in spring inside young pods. Larvae develop at the expense of seeds, and adults emerge about two months later at pod dehiscence. The larvae of *E. ulicis* can be attacked by a parasitoid wasp, *Pteromalus sequester* (Hymenoptera: Pteromalidae). Vegetative parts of adult gorses are attacked by other predators or parasites, of which the most common in the study area are the aphid *Aphis ulicis* (Homoptera: Aphididae), the spider mite *Tetranychus lintearius* (Acari: Tetranychidae), and the rust fungus *Uromyces genistae-tinctoriae* (Pucciniaceae). Young seedlings are devoid of thorns and are attacked by several generalist herbivores (e.g. rabbits and slugs).

In the invaded range, *U. europaeus* was initially introduced without its natural enemies, and is not attacked by local seed predators. Some seed predators from the native range were however introduced later for biological control. In New Zealand, *U. europaeus* was present before 1835, while *E. ulicis* was introduced in 1931 and *C. succedana* in 1992 (Hill & Gourlay, 2002). In Reunion Island, there is no biological control program, and gorse plants still have no natural enemies.

Experimental design

We compared plants from two native regions (Brittany, France and Scotland, UK) with plants from two invaded regions (Reunion Island, Indian Ocean and New Zealand, Pacific Ocean). In these regions, gorse was introduced by Europeans: Reunion Island was initially colonized by the French (and Brittany is the region of France where most gorse populations are located) while New Zealand was initially colonized by the Scots (and Scotland is a region that exhibits large gorse populations).

Three populations were sampled in each region (Table 1). Seeds were collected on an individual basis between 1999 and 2005, and stored at 4°C. No specific permits were required for seed collection. *Ulex europaeus* is not endangered, neither protected in none of the regions sampled: it is invasive in Reunion and New Zealand, and is an abundant native in Scotland and Brittany. The collection of its seeds does thus not require any specific authorization in any of these regions. None of the locations were privately owned. Two were situated in protected Areas and the corresponding authority was informed of our research program and did support our field work. These are The Conservatoire du Littoral in Brittany (contact: Mr. Denis Bredin) and the National Forest Office in Reunion (contact: Mr. Julien Triolo).

In October 2006, the seeds were scarified and allowed to germinate on Petri dishes. One seed per mother plant was randomly chosen and the resulting seedlings were grown in a greenhouse (N=265, with a mean of 22 ± 4 individuals per population) in cell trays and then in two-litre pots. These were filled with a mix of sand (ca 15%), perlite (ca 15%), potting soil (ca 25%) and soil collected behind gorses in a natural population (ca 45%), thus containing nitrogen-fixing bacteria gorse needs to develop. Seedlings were grown for one year in the greenhouse under horticultural lighting, at a temperature ranging from 10 to 20°C. In November 2007, seedlings were transplanted in a common garden. Due to the fact that gorse plants need three years to flower, and may grow quickly high and wide, we had to keep a minimum spacing of 1.20 m between each plant and restrict the number of seedlings transplanted. Ten seedlings per population were randomly chosen and randomly transplanted in a common garden (N=120). The common garden is located on the Campus of Rennes (Brittany, France), an area with several gorse populations nearby and prone to natural infestation by seed predators and pathogens. Some of the individuals were left out of the analyses of reproductive traits due to non-flowering, heavy rust infestation or chlorosis, which left 8 to 10 plants per population.

Table 1. Main characteristics of the gorse populations sampled

Region	Location	ID	Latitude	Longitude	Elevation (m)
Native range					
Brittany	Cap de la Chèvre	BCC	48.1°N	04.5°W	0
	Château de Vaux	BCV	48.0°N	01.6°W	50
	Kergusul	BKE	48.0°N	03.2°W	200
Scotland	Banchory	SBA	57.1°N	02.5°W	100
	Crail	SCR	56.1°N	02.6°W	0
	Stirling	SST	56.0°N	03.9°W	300
Invaded range					
Reunion	Luc Boyer	RLB	21.1°S	55.6°E	1200
	Piton Maido	RMA	21.1°S	55.4°E	2200
	Piton de Brèdes	RPB	21.2°S	55.6°E	1500
New Zealand	Auckland	ZAU	37.3°S	175.1°E	0
	Christchurch	ZCH	43.6°S	172.5°E	50
	Wellington	ZWE	41.3°S	174.9°E	100

Plant height and growth pattern

Vegetative growth of the one-year-old seedlings was measured in the glasshouse in June 2007. We estimated plant height, as well as the number and length of lateral shoots. The total shoot length of each individual was estimated by adding the length of lateral shoots to the length of the main axis.

Vegetative growth at two years was measured in October 2008. We measured the height and the basal area of the individuals in the common garden. To estimate basal area, we measured the plant's largest width and the width perpendicular to it, and used the formula of an ellipse.

Vegetative growth at three years was measured in October 2009. We measured plant height and the mean length of five randomly chosen shoots per plant. It was not possible to measure their width anymore, since they had grown large enough to touch each other.

Flowering and fruiting phenologies

We monitored reproductive phenology, reproductive output, and pod infestation every two weeks from October 2008 to July 2009. The date of flowering onset corresponded with the first occurrence of flowers together with large flower buds. The date of fruiting onset corresponded with the first occurrence of ripe pods together with browning pods.

Reproductive output

The mean number of pods per centimetre (pod density) was estimated in spring 2009 between the end of flowering and pod dehiscence. For most individuals, this occurred in late May. For each plant, we randomly chose five shoots and counted the pods on the last 30 apical centimetres of each shoot. If the chosen shoot was shorter than 30 cm, we measured its length and counted all the pods it contained. If the chosen shoot was branched on the last 30 cm, we only retained the longest branch. We then divided the total number of pods by the total shoot length measured to get the estimation of the number of pods per centimetre.

The number of seeds per pod and seed mass were estimated when all plants had produced ripe pods, *i.e.* in late June in 2009. The number of seeds per pod was estimated on ten uninfested ripe pods per individual. Seed mass was estimated on ten seeds, from at least three different ripe pods. Flat, rotten or chewed seeds were not taken into account.

Infestation by seed predators

The infestation rates were estimated on ripe pods. At each visit between October 2008 and July 2009, we opened 30 ripe pods, when available, and noted the number of seeds and insects. A pod was considered as infested by weevils if it contained weevils at any developmental stage (from larva to adult) or weevil parasitoids. A pod was considered as infested by a moth if it contained a moth larva, or when its presence was revealed by droppings or holes. Infestation rates were estimated when at least 10 ripe pods were available. To compare the infestation rate of pods that were all exposed to the same abundance and activity of seed-eaters, we compared pod infestation rate at the same time for all individuals, *i.e.* in late June in 2009, when the highest proportion of individuals was fruiting synchronously.

The presence of predators and parasites that attack vegetative parts (the aphid *Aphis ulicis*, the spider mite *Tetranychus lintearius*, and the rust fungus *Uromyces genistae-tinctoriae*) was also recorded.

Statistical analyses

Trait-by-trait analyses were performed using the GLM procedure of SAS software (SAS Institute, 2005). The significance of each effect was determined using type III F-statistics. We first used a three-level model, in which populations were nested within regions and regions were nested within ranges (native range and invaded range). Regions were tested as a fixed effect and populations as a random effect. Whatever the variable, the range effect was never significant. We then used a two-level model, in which populations were nested within regions. This model had a lower AIC and better fits the data. Plant height in 2007, 2008 and 2009 was tested with a repeated statement, to investigate the interaction between years and populations within regions, and between years and regions. As for the other analysis, there was no range effect and the best model only included populations nested within regions. Pod infestation rates were submitted to arcsine transformation before analysis.

The correlations between traits were estimated with the CORR procedure of SAS, using Spearman's rank-order correlation coefficient, since the data were not normally distributed. The pairwise relationships between traits were investigated using partial correlations, in which untested life history traits were used as covariates. To test for differences in correlation strength between the invaded range and the native range, we wrote a nested analysis of variance model using R software (R Development Core Team, 2010). Correlation coefficients were first transformed using Fisher's z transformation. Then, between-regions (within ranges) and between-ranges mean squares were estimated using a weighted analysis of variance on correlation coefficients, where weights were the number of couples n on which each correlation coefficient was estimated. Residual mean squares were computed manually using the formula for the variance of z , that depends only on n . Since we performed partial correlations, we removed one degree of freedom for each covariate used. Finally, the significance of the effects were tested using hierarchical F-ratio tests, in which the range effect was tested against variation between regions (within ranges).

Results

Growth

In 2007 (one-year-old plants), plant height showed significant population and region effects, the latter being stronger (Table 2). All six populations of the invaded regions were taller than the six populations of the native regions (Figure 1), and plants from the invaded regions were on average 30% taller than plants from the native regions. The number of lateral shoots and the total shoot length showed a significant population effect, but no region effect (Table 2). In 2008 (two-year-old plants), plant height still showed a significant region effect but no more population effect (Table 2). The differences between regions were less pronounced: plants from the invaded regions were on average 15% taller than plants from the native regions (Figure 2A). For basal area, there was no population effect but the region effect was significant (Table 2). Mean basal area \pm SE was 1.26 ± 0.09 m² for Brittany, 0.82 ± 0.07 m² for Scotland, 1.05 ± 0.09 m² for Reunion and 0.92 ± 0.07 m² for New Zealand. In 2009 (three-year-old plants), like in 2008, plant height showed a significant region effect but no population effect (Table 2). The differences were still less pronounced: plants from the invaded regions were on average 10% taller than plants from native regions (data not shown). The mean shoot length showed a significant population effect, but no region effect (Table 2). Finally, when plant height at the three years was analysed in a repeated statement, the interaction between years and regions was significant (N=107, F=3.20, P<0.01), confirming that the differences among regions depended on the year. There was no interaction between years and populations (N=107, F=0.95, P=0.51).

Reproduction

Flowering and fruiting phenologies

The earliest plants began to flower in October and the latest plants in April. Whatever their date of flowering onset, all individuals flowered until spring, inducing a strong negative correlation between flowering onset and flowering duration (N=106, $R_{\text{Spearman}}=-0.88$, $P<10^{-4}$). Flowering and fruiting onset and duration showed significant population effects, but no region

effects (Table 2). The variation among populations was indeed very high and larger than the variation among regions (Figure 2B).

Table 2 - Results of nested ANOVA for 18 traits of *Ulex europaeus* plants grown in a common garden.

	N	Mean \pm SD ^a	Populations		Regions	
			d.f.	F	d.f.	F
Plant height						
June 2007 (cm)	265	42.7 \pm 13.5	8	2.29 *	3	10.97 **
October 2008 (cm)	120	126.0 \pm 30.3	8	1.05	3	6.44 *
October 2009 (cm)	107	180.9 \pm 34.4	8	1.03	3	4.92 *
Vegetative growth						
Shoot number 2007	265	4.12 \pm 3.21	8	2.56 *	3	0.57
Total shoot length 2007 (cm)	265	100.1 \pm 52.2	8	3.03 **	3	0.54
Basal area 2008 (m ²)	120	1.01 \pm 0.46	8	0.55	3	10.07 **
Shoot length 2009 (cm)	112	60.7 \pm 13.6	8	2.18 *	3	2.67
Reproductive phenology^b						
Flowering onset (days)	106	173.8 \pm 55.3	8	4.93 ****	3	1.38
Flowering duration (days)	106	90.8 \pm 52.0	8	3.68 ***	3	1.34
Fruiting onset (days)	106	268.2 \pm 44.4	8	4.78 ****	3	0.59
Fruiting duration (days)	105	36.8 \pm 44.2	8	4.68 ****	3	0.68
Reproductive output^c						
Pod density (cm ⁻¹)	106	2.31 \pm 1.45	8	2.80 **	3	1.77
Seeds per pod	103	3.12 \pm 0.82	8	1.74 #	3	0.33
Seed mass (mg)	105	6.48 \pm 0.89	8	1.97 #	3	1.24
Pod infestation rates^d						
Weevils (%)	103	21.6 \pm 23.4	8	4.48 ****	3	0.55
Moths (%)	103	2.53 \pm 3.67	8	0.99	3	3.67 #
Total (%)	103	25.3 \pm 25.7	8	4.54 ****	3	0.69
Hymenoptera (%)	103	4.17 \pm 7.72	8	2.62 *	3	0.92

^a Standard deviation of the whole sample.

^b Monitored in 2008-2009, with Sept 1st 2008 taken as the first day of the reproductive season.

^c Pod density was measured in May 2009; seeds per pod and seed mass were measured in late June 2009.

^d Measured in late June 2009.

P<0.10, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, **** P<0.0001

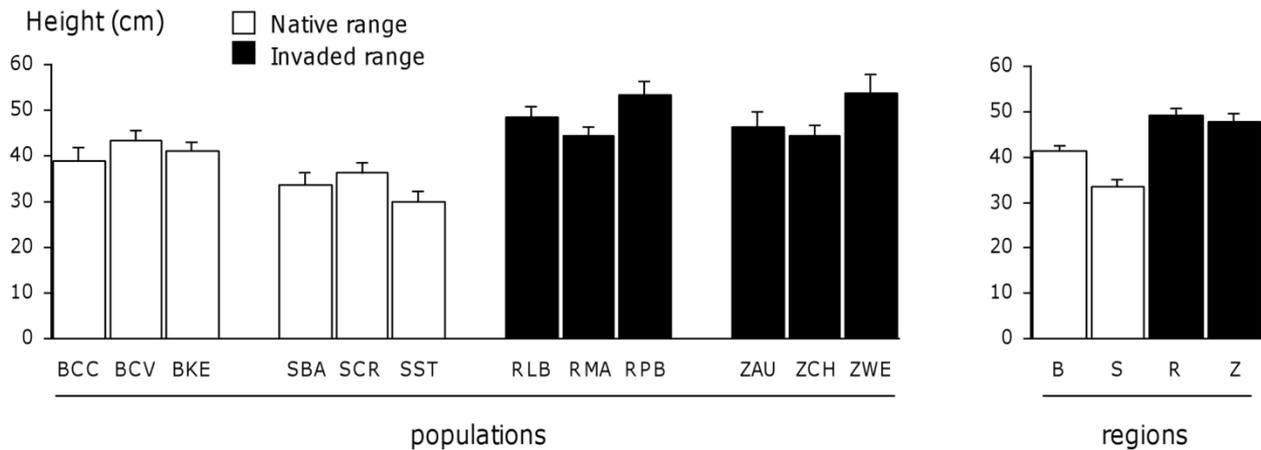


Figure 1 - Height of one-year-old *U. europaeus* plants grown in a glasshouse. Population and regional means are given with 1 SE. N=265.

Pod and seed production

The region effect was never significant for pod density, the number of seeds per pod and seed mass (Table 2). The population effect was significant only for pod density, which exhibited a wide variability between populations (see Figure 2C). The number of seeds per pod and seed mass showed a low variability and a marginally significant population effect (Table 2).

Infestation rates

Infestation of pods

The first weevil-infested pods were observed in late May, and their proportion increased continuously until the end of the fruiting season (early July). Weevil infestation rate in late June reached 22% and showed a very high population effect, but no region effect (Table 2). No region effect was detected in the other dates of observation (data not shown). Pod infestation rate by the parasitoid wasp *Pteromalus sequester* was dependent on the infestation rate by weevils, thus showing a similar pattern (Table 2). Pod infestation rate by the moth *Cydia succedana* was much lower than the infestation rate by weevils (2.5% in late June) and did not exhibit any population or region effect (Table 2). Total pod infestation rate in late June (by both weevils and moths) was mainly due to the infestation rate by weevils, and consequently showed a highly significant population effect and no region effect (Table 2,

Figure 2D). These latter effects stayed the same when we used pod density and plant height, traits known to directly affect pod infestation rate, as covariates in the ANOVA ($F_{\text{reg}}=0.69$, $P=0.59$; $F_{\text{pop}}=4.40$, $P=0.0002$;

Infestation of vegetative parts

In September 2008, some plants were naturally infested by the rust fungus *Uromyces genistae-tinctoriae*, and in May 2009, some plants were infested by aphids. In both cases, we recorded, for each plant, if it was infested or not, and in both cases, as for seed predators, we did not find any difference between the two invaded regions and the two native regions (data not shown). No attack by the spider mite *Tetranychus lintearius* was observed during the time of the experiment.

Population differences

Populations within regions exhibited strong and significant differences for most traits studied, including growth, flowering phenology, reproductive output and infestation rates (Table 2). Despite the low number of populations, mean flowering onset was correlated with latitude ($N=12$, $R_{\text{Spearman}}=+0.59$, $P<0.05$).

Correlations between traits

We tested the correlations between traits in the 2008-2009 reproductive season. We retained four main traits: plant height (for growth), flowering onset (for reproductive phenology), pod density in late May (for reproductive output) and total infestation rate in late June (for seed predation). When all the individuals were pooled, most of the correlations among these traits were significant (Table 3). Further comparisons were thus performed with partial correlations in which untested life history traits were used as covariables. For example, when estimating the correlation between pod infestation rate and the date of flowering onset, pod density and plant height were used as covariates.

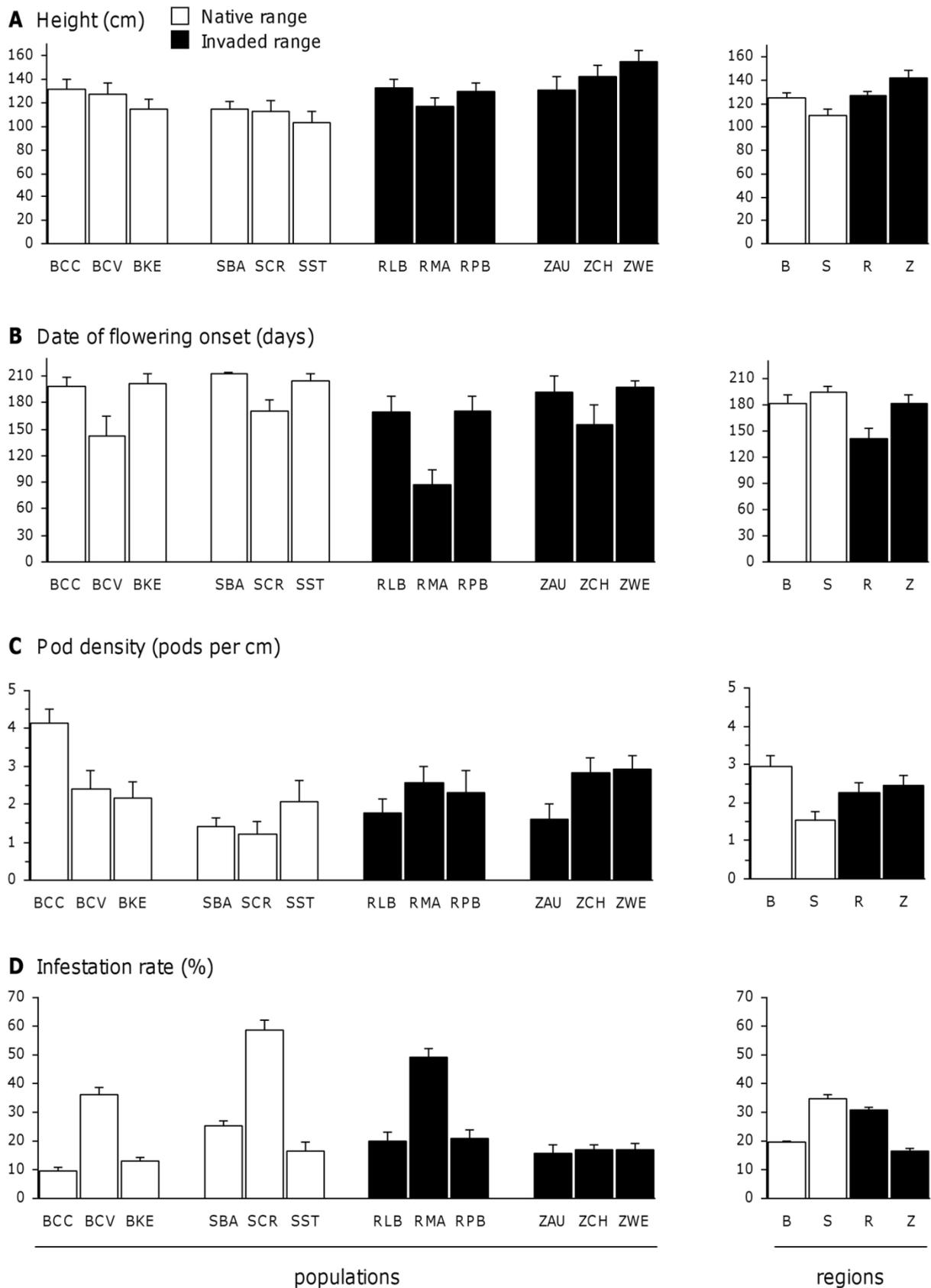


Figure 2 - Trait means of three-year-old *U. europaeus* plants grown in a common garden. Height (A), flowering onset (B), pod density (C) and infestation rate (D). Population and regional means are given with 1 SE. Measures were done as in Table 3. N=103 to 106 (see Table 2).

Table 3 - Spearman's rank order correlation coefficients between four main traits of *Ulex europaeus* plants grown in the common garden.

	height ^a	pod density ^b	Infestation rate ^c
flowering onset ^d	-0.168 [#]	-0.231*	-0.442***
height		0.235*	-0.218*
pod density			-0.277**

N = 103 to 106 (see Table 2).

^a measured in Oct. 2008.

^b measured in May 2009.

^c total infestation rate (weevil + moth) in late June 2009.

^d monitored between Oct. 2008 and July 2009.

[#] P<0.10, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

When correlations within regions were compared, the pattern obtained was different for correlations involving infestation rate (Figure 3A) and for correlations not involving infestation rate (Figure 3B). For correlations involving infestation rate, the correlation coefficients were negative and significant in the two native regions. They were also negative but weaker and rarely significant in the two invaded regions. The strength of the correlations was thus higher in the native regions than in the invaded regions (Figure 3A). The probability of observing such a consistent pattern three times can be estimated with a permutation test, where the null hypothesis is that the rank of correlation coefficients is independent of region status, and the risk alpha is the probability to obtain the observed pattern by chance. The probability for the two values of the native regions to be both higher than the two values of the invaded regions is 1/6. The probability of observing the same pattern three times is thus $(1/6)^3=0.0046$. For correlations not involving infestation rate, correlations were low and rarely significant, and no special pattern was observed (Figure 3B). Moreover, the range effect was significant or nearly so for correlations involving infestation rate (flowering onset x infestation rate: $F_{1,2}=15.04$, $P=0.06$; pod density x infestation rate: $F_{1,2}=64.32$, $P=0.02$ height x infestation rate: $F_{1,2}=27.86$, $P=0.03$), while it was not significant for the correlations not involving infestation rate ($P>0.20$).

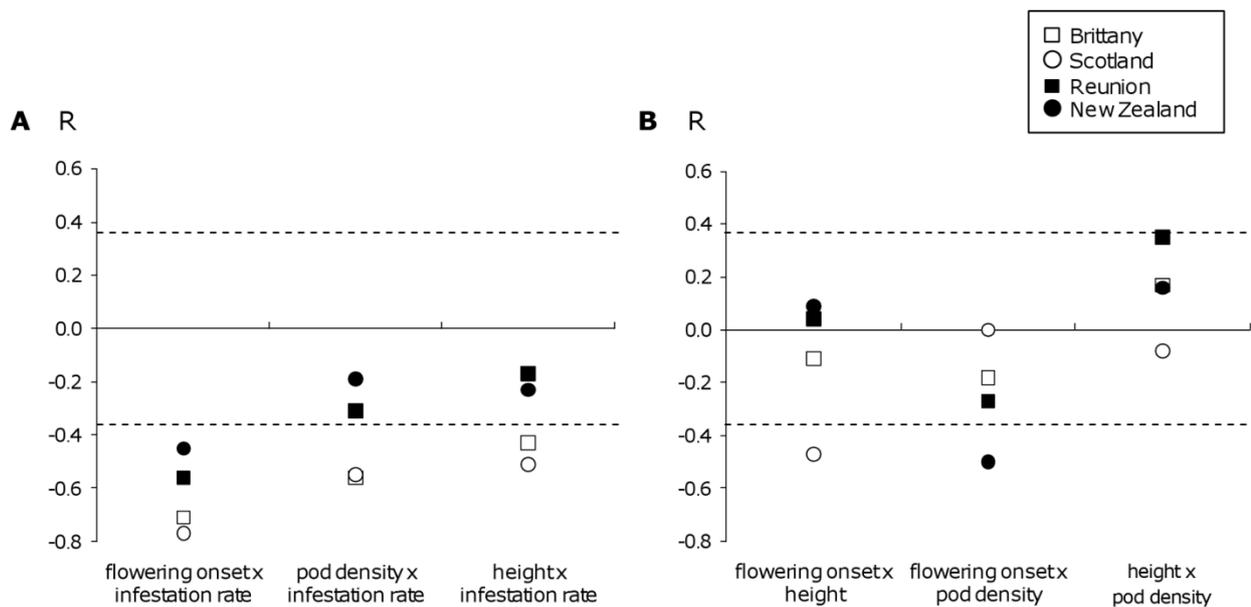


Figure 3 - Correlations between traits of three-year-old *U. europaeus* individuals grown in a common garden. (A) correlations between infestation rate and three life history traits, (B) correlations among the three life history traits. Each point represents the Spearman's correlation coefficient for a given region. White symbols represent native regions, black symbols represent invaded regions. Measures were done as in Table 3. For each pairwise correlation, untested life history traits were used as covariables. N=24 to 28. Dashed lines represent the 0.05 significance threshold (10^{-2} significant threshold is ± 0.53 , 10^{-3} significant threshold is ± 0.66).

Discussion

Trait-by-trait analysis

According to the EICA hypothesis, we expected plants from regions of the invaded range to show an increase in growth and/or reproduction and a decrease in defence against seed predators compared to regions of the native range (Blossey & Nötzold, 1995). While the population or region effects were often highly significant, the range effect was significant for none of the traits studied. Furthermore, for all the traits studied but one, the differences between regions were not related to their range. This implies that whatever the statistical power of the range effect, the variance in these traits depended more on regions and populations of origin than on their native or invasive status.

Plant height is the only trait for which we observed a difference between the two invaded and the two native regions: plants from the two invaded regions grew taller than plants from the two native regions. Such an increased growth of plants from invaded areas was also observed in several studies performed in common gardens (Zou *et al.*, 2008; Stastny *et al.*, 2005; Blumenthal & Hufbauer, 2007) where it was interpreted as a shift in resource allocation from defence to growth. In *U. europaeus*, increased growth was mainly observed on seedlings: the difference among native and invaded regions reached 30% the first year, but was reduced the second and third years. In this first year, gorse individuals were kept in a greenhouse, in an environment devoid of herbivores. Their better growth is thus in agreement with the EICA hypothesis. However, the increased growth of seedlings cannot result from reallocation of resource devoted to defence against seed predators, because individuals do not produce fruits before their third year. As a consequence, the difference in seedling height could rather result from the reallocation of resource devoted to defence against generalist herbivores that attack vegetative parts of gorse seedlings. Alternatively, it may result from maternal effects (Roach & Wulff, 1987), or from selective pressures that were not studied here, such as competition for sunlight. Indeed, no such consistent difference between invaded and native regions was observed for the other growth parameters.

Reproductive traits did not show any significant difference among regions. This result is in agreement with the absence of difference among native and invaded regions observed in a previous study in a global comparison of seed mass, performed in natural populations of *U. europaeus* (Buckley *et al.*, 2003). Increased fecundity of plants from the invaded range has sometimes been shown in other species (e.g. *Eschscholzia californica*, Leger & Rice, 2003; *Silene latifolia*, Wolfe *et al.*, 2004). However, such an increased fecundity was less often observed than increased vegetative growth (Müller-Scharer & Steinger, 2004; Bossdorf *et al.*, 2005).

Finally, infestation rates were different depending on the population, but plants from the invaded and native regions exhibited similar susceptibility to the two main seed predators, *Exapion ulicis* and *Cydia succedana*. The fact that the same significance pattern remained after using pod density and plant height as covariates reveals that these traits are not the only one involved. Other features such as physical or chemical defence may be implied. Overall, these results contrast with studies on other plant species, which have often shown an increase of susceptibility to natural enemies in plants from the invaded range (e.g. in *Silene latifolia*, Wolfe *et al.*, 2004; *Hypericum perforatum*, Maron *et al.*, 2004a; *Triadica sebifera*, Huang *et*

al., 2010). This phenomenon is however not the rule, and seems to be of importance only in some invasive species (Bossdorf *et al.*, 2005; Orians & Ward, 2010).

Although we found that invasive gorse genotypes grew faster than native ones in their first year in the greenhouse, our results in the common garden do not support the EICA hypothesis as a major mechanism responsible for the invasiveness of *U. europaeus*. This does not exclude any involvement of EICA in this species, since growing the plants in an enemy-free environment may have revealed a reallocation of resources that could not be detected here. Still, in the classic experimental conditions used, when traits are considered independently, the native and the invaded regions were not very different, although studying more regions in each range would increase the statistical power and allow to know how general this finding is in *U. europaeus*. In any case, in our system, the variability seemed to lie mainly among populations.

Population differences

While significant differences between regions were observed only for a few vegetative traits, populations within regions exhibited strong and significant differences for most traits studied, including growth, flowering phenology, reproductive output and infestation rates. This strong differentiation among populations was already observed in natural populations of the native regions (Tarayre *et al.*, 2007), where it has been shown to be genetically determined (Atlan *et al.*, 2010). In the invaded regions, the differences among populations observed in this study could result from genetic differentiation among source populations, drift or local adaptation.

The EICA hypothesis does not make any prediction on reproductive phenology. However, in the absence of seed predators, flowering and fruiting phenologies are expected to evolve to fit local conditions (Müller-Scharer & Steinger, 2004), independently of the constraints exerted by the avoidance of seed predation. In *U. europaeus*, flowering phenology and plant height depend on latitude and altitude (Hill *et al.*, 1991; Millener, 1962; Markin & Yoshioka, 1996). Evidence of adaptation to altitude and latitude has been observed for vegetative growth, reproduction, and/or flowering phenology in introduced plant populations of several invasive species (Montague *et al.*, 2008; Monty & Mahy, 2009; Kollmann & Banuelos, 2004; Alexander *et al.*, 2009) and, although more populations are needed to conclude, it is likely that adaptation of these traits to new environmental factors did also occur in *U. europaeus*.

Regarding infestation rates, local adaptation cannot be invoked in regions devoid of seed predators. This is notably the case in Reunion, where large differences between populations for susceptibility to seed predators are observed, even though no seed predators were ever introduced onto the island. However, pod infestation rate is an integrative measure that results from a set of factors influencing predator reproductive success, but also host choice and detection (Johnson *et al.*, 2009). These include plant size and architecture (Leimu & Syrjanen, 2002), flowering phenology (Elzinga *et al.*, 2007), and chemicals (Hilker & Meiners, 2002). It is thus likely that selection acting on these traits may interact with direct selection on predator avoidance (Lahti *et al.*, 2009). This is especially true when the different traits involved are genetically correlated, as in *U. europaeus* (Atlan *et al.*, 2010).

Correlations between traits

Most of the traits studied here were correlated with each others, revealing again the strong relationships among them already observed in Atlan *et al.* (2010). Despite the low sample size, the correlation coefficients reached very high values and significance levels when regions were analysed separately.

For the three correlations involving the infestation rate and a life history trait (flowering onset, pod density, and plant height), the strength of the correlations was lower in the invaded regions than in the native regions. A reduction in the strength of correlations may result from a reduced diversity (Roff, 2000). However, in *U. europaeus*, the diversity present in the invaded populations is very high and similar to that of the native regions, both for phenotypic traits (this study) and for neutral molecular markers (microsatellites and allozymes studies on 28 populations, Hornoy *et al.*, in prep.). Moreover, the reduction of correlation coefficients in the invaded regions was only observed in correlations involving infestation rate, suggesting that the absence of seed predation was the main causing factor reducing the strength of these correlations.

Differences between native and invaded regions thus appeared to lie in trait correlations rather than in trait means. Indeed, the trait-by-trait analysis did not reveal any clear difference between the native and the invaded ranges, and would have led to underestimating the role of the release from natural enemies in the invasive process. Such trait-by-trait analyses are often misleading when correlational selection is involved (Walsh & Blows, 2009), which is the case in *U. europaeus* (Atlan *et al.*, 2010).

An interpretation of the differences in trait correlations observed here would need to assume that they have a genetic basis, which cannot be tested with the experimental design used in this study. However, the genetic nature of the correlations observed in the native range was ascertained in Atlan *et al.* (2010) on a set of maternal families. In that previous study, correlations between family means were always greater than correlations between individuals, indicating that the small environmental differences inevitably present in a common garden, far from creating the correlations observed, were only creating noise that reduced the values of the correlations. Since the plants studied here belong to the same species, were grown in the same homogeneous conditions, randomized in the same manner, and planted in the same area as gorses studied by Atlan *et al.* (2010), it seems reasonable to make the hypothesis that the phenotypic correlations observed correspond to genetic correlations. Such a hypothesis allows proposing a speculative scenario to explain the reduced correlations observed in the invaded range.

Genetic correlations can be generated by pleiotropy and/or by linkage disequilibrium (Lynch & Walsh, 1998). In contrast to pleiotropy, that generates correlations which hold whatever the spatial scale considered, linkage disequilibrium generates correlations at the region level (Futuyma, 2005), such as those observed here. In the native range of *U. europaeus*, seed predator avoidance is achieved through a polymorphism of strategy involving phenology and growth (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010). Correlational selection acting on these life history traits could thus generate strong linkage disequilibria and maintain a high level of polymorphism (Roff, 2002; Sinervo & Svensson, 2002).

During the invasive process, the selective pressure induced by seed predation disappeared, so that recombination and segregation could reduce the linkage in a few generations (Falconer & MacKay, 1996). When this occurred, the polymorphic traits could have been selected to meet local conditions regardless of their consequences for susceptibility to seed predators, providing *U. europaeus* with new ecological potentialities. Interestingly, in New Zealand, where the weevil *E. ulicis* has been introduced in 1931, correlations between infestation rate and life history traits were still much lower than in native regions. Thus, the reintroduction of a biological agent was not sufficient to recreate the defence strategy observed in the native range, at least on such time scale. It would be interesting to study more invaded regions with or without biological control to see how general this relaxation of genetic correlations is in *U. europaeus*, and how long it takes for them to re-form. In any case, even if this phenomenon occurred only in a subset of invaded regions, it may still play an important role in the invasive potential of the species.

This scenario will remain speculative because the results obtained on gorse are not sufficient to ascertain the evolution of genetic correlations in the invaded range, and because the species is not suitable to generate the large dataset necessary to explore it further. However, by enhancing the importance of trait correlations, these results led us to propose a theoretical hypothesis that may provide new insights into the ecological and evolutionary mechanisms involved in the expansion of invasive species.

Toward a new hypothesis?

Genetic constraints on life history traits have recently been shown to strongly influence the invasion dynamics and the range limits of introduced species (Colautti *et al.*, 2010; Levin, 2004; Alexander & Edwards, 2010). Indeed, they can reduce the evolutionary potential of a species, despite the existence of genetic variance for traits considered (Agrawal & Stinchcombe, 2009; Etterson & Shaw, 2001). One of the main sources of genetic constraints are the genetic correlations resulting from correlational selection (Roff, 2002; Sinervo & Svensson, 2002). As a consequence, if life history traits of a species are constrained by correlational selection for the avoidance of natural enemies, enemy release in the introduced range can relax these genetic correlations and enable more independent evolution of key life history traits.

We thus suggest that a relaxation of genetic constraints, and in particular a Relaxation of Genetic Correlations (or RGC) may follow enemy release and potentially enhance the adaptive potential of some introduced species. It may contribute to their invasive success by facilitating the optimisation of life history traits in the invaded range, as observed for flowering onset in *Silene latifolia* (Wolfe *et al.*, 2004; Biere & Antonovics, 1996), and flowering size in *Carduus nutans* (Metcalf *et al.*, 2009). It may also contribute to explain the niche shift or niche expansion observed in many invasive species, such as *Ulex europaeus* or *Centaurea maculosa* (Treier *et al.*, 2009).

The RGC hypothesis takes into account the fact that the evolvability of life history traits depends not only on their genetic variability, but also on the genetic links among the traits (Agrawal & Stinchcombe, 2009; Blows & Hoffmann, 2005). Although it does not lead to an increase of competitive ability *per se*, it may facilitate local adaptation for traits relevant for the invasive success. The RGC hypothesis may be a non-exclusive alternative to the EICA hypothesis. The proposed mechanism is more general since it can involve other features than those related to growth and reproductive effort. Also, it does not necessarily require a cost of

resistance to natural enemies and is not limited to negative correlations (trade-offs) between traits. Finally, it may involve the relaxation of other genetic constraints than those related to natural enemies.

Acknowledgements

The authors thank Louis Parize and Thierry Fontaine for technical assistance, Yvonne Buckley for providing us with some seed samples, Jean-Sébastien Pierre for statistical help and Alan Scaife for English edition. We are grateful to Gabrielle Thiébaud and Arjen Biere for their helpful comments. We also thank the Editor and the anonymous reviewers for their constructive comments on a previous version of this paper.

CHAPITRE 6B

ÉTUDE PRELIMINAIRE DE LA PLASTICITE PHENOTYPIQUE DANS LES POPULATIONS NATIVES ET INTRODUITES D'AJONC

Introduction

La plasticité phénotypique est la propriété d'un génotype de produire différents phénotypes en réponse à différentes conditions environnementales (Pigliucci, 2005). Il existe souvent des variations d'origine génétique dans le niveau de plasticité phénotypique, entre individus et entre populations (Scheiner, 1993 ; van Kleunen & Fischer, 2005). Le niveau de plasticité phénotypique dans une population peut évoluer par sélection directe sur le niveau de plasticité, par sélection indirecte si le niveau de plasticité est corrélé à un trait sous sélection, ou par dérive génétique (van Kleunen & Fischer, 2005). Enfin, comme d'autres traits, l'évolution du niveau de plasticité phénotypique peut être contrainte par des coûts et des limites évolutives (Scheiner, 1993 ; van Kleunen & Fischer, 2005). La plasticité phénotypique est adaptative lorsque les phénotypes produits en réponse à différents environnements résultent en une *fitness* moyenne entre les environnements supérieure à celle qu'un phénotype fixé produirait (van Kleunen & Fischer, 2005). Mais la plasticité n'est pas forcément adaptative, puisqu'elle peut évoluer par dérive ou sélection indirecte, ou qu'elle peut résulter simplement de mécanismes passifs (par exemple une croissance plus faible dans un environnement limité en ressources ; van Kleunen & Fischer, 2005). Enfin, la plasticité phénotypique est importante dans la dynamique évolutive des populations, en masquant certains génotypes par rapport à la sélection naturelle (Ghalambor *et al.*, 2007), ou en déterminant quels pics d'un paysage adaptatif vont être accessibles à la population (Price *et al.*, 2003).

La plasticité phénotypique peut permettre à une espèce introduite de survivre dans de nouveaux environnements variés, et on s'attend à ce que les espèces de plantes envahissantes soient des espèces avec de plus grands niveaux de plasticité (Hulme, 2008). Une méta-analyse récente, se fondant sur des comparaisons interspécifiques, montre que globalement les espèces de plantes envahissantes sont plus plastiques que les espèces non-envahissantes (Davidson *et al.*, 2011). Cependant, même si leurs résultats doivent être interprétés avec prudence, ces

mêmes auteurs révèlent que cette plasticité n'est que rarement associée à une meilleure *fitness*. Les comparaisons intra-spécifiques entre populations introduites et natives de plantes envahissantes donnent des résultats mixtes: quatre espèces sur huit montrent une évolution d'une plus grande plasticité après introduction, alors que dans les autres cas aucune différence n'est observée (Bossdorf *et al.*, 2005). Il semble donc qu'un haut niveau de plasticité, et éventuellement son augmentation après introduction, soient des phénomènes potentiellement impliqués dans le succès envahissant de certaines espèces de plantes.

Chez l'ajonc, il a été montré qu'il existe une forte plasticité pour les traits liés à la croissance, la reproduction, et la résistance aux prédateurs de graines (CHAPITRE 2). De plus, pour les traits liés à la reproduction, il existe une variabilité génétique dans le niveau de plasticité. Ainsi, puisque la plasticité peut faciliter la survie dans un nouvel environnement, on peut se demander si dans les régions envahies, les génotypes les plus plastiques ont été sélectionnés. L'estimation de la plasticité phénotypique nécessite de faire pousser des individus de même génotype, de façon randomisée dans un jardin expérimental (ou en serre), en faisant varier un ou plusieurs facteurs environnementaux (comme la luminosité par exemple). Cependant, il n'a pas été possible d'utiliser cette approche durant ma thèse, pour comparer les niveaux de plasticité entre les génotypes natifs et introduits, car (i) l'ajonc ne pousse pas jusqu'à l'âge reproducteur en serre, (ii) il n'a pas été possible, pour des raisons de temps et de place, de monter cette expérimentation, l'ajonc mettant trois ans à fleurir, et pouvant atteindre plusieurs mètres de hauteur et de largeur. Nous avons donc utilisé une approche indirecte avec le jardin expérimental disponible: nous avons considéré les différentes années dans le jardin comme des variations environnementales. Cette approche repose sur le fait que la variation inter-annuelle dans la date de début de floraison est fortement corrélée au niveau de plasticité ($R=0,98$; CHAPITRE 2). Nous avons choisi d'étudier la plasticité de la date de début de floraison entre les années d'étude car c'est un trait extrêmement variable chez l'ajonc, et qu'il est corrélé à tous les traits de phénologie reproductive (durée de floraison, début de fructification, durée de fructification).

En utilisant cette approche indirecte, l'objectif de cette étude est de répondre aux questions suivantes: (i) quel est le niveau de plasticité phénotypique pour la phénologie reproductive dans les populations introduites? (ii) peut-il expliquer les fortes variations de pic de floraison dans les populations d'ajonc à travers le monde (CHAPITRE 5)?, (iii) est-ce que les génotypes les plus plastiques ont été sélectionnés dans les régions envahies étudiées?

Matériel et méthodes

Les mêmes individus d'ajonc, du même jardin expérimental que dans Hornoy *et al.* (2011 ; CHAPITRE 6A), ont été utilisés, *i.e.* 30 individus de trois populations dans chacune des quatre régions étudiées : deux régions natives (Bretagne, Ecosse) et deux régions envahies (La Réunion, Nouvelle-Zélande). Leurs dates de floraison a été notée pour leurs trois premières années de floraison (2008-2009, 2009-2010, 2010-2011). Au total, les données pour 101 individus ont été utilisées, car certains ont du être retirés des analyses. En effet, certains individus n'ont pas fleuri une année, ou ont été très atteints par une attaque de rouille. Nous avons calculé pour chaque individu conservé le coefficient de variation de la date de début de floraison entre les trois années. Comme dans Hornoy *et al.* (2011), une ANOVA hiérarchique a été effectuée, avec les régions en tant qu'effet fixe, et les populations dans les régions en tant qu'effet aléatoire, en utilisant R (R Development Core Team, 2010). Cette analyse est préliminaire, et ses résultats devront être interprétés avec prudence avant l'obtention des résultats d'analyses plus poussées.

Résultats

La date de début de floraison moyenne des individus, sur les trois années, est fortement et négativement corrélée à la variation inter-annuelle dans ce trait ($R_{\text{Spearman}}=-0,91$; $N=101$; $P<0,0001$) : les individus les plus précoces (à floraison longue) sont les plus variables. De plus, la variation de date de début de floraison entre années est très variable entre individus au sein des populations (Figure 15). En moyenne, elle n'est pas différente entre les régions ($F_{3,8}=1,66$; $P=0,25$), mais diffère significativement entre populations ($F_{8,89}=6,44$; $P<0,0001$). En particulier, les populations les plus précoces du jardin expérimental (BCV et RMA par exemple) sont aussi celles qui montrent une plus grande variation inter-annuelle moyenne dans la date de début de floraison (Figure 15).

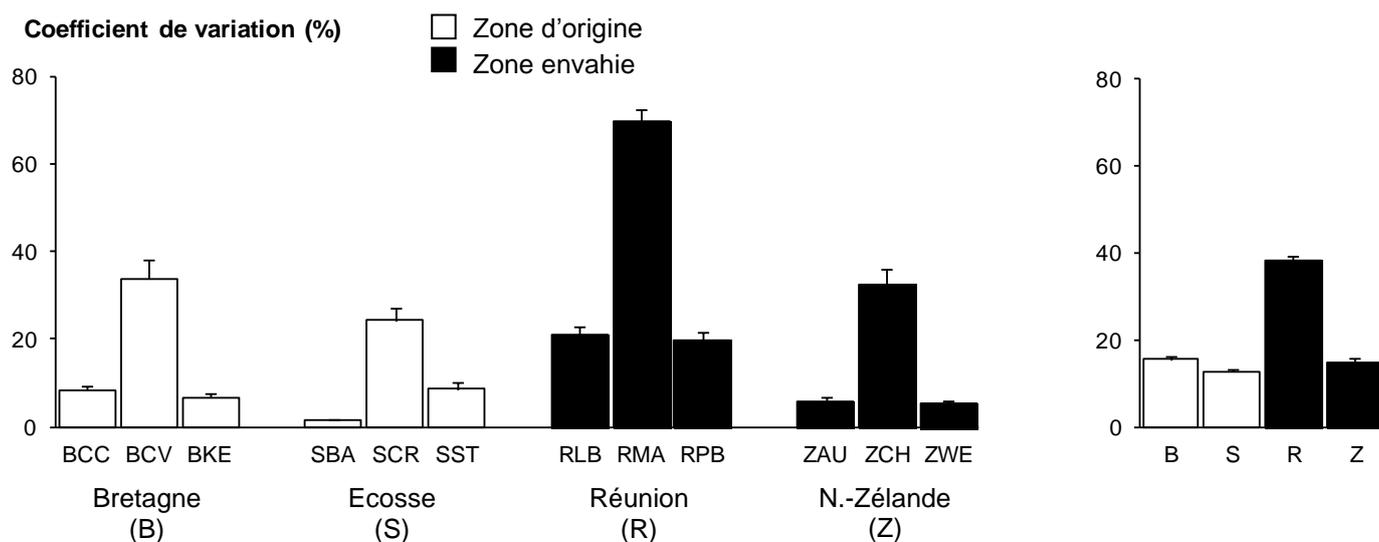


Figure 15 - Variation inter-annuelle de la date de début de floraison des ajoncs cultivés dans le jardin expérimental, sur les trois premières années de floraison. Les moyennes populationnelles (à gauche) et régionales (à droite) sont données avec l'erreur standard.

Discussion

Nos résultats confirment que le niveau de plasticité chez l'ajonc peut être important (CHAPITRE 2), avec par exemple un coefficient de variation inter-annuel allant jusqu'à 110% pour la date de début de floraison chez un individu. Ceci est cohérent avec le fait que la plupart des plantes envahissantes ont un haut niveau de plasticité phénotypique (Davidson *et al.*, 2011), mais nos résultats montrent de plus qu'il existe des différences très importantes entre individus dans le niveau de plasticité pour la date de début de floraison (coefficient de variation entre 1 et 110%, moyenne±écart-type : 21±26%). Celui-ci varie aussi entre populations, à la fois dans la zone d'origine et dans les régions envahies étudiées, mais aucune différence significative entre les régions n'a été détectée, comme chez quatre des huit espèces compilées par Bossdorf *et al.* (2005).

Dans le jardin expérimental, ce qui semble expliquer la plupart de la variation dans le niveau de plasticité pour la date de début de floraison entre individus, est la date de début de floraison elle-même ($R_{\text{Spearman}}^2=0,82$). En effet, les plantes les plus précoces sont les plus plastiques pour la date de début de floraison : elles peuvent retarder la floraison, ou fleurir plus tôt, selon les conditions. Au contraire, les plantes tardives restent tardives, quelles que

soient les conditions (au moins sur nos trois années d'étude ; données non publiées). Ce résultat, obtenu sur plus d'individus, confirme celui du CHAPITRE 2 montrant que le niveau de plasticité dans la phénologie reproductive dépend de la date de début de floraison. Ainsi, les différences entre populations introduites dans le niveau de plasticité (Figure 15) résultent probablement d'un effet indirect de la sélection sur la date de début de floraison (van Kleunen & Fischer, 2005). Il est intéressant de noter que la corrélation génétique entre la moyenne d'un trait (entre environnements) et son niveau de plasticité est souvent observée (Scheiner, 1993), et qu'elle a des implications potentiellement fortes sur la dynamique évolutive des populations (Gavrilets & Scheiner, 1993 ; Scheiner, 1993). Selon l'environnement, une telle corrélation affecte l'héritabilité du trait et la direction de l'évolution (Gavrilets & Scheiner, 1993). Par exemple, dans notre système, la plasticité dans la date de début de floraison et la date de début de floraison moyenne semblent ne pas évoluer indépendamment, et l'évolution de l'une peut être contrainte par l'autre. Enfin, la forte plasticité de certains individus dans leur date de début de floraison pourrait ralentir la vitesse d'adaptation, en masquant leur génotype par rapport à la sélection naturelle (Ghalambor *et al.*, 2007).

Conclusion

Nos résultats montrent que la plasticité peut être très forte pour des traits comme la date de début de floraison, et pourrait expliquer les fortes variations observées en populations naturelles (CHAPITRE 5). Cependant, ils ne supportent pas l'idée d'une évolution d'une plus grande plasticité phénotypique dans les régions envahies. La plasticité montre d'ailleurs le même patron que la plupart des autres traits de l'ajonc étudiés dans ce jardin expérimental : pas de différences entre régions, mais de fortes différences entre et à l'intérieur des populations (Hornoy *et al.*, 2011 ; CHAPITRE 6A).

CHAPITRE 7

THE SPECIFIC SEED-EATING WEEVIL *EXAPION ULICIS* USES BOTH EXTERNAL AND INTERNAL CUES FOR OVIPOSITION IN PODS OF *ULEX EUROPAEUS*

Ce chapitre est un manuscrit soumis, par Hornoy B., Tarayre M., Pierre J.-S., Atlan A. Les résultats d'une étude complémentaire sur le comportement de vol du charançon sont également disponibles, en ANNEXE 4.

Résumé

Les insectes herbivores dépendent de leur plante-hôte pour se nourrir aux stades larvaire et/ou adulte, et le choix de leur hôte est donc crucial pour leur *fitness*. Les pressions de sélection réciproques peuvent engendrer une (co-)évolution des deux partenaires et des changements dans la susceptibilité de la plante et le comportement de l'insecte. Les plantes envahissantes offrent une bonne opportunité d'étudier les mécanismes de choix d'hôte et de susceptibilité, puisque les plantes introduites le sont souvent sans leurs ennemis naturels, bénéficiant de l'*Enemy Release*. Le but de cette étude est de mieux comprendre le comportement de choix de ponte (resp. de nutrition) du charançon spécifique *Exapion ulicis*, dans les gousses (resp. les fleurs) de la plante envahissante *Ulex europaeus*, l'ajonc. Nous avons donc étudié la préférence de ponte et de nutrition du charançon dans des tests à deux choix, en utilisant des gousses et des fleurs provenant d'ajoncs issus de régions où l'histoire co-évolutive avec le charançon diffère : la Bretagne et l'Ecosse, dans la zone d'origine où le charançon est présent, et La Réunion et la Nouvelle-Zélande, dans la zone envahie, où le charançon n'a pas été introduit initialement. Nos résultats suggèrent que le choix de ponte des femelles de *E. ulicis* est guidé par des signaux présents à la surface et à l'intérieur des gousses, dont la taille des gousses et leur contenu en graines. De plus, les femelles ont préféré pondre dans les gousses des régions envahies, suggérant que ces dernières ont évolué une résistance plus faible après introduction, comme attendu après *Enemy Release*. Les tests de choix de nutrition sur les fleurs ont également révélé des différences d'attractivité et/ou de défense entre les différentes régions, mais celles-ci ne dépendent pas du statut natif ou envahi des régions. Globalement, cette étude et une étude précédente révèlent que le charançon *E. ulicis* répond à un ensemble de traits pour choisir son hôte, aux niveaux de la plante entière, des fleurs, et des gousses, et que dans les régions où l'ajonc a pu se développer longtemps sans le charançon, certains de ces traits ont évolué.

Introduction

Phytophagous insects depend on their host plants to feed as larvae and/or as adults, and the choice of a host plant is crucial for their fitness. In particular, females are selected to choose the oviposition sites that will maximize the performance (survival, fecundity) of their offspring (Optimal Oviposition Theory, Jaenike, 1978; Gripenberg *et al.*, 2010). Discrimination of suitable oviposition sites is especially critical in species where the larvae have a low mobility, or are limited to a restricted amount of resources, as in species for which oviposition and larval development occur within a fruit. In insects that feed as adults, the choice of a host plant can also be governed by the maximization of adult performance through feeding (Mayhew, 2001; Scheirs *et al.*, 2004). Host plant choice for adult feeding and/or oviposition are guided by bottom-up forces (e.g. nutritional value, defences) and top-down forces (e.g. predation, competition) acting on the adult female and/or her offspring (Thompson, 1988; Bernays & Chapman, 1994). Plant traits that may influence these choices include external factors that act at a distance (e.g. plant size and architecture, volatiles, colour) or by contact (e.g. trichomes, tissue thickness), and internal factors (e.g. primary and secondary metabolites), often in an integrated way (Schoonhoven *et al.*, 2005). These cues can provide the insect with information for host plant recognition, and information about plant quality, defences, and the presence of competitors or enemies. For instance, Teles-Pontes *et al.* (2010) showed that in the tomato fruit borer *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae), fruit location implies visual cues, and oviposition is stimulated by both fruit roughness and surface chemicals.

Tissue loss resulting from these feeding and oviposition choices can entail severe costs to the chosen plants, especially when the organs eaten are closely related to fitness, such as flowers, fruits and seeds. Thus natural selection can favour changes in plant traits that confer resistance to some herbivores, including those that may influence insect behaviour and choices (e.g. Mauricio & Rausher, 1997; Lankau, 2007). Conversely, variations in features of host plants may drive evolutionary responses in the population of herbivores, for instance at morphological, physiological or behavioural levels (e.g. Messina & Karren, 2003). This reciprocal selection pressure between the two partners can lead to coevolution (Janzen, 1980), especially when their relationship is very specific and the impact of the two species on each other is strong (Gandon, 2002). Further, the geographical structure of herbivore and host plant populations can lead to local coadaptation of the two partners, when local genotypes of one

species are selected to fit local genotypes of the other (e.g. Berenbaum & Zangerl, 1998; van Zandt & Mopper, 1998 ; Thompson, 2005).

Invasive plant species offer good systems to study the relationships between plants and insects, and the processes linked to host plant choice, since they exhibit both native populations that live in sympatry with their specific herbivores, and populations introduced into environments devoid of these herbivores (Mitchell & Power, 2003). In the native range of the plant species, ongoing (co)evolution of host plant and herbivore populations can lead to local coadaptation of sympatric populations of both species. Herbivores are expected to prefer and/or perform better on local host plants than on alien ones, but reciprocally, host plant may defend more efficiently against local herbivores than against alien ones (Kaltz & Shykoff, 1998). In the introduced range the selective pressures exerted by specialist herbivores do not occur anymore, due to enemy release and it is expected that introduced populations might evolve a decreased investment in defense (Blossey & Nötzold, 1995; Orians & Ward, 2010). Thus using such an invasive species and populations coming from both the native and the introduced ranges offers great opportunity to study processes and traits linked to host choice by its herbivores, because plants coming from these populations with contrasting evolutionary histories are expected to differ in traits associated with host choice.

We studied feeding and oviposition preference of the seed-eating weevil *Exapion ulicis* L. Forster (Cucurlionidae: Apionidae) on its invasive host-plant species *Ulex europaeus* (Fabaceae: Genistae), to better understand processes linked to host choice in this species. The common gorse *U. europaeus* is native to western Europe, where its populations are naturally infested by *E. ulicis*. Gorse was introduced in many parts of the world (e.g. in South America, western North America, Reunion Island, New Zealand), initially without its natural enemies. In some countries, *E. ulicis* was later introduced as a biological control agent, like in New Zealand in 1931 (Hill *et al.*, 1991). This system is particularly interesting because the relationship between *U. europaeus* and *E. ulicis* is very specific and very strong (Barat *et al.*, 2007). The weevil undergoes its whole life-cycle on gorse from larval development (into pods) to adult feeding (on leaves and flowers). Gorse may suffer considerable damage from the weevils, that may infest up to 90% of the mature pods (Barat *et al.*, 2007; Tarayre *et al.*, 2007). However, pod infestation rates are extremely variable in natural and experimental populations, even among neighbouring individuals (20-98%; Barat *et al.*, 2007; Tarayre *et al.* 2007; Atlan *et al.*, 2010). Pod infestation rate has been shown to depend on many factors, including plant traits such as reproductive phenology, architecture, and pod density (Atlan *et al.*, 2010). This suggests that *E. ulicis* females use all these cues to choose the plant in which

they will lay their eggs. The further step, *i.e.* the choice of pods and flowers, were not explored before.

The main goal of this study was to investigate how *Exapion ulicis* weevils choose pods to oviposit in and flowers to feed on. To do so, we performed feeding and oviposition experiments on isolated pods and flowers, to avoid the confounding effects of whole-plant traits such as pod density or plant size. We used gorse from different origins grown in a common garden in Rennes. These include two native regions where the weevil is present (Brittany and Scotland), one invaded region where the weevil is absent (Reunion), and one invaded region where it was absent when gorse was introduced, but was imported later for biological control (New Zealand). We used weevils collected in Brittany and performed two-choice experiments in the lab. We compared (i) native gorse populations (Brittany), and introduced gorse populations devoid of seed-eaters (Reunion), (ii) native gorse populations (Scotland), and introduced gorse populations where *E. ulicis* has been introduced as a biological control agent (New Zealand), (iii) local gorse populations (Brittany) and alien gorse populations (Scotland), from the native range. Because of these different histories of coevolution with the weevil, we expected variability in feeding and oviposition preference, and in cues associated with these choices, to be very high and thus to be more easily detected.

Materials and Methods

Study species

Gorse, *Ulex europaeus*, is a perennial spiny shrub that can live up to 30 years, and whose adult height usually varies from one to four meters. Gorse plants begin to flower during their third year. Their hermaphrodite flowers do not produce nectar but a large amount of pollen, and they are pollinated by large insects such as honeybees or bumblebees (Herrera 1999; Bowman *et al.*, 2008). Pods start to form immediately after flowers have been fertilized. In Europe, pods are attacked by several seed predators, of which the weevil *Exapion ulicis* is the most common (Barat *et al.*, 2007, 2008). It can destroy several seeds per pod and infest a large proportion of a plant's pods. In its invasive range, *U. europaeus* was introduced around the 1800s, without its natural enemies. In New Zealand, *E. ulicis* was introduced in 1931 for

biological control and is now widespread there (Hill *et al.*, 2000). However, due to fructification in autumn, or due to mass fruiting in spring, most plants can partly escape seed predation (Hill *et al.*, 2000). In Reunion, there is no biological control program, and gorse plants still have no known natural enemies.

Exapion ulicis is specific to *U. europaeus* on which it spends its whole life cycle (Barat *et al.*, 2007). It is present in all European gorse populations. In Brittany, the oviposition season lasts about six weeks in spring (Barat *et al.*, 2007). Females lay egg clusters in immature pods that are 10–35 days old (Hoddle, 1991). Larvae develop within the maturing pods at the expense of seeds, and adults emerge from the ripe pods at dehiscence, about two months later. Adults then feed on the vegetative parts of *U. europaeus*, but prefer flowers when available (pers. obs.). In the lab, the oviposition behaviour of *E. ulicis* females consists of sequential steps: (i) the female walks exploring, and eventually climbs on a pod, (ii) she explores the pod and (iii) may start to bore a hole with her rostrum through the pod wall. Then (iv) she turns around and inserts her ovipositor through the hole to lay eggs in the pod's seed chamber, after which (v) she walks all over the pod rubbing the back end of her abdomen on it, probably to mark it. The whole sequence can last several hours (Hoddle, 1991; Rouchet, Atlan, van Baaren & Tarayre, unpublished results). Lifetime egg load of weevil females is of the order of several dozen eggs (Rouchet, Atlan, van Baaren & Tarayre, unpublished results).

Gorse flowers and pods used in this study were collected in the experimental garden described by Hornoy *et al.* (2011). In this garden, located in Rennes (Brittany, France), gorse plants from four regions have been randomized and grown since October 2006: Brittany and Scotland (native range), and Reunion and New Zealand (invaded range). In each of these four regions, three populations are represented, with 10 plants grown per population. During the choice experiments performed in 2009 and 2010 (see below), the adult weevils used were regularly collected on gorse branches of a natural population located 700 meters away from the experimental garden. The weevils collected were sorted by sex and reared in the lab for at most four days before use, in boxes containing water and fresh gorse shoots. Rearing and experiments were performed in dedicated rooms, at ambient temperature and humidity.

Oviposition choice experiments

Preliminary experiments were performed in early spring 2009, to observe female oviposition behaviour and determine optimal experimental conditions. Indeed, female weevils lay egg in spring during about six weeks (Barat *et al.*, 2007), but the rate of egg laying may vary a lot

depending on the year and on the period. To investigate oviposition preference, we compared the behaviour of gravid females collected at the same period. Since each comparison lasted two weeks, we were able to perform three two-choice comparisons. Two were done between native and invaded regions: Brittany vs. Reunion and Scotland vs. New Zealand. One was done between two regions of the native range: Brittany vs. Scotland.

For each region, the three gorse populations of the common garden were sampled for pods, on three gorse plants per population. Gorse plants used for each experiment were all in a similar phenological stage, *i.e.* producing young pods. Pods offered to *E. ulicis* females were chosen for their developmental state (*i.e.* young) and checked for their infestation status. A pod was considered as uninfested when observation under a dissecting microscope revealed no holes or scars. The pool of pods of each population was made up of an equal number of uninfested pods collected on each of the three selected individuals. For each choice experiment, a random pod from each of the three populations of each region was offered to weevils in Petri dishes, as shown in Figure 1.

Female weevils used for these oviposition experiments were reared in the presence of males for at least two days to ensure their fertilization. They were fed with pod-free shoots coming from the natural population in which the weevils were collected.

The choice experiment was performed by exposing a set of four females to six pods from the two tested regions in a Petri dish. Preliminary experiments have shown that these numbers allow obtaining an egg cluster in about half of the pods. Within each Petri dish we put three pods from each of the two regions tested, two male weevils (to prevent male limitation), a flower from each of the two regions tested (for feeding and stimulation of oviposition), and water supply (Figure 1). Each set of females was tested during two days. To ensure oviposition activity, pods and flowers were replaced by fresh ones every 24 hours. After pod removal, pod length was measured with a calliper, and pods were opened to estimate the number of seeds, the number of holes in the pod wall, the number of egg clusters and the total number of eggs. For each two-choice experiment 18 to 24 sets of females were tested.

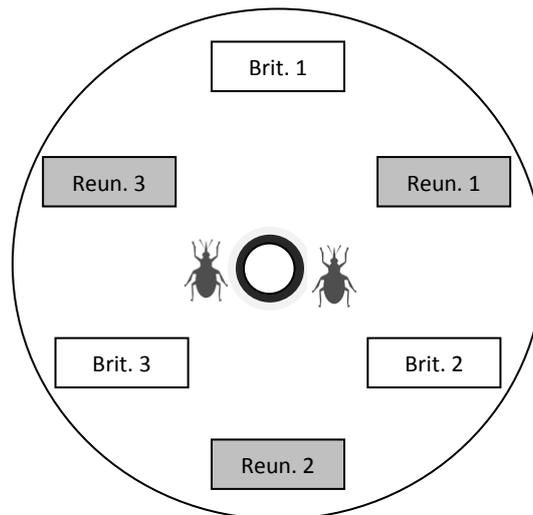


Figure 1 - Scheme of the two-choice device. Pods or flowers of each region and population are placed alternately, at an equal distance from the centre of the dish. In this example, the "Brit. 1" box represents a pod or flower from population 1 of Brittany. At the beginning of an experiment, weevils are placed at the centre of the dish, near the water supply (bold black circle).

Feeding choice experiments

To compare feeding on gorses from native and invaded regions, and between gorses from different regions of the native range, we performed the same two-choice experiments as for the oviposition experiments, *i.e.* Brittany vs. Reunion, Scotland vs. New Zealand, and Brittany vs. Scotland. The experiments were performed in spring 2010.

Selection of gorse individuals, flower collection and arrangement of the dishes were done as for pods in the oviposition choice experiments (see above and Figure 1). We collected flowers that were recently opened, unpollinated (*i.e.* with keel not opened), and barely, if at all, consumed (showing no or very few feeding holes through the petals). The number of holes present in the petals before the experiment was noted.

We tested male and female weevils separately to detect any sex effect on the feeding choice. Male and female weevils used for this test were reared separately and fed with flowering shoots from the two regions tested.

Each experiment consisted of a single weevil introduced to the six offered flowers from the two regions for 24 hours, after which the flowers were removed. Flower length was then measured with a calliper, and flowers were inspected under a dissecting microscope to

count the number of holes in the petals. Weevil consumption was estimated as the difference between the number of holes present before and after the experiment. Each two-choice experiment consisted of 20 such replicates (10 with males, and 10 with females).

Statistical analyses

Because weevil behaviour and pod/flower production changed during the time of the experiment, it was not possible to pool the results obtained and analyses were performed within each two-choice experiment. Oviposition and feeding behaviour resulted in non-normal data and were thus analyzed with nonparametric statistics.

The effect of the region of origin was tested for the number of holes per pod, the number of eggs per hole, the number of eggs per pod and the number of holes per flower. The null hypothesis was that these variables were equal for the two regions tested. Two types of tests were performed:

1- A Chi-squared test, that does not make any assumption on data distribution. For this test, all data of a given experiment were pooled for each of the two regions compared, and the significance of the difference was tested with a chi-squared with one df.

2- A direct comparison of the proportions observed to 0.5, the null hypothesis being that weevils dig holes and lay eggs equally in the pods from both the regions studied in a given experiment. This proportion was obtained from the replicates of m binomial trials in which k_i eggs were laid in one of the two regions among a total of n_i . As we are only interested by the ratio k_i/n_i we consider each n_i as fixed and measured. The estimate of the global proportion laid in one defined of the two regions is therefore

$$\hat{p} = \sum_{i=1}^m w_i \hat{p}_i = \sum_{i=1}^m \frac{n_i}{N} \hat{p}_i = \sum_{i=1}^m \frac{n_i}{N} \frac{k_i}{n_i} = \frac{\sum_{i=1}^m k_i}{\sum_{i=1}^m n_i} \quad (0.1)$$

which is the same as dividing the number of eggs in one of the considered regions by the total number laid in both regions. The sampling design, however, does not consist in the random drawing of N Bernoulli trials in a single population but in the successive drawing of $n_1, \dots, n_i, \dots, n_m$ Bernoulli trials in m populations of same composition, with weights $w_i = \frac{n_i}{N}$.

The standard error of \hat{p} is therefore:

$$S = \frac{1}{N} \sqrt{\sum_{i=1}^m \frac{k_i}{n_i} (n_i - k_i)} \quad (0.2)$$

and its confidence interval at risk α :

$$\left[\hat{p} - t_{\frac{\alpha}{2}}^{N-1} \frac{1}{N} \sqrt{\sum_{i=1}^m \frac{k_i}{n_i} (n_i - k_i)}, \hat{p} + t_{\frac{\alpha}{2}}^{N-1} \frac{1}{N} \sqrt{\sum_{i=1}^m \frac{k_i}{n_i} (n_i - k_i)} \right] \quad (0.3)$$

assuming for \hat{p} a Student-Snedecor distribution (as insured by a sum of more than five binomial random variables). A preference for a region was declared, with risk α , when this confidence interval did not include 0.5. The accuracy of formula (0.3) was verified by simulation, using R random generators. This test of proportions did not allow for testing the differences in the number of eggs per hole, since this variable is a ratio but not a proportion.

Correlations between pod and flower characteristics and other variables were tested using Spearman's rank order correlation coefficients. All these analyses were performed with R (R Development Core Team, 2010).

Results

Oviposition choice experiments

Oviposition behaviour

Under the experimental conditions used here, females laid between 1 and 13 eggs per egg cluster, with a mean cluster size of 4.56 ± 2.60 (that did not differ between the three two-choice experiments; one-way ANOVA, $F_{2,455}=0.45$, $P=0.64$), and on average 3.62 eggs were laid per female per day. Assuming that females can maintain this oviposition rate in nature during the whole oviposition period (ca six weeks; Barat *et al.*, 2007), the egg load of females must be of the order of 150 eggs, which is consistent with previous estimations made with wild gravid females. After the experiment, a single pod exhibited between 0 and 18 holes, and contained between 0 and 25 eggs.

Oviposition choice

The number of eggs per pod was significantly different between the two regions tested in all three two-choice experiments, the results obtained by the chi-squared and by the test of proportions giving similar significance levels (Table 1). In the two experiments involving a native and an invaded region (Brittany vs. Reunion, Scotland vs. New Zealand), the total number of holes bored in pods did not significantly differ between regions (Table 1; Figure 2a): it was 378 and 379 in the Brittany-Reunion experiment, respectively, and 348 and 350 in the Scotland-New Zealand experiment, respectively. However, the number of eggs laid per hole was significantly greater in pods from the invaded regions (Brittany-Reunion: 1.02 vs. 1.44, respectively; Scotland-New Zealand: 1.15 vs. 1.34, respectively; Table 1; Figure 2b), so that pods from the invaded region received significantly more eggs than pods from the native region (Brittany-Reunion: 285 vs. 365, respectively; Scotland-New Zealand: 265 vs. 348, respectively; Figure 2c). In the Brittany vs. Scotland (native regions) experiment, pods of Scottish gorses received significantly more eggs in total than pods of Brittany gorses (Brittany: 249, Scotland: 390; Table 1; Figure 2c). While the number of eggs laid per hole did not differ between pods from the two regions (Brittany: 0.94, Scotland: 1.01; Table 1; Figure 2b), the number of holes bored in the pods was significantly higher in pods of Scottish gorses (Brittany: 303, Scotland: 487; Table 1; Figure 2a).

Table 1 - Results of the tests for difference between *Ulex europaeus* of the two tested regions, in the oviposition and feeding choice experiments with *Exapion ulicis*.

	Brittany - Reunion			Scotland - New Zealand			Brittany - Scotland		
	N=18			N=24			N=23		
	n	χ^2	t	n	χ^2	t	n	χ^2	t
Holes/pod	757	0.00	NS	698	0.01	NS	790	42.86***	***
Eggs/hole	650	9.53**	-	613	10.78***	-	639	0.10	-
Eggs/pod	650	9.85**	***	613	11.24***	***	639	31.11***	***
Holes/flower	646	4.85*	*	775	54.23***	***	574	7.14**	***

N= number of sets of females tested in oviposition experiments. For all feeding experiments, N=20. n=total number of holes or eggs. t: significance of the test of proportions.

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

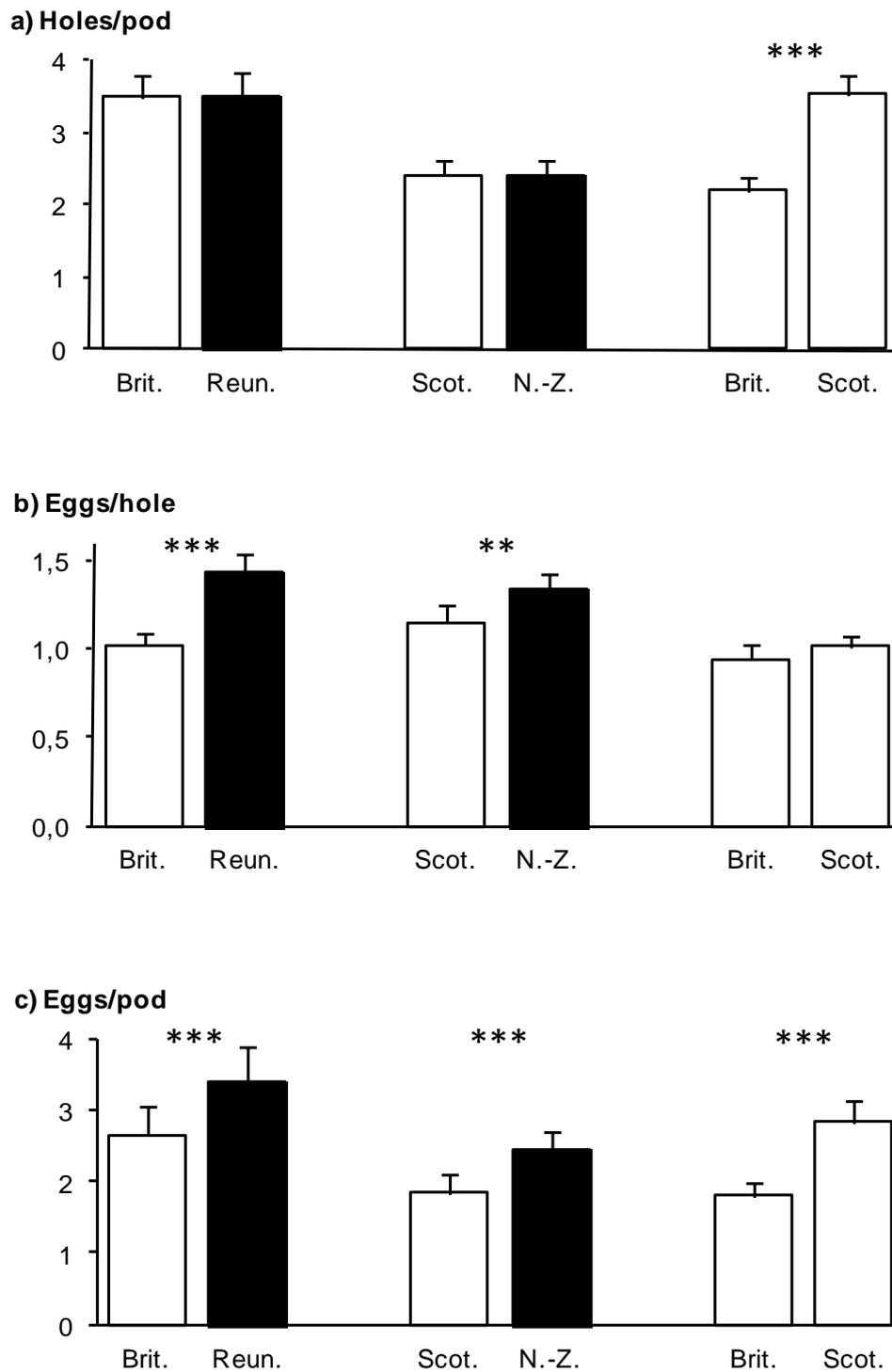


Figure 2 - Number of holes bored by the weevils through the pod walls (a), mean number of eggs laid per hole (b), and number of eggs laid per pod (c), for each two-choice experiment. White bars: native regions, black bars: invaded regions. Significant differences after chi-squared test (see Table 1) are indicated by stars: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.001$. $N = 108$ pods per region for Brit. vs. Reun., $N = 144$ pods per region for Scot. vs. N.Z., $N = 138$ pods per region per for Brit. vs. Scot.**

Pod characteristics

The mean number of seeds per pod differed significantly between regions only in the Brittany vs. Scotland experiment, where pods of Scottish gorses had significantly more seeds than pods of Brittany gorses (Table 2). Pod length differed significantly between regions in all three two-choice experiments: pods from Reunion were larger than pods from Brittany, pods from New Zealand were larger than pods from Scotland, and pods from Scotland were larger than pods from Brittany (Table 2).

We found positive and significant correlations between pod length and the number of eggs laid per pod (Table 3). These correlations still held when considering only pods from one region, except for Scotland in the Brittany-Scotland choice experiment (not shown). The number of eggs laid was significantly correlated with the number of seeds per pod only in the Brittany vs. Scotland experiment (Table 3). However, this correlation was due to a significant correlation between pods from Scotland, while between pods from Brittany, no correlation was detected (not shown). In all cases these effects are very weak ($R^2 < 0.07$).

In the common garden used in this study, we also measured ripe pods characteristics (pod length, the number of seeds per pods, and seed mass) and the fresh weight of adult weevils emerging from pods, for each gorse individual in the garden, based on several randomly chosen pods. Pod length was correlated with the number of seeds they contained ($R=0.28$, $N=103$, $P=0.004$), with seed mass ($R=0.35$, $N=105$, $P=0.0002$), and with total seed mass in a pod (seed number*seed mass; $R=0.42$, $N=102$, $P<0.0001$). Mass of adult weevils emerging from the pods in summer was correlated with seed number (males: $R=0.34$, $N=94$, $P=0.0009$; females: $R=0.25$, $N=93$, $P=0.01$), with seed mass only for males (males: $R=0.24$, $N=93$, $P=0.02$; females: $R=0.15$, $N=92$, $P=0.15$), and with total seed mass in a pod (males: $R=0.43$, $N=92$, $P<0.0001$; females: $R=0.31$, $N=91$, $P=0.003$).

Table 2 - Characteristics of *Ulex europaeus* pods and flowers used in each choice experiment, and results of Student's t-test for differences between regions in pod and flower characteristics.

	Brittany vs. Reunion			Scotland vs. New Zealand			Brittany vs. Scotland		
	mean ± SD		t	mean ± SD		t	mean ± SD		t
	Brittany	Reunion		Scotland	N. Zealand		Brittany	Scotland	
Oviposition									
Pod length (mm)	12.59±1.32	13.09±1.40	-2.71 **	13.46±1.23	13.86±1.55	-2.45 *	12.33±1.35	13.27±1.19	-6.19 ***
Seeds per pod	3.81±1.55	3.84±1.21	-0.15	3.96±1.68	4.08±1.56	-0.62	3.01±1.48	3.46±1.52	-2.44 *
Feeding									
Flower length (mm)	18.70±1.55	18.96±1.35	-0.97	19.52±1.25	19.35±1.88	0.61	18.37±1.57	19.01±1.51	2.26 *

N=108 pods per region in Brit. vs. Reun., N=144 pods per region in Scot. vs. N.Z., N=138 pods per region in Brit. vs. Scot. N=60 flowers per region in each comparison
t are the results of Student's t-tests for pairwise comparisons of means in each two-choice experiment
* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

Table 3 - Spearman's rank order correlation coefficients between the number of *Exapion ulicis* eggs laid per pod and *Ulex europaeus*' pod characteristics, and between flower consumption and flower characteristics, for each two-choice experiment.

	Brit. vs. Reun.	Scot. vs. N. Z.	Brit. vs. Scot.
Oviposition			
Eggs x pod length	+0.25***	+0.18**	+0.12*
Eggs x seeds per pod	+0.07	+0.06	+0.15*
Feeding			
Consumption x flower length	+0.03	+0.06	+0.32***

N=216 pods in Brit. vs. Reun, N=288 in Scot. vs. N. Z., N=276 in Brit. vs. Scot.
N=60 flowers per region in each two-choice experiment
* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

Feeding choice experiments

After 24h, a single flower exhibited between 0 and 36 new feeding holes. Flower consumption was significantly different between the two regions tested in all three two-choice experiments, the results obtained with the Chi-squared and the test of proportions giving similar significance levels (Table 1; Figure 3). In both experiments involving flowers from Brittany, these were significantly more consumed, with overall 19% more holes in flowers from Brittany than in flowers from Reunion, and 25% more holes in flowers from Brittany than in flowers from Scotland. In the Scotland vs. New Zealand experiment, flowers from New Zealand had overall 45% more holes than flowers from Scotland, the difference being highly significant (Figure 3). Weevil feeding choice was independent of the number of holes present on the flowers before the experiment: the correlation between the number of holes made during the experiment (flower consumption) and the number of holes present before the experiment was non-significant in all of the three two-choice experiments (Brittany vs. Reunion: N=120, $R_{\text{Spearman}}=0.03$, $P=0.78$; Scotland vs. New Zealand: N=120, $R_{\text{Spearman}}=0.17$, $P=0.06$; Brittany vs. Scotland: N=120, $R_{\text{Spearman}}=0.07$, $P=0.45$).

Flower length only differed between regions in the Brittany vs. Scotland experiment, where flowers of Scottish gorses were significantly longer than flowers of Brittany gorses

(Table 2). Consumption was correlated with flower length only in this same experiment, with longer flowers being more consumed (Table 3), although this effect is weak ($R^2=0.10$). This correlation only held when considering flowers from Brittany, while it was weaker for Scotland (not shown).

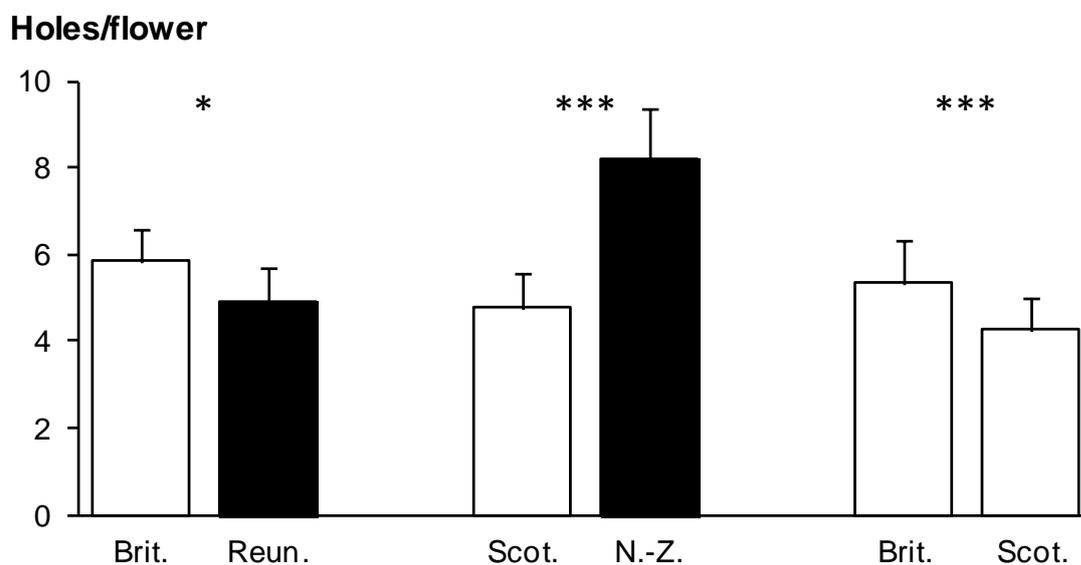


Figure 3 - Consumption of gorse flowers by the weevils for each two-choice experiment. White bars: native regions, black bars: invaded regions. Significant differences after chi-squared test (see Table 1) are indicated by stars: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. $N=60$ flowers per region in each of the three experiments.

Discussion

When exposed to isolated pods or flowers of *U. europaeus* from different regions, *E. ulicis* weevils appear to express preferences and to react to cues expressed by these organs. These choices depended on the origin of the plants and were not always congruent for oviposition and feeding.

Two levels of oviposition choice

In the three two-choice experiments, female exhibited a clear preference: they oviposited significantly more eggs in pods from the preferred region. Depending on the choice offered, females' oviposition preference resulted from different processes. In the choice experiments involving Brittany vs. Reunion and Scotland vs. New Zealand females laid more eggs in pods from Reunion and New Zealand. However, the number of holes bored through the pod wall did not differ, the difference lying only in the number of eggs laid per hole. Female choice appeared thus to result from internal cues detected *after* hole digging. In the choice experiment involving Brittany vs. Scotland, females laid more eggs in pods from Scotland. This time, it was the number of holes per pod that differed, the number of eggs per hole being similar. The preference appeared thus to result from external cues detected by the females *before* hole digging.

This implies that *E. ulicis* females are able to use both external and internal pod cues when foraging for oviposition sites, in a similar way to that of parasitoid females (Godfray, 1994). The assessment of fruit quality before oviposition, through the use of external and internal cues, was previously suggested in other species. Such cues may involve fruit size and seed number (e.g. Redmon *et al.*, 2000). Pod size was also involved in our experiments, but its effect was weak so that it was not the only cue involved. Weevils must therefore use other external cues, at a distance or by contact, such as texture and volatile or nonvolatile chemicals (Schoonhoven *et al.*, 2005; Sidney *et al.*, 2008). Assessment of internal fruit quality may involve chemicals that females detect either by their mouthparts, as in the plant bug *Lygus rugulipennis* (Romani *et al.*, 2005), or by their ovipositor, as in the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Yang *et al.*, 2008). Such a use of internal cues was already suggested in weevils, e.g. in the chestnut weevil *Curculio elephas* (Desouhant, 1996, 1998) and in the pecan weevil *Curculio caryae* (Smith & Mulder, 2009). In *E. ulicis*, both mouthparts and ovipositor can be involved since females use their mouthparts to bore a hole before inserting their ovipositor in it. Finally, the avoidance of pods already infested by *E. ulicis* conspecifics (Hoddle, 1991) or competitors (larvae of the Lepidoptera *Cydia succedana*; Barat *et al.*, 2007) may involve cues which the female can only detect from the inside of the pod.

Role of the origin of plants in oviposition preference

In the two experiments where female weevils were given the choice between pods from native and invaded regions (Brittany vs. Reunion and Scotland vs. New-Zealand) they oviposited more eggs in pods from the invaded regions. The greater oviposition preference for pods from invaded regions rather than native ones is in agreement with expectations of lower resistance in populations devoid of specialist enemies (Blossey & Nötzold, 1995; Orians & Ward, 2010). Further, tissues contributing a lot to fitness (e.g. fruits, seeds) are the most likely to show a decrease in defence in the absence of herbivores (Orians & Ward, 2010). Relatively few studies have compared fruits' defence/susceptibility between plant populations living with or without frugivores, but most found a decreased in defence and/or higher susceptibility (e.g. Janzen, 1975; Benkman, 1995; Blair & Wolfe, 2004). In the invasive species *Silene latifolia*, introduced populations evolved a greater susceptibility to frugivory compared to native populations, due to increased oviposition preference by frugivores and decreased investment in defensive traits (Blair & Wolfe, 2004; Wolfe *et al.*, 2004; Elzinga & Bernasconi, 2009). Our results are in agreement with an increase in pod susceptibility to seed predation in the two invaded regions of *U. europaeus* tested.

In the experiment where female weevils, collected in Brittany, were given the choice between pods from two native regions (Brittany vs. Scotland), they oviposited less eggs in pods from Brittany. The weaker oviposition preference of local weevil for local pods may result from higher defence efficiency of local gorse to local weevils. Reciprocal experiments using weevils from Scotland would be necessary to conclude, but they are difficult to perform since weevils cannot be grown in the lab. Processes such as founder events, bottlenecks, genetic drift, or selection by other environmental factors could have affected the differences observed in the three experiments (Orians & Ward, 2010). However, according to the theory of host-parasite coevolution (Gandon, 2002), local adaptation is expected to evolve in this interaction because: (i) the interaction between *U. europaeus* and *E. ulicis* is very specific (Barat *et al.*, 2007, 2008), and (ii) both species exert strong selective pressures on each other (Barat *et al.*, 2007; Tarayre *et al.*, 2007).

Role of pod characteristics in females' choice

In the three choice experiments, the number of eggs laid in a pod was correlated with its size, and sometimes with the number of seeds it contained, suggesting that female weevils use

these pod traits to make oviposition choice. The adaptive value of such a preference was tested by comparing the body mass of weevils emerging in the common garden, in relation to pod characteristics of their host plant. Indeed, body mass is generally related to insect fitness (Butlin & Day, 1985; Honek, 1993). We found that in the common garden weevil body mass was positively correlated both with pod size and with the number of seeds per pod. Ovipositing more in pods that are bigger and/or contains more seeds seems thus to be adaptive. However, the effects of pod length and seed number are in any case relatively weak in our experiments, so that the differences observed between regions must also be due to other external and internal traits.

The preferences observed here on isolated pods and flowers did not translate into significant differences in whole-plant infestation rate in the common garden (Hornoy *et al.*, 2011). This observation is consistent with the fact that seed-predation avoidance in *U. europaeus* is complex and implies many traits of the whole plant that include plant size and architecture, reproductive and fruiting phenologies, and flower and pod densities (Atlan *et al.*, 2010). Thus other plant cues/traits might have a higher value in gravid females' choice than pod cues.

Feeding preference

The pattern observed in the feeding preference on flowers was different from the pattern for oviposition preference on pods. In the Brittany vs. Scotland comparison, weevils preferred to feed on flowers from Brittany while they preferred to oviposit on pods from Scotland. This implies that cues involved in host choice for feeding and cues involved in host choice for oviposition can evolve in opposite ways. The observed feeding preference could have been induced by the weevils' past diet (del Campo *et al.*, 2001; Schoonhoven *et al.*, 2005). Indeed, the weevils used were collected on gorses from Brittany where they fed since their emergence, during the two months of larval development and the nine months of their adult life. Alternatively, differences in flower size may be involved in weevils' choice, since weevils had a tendency to prefer bigger flowers. Yet the percentage of variance explained by flower size is rather low and it cannot explain the direction of the observed preference. Thus other attractants such as visual cues (e.g. flower spectral quality), feeding stimulants (e.g. sugars), and/or defensive compounds may have played a significant role in the choice observed.

In the Scotland vs. New Zealand experiment, an interference with a local effect cannot occur, because the weevils used originated from neither of these two regions. In this experiment, the feeding preference went in the same direction as the oviposition preference: weevils of both sexes preferred to feed on flowers from the invaded region, as expected following Enemy Release (Blossey & Nötzold, 1995; Orians & Ward, 2010). However, in the Brittany vs. Reunion experiment, weevils preferred to feed on gorse flowers from Brittany, showing a reverse preference compared to the oviposition choice experiment.

The observed feeding preferences for flowers may reflect differences in flower defensive compounds, or flower attractiveness between regions within the native range, and across ranges. Indeed both flower attractants and repellents are needed to maximize fruit production, in order to attract pollinators and avoid flower predation (Kessler *et al.*, 2008). In the absence of florivores, pollinator attraction is still selected, but not florivory avoidance. Thus, in the invaded regions gorse might have evolved an increased attractiveness to pollinators, without the risk of suffering enhanced florivory. Such a situation was already observed in *Silene latifolia*, where flowers from the invaded range attracted the ovipositing females of the specialist moth *Hadena bicruris* more than flowers from the native range (Elzinga & Bernasconi, 2009). Only a few other studies have compared flower susceptibility to enemies in invaded and native regions (Wolfe *et al.*, 2004; Leger & Forister, 2005). Using the specialist anther-smut fungus *Microbotryum violaceum*, Wolfe *et al.* (2004) found that *Silene latifolia* plants from invasive populations were more susceptible than plants from native populations. Our results suggest that the same evolution could have occurred in gorse. Here again, other selective pressures and nonselective processes could account for these differences. Overall, the results from the feeding choice experiments suggest that for feeding also, weevils can make strong choices, and that flowers may thus also be implied in host-plant choice in this species. Because weevils are strongly attracted to flowering gorse individuals, the attractiveness of flowers may be a very important trait in the relation between *E. ulicis* and *U. europaeus*, along with traits such as plant height, flower density (Atlan *et al.*, 2010), and chemical defences. This is thus interesting to see that weevils choice for flowers and pods can be in opposite ways, and that pod infestation rate at the gorse individual level depends on vegetative traits, flower traits, and pod traits, that may not act in the same direction.

Conclusion

By comparing *Exapion ulicis* oviposition and feeding choice on gorse populations with different histories of coevolution with the weevil, we were able to find quantitative and qualitative differences in pod and flower traits implied in the weevils' choice. Previous studies (Atlan *et al.*, 2010; Hornoy *et al.*, 2011) have shown the effect of whole-plant traits such as plant height and pod density.

Altogether, these results show that the foraging behaviour of *E. ulicis* weevils implies the capacity to respond to a wide variety of cues: whole-plant traits, pod internal and external cues, and flower traits. It would thus be interesting to apply more widely the theoretical framework of optimal foraging developed for parasitoid wasps oviposition (Godfray, 1994). Such a theoretical framework may be useful to study the evolution of the interaction between phytophagous insects – especially those whose larvae develop at the expense of seeds – and their host plant. The context of enemy release frequently encountered in invasive plant species offers a good opportunity to go further in that direction.

Acknowledgements

This work was supported by a Centre National de la Recherche Scientifique ATIP-grant. The authors thank Stéphane Pélletier, Nicolas Chazot and Elissa Agudo Del Pozo for technical assistance, Alan Scaife for English improvement, and Joan van Baaren, Sébastien Dugravot, Philippe Louâpre, and Véronique Martel for their helpful comments on the manuscript.

CHAPITRE 8

ALKALOID CONTENT OF THE INVASIVE PLANT SPECIES *ULEX EUROPAEUS* IN RELATION TO GEOGRAPHIC ORIGIN AND HERBIVORY

Ce chapitre est un manuscrit en préparation, par Hornoy B., Atlan A., Tarayre M., Dugravot S., et Wink M.

Résumé

Les plantes ont développé une très grande diversité de défenses contre les herbivores, incluant des défenses physiques, chimiques, d'évitement dans le temps, ou des défenses indirectes. Ces traits sont donc soumis à sélection par les différents herbivores attaquant une plante, et une co-évolution peut avoir lieu. Dans le cadre de l'évolution des défenses chez les plantes, les espèces envahissantes sont un modèle de choix. En effet, celles-ci sont souvent introduites sans leurs ennemis naturels, et certains traits défensifs peuvent donc subir un relâchement de sélection et évoluer. D'autre part, l'étude des défenses des populations de plantes envahissantes est importante dans le cadre de la lutte biologique, ou de la valorisation des pestes végétales. Dans cette étude nous nous intéressons à l'évolution des défenses chimiques chez l'ajonc, *Ulex europaeus*, une espèce envahissante contenant des alcaloïdes quinolizidiniques. En utilisant un jardin expérimental où poussent des ajoncs de différentes régions de la zone native et de la zone envahie, nos objectifs sont de caractériser le rôle de ces composés par rapport aux principaux ennemis spécialistes de l'ajonc, et de voir si leur concentration a évolué dans les régions envahies, où l'ajonc a été introduit sans ses ennemis. Nos résultats révèlent que les alcaloïdes réduisent le taux d'infestation par les prédateurs de graines *Exapion ulicis* et *Cydia succedana*, et par le pathogène *Uromyces genistae-tinctoriae*. Le contenu en alcaloïdes est extrêmement variable entre individus, à l'intérieur et entre les populations, mais n'est pas différent entre les régions de la zone d'origine et de la zone envahie. Notre étude montre aussi que le contenu en alcaloïdes est un trait intégré dans les stratégies de défense contre la prédation des graines. Ces résultats sont discutés dans le cadre de l'évolution des stratégies de défense, de la lutte biologique et de la valorisation de l'ajonc.

Introduction

Plants have developed a large diversity of defense mechanisms to cope with herbivores. These may involve chemicals, physical defenses (e.g. thorns), a high regrowth capacity (*i.e.* tolerance), phenology, the nutritional quality of tissues, and indirect defenses (e.g. volatiles, plant architecture; Wink, 1988; Agrawal & Fishbein, 2006). Defensive chemicals such as secondary metabolites are widespread and can confer resistance to a wide spectrum of enemies, from microorganisms to vertebrates. For example, alkaloids have been shown to be feeding deterrent and/or toxic to bacteria, fungi, plants, insects, nematodes, mollusks, and vertebrates (Wink, 1998). Structural defenses such as thorns and spikes can help avoiding or lower the intensity of grazing by large mammals (Hanley *et al.*, 2007). In many species, flowering before or after the peak of flowering reduces the attack rate by pre-dispersal seed predators due to an escape in time from seed predation (Elzinga *et al.*, 2007; Tarayre *et al.*, 2007). Fruiting synchronously in a short period of time could also reduce seed predation through predator satiation (e.g. Honek & Martinkova, 2005; Elzinga *et al.*, 2007). Several of these traits may act together against herbivores. For example, Johnson *et al.* (2009) showed that in the common evening primrose (*Oenothera biennis*), life-history traits and secondary metabolites were genetically correlated, and together explained most of the variation in herbivory by the main herbivore of the species. Plant defense strategies are indeed better viewed as a suite of traits that act together or even synergistically against herbivory (*i.e.* a defense syndrome), rather than single traits (Agrawal & Fishbein, 2006; Carmona *et al.*, 2011).

The expression and evolution of defensive traits are driven by environmental factors such as resource availability and the composition of the herbivore community. In particular, the reciprocal selection pressure between a plant species and an associated herbivore can lead to coevolution (Janzen, 1980; Thompson, 2005), especially when their relationship is very specific and the impact of the two species on each other is strong (Gandon, 2002). For example, Berenbaum & Zangerl (1998) found a very close match between populations of wild parsnip (*Pastinaca sativa*) to produce defense compounds and the ability of the herbivore *Depressaria pastinacella* to metabolize them. Thus the absence or loss of herbivores can greatly affect the evolution of plant traits that are part of a defense strategy, and of linked traits (e.g. Janzen, 1975; Benkman, 1995).

In this context, biological invasions represent great opportunities to study defense evolution in plants, because most invasive plants have been introduced without their natural enemies, experiencing the so-called *Enemy Release* (Keane & Crawley, 2002; Mitchell & Power, 2003; Liu & Stiling, 2006). In particular, the evolution of plant defensive chemistry in invasive species is an important topic in the study of defense evolution and plant-herbivore interactions, but also for biological control or valorisation of these species (Müller-Scharer *et al.*, 2004).

Common gorse, *Ulex europaeus* (Fabaceae), is a spiny shrub native to western Europe. It has been introduced by man, mainly since the beginning of the 19th century, in several regions of the world where it often became invasive, including New Zealand, Australia, South and North America, and the islands of Hawaii and Reunion (Holm *et al.*, 1997). It is considered one of the most dangerous plant invaders in the world (Lowe *et al.*, 2000). In Europe, gorse is associated with several pathogens and herbivores. However, adult gorse plants are protected from large grazers by their thorns, and the herbivores that attack adult plants are small specialists that had not been co-introduced in the new environment. Specialist seed predators, such as the weevil *Exapion ulicis* and the moth *Cydia succedana*, are the most harmful to gorse since they can infest more than 90% of a plant's fruits (Davies, 1928; Barat *et al.*, 2007). In the native range, gorse defenses against seed predation was shown to be partly achieved through a genetically-based polymorphism of flowering strategies (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010). Indeed, seed predation only occurs in spring and is reduced either by escape in time or by predator satiation. However, these flowering strategies do not explain all the variation observed in seed predation (Atlan *et al.*, 2010). Other defenses may include trichomes on fruits, and chemicals such as quinolizidine alkaloids (QAs). We chose to study QA content because QAs are secondary metabolites characteristic of the phylogenetically-primitive tribes of the Fabaceae (Wink, 1993; Wink *et al.*, 2010). These compounds have a defensive role against a wide array of herbivores, including pathogens, insects and other invertebrates, and vertebrates (reviewed in Wink, 1992, 1998). In addition, QAs are produced in green parts of the plant, are transported through the phloem, and accumulate in epidermal cells and in fruits, thus being strategically positioned to act against both herbivores and seed predators (Wink, 1992; Wink & Roberts, 1998).

The goal of this study was to investigate the ecological relevance and evolution of QAs in gorse. Specifically, the following questions were studied: (i) which are the QAs present in gorse, and how are they distributed between individuals? (ii) does QA content of gorse shoots play a role in defense against seed predators and other enemies (aphids, and

rust)? (iii) did QA content evolve after enemy release in invaded regions? To address these issues, we used a common garden experiment with individuals from native and introduced gorse populations, and measured the QA content in their shoots, infestation by herbivores, and life-history traits.

Materials and methods

Study species

Ulex europaeus is a spiny hexaploid shrub that can live up to 30 years, reaching one to four meters high. Flowers are hermaphrodite and are pollinated by large insects such as honeybees or bumblebees (Herrera, 1999; Bowman *et al.*, 2008). Seeds are produced inside pods that start to form immediately after flower fertilization. In Europe, gorse is attacked by several herbivores. Seedlings may be grazed by generalist herbivores, but adult plants are protected by their thorns and are only attacked by small specialists. The most common and harmful herbivores attacking adult gorses are two specialist seed predators: the specific weevil *Exapion ulicis* (Coleoptera: Apionidae; Barat *et al.*, 2007, 2008), and to a lesser extent the moth *Cydia succedana* (Lepidoptera: Tortricidae; Barat *et al.*, 2007). *Exapion ulicis* is univoltine, females laying eggs in spring inside young pods. Larvae develop at the expense of seeds, and adults emerge about two months later at pod dehiscence (Davies, 1928; Barat *et al.*, 2007). Adults overwinter on gorse, feeding on gorse shoots and flowers. Larvae of *Cydia succedana* can enter and leave pods by chewing the pod wall, and are then able to destroy seeds from several pods (pers. obs.). According to personal observations, the other herbivores that attack vegetative parts of gorse are mainly the aphid *Aphis ulicis* (Homoptera: Aphididae), the spider mite *Tetranychus lintearius* (Acari: Tetranychidae), and the rust fungus *Uromyces genistae-tinctoriae* (Pucciniaceae; Mireille Jourdan, pers. com.). Outside its native range, *U. europaeus* was initially introduced without its natural enemies, and is not attacked by local seed predators. Seed predators and other specialist herbivores from the native range were introduced later for biological control. In New Zealand, *U. europaeus* was present before 1835, while *E. ulicis* was introduced in 1931 and *C. succedana* in 1992 (Hill & Gourlay, 2002). On Reunion Island, there is no biological control program, and gorse plants are still free from natural enemies.

Experimental design

Gorse individuals used in this study came from the same experimental garden on the Campus of Rennes (Brittany, France) as the one used by Hornoy *et al.* (2011). In this garden we grew gorse plants from two native regions, Brittany (France) and Scotland (UK), and plants from two invaded regions, Reunion Island (Indian Ocean) and New Zealand (Pacific Ocean). Seeds were collected on an individual basis in three populations in each region between 1999 and 2005. In October 2006, the seeds were allowed to germinate. One seed per mother plant was randomly chosen and the resulting seedlings were grown for one year in the greenhouse. In November 2007, ten seedlings per population (total N=120) were randomly chosen and randomly transplanted in a common garden located on the Campus of Rennes, an area with several gorse populations nearby and prone to natural infestation by herbivores and pathogens.

By the end of vegetative growth, in September 2009, we collected green shoots from every individual plant. In September 2010, we collected shoots on 12 individuals to compare the alkaloid pattern of individuals between years. Shoot samples were oven-dried for four days at 55 °C. Dried samples were ground to a very fine powder using a planetary ball mill (Retsch). Finally, powder samples were stored in dry tubes (containing silicagel), in a dark cold room (ca 5 °C) until alkaloid extraction.

Alkaloid analysis

Alkaloid extraction

Alkaloid extraction followed a protocol outlined in Wink (1993). For each individual, 5 g of dried powder, when available, was suspended in 30 mL 0.5 M HCl and was left under continuous stirring over-night. Then the suspension was centrifuged for 12 min at 3800 rpm, and the supernatant (*i.e.* the alkaloid extract) was collected and made alkaline (to pH 12-14) with NH₄OH. The alkaline extract was added to an extraction column filled with a matrix that adsorbs water (Varian Chem Tube Hydromatrix). After adsorption, the column was progressively eluted with 90 mL methylene chloride. The eluate was collected in a flask and the solvent was then evaporated in a rotovapor at 45 °C. The crude alkaloid extract was dissolved in a small volume of methylene chloride (ca 1.5 mL) and transferred to a sample

vial. Finally, the solvent was evaporated from the vial by delivering a steady stream of nitrogen gas, and the vials were stored at -20 °C until analysis. Just before identification or quantification, the crude extract was suspended in a known volume of methanol, or in 100µL of acetone containing an internal standard, respectively (see below).

Alkaloid identification

To identify and quantify QAs in gorse green shoots, we used high-resolution capillary gas chromatography and GLC-MS, since both methods are well suited to analyse complex mixtures of QAs (Wink, 1993). To identify QAs present in our samples, some representative alkaloid extracts were studied by GLC-MS. Instruments and conditions were: Hewlett Packard, Series II 5890 Gas Chromatograph equipped with an OV-1 column (30 m x 0.25 mm, bonded 0.25 µm); injection volume 2 µL, split ratio 1:30 ; injector 250°C ; carrier gas Helium. Mass spectrometer (Finnigan MAT, SSQ 7000); positive mode; scan time 0.5 s; first mass/last mass: 40/450; electron energy 70 eV; ion source temperature 175°C. Mass spectral data and retention indexes were compared with previous data (Wink, 1993) to identify QAs unequivocally.

Alkaloid quantification

QAs were routinely analysed by capillary GLC using a GC (Varian 3400) equipped with an OV-1 30 m x 0.25 mm column and the following conditions: injection volume 2 µL, injection temperature 250°C, detector temperature 300°C. Temperature program was 140°C, 10 min isothermal, 140-200°C with 6°C/min, 200-248°C with 4°C/min, 248-300°C with 12°C/min, then 6 min isothermal. Using this method, we were able to quantify three main alkaloids out of the seven QAs detected (see Table 1): lupanine, 5,6-dehydrolupanine, and anagyrene. Gas chromatography was performed both with tetracosane (Aldrich Chem Co) as an internal standard in each sample, and with lupanine as an external standard. GLC-MS was used to assay cytisine, *N*-methylcytisine and *N*-formylcytisine on a subsample of the individuals.

The chromatograms were analysed with PeakSimple 3D (SRI Instruments). Peak areas were used to quantify the individual alkaloids. Contents of individual QAs that were quantified with the internal standard (tetracosane) and the external standard (lupanine) were nearly perfectly correlated ($R_{\text{Spearman}} > 0.95$ for the three assayed QAs, $N=116$, $P < 0.0001$).

Consequently, we used the lupanine standard for quantification. We also calculated a “total” alkaloid content (QA_{sum}), which was the sum of the standardised contents of the three assayed alkaloids.

Measurements of herbivory

In the same season (2008-2009), we collected the plants and also determined infestation by seed predators, aphids, spider mites, and rust, for each gorse individual in the common garden. Seed predation was estimated as pod infestation rate: in late June 2009, when the highest proportion of individuals was fruiting synchronously, we opened 30 ripe pods per individual (when available), and recorded the number of insects. A pod was considered as infested by *E. ulicis* weevils if it contained weevils of any developmental stage (from larva to adult) or weevil parasitoids. A pod was considered as infested by *C. succedana* if it contained a moth larva, or when its presence was revealed by droppings or holes. Infestation rates were estimated when at least 10 ripe pods were available.

In September 2008, some plants were naturally infested by the rust fungus *Uromyces genistae-tinctoriae*, and in May 2009, some plants were infested by the aphid *Aphis ulicis*. In both cases, we recorded, for each plant, if it was infested or not. No attack by the spider mite *Tetranychus lintearius* was observed during the time of this experiment.

Measurements of life-history traits

For every individual, plant height was measured in October 2008, the date of flowering onset was estimated during the flowering season lasting from September 2008 to May 2009, and pod density (the number of pods produced per centimeter of shoot) was determined in May 2009. See Hornoy *et al.* (2011) for full experimental details.

Statistical analysis

Comparisons of alkaloid contents between populations and regions were performed using a two-level nested ANOVA in which populations (random effect) were nested within regions (fixed effect). QA contents were rank-transformed before performing the nested ANOVA, because data were not normally distributed. Correlations involving alkaloid contents or plant

traits measured in the common garden were estimated using Spearman's rank order correlation coefficient. All the analyses were performed using the R software (R Development Core Team, 2010).

Results

Variation in QA content

Across our gorse shoot samples, we detected six different QAs from two different types: the lupanine type and the α -pyridone type (Table 1). All these six compounds were found in samples from the four studied regions. We also detected ammodendrine, which is a piperidine alkaloid often found along with QAs. Single QA contents varied between 0 and 541 $\mu\text{g/g}$ dry weight, with mean content across all individuals being between 2.51 and 46.37 $\mu\text{g/g}$ (Table 1). Content of the three main QAs assayed were highly correlated with each other (lupanine x 5,6-dehydrolupanine: $R_{Sp}=0.69$; lupanine x anagyrene: $R_{Sp}=0.61$; 5,6-dehydrolupanine x anagyrene: $R_{Sp}=0.58$; in all three cases $N=116$ and $P<0.0001$). For the 12 individuals sampled in both 2009 and 2010, QA contents were correlated between years (lupanine: $R_{Spearman}=0.42$; 5,6-dehydrolupanine: $R_{Spearman}=0.53$; anagyrene: $R_{Spearman}=0.54$), but due to lack of statistical power, these high correlations were not significant. Consistently, the standardised sum of these three QAs (QA_{sum}) was significantly correlated between the two years: $R_{Spearman}=0.66$ ($N=12$, $P=0.02$).

Variation in QA content between individuals was very high (Table 1), the coefficient of variation being larger than 100% for the six detected QAs, and even reaching 308% for lupanine. At the among-population level, variation was large for anagyrene and 5,6-dehydrolupanine (Figure 1). For these two QAs, the population effect was significant or nearly so (anagyrene: $F_{8,104}=2.15$, $P=0.04$; 5,6-dehydrolupanine: $F_{8,104}=1.78$, $P=0.09$), but no significant difference existed between the four regions ($P>0.15$ in both cases). For lupanine, variation occurred mainly between regions ($F_{3,8}=6.62$, $P=0.01$; Figure 1) but not between populations within regions ($F_{8,104}=0.94$, $P=0.49$). QA_{sum} revealed the same pattern with a marginally significant region effect ($F_{3,8}=3.38$, $P=0.07$), but no population effect ($F_{8,104}=1.67$, $P=0.12$). Where region effects are present, the significant difference is mainly due to the highest QA content in populations from Brittany compared to the three other regions (Figure

1). Our results thus do not show any difference between the two native regions and the two invaded regions in the QA content of gorse shoots.

Table 1 - Content of the quinolizidine alkaloids detected in gorse shoots.

Alkaloid	Type	N	Content($\mu\text{g/g dw}$)		
			Range	Mean	\pm SD
Lupanine	lupanine	116	0 - 89	2.88	\pm 8.87
5,6-dehydrolupanine	lupanine	116	0 - 19	3.01	\pm 3.25
Anagyrine	α -pyridone	116	0 - 541	46.37	\pm 91.32
Cytisine	α -pyridone	15	0 - 13	15.99	\pm 33.43
<i>N</i> -formylcytisine	α -pyridone	15	0 - 12	2.51	\pm 3.78
<i>N</i> -methylcytisine	α -pyridone	14	0 - 68	12.21	\pm 17.29
Ammodendrine*	piperidine		nd	nd	

* ammodendrine is not a quinolizidine alkaloid but is often found along with them.
nd: not determined

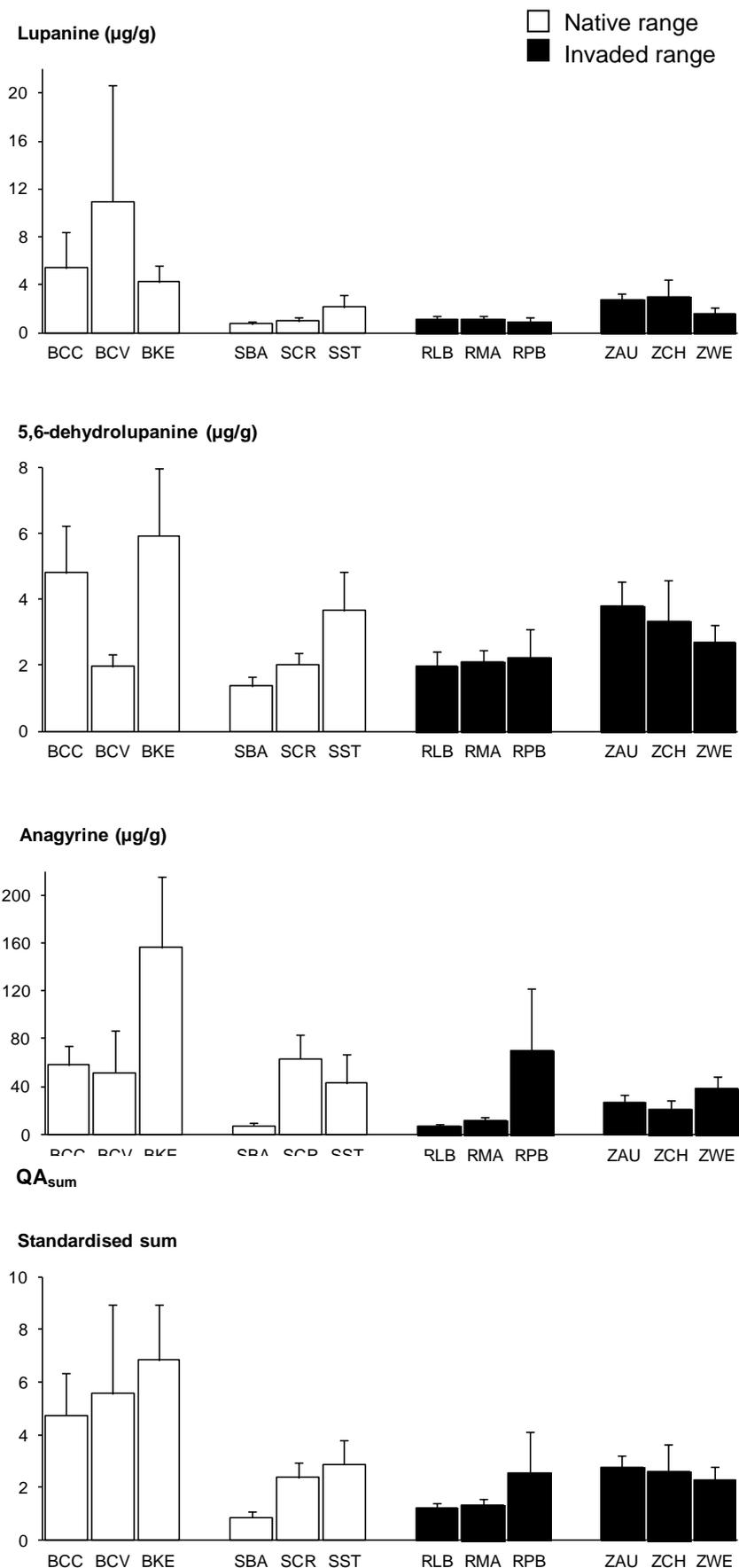


Figure 1 - QA content of gorse individuals grown in the common garden. Means are given with 1 SE. N=116. The first letter in each population ID refers to its region of origin: B for Brittany, S for Scotland, R for Reunion, and Z for New Zealand.

Correlation with herbivory level

When all individuals were taken into account, QA_{sum} was not related to pod infestation rate by weevils and moths (Table 2). Based on the distribution of the data, we thus separated the dataset in two parts to obtain a group of QA-rich individuals ($QA_{sum} > 1.54$) and a group of QA-poor individuals ($QA_{sum} \leq 1.54$). In the QA-rich group, the correlation between pod infestation rate and QA_{sum} was significant (Table 2; Figure 2A). This correlation was mainly due to lupanine-type QAs (Table 2). In the QA-poor group, there was no correlation between QA content and pod infestation rate (Table 2).

QA content did not differ between plants infested by aphids and plants devoid of aphids, neither for single QAs nor for QA_{sum} (Mann-Whitney test, $N=59$ and $N=57$, respectively, $U>1544$ and $P>0.05$ in all cases). Plants that were resistant to rust infestation showed the most extreme QA contents. This pattern led to a significant difference in lupanine content between rust-resistant individuals and rust-infested individuals (Mann-Whitney test, $U=2004.5$, $P=0.02$; Figure 3). There was no such difference with the other single QAs or QA_{sum} (Mann-Whitney test, $U>1871$ and $P>0.05$ in all cases).

Table 2 - Correlation between QA content and pod infestation rate by seed predators.

	Individuals used in the correlations		
	All (N=101)	QA-rich (N=50)	QA-poor (N=51)
Alkaloid			
Lupanine	-0.16	-0.44**	-0.01
5,6-dehydrolupanine	-0.14	-0.37**	-0.07
Anagyrene	-0.05	-0.16	0.03
QA_{sum}	-0.12	-0.42**	-0.01

QA-rich (resp. QA-poor) individuals are those with QA_{sum} equal or more than 1.54 (resp. less than 1.54)

** $P<0.01$

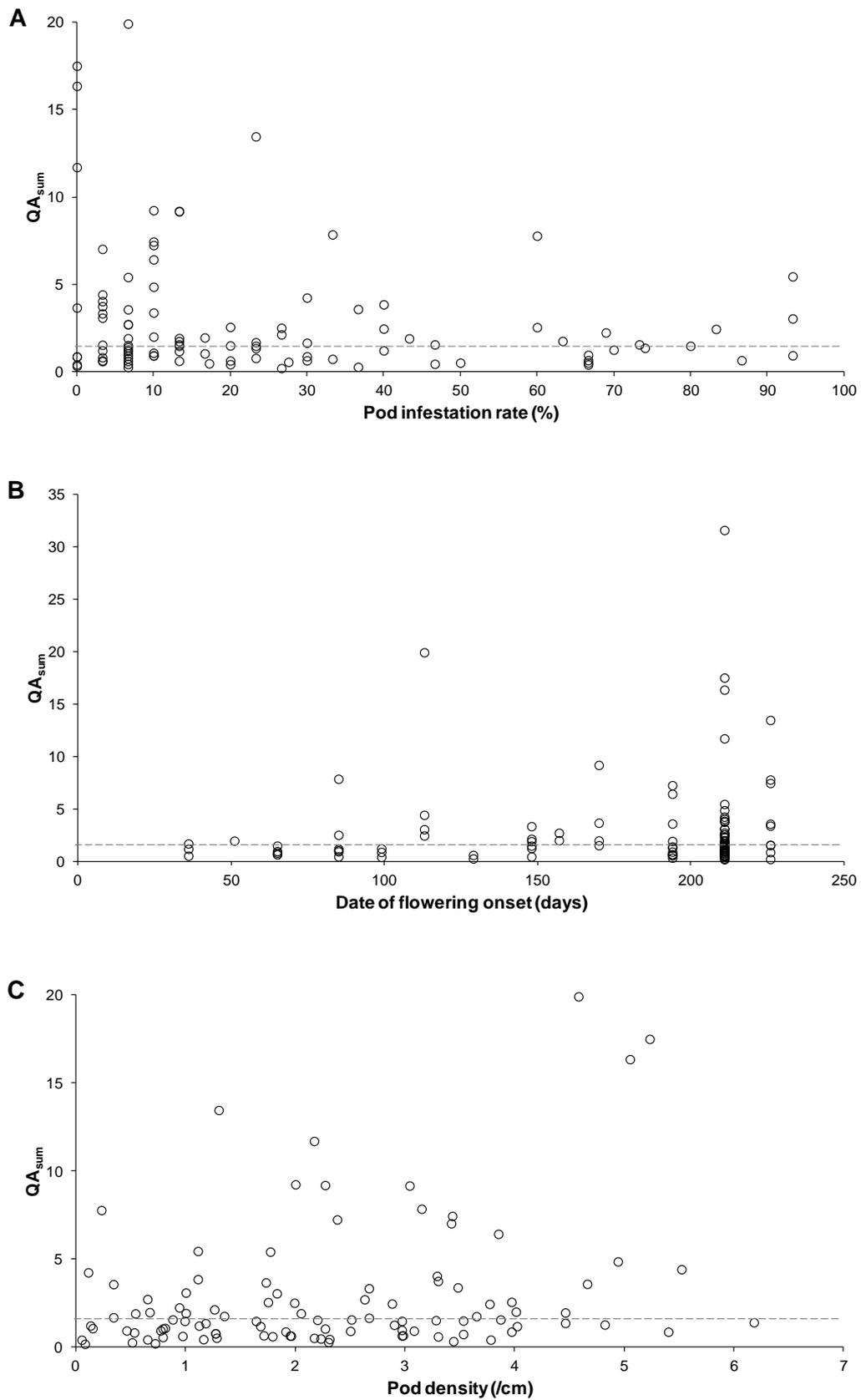


Figure 2 - Relationships between QA content and other gorse traits. N=104, N=104, N=101, respectively. The dotted line separates QA-poor and QA-rich individuals.

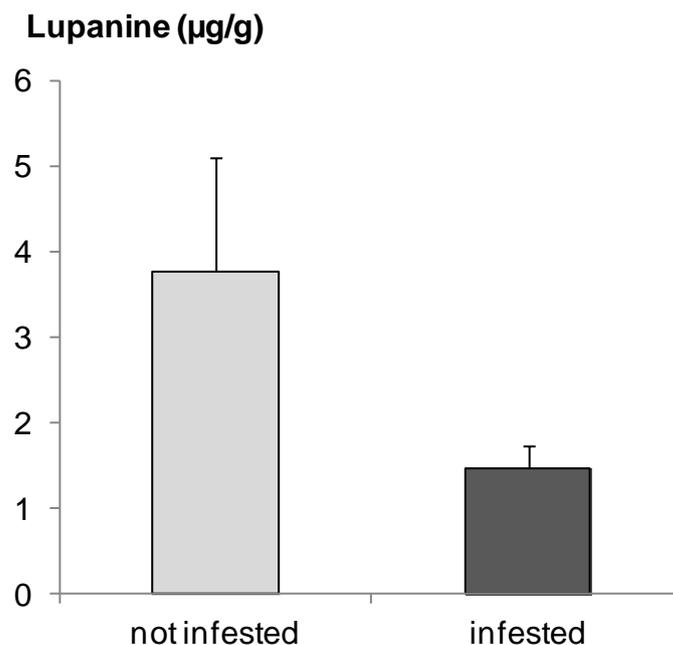


Figure 3 - Mean lupanine content (+1 SE) of gorse individuals of the common garden not infested or infested by the rust pathogen. N=71 and N=75, respectively.

Correlation with life-history traits

Because QA_{sum} correlated in the same way as single QAs with pod infestation rate (Table 2), and life-history traits (not shown), we only describe the correlations between QA_{sum} and life-history traits. To test the correlation between QA_{sum} and life-history traits independently of the flowering strategies of gorse individuals, we used flowering onset and pod density in spring as covariates.

The correlation between the date of flowering onset and QA_{sum} was not significant for the whole dataset, but was significant for the QA-rich group ($R_{Spearman}=0.32$, $N=51$, $P=0.02$; Figure 2B). The correlation between pod density and QA_{sum} was significant for the whole dataset ($R_{Spearman}=0.26$, $N=104$, $P=0.008$; Figure 2C) as well as for the QA-rich group ($R_{Spearman}=0.29$, $N=51$, $P=0.04$). The correlation between QA_{sum} and plant height was never significant, neither for the whole dataset, nor for the QA-rich and QA-poor groups.

Discussion

Variation in QA content

In our gorse shoot samples, we detected six QAs belonging to the lupanine type (lupanine and 5,6-dehydrolupanine) and the α -pyridone type (anagryrine, cytisine, *N*-methylcytisine, and *N*-formylcytisine). These are QAs known to be present in aerial parts of *Ulex europaeus* (Maximo *et al.*, 2006). QA contents we found in gorse shoots ranged from 0.0005 to 0.5 mg/g dry weight (sum of the three assayed QAs). This is in the range of values found in shoots/stems or leaves of several Fabaceae species, with QA contents ranging from 0.01 to 50 mg/g dry weight (Wink & Witte, 1991; Wink, 1992; Bermudez-Torres *et al.*, 2002; Maximo *et al.*, 2006; Bermudez-Torres *et al.*, 2009). The quantitative analysis revealed a very important variation in QA content among individuals, even within populations (Figure 1). The fact that gorse individuals have been randomized in the common garden, and that QA content was correlated between the two years suggests that the observed individual variations have a genetic basis.

While a lot of variation existed among individuals within populations, we observed significant differences between populations or regions, depending on the QA. An effect of the populations and regions of origin was also observed by Boschini *et al.* (2008) in a study of the QA content of 48 *Lupinus albus* ecotypes from 11 regions of the Mediterranean basin. Studying 11 European populations of *Senecio jacobaea*, Macel *et al.* (2004) found a high variation in pyrrolizidine alkaloid contents between plants within populations, as well as among populations. The variation we observed between populations in QA content could be explained by selection by natural enemies and abiotic factors (Orians & Ward, 2010), or by nonselective processes such as migration or drift.

The pattern of variation of QA content between populations and regions is consistent with the results obtained for other life history traits of *Ulex europaeus* in previous studies. Indeed, a large individual variation was observed for reproductive and growth traits as well as for pod infestation rates (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010), but their trait means was independent of the origin of the plants (native or invaded range; Hornoy *et al.*, 2011). However, this contrasts with the results of other studies that made similar comparisons in secondary metabolites, since most of them found an increase in chemical concentrations in the

invaded range: pyrrolizidine alkaloids in *Senecio jacobaea*, *S. inaequidens* and *S. pterophorus* (Stastny *et al.*, 2005; Cano *et al.*, 2009); or the main glucosinolate in *Lepidium draba* (Müller & Martens, 2005). This change is expected when introduced populations escape from specialist, but not generalist herbivores (Müller-Scharer *et al.*, 2004). Indeed, generalist herbivores will select for high qualitative defense that deter them (*i.e.* toxins such as alkaloids or glucosinolates), whereas specialists herbivores will rather select for low qualitative defense, because they are often adapted to (and stimulated by) the latter (van der Meijden, 1996; Müller-Scharer *et al.*, 2004). However, in gorse, both specialist and generalist herbivores are lacking in the introduced range, and in this case we expect a decrease (if toxin production is costly) or the maintenance of toxin levels (Orians & Ward, 2010).

Effects of QAs on gorse natural enemies

Effect of QAs on specialist seed predators

Some of the QAs we found in gorse (lupanine and cytosine) have been shown to have feeding deterrent and/or toxic effects on insects such as Coleoptera and Lepidoptera (reviewed in Wink, 1992). Gorse pod infestation by the Coleoptera *Exapion ulicis* and the Lepidoptera *Cydia succedana* could thus be influenced by these QAs. In our samples, the maximum QA contents (between 0.1 and 0.5 mg/g dry weight, *i.e.* ca 0.01 and 0.05 mg/g fresh weight) are close to QA contents that have been shown to deter insect feeding (Wink, 1992). This suggests that although QA content is relatively low in gorse shoots, some individuals may have QA contents high enough to entail feeding deterrence on insects. Indeed, a correlation between pod infestation rates and QA_{sum} could be detected for gorse individuals that have the highest QA contents, suggesting the existence of a threshold. The effect on seed predators detected for QA-rich individuals was mainly due to lupanine-type QAs (Table 2). Anagyryne, that showed the highest contents, had no effect on pod infestation rate, showing that the nature of the QA was more important than its content. Other QAs, such as cytosine, which was detected but not quantified here, may also play a role, since it has been shown to have strong insecticidal effects (Wink, 1992).

For QA-poor individuals, the absence of effect of QA content on seed predators is consistent with the fact that QA contents are relatively low, and that the studied natural enemies are specialists of gorse (Barat *et al.*, 2007; Zwölfer, 1962). Indeed, specialist enemies

such as insects have been shown to be able to cope with toxic secondary metabolites of their host, among which alkaloids, by eliminating toxins with the feces, by sequestering them, or after a mutation at a toxin target-site (Wink, 1992; Desprès *et al.*, 2007). However, interestingly, even in the specialist seed eaters *Exapion ulicis* and *Cydia succedana*, QA content seems to negatively influence their feeding and/or oviposition choice. Such a situation was already found for example by Wink *et al.* (1982) with the broom aphid *Aphis cytisorum*, a monophagous species specialized on broom, *Cytisus scoparius*.

Effects on aphids and rust

The QAs quantified here seemed to have no effect on infestation by the aphid *Aphis ulicis*. Indeed, there was no difference in QA content between infested and not-infested gorse individuals. This could reflect the fact that aphids are able to store dietary QAs, such as in *Aphis cytisorum*, *Aphis genistae*, and *Macrosiphum albifrons* (Wink *et al.*, 1982; Wink & Witte, 1991).

By contrast, the QAs quantified here seemed to have a strong effect on infestation by the rust *Uromyces genistae-tinctoriae*, with lupanine being the most important in avoiding heavy infestation. This QA has already been shown to have antifungal activities, since it inhibited conidia germination and further development of the powdery mildew fungus *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* (Wippich & Wink, 1985). Because QA-rich individuals, and in particular lupanine-rich individuals, are more resistant to seed predation and to rust infestation, it is not surprising that pods of individuals that were infested by rust were on average more infested by seed predators (mean pod infestation rate \pm SD: 31.90 \pm 28.33 %, N=45) than those of rust-resistant individuals (pod infestation rate: 21.84 \pm 23.87 %, N=71; Mann-Whitney test, U=840.5, P=0.04). This is consistent with the fact that QAs are broad-range bioregulators since they are toxic to many species belonging to very different taxonomic groups, from microorganisms to vertebrates, due to their neurotoxic effects and their ability to inhibit protein biosynthesis (Wink, 1992, 1998). The same system of generalized defense against diverse organisms was also found with the iridoid glycosides of *Plantago lanceolata*, providing the plant with resistance against both an insect herbivore and a biotrophic fungus (Biere *et al.*, 2004).

Role of QAs in seed-predation avoidance strategies in *Ulex europaeus*

In gorse, seed-predation avoidance has been previously shown to involve flowering phenology through two different strategies: escape in time, for the plants that produce pods before the reproductive period of seed predators, and predator satiation, for the plants that produce fruits massively in spring, during the reproductive period of seed predators (Tarayre *et al.*, 2007; Atlan *et al.*, 2010). In addition to this polymorphism of flowering phenology, the present results suggest that there is also a polymorphism in the strategy of QA production. Indeed, while for some plants QAs are used as efficient defense against seed predation and herbivory, other plants produce a basal level of QAs that is too low to have any effect. Furthermore, these two types of polymorphism are related: the effect of QAs on seed predation increases with the date of flowering onset and with pod density, showing that the strategy of mass-fruiting in spring also involves QA-based defense, while the escape-in-time strategy does not. This result supports the view that plant defense against herbivores involves a suite of traits that are part of a defense syndrome and act together against herbivores (Agrawal & Fishbein, 2006; Johnson *et al.*, 2009; Carmona *et al.*, 2011).

Conclusion

In this study we quantified the amount of some quinolizidine alkaloids in green shoots of *Ulex europaeus*, and its variation among individuals, populations, and regions. We showed that QA content was involved in resistance against some specialist enemies of gorse, but that it was not the only determinant of infestation of the plants. Specifically, we showed that QA are part of the seed-predation avoidance strategies that already imply reproductive phenology, pod production and growth pattern (Atlan *et al.*, 2010).

The absence of difference in QA content between native and introduced populations is consistent with the absence of difference between pod infestation by seed predators, and infestation by rust, among the same populations (Hornoy *et al.*, 2011). These results are important in the context of biological control, which has proven relatively inefficient with seed predators. Indeed, long flowering individuals can escape seed predation in time (Hill *et al.*, 2000), and it seems that introduced populations maintained their resistance level (Hornoy *et al.*, 2011; this study).

Finally, in the context of valorisation of invasive plant species, for example by converting a plant into fodder, this type of results on toxicity and its evolution after introduction are very important. Further studies, including quantification and comparison of quantitative defenses (e.g. tannins), would shed more light on chemical defense evolution in gorse and its implication for the management of this species.

Acknowledgements

This work was funded by the Groupement de Recherche “Ecologie Chimique”. The authors thank Louis Parize, Astrid Backhaus, Frank Sporer, and Armelle Racapé for technical assistance.

DISCUSSION GENERALE

L'objectif global de ce travail était de déterminer si, et dans quelle mesure, des processus évolutifs avaient contribué au succès envahissant de l'ajonc à travers le monde. Pour répondre à ces questions, (i) nous nous sommes tout d'abord focalisés sur l'étude de la biologie de l'ajonc dans sa zone d'origine, notamment en termes de relations plante-insectes, de génétique évolutive et des populations, (ii) nous avons réunis des données historiques et moléculaires permettant d'inférer le mode d'introduction de l'espèce, (iii) nous avons étudié en jardin expérimental principalement, et en populations naturelles, les changements évolutifs pour une série de traits ayant pu contribuer au fort succès envahissant de l'ajonc. La diversité d'approches utilisées nous a permis de mieux connaître le modèle biologique, d'en tirer des hypothèses sur son succès envahissant, et d'apporter des éléments nouveaux pouvant expliquer le succès d'autres espèces.

I - L'ajonc : un modèle d'étude pour le polymorphisme de stratégies

L'étude des processus et des traits impliqués dans le succès envahissant de l'ajonc nous a apporté des éléments intéressants dans la compréhension du polymorphisme de stratégies exceptionnel existant chez l'ajonc (Tarayre *et al.*, 2007 ; Atlan *et al.*, 2010). Ainsi, bien que ce n'était pas le but premier de cette thèse, nous discuterons tout d'abord l'existence et l'évolution de ces stratégies.

I.1 - Deux stratégies d'évitement de la prédation des graines

Chez l'ajonc, les principaux ennemis naturels sont les prédateurs de graines *Exapion ulicis*, et dans une moindre mesure *Cydia succedana*. Ces deux espèces sont actives au printemps où elles parasitent les gousses d'ajonc. Les résultats précédents de l'équipe (Tarayre *et al.*, 2007 ; Atlan *et al.*, 2010) ont révélé chez l'ajonc la coexistence de deux stratégies d'évitement de la prédation des graines. Premièrement, certains individus ont évolué une stratégie de **satiété du prédateur** : ils fleurissent et fructifient massivement au printemps (floraison et fructification courtes) au moment du pic d'infestation par les prédateurs de graines, mais ils réduisent

l'infestation des gousses grâce à une fructification massive, de sorte que les prédateurs de graines ne peuvent pas infester une trop grande proportion des gousses. Deuxièmement, certains individus ont évolué une stratégie d'**évitement dans le temps** : ils fleurissent et fructifient dès l'automne-hiver et jusqu'au printemps (floraison et fructification longues), produisant donc une partie de leurs gousses avant que les prédateurs de graines ne soient actifs. Les résultats de cette thèse montrent de plus (i) qu'à la stratégie de satiété du prédateur est associée une plus grande concentration en **alcaloïdes quinolizidiniques**, qui réduisent également le taux d'infestation des gousses au printemps ; (ii) que **la stratégie d'évitement dans le temps est plastique**, suggérant que ces plantes peuvent accommoder leur floraison, par exemple en la retardant les années où les conditions hivernales sont trop rudes pour optimiser la formation de fleurs, la pollinisation, la fructification et la mise à graines.

L'existence de ces deux stratégies engendre des corrélations entre les différents traits impliqués, comme la date de début de floraison, la densité de gousses, et le contenu en alcaloïdes. Cette vision multi-traits des défenses des plantes est assez récente (Agrawal & Fishbein, 2006 ; Johnson *et al.*, 2009). En particulier, Agrawal & Fishbein (2006) ont étendu le concept de **syndrome** (un ensemble de traits covariant entre eux) aux défenses des plantes, au niveau interspécifique. En effet, de multiples traits ayant un rôle défensif peuvent évoluer de concert car la variété d'ennemis des plantes requiert des défenses diverses, car un certain niveau de redondance adaptative dans les défenses peut être nécessaire si un trait défensif en particulier n'est pas efficace dans des conditions données, ou car de multiples traits peuvent avoir un effet synergique sur les ennemis naturels (Agrawal, 2011). Chez l'ajonc, les deux stratégies d'évitement du parasitisme correspondent aux syndromes appelés « défense » (pour les plantes à floraison tardive) et « échappement dans le temps » (pour les plantes à floraison précoce ; Agrawal & Fishbein, 2006), qui sont connues pour évoluer contre la prédation des graines avant dispersion (Elzinga *et al.*, 2007 et références incluses). Cette vision multi-traits des défenses des plantes est d'ailleurs plus proche des processus de perception et de décision des herbivores. En effet, chez les insectes herbivores, l'acceptation ou non d'une plante-hôte résulte de l'intégration sensorielle de tous ces signaux (Schoonhoven *et al.*, 2005). Chez l'ajonc, nous avons montré dans diverses expériences en laboratoire et dans les jardins que les traits impliqués dans les stratégies d'évitement, et d'autres traits comme le contenu des gousses en graines, ont tous individuellement un effet sur le comportement des prédateurs de graines. Les autres traits potentiellement impliqués sont la qualité nutritionnelle des tissus, la présence des trichomes sur les gousses, les défenses chimiques quantitatives (par exemple les tannins), et des défenses indirectes (par exemple *via* les parasitoïdes des apions). Finalement,

l'intégration de suites de traits dans ces deux stratégies les rend aussi efficace l'une que l'autre pour réduire la prédation annuelle des graines (Atlan *et al.*, 2010).

La particularité des stratégies d'évitement de la prédation des graines chez l'ajonc réside en deux points majeurs. Premièrement, chez l'ajonc, les deux stratégies entraînent une **variabilité phénotypique** exceptionnelle. En particulier, la date de début et la durée de floraison peuvent varier de quelques semaines à plusieurs mois au sein d'une même population, ce qui représente une variabilité très rare (Ollerton & Lack, 1992 ; Wolfe & Burns, 2001). Deuxièmement, les stratégies de floraison ou de défense sont généralement étudiées entre espèces (par exemple Proença & Gibbs, 1994 ; McIntosh, 2002 ; Agrawal & Fishbein, 2006) et le concept de syndrome de défense a été développé au niveau interspécifique. Nos résultats révèlent que différentes stratégies associées à différents syndromes défensifs peuvent coexister non seulement **au sein d'une même espèce**, mais également **au sein d'une même population**. Enfin, il est aussi intéressant de noter que ces deux stratégies ont très probablement évolué à cause de la sélection disruptive exercée par les prédateurs de graines (Atlan *et al.*, 2010). Ainsi, bien que la théorie des syndromes de défense prédit que des environnements biotiques et abiotiques similaires vont entraîner une convergence de suites de traits entre espèces (Agrawal, 2007), chez l'ajonc l'évitement de la prédation par les prédateurs de graines engendre deux stratégies différentes.

I.2 - Variabilité phénotypique et moléculaire

L'existence de deux stratégies d'évitement de la prédation des graines au sein des populations d'ajonc entraîne une forte variabilité génétique des traits impliqués (phénologie de floraison, croissance, production de gousses, alcaloïdes ; Atlan *et al.*, 2010 ; Hornoy *et al.*, 2011 ; CHAPITRE 8). Cette diversité est certainement due au fait que les traits impliqués sont négativement corrélés entre les deux stratégies : une floraison précoce est plutôt associée à une faible densité de gousses, un contenu en alcaloïdes moindre, et une forte plasticité de phénologie de floraison ; une floraison tardive est plutôt associée à une forte densité de gousses et à un plus grand contenu en alcaloïdes. Ainsi, les mécanismes qui maintiennent le polymorphisme de stratégies permettent le maintien d'une très grande diversité génétique des traits dans les populations d'ajonc. En effet, en maintenant au sein d'une même population d'ajonc les deux extrêmes, la variabilité des traits est donc quasiment aussi forte au sein d'une population qu'au sein de l'espèce dans sa zone d'origine.

Nos résultats montrent un patron similaire pour la diversité génétique neutre : la très grande majorité de la diversité se situe au sein des populations, et peu entre populations et régions. Ils suggèrent que la dérive au sein des populations d'ajonc ait un effet relativement faible, et que celles-ci puissent maintenir une forte diversité génétique intra-population, sûrement en lien avec la polyploïdie, l'allogamie, la pérennité de la plante et de sa banque de graines. Une faible dérive peut aussi contribuer au maintien du polymorphisme de traits dans les populations.

I.3 - Perspectives sur l'étude de l'évolution des stratégies de défenses

L'étude des deux stratégies d'évitement de la prédation des graines chez l'ajonc pourrait être complétée par un dosage des défenses quantitatives, comme les tannins. En effet, ces composés ont potentiellement un effet important sur les ennemis spécialistes, qui sont adaptés aux défenses qualitatives comme les alcaloïdes. Ensuite, connaissant déjà un certain nombre de traits impliqués dans ces stratégies, il pourrait être intéressant de quantifier l'effet relatif de chacun de ces facteurs dans la réduction du taux de parasitisme. La mesure de tous ces traits sur des individus variables pour eux, et une analyse de régression multiple pourraient permettre de finaliser la vision des deux stratégies. Ces données seront aussi intéressantes dans le cadre des résultats surprenants d'une récente méta-analyse révélant que les traits d'histoire de vie semblent généralement plus importants que les métabolites secondaires dans la réduction de l'herbivorie (Carmona *et al.*, 2011).

L'ajonc offre également la possibilité exceptionnelle d'étudier la coexistence de deux stratégies de floraison (et de défense) au sein de populations. Certains processus, comme la variabilité spatiale dans les pressions de sélection ou la fréquence-dépendance peuvent expliquer le maintien de ce polymorphisme. Il sera aussi important d'étudier les effets de l'homogamie et de la variabilité temporelle. En effet, l'homogamie peut maintenir et renforcer les stratégies en termes de corrélations entre traits, car les individus ayant des valeurs de traits proches (pour la floraison mais aussi pour les traits qui y sont corrélés) vont plutôt se reproduire ensemble. Une étude de la différenciation génétique neutre entre des individus précoces et tardifs, au niveau intra-population, permettra d'étudier l'importance de l'*isolement dans le temps* entre les deux types de plantes, et les conséquences pour l'évolution des deux stratégies (Hendry & Day, 2005). Dans ce cadre, la plasticité de phénologie de floraison sur la différenciation entre les deux types de plantes est aussi intéressante, puisque les années où les plantes précoces retardent leur floraison, les flux de gènes entre les deux types de plantes

seront plus importants. Une telle étude génétique nécessitera néanmoins des marqueurs discriminants au niveau populationnel. D'autre part, un projet de modélisation sur le point de débiter visera à déterminer dans quelle mesure des variations temporelles dans les pressions de sélection (prédateur de graines, conditions hivernales) permettraient le maintien du polymorphisme dans les populations d'ajonc (sur la base de données de cinq populations sur cinq années d'étude ; Atlan *et al.*, en préparation). Dans ce contexte, une étude de génétique des populations d'apions permettrait également de connaître leurs distances de dispersion et leur structuration génétique par rapport aux populations d'ajonc. Ce type d'information, associée aux données de variabilité spatio-temporelle des traits et des taux d'infestation, apportera des informations essentielles dans la dynamique co-adaptative de l'ajonc et de l'apion.

II - Vers une meilleure connaissance de l'invasion biologique par l'ajonc

L'ensemble des études menées sur l'ajonc montrent qu'il possède des caractéristiques intéressantes pour envahir de nouveaux milieux : c'est une espèce fixatrice d'azote atmosphérique, elle produit beaucoup de graines qui ont une longue durée de vie (Lee *et al.*, 1986), elle a une forte capacité de repousse (Reyes *et al.*, 2009), elle peut être très plastique, elle possède des génomes provenant de deux lignées distinctes (Ainouche *et al.*, 2003 ; Ainouche *et al.*, 2009a), elle présente une très forte diversité génétique des traits liée aux pressions de sélection exercées par les prédateurs de graines (Atlan *et al.*, 2010). A partir de cette bonne connaissance de la biologie et de l'écologie de l'ajonc dans sa zone d'origine, nous avons pu, dans la présente thèse, éclaircir certains mécanismes impliqués dans le succès envahissant de l'ajonc à travers le monde (discutés ci-dessous, et illustrés dans la Figure 16).

II.1 - Rôle de l'Homme dans le succès envahissant de l'ajonc

La synthèse des données historiques et moléculaires suggère que l'Homme a pu faciliter l'invasion de l'ajonc à divers niveaux (voir Figure 16). Premièrement, en **introduisant l'ajonc de façon volontaire** et très probablement de façon massive et/ou répétée, l'Homme a certainement permis à l'ajonc d'avoir une bonne démographie dans les régions d'introduction.

En effet, une population colonisatrice assez importante pourra croître rapidement, en évitant de subir les inconvénients des populations de petite taille : difficulté à trouver des partenaires pour la reproduction, consanguinité, *etc* (Ellstrand & Elam, 1993). Deuxièmement, de par son **utilisation en agronomie**, les semences d'ajonc ont été distribuées, vendues par les pépinières, et son utilisation a même parfois été officiellement encouragée, comme en Nouvelle-Zélande. Cette popularité et ses usages ont très probablement valu à l'ajonc d'être dispersé par l'Homme rapidement et sur de grandes distances, de façon volontaire quand il était planté, et de façon involontaire *via* des propagules dans les boues collées sur les machines et les outils, *etc*. Enfin, nos résultats montrent que le mode d'introduction de l'ajonc n'a pas donné lieu à des goulots d'étranglement significatifs dans la plupart des régions envahies étudiées. De plus, si les introductions ont été multiples et provenant de diverses sources, l'hybridation intra-spécifique entre génotypes divers au cours de l'invasion a pu créer de nouvelles combinaisons de traits. Ainsi, l'introduction de l'ajonc par l'Homme a pu contribuer à la conservation d'une **forte diversité génétique dans les populations introduites**, permettant à la sélection d'engendrer les changements évolutifs observés. Nos résultats dans la zone d'origine montrent en outre que la diversité génétique des traits est maintenue au niveau-même des populations, et donc que même une introduction à partir d'une seule population source peut engendrer une très grande diversité phénotypique introduite. Enfin, il faut noter que l'association de l'ajonc avec l'Homme, dans la zone d'origine, a pu contribuer à la sélection de traits favorisés dans les environnements perturbés et utilisés par l'Homme (di Castri, 1989). De plus, la perturbation par l'Homme des régions d'introduction peut faciliter l'invasion par l'ajonc. Par exemple, dans les habitats de montagne comme à Hawaii et à La Réunion, le surpâturage peut faciliter l'installation de l'ajonc (voir Pauchard *et al.*, 2009). Ces hypothèses sont cohérentes avec le fait que l'introduction volontaire par l'Homme favorise le succès envahissant des espèces, par rapport aux introductions accidentelles (Pysek *et al.*, 2011).

II.2 - Processus évolutifs contribuant au succès envahissant de l'ajonc

II.2.1 - Diversité génétique introduite forte

Nous avons montré qu'une grande diversité moléculaire a été introduite dans les régions envahies, ce qui suggère que la **diversité génétique des traits** a dû aussi être similaire à celle des régions sources de la zone d'origine. Bien que la diversité neutre n'est pas toujours

corrélée à la diversité génétique quantitative des traits et qu'il faut rester prudent dans les interprétations (Reed & Frankham, 2001), la diversité neutre des populations est souvent corrélée à la *fitness* de celles-ci (Reed & Frankham, 2003). De plus, dans notre cas, nous utilisons la diversité neutre introduite comme marqueur de la quantité d'individus introduits, pour en inférer la diversité génétique quantitative introduite. Nous ne supposons donc pas que les deux types de variation génétique évoluent de manière similaire dans les populations établies, mais qu'elles sont affectées globalement de la même manière par un goulot d'étranglement, *i.e.* une réduction de diversité. En fait, chez l'ajonc nous avons trouvé une perte d'allèles rares dans les régions envahies, mais la distribution des traits quantitatifs est relativement insensible à la perte d'allèles rares (Dlugosch & Parker, 2008a). La diversité génétique quantitative introduite avec les populations d'ajonc est donc probablement aussi grande que dans la zone d'origine.

II.2.2 - *Enemy Release* et relâchement des pressions de sélection associées

Lors de son introduction, **l'ajonc a perdu ses herbivores et pathogènes spécifiques**, et en particulier ses prédateurs de graines. En outre, il est peu attaqué par des généralistes dans la zone envahie. Il a donc pu bénéficier de moindres pertes de biomasse et de régulation de populations, mais aussi de la perte des pressions de sélection associées aux ennemis naturels. A titre d'illustration, Hill *et al.* (1996) ont montré, en comparant des ajoncs traités à l'insecticide ou à l'eau (témoin), que les prédateurs de graines réduisent de plus de 50% le nombre de graines tombant sous les ajoncs. L'absence des prédateurs de graines dans les régions d'introduction a donc dû avoir un effet direct très fort sur la *fitness* des plantes, et sur la croissance populationnelle. De plus, dans notre système d'étude les résultats suggèrent qu'en l'absence du charançon, l'ensemble des traits évoqués plus haut (phénologie reproductive, production de gousses, richesses des gousses en graines, *etc*) peuvent être libérés d'une pression de sélection, et potentiellement évoluer plus librement dans les régions d'introduction (Lahti *et al.*, 2009).

Il faut cependant rester prudent, car l'existence d'une corrélation entre la valeur d'un trait de la plante et le taux d'infestation des gousses par le charançon n'implique pas forcément une relation de causalité directe. Par exemple, la corrélation entre la date de début de floraison et le taux de parasitisme des gousses au printemps serait plutôt due au lien entre le caractère précoce ou tardif de la floraison des plantes, et d'autres traits comme la densité de gousses ou le contenu en alcaloïdes par exemple. D'autre part, certains traits impliqués dans

l'évitement de la prédation des graines ne sont pas uniquement à vocation défensive ou d'évitement de la prédation. C'est le cas par exemple de la production de fruits (impliquée dans la satiété du prédateur), de la phénologie de floraison (impliquée dans l'évitement dans le temps), ou de la taille des plantes. Ces traits sont très probablement soumis à sélection par d'autres facteurs que les prédateurs de graines, et leur évolution après *Enemy Release* dépendra donc de ces autres facteurs dans les régions d'introduction. Néanmoins, la perte de la pression sélective par les prédateurs de graines libère un peu plus l'évolution de ces traits, qui pourront potentiellement répondre plus facilement à ces autres pressions de sélection. De plus, certains des traits impliqués dans le choix des apions sont corrélés génétiquement entre eux, et potentiellement avec d'autres traits non-mesurés. L'évolution dans les régions d'introduction va donc aussi dépendre de l'architecture génétique de ces traits (*Cf* partie III.2). Au final, l'évolution de traits soumis à un relâchement de la sélection va dépendre, outre la variance génétique pour ces traits, des coûts et bénéfices liés à l'expression de ces traits (Lahti *et al.*, 2009).

II.2.3 - Evolution d'une croissance initiale plus rapide

Les résultats de cette thèse révèlent que ces deux éléments (une forte variation génétique et la perte des pressions de sélection des ennemis naturels) ont probablement occasionné des changements évolutifs ayant participé au succès envahissant de l'ajonc (Figure 16). Premièrement, nous avons montré que les plantules d'ajonc ont évolué une **meilleure croissance** initiale dans les régions d'introduction par rapport aux régions d'origine. Une meilleure croissance pourrait entraîner une meilleure compétitivité de l'ajonc dans les populations introduites, et lui permettre de prendre l'avantage sur les espèces locales. Chez l'ajonc, une croissance initiale plus rapide pourrait aussi être avantageuse en présence de brouteurs généralistes (par exemple lapins, limaces). En effet, les jeunes plantules sont tendres, peu lignifiées, et ne possèdent pas encore d'épines, et elles sont donc susceptibles à ces ennemis. Une croissance plus rapide vers un stade où les défenses physiques se développent serait donc un avantage. Même si une meilleure croissance est attendue sous l'hypothèse EICA, cette dernière ne semble pas être un facteur déterminant dans le succès envahissant de l'ajonc, à l'âge adulte. D'ailleurs, ce résultat est confirmé par les données de la saison 2009-2010 (quatrième année de croissance), où le patron de moyennes de traits entre populations et régions est similaire (données non présentées). L'hypothèse EICA pourrait tout de même expliquer la meilleure croissance des plantules, mais seule une étude des défenses

des plantules permettrait de répondre à cette question. Les autres traits liés à l'effort reproducteur et les défenses contre les herbivores (dont les alcaloïdes quinolizidiniques), ne semblent pas avoir évolués de façon congruente entre les populations de la zone d'origine et les populations des régions envahies. Nos tests de choix en laboratoire avec *Exapion ulicis* suggèrent tout de même qu'un trait interne des gousses, impliqué dans la résistance à la prédation des graines, a pu évoluer après l'introduction. Cependant, aucun impact significatif sur le taux d'infestation des plantes entières n'a été détecté, suggérant que d'autres traits sont plus importants dans le choix des femelles apion (densité de gousses, alcaloïdes, *etc*). Globalement, nos résultats sont congruents avec la littérature sur l'hypothèse EICA, où les auteurs l'ont souvent validée en partie, en observant une meilleure croissance et/ou l'évolution de traits défensifs, mais où EICA ne semble réellement expliquer le succès envahissant chez quelques espèces seulement (comme *Sapium sebiferum*, Siemann & Rogers, 2001 ; Zou *et al.*, 2008 ; voir aussi les revues de Bossdorf *et al.*, 2005 et Orians & Ward, 2010).

II.2.4 - Relâchement des corrélations génétiques

Nous avons aussi montré que les corrélations génétiques entre la résistance aux prédateurs de graines et des traits d'histoire de vie importants comme la phénologie de floraison, la taille des plantes, et la densité de gousses, étaient réduites dans les régions envahies. Ce résultat nous a conduit à proposer une nouvelle hypothèse pouvant expliquer le succès de certaines plantes envahissantes : l'**hypothèse de relâchement des corrélations génétiques** (ou contraintes génétiques), **RGC**. Cette hypothèse propose qu'en l'absence de pressions de sélection ayant créé des corrélations génétiques entre des traits (par pléiotropie, liaison physique, ou déséquilibre de liaison, et maintenues par sélection corrélacionnelle), ces corrélations peuvent s'amenuiser voire disparaître, et permettre ainsi de nouvelles combinaisons de traits. En particulier, chez l'ajonc, l'absence de prédateurs de graines dans les régions d'introduction a pu faciliter l'évolution de la phénologie de floraison, la densité de gousses, et la croissance des plantes.

En permettant potentiellement aux populations d'ajonc de s'adapter localement, le mécanisme que nous proposons (l'hypothèse RGC) peut donc aussi contribuer au succès envahissant de l'ajonc. En particulier, les données en populations naturelles et en jardin expérimental tendent à montrer que la phénologie de floraison est un trait adapté aux différentes latitudes dans lesquelles pousse l'ajonc. Une adaptation de la phénologie de

reproduction aux conditions locales (climat, ressources, pollinisateurs, *etc*) est un facteur essentiel pour la *fitness* des plantes. L'adaptation locale de la phénologie reproductive, éventuellement facilitée par la relâche des corrélations génétiques, augmenterait fortement la démographie et donc le succès envahissant de l'ajonc. Enfin, il faut se rappeler qu'outre ces changements évolutifs, l'ajonc possédait déjà, dans sa zone d'origine, des traits intéressants dans la colonisation de nouveaux environnements.

En conclusion, les traits de l'ajonc et leur variabilité, forgés par l'histoire évolutive dans sa zone d'origine, des changements évolutifs post-introduction, et l'action de l'Homme, semblent avoir contribué au succès envahissant de cette espèce dans des environnements divers (Figure 16). En permettant à l'ajonc de conquérir de nouveaux milieux, ces facteurs ont pu participer à l'expansion de la niche écologique de cette espèce, bien que cela reste à être formellement démontré.

II.3 - Expansion de niche chez l'ajonc

Chez l'ajonc, beaucoup des facteurs pouvant contraindre sa niche écologique (Encadré 1) ont été relâchés durant l'invasion. Premièrement, l'ajonc a bénéficié d'un transport à longue distance par l'Homme, lui permettant d'atteindre des régions géographiques éloignées, mais potentiellement favorables à son développement. De plus, l'ajonc a été introduit sans ses ennemis naturels. Ces deux éléments peuvent avoir rapproché la niche réalisée de l'ajonc de sa niche fondamentale. Deuxièmement, les populations d'ajonc introduites présentent une forte diversité génétique, et les corrélations génétiques entre certains traits ont été réduites après introduction. Ces facteurs peuvent permettre aux populations d'une espèce de s'adapter à d'autres conditions et de changer de niche fondamentale (Futuyma, 2009 ; Alexander & Edwards, 2010). Par exemple, Broennimann *et al.* (2007) et Treier *et al.* (2009) ont montré que l'espèce *Centaurea maculosa* a changé de niche écologique, en se développant dans des climats plus secs en Amérique du Nord que dans sa zone d'origine, en Europe. Leurs résultats suggèrent qu'une préadaptation et potentiellement une évolution post-introduction a pu permettre ce changement de niche.

En somme, chez l'ajonc, le mode d'introduction et/ou le nouveau régime sélectif ont pu permettre à celui-ci d'élargir et/ou de changer de niche écologique. Ceci expliquerait la très forte variabilité d'environnements dans lequel on le trouve, et contribuerait à expliquer le succès mondial de cette espèce reconnue comme une des pires envahissantes par l'UICN

(Lowe *et al.*, 2000). Les données historiques montrent que ces changements évolutifs et de niche ont été rapides (entre quelques dizaines d'années et 200 ans environ ; CHAPITRE 3).

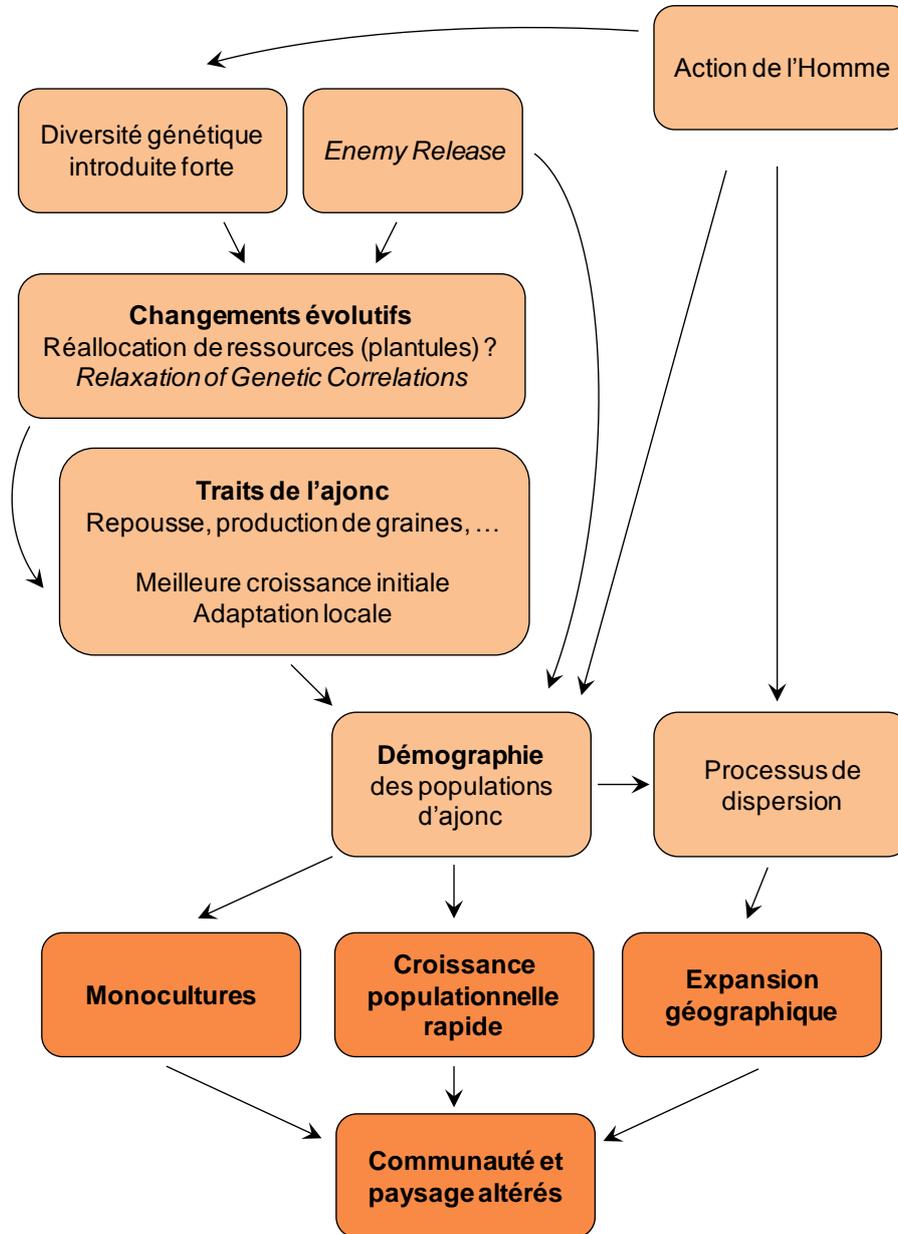


Figure 16 - Schéma des mécanismes impliqués dans le succès envahissant de l'ajonc, dans la zone d'introduction. Les flèches désignent un effet facilitateur. L'élément central dans le succès envahissant est la démographie de la plante, qui entraîne la croissance populationnelle, la formation de monocultures et l'expansion géographique. Adapté de Gurevitch *et al.* (2011).

ENCADRE 1 - LA NICHE ECOLOGIQUE ET SON EVOLUTION

La niche écologique fondamentale d'une espèce, définie par Hutchinson (1957), est l'ensemble des conditions abiotiques dans lesquelles ses populations peuvent se développer, *i.e.* où la croissance des populations est nulle ou positive. La niche fondamentale dépend aussi de l'incapacité des populations de l'espèce à s'adapter à des conditions extérieures à la niche. Ceci est le cas si les populations marginales ont un potentiel évolutif limité (Futuyma, 2009 ; Alexander & Edwards, 2010), par exemple à cause d'une variance génétique faible (Blows & Hoffmann, 2005), de flux de gènes maladaptatifs provenant du centre de l'aire de distribution (Lenormand, 2002), ou de corrélations génétiques (Etterson & Shaw, 2001). De plus, en réalité, les populations d'une espèce vont occuper une niche plus restreinte que la niche fondamentale, **la niche réalisée**. En effet, les populations de l'espèce vont être exclues de certaines parties de la niche fondamentale par d'autres espèces (compétiteurs, prédateurs), et leurs capacités de dispersion ne leur permettent pas forcément d'atteindre certaines régions favorables (Figure E1).

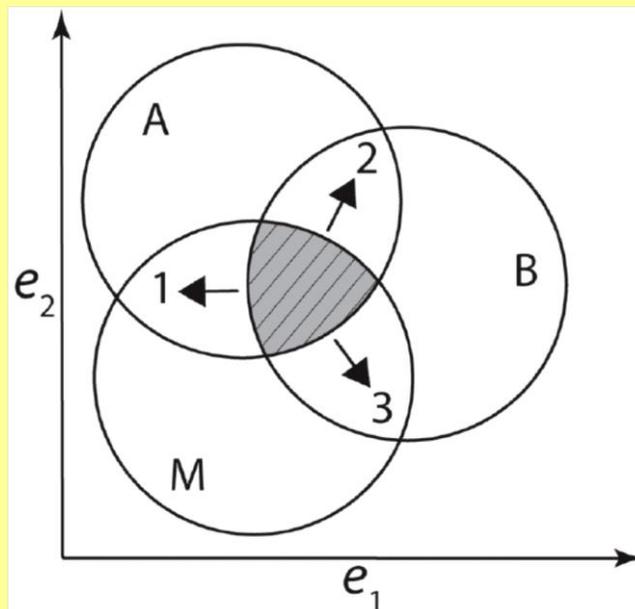


Figure E1 - Représentation de la distribution géographique native d'une espèce le long de deux axes de la niche écologique. A délimite la gamme de conditions dans laquelle l'espèce peut se développer, *i.e.* sa niche fondamentale. B représente la gamme des conditions dans laquelle l'espèce peut coexister avec ses ennemis (par exemple des compétiteurs et des prédateurs). M est la gamme de conditions qui est accessible aux capacités de dispersion de l'espèce. La niche réalisée native de l'espèce se trouve à l'intersection de ces trois domaines (surface grisée). Les flèches indiquent les changements de niche potentiels après introduction dans un nouvel environnement, grâce par exemple à l'*Enemy Release* ou à la perte de compétiteurs (1), au franchissement de barrières à la dispersion (2), ou à des changements évolutifs (3) résultants par exemple d'une hybridation. Tiré de Alexander & Edwards (2010).

II.4 - Apports de nos résultats pour la gestion et la lutte contre l'ajonc

Depuis plus d'un siècle, l'ajonc est considéré comme une peste végétale dans plusieurs pays. Les efforts entrepris depuis lors concernent la prévention d'introduction (des espèces exotiques en général) et de dispersion (laver les boues contenant potentiellement des propagules, sur les roues des véhicules, sur les outils, sur les semelles des chaussures, *etc*). Les effets bénéfiques pour l'ajonc de l'*Enemy Release* ont été contrés par la réintroduction en Nouvelle-Zélande, en Australie, au Chili, et aux Etats-Unis, des prédateurs de graines spécifiques *Exapion ulicis* et/ou *Cydia succedana* (Hoshovsky, 1989 ; Hill *et al.*, 2000 ; Norambuena *et al.*, 2000 ; Davies *et al.*, 2008). Ces auxiliaires de lutte ont l'avantage de réduire la démographie et la dispersion de l'ajonc, de par la consommation des graines (Hill *et al.*, 1996 ; Norambuena & Piper, 2000). Puisque certains individus d'ajonc peuvent échapper dans le temps à la prédation des graines, l'effet des prédateurs de graines s'est révélé modéré, et l'introduction d'autres auxiliaires, comme l'acarien *Tetranychus lintearius*, a été nécessaire, en particulier en Nouvelle-Zélande (Hill *et al.*, 2000). Enfin, la lutte a aussi été menée grâce à des méthodes chimiques (désherbant) et/ou physiques (arrachage manuel ou mécanique, incendie, *etc*).

Bien que la lutte et la gestion de l'ajonc ont commencé il y a déjà longtemps, les résultats de cette thèse apportent de nouveaux éléments intéressants. Premièrement, la synthèse sur la **distribution latitudinale et altitudinale des populations d'ajonc** montre clairement que l'ajonc est limité dans les environnements qu'il peut envahir. En effet, les environnements sensibles à l'invasion par l'ajonc sont situés principalement au niveau de la mer dans les régions tempérées, et en altitude dans les régions tropicales (de 1000 m jusqu'à plus de 3500 m). Ce résultat est très important dans le cadre des priorités de prévention, gestion et lutte de l'ajonc, d'autant que l'ouvrage de référence sur la distribution des espèces envahissantes de Holm *et al.* (1997) mentionne clairement que l'ajonc ne se développe pas en altitude ! La distribution des populations que nous mettons en évidence permettra aux gestionnaires, selon les régions, de privilégier les efforts de prévention et de lutte dans les zones où l'ajonc a plus de chances de se développer. Les limites mises en évidence sont potentiellement liées aux températures nécessaires à la levée de la dormance des graines. Une étude sur la levée de la dormance en fonction de la température et du temps de froid permettrait de confirmer ou infirmer cette hypothèse. Plus généralement, une étude de modélisation de la niche de l'ajonc, et de prédiction des régions susceptibles d'être envahies,

pourrait être utile pour affiner les priorités de lutte et de conservation (Peterson, 2003), et permettre de caractériser le changement de niche écologique chez l'ajonc.

D'autre part, l'estimation du **contenu en alcaloïdes quinolizidiniques** des rameaux d'ajonc est une première étape dans le cadre d'une valorisation de l'ajonc. En effet, dans les régions envahies, l'ajonc pourrait être valorisé en tant que fourrage, comme dans les régions d'origine il y a un siècle. Nos résultats tendent à montrer que ce contenu en toxine n'a pas augmenté au cours de l'invasion, et que l'ajonc pourrait être utilisé comme fourrage dans les régions envahies étudiées. Cependant, nous avons mis en évidence une très grande variabilité du contenu en alcaloïdes, même au niveau intra-population. C'est notamment le cas pour l'anagyrine, un alcaloïde connu pour engendrer des maladies congénitales chez les vaches par exemple. Ainsi, d'autres études sont nécessaires pour évaluer la variabilité de ces concentrations entre populations, entre saisons, et selon l'âge et les différents organes des ajoncs. Couplée à la caractérisation de la valeur nutritive de l'ajonc, ces résultats permettront de connaître le potentiel réel de l'ajonc en tant que fourrage dans les régions envahies. Outre les bénéfices économiques et un changement de perception sociétale de l'ajonc, ce type de valorisation entraînera une gestion de l'ajonc par les acteurs locaux impliqués. Une étude de sociologie est en cours, et vise à proposer des filières de valorisation de l'ajonc à La Réunion, en comparant la perception, les connaissances, et l'utilisation de l'ajonc entre la Bretagne et La Réunion (projet porté par Anne Atlan et Catherine Darrot).

II.5 - Limitations et perspectives

II.5.1 - Conséquences de la structuration de la variabilité phénotypique chez l'ajonc sur l'étude des changements évolutifs

Les résultats que nous avons obtenus en populations naturelles et en jardin expérimental, en comparant des populations de différentes régions du monde, confirment le patron observé à plus petite échelle en Bretagne : chez l'ajonc, la variabilité phénotypique de croissance, phénologie, reproduction, et résistance à la prédation des graines est très forte entre individus, et particulièrement aux niveaux intra- et inter-population. La structuration de la variabilité phénotypique est intéressante en soi, dans le cadre de la compréhension des processus évolutifs agissant chez l'ajonc, mais pose aussi des problèmes d'ordre méthodologique, auxquels nous avons dû faire face pendant cette thèse. D'abord, la forte variabilité entre individus d'une même population nécessite d'étudier un nombre minimal d'individus pour

caractériser cette variation. L'obtention de données pour une dizaine d'individus par population (en jardin ou en population naturelle) nous a permis de bien échantillonner la variabilité populationnelle. Cependant, la très forte variabilité observée entre populations au sein d'une même région nous montre qu'il aurait fallu plus de populations par région pour mieux caractériser les moyennes et les différences phénotypiques entre les régions. Enfin, pour pouvoir conclure plus largement sur la zone envahie, il faudrait augmenter le nombre de régions étudiées. Ce problème se pose pour les plantes envahissantes mondialement, comme l'ajonc, pour lesquelles il existe un grand nombre de régions envahies qu'on ne peut toutes étudier. En somme, idéalement, notre jardin expérimental aurait dû contenir un effectif d'ajoncs plus important : plus de régions et plus de populations par région. Néanmoins, l'ajonc étant un arbuste atteignant à l'âge adulte plusieurs mètres de haut et de large, il est difficile d'en cultiver plusieurs centaines en jardin homogène comme on peut le faire chez des plantes herbacées. Une étude de génétique quantitative comparant des populations des régions d'origine et envahies (Cf partie III.2) serait donc extrêmement difficile à mettre en oeuvre chez l'ajonc.

Cependant notre étude, bien que relativement limitée en effectif, a permis d'apporter des éléments importants dans la compréhension de l'invasion par l'ajonc, même si nos conclusions sont parfois limitées aux régions étudiées, et ne sont pas forcément généralisables à la zone envahie toute entière. Nos résultats ont aussi une portée plus générale dans la biologie des invasions, notamment car ils nous ont permis de proposer une nouvelle hypothèse (RGC), et de présenter un cas d'étude intéressant. De plus, les études sur les plantes envahissantes mondialement, et de plantes arbustives, sont relativement rares (par exemple Siemann & Rogers, 2001 ; Maron *et al.*, 2004b), mais nécessaires pour élargir notre vision des invasions biologiques.

II.5.2 - Conséquences de la structure génétique neutre sur l'étude de la phylogéographie de l'ajonc

Nos résultats montrent que la diversité génétique neutre est en très grande partie contenue à l'intérieur des populations, et peu entre populations et entre régions. Nous avons tout de même pu identifier des groupes génétiques clairement différents, en particulier un groupe formé par les populations d'Espagne (région du berceau de l'espèce). Ceci suggère que même si nous avons pu tirer des hypothèses sur l'introduction de l'ajonc, qui sont très cohérentes avec les données historiques, la détermination plus fine des sources d'introduction nécessitera

plus de populations et d'autres marqueurs, qui soient structurés entre les populations d'une même région. Bien qu'ils soient des marqueurs très utiles pour une étude phylogéographique, aucun marqueur cytoplasmique présentant une variabilité suffisante n'a encore été trouvé chez l'ajonc, et d'autres recherches sont nécessaires. De plus, au niveau nucléaire, la combinaison d'au moins deux génomes différenciés brouille très probablement le signal phylogéographique. Une solution serait de choisir des marqueurs diploïdes dans le génome polyploïde, comme chez la mercuriale *Mercurialis annua*. Pour ce faire, Korbecka *et al.* (2010) ont testé un ensemble de marqueurs microsatellites sur l'espèce parente diploïde et sur l'espèce hexaploïde *M. annua*, ainsi que sur d'autres espèces de ce complexe d'espèces, et n'ont retenu que les marqueurs amplifiant uniquement chez *M. annua* et son parent diploïde. Cette technique a l'avantage de simplifier les analyses, et d'ôter l'effet de la présence de plusieurs génomes sur le signal phylogéographique. Chez l'ajonc, le développement de cette technique nécessiterait de connaître plus précisément l'espèce parentale diploïde, les premiers résultats montrant qu'elle fait partie de la lignée atlantique de *Ulex minor* (Ainouche *et al.*, 2003 ; Ainouche *et al.*, 2009a).

II.5.3 - Perspectives sur l'étude du changement de niche chez l'ajonc

D'un point de vue fondamental, l'ajonc pourrait être un bon modèle pour étudier l'évolution de niche écologique durant une invasion biologique. La niche écologique de l'ajonc semble avoir évolué au cours de l'invasion, et une étude dédiée pourrait permettre de connaître les variables environnementales impliquées. Une étude plus globale incluant des espèces parentes proches des lignées atlantique et méditerranéenne permettra également d'explorer si l'allopolyploïdisation a entraîné la colonisation de l'ajonc vers le nord de l'Europe. Ces données seraient informatives dans le cadre de l'évolution (ou la stabilité) de la niche écologique après des événements tels que l'hybridation, la polyploïdisation, et l'invasion (par exemple Schlaepfer *et al.*, 2010 ; te Beest *et al.*, 2011). D'un point de vue appliqué, l'étude de la levée de la dormance des graines par le froid, en relation avec les températures des sites envahis, permettra de tester l'hypothèse que la limite latitudinale/altitudinale des populations d'ajonc est due en partie aux températures requises pour la vernalisation. Cette information peut être très importante dans la prédiction des habitats potentiellement envahissables par l'ajonc. En associant les facteurs abiotiques et biotiques des communautés envahies, les priorités de gestion pourraient être confirmées ou modifiées. En particulier, une synthèse sur les communautés envahies serait très informative.

II.5.4 - Perspectives sur l'évolution de la croissance, des défenses et de la reproduction dans les populations d'ajonc introduites

Pour compléter les observations faites durant cette thèse, les défenses des plantules d'ajonc seront étudiées *via* une expérimentation d'herbivorie par des limaces, qui sont des brouteurs généralistes. Cette étude permettra de savoir si les plantules sont moins défendues dans les populations introduites, ce qui pourrait expliquer leur meilleure croissance initiale, dans le cadre de l'hypothèse EICA. D'autre part, nous pourrons aussi voir si l'avantage de croissance initiale des ajoncs des régions envahies se maintient même sous l'effet des brouteurs.

Ensuite, une étude de la dépression de consanguinité *via* des croisements contrôlés dans les différentes populations du jardin permettra d'avoir des informations sur le système de reproduction dans les différentes populations, et si une purge des allèles délétères aurait eu lieu dans les populations introduites.

Enfin, la comparaison de la diversité génétique neutre entre le compartiment aérien et la banque de graines (ou les plantules qui en émergent) pourra apporter des éléments essentiels sur la dynamique évolutive des populations d'ajonc en lien avec les changements évolutifs observés, et sur l'effet de l'éradication des plantes et des incendies sur leur dynamique. Cette étude est prévue à La Réunion.

III - Apports en biologie des invasions et perspectives de recherche

III.1 - Importance des données historiques dans la biologie des invasions

Nos résultats montrent clairement l'intérêt de coupler des données historiques aux données moléculaires et à l'étude de changements phénotypiques. En effet, même si la plupart des auteurs ont des données sur la date approximative d'introduction et la région d'origine d'une espèce envahissante, l'obtention de données temporelles et spatiales plus fines peut faciliter l'interprétation du processus d'invasion. En particulier, les dates importantes dans une invasion sont celles d'introduction, de naturalisation (ou établissement), d'expansion (ou de déclaration comme peste végétale), de début de lutte biologique. Même si la date maximale d'introduction (par exemple « avant 1835 ») est souvent reportée dans les études en biologie de l'invasion, les autres dates, plus rarement connues ou reportées, permettent pourtant

d'estimer le temps entre chaque transition du processus d'invasion (par exemple la durée de la phase de latence), et l'échelle temporelle des changements écologiques et évolutifs observés. Idéalement, ces données seraient disponibles à une échelle spatiale relativement fine, puisque une espèce peut être introduite plusieurs fois dans une même région, et potentiellement à des endroits et dates différents. Par exemple, connaissant les dates approximatives d'introduction de *Sapium sebiferum* dans diverses régions des États-Unis, Siemann & Rogers (2001) ont pu interpréter les différences de traits entre ces différentes régions par rapport au temps de résidence de l'espèce dans sa zone d'introduction. Cependant, des données datées relativement précises et fiables sont parfois difficiles à obtenir pour les espèces introduites accidentellement ou il y a plusieurs siècles. Pour les espèces emblématiques d'une culture et/ou les espèces utilisées en agriculture, comme l'ajonc, l'introduction est plus fréquemment documentée. Dans tous les cas, les données datées peuvent être tirées des flores anciennes, de catalogues de pépinières datés, de la presse ancienne, de rapports datés d'agronomes ou de naturalistes, *etc.* Des collaborations avec des spécialistes de l'usage des terres, de l'agronomie, des naturalistes et des historiens, peuvent contribuer à acquérir ce type de données.

III.2 - Relâchement des contraintes génétiques et expansion de niche

Un apport important de cette thèse pour la biologie des invasions réside dans la formulation d'une nouvelle hypothèse pouvant expliquer le succès envahissant de certaines espèces introduites : l'hypothèse de ***Relaxation of Genetic Correlations*** (ou *Relaxation of Genetic Constraints*, RGC ; Hornoy *et al.*, 2011). Pour développer cette hypothèse, et connaître son importance parmi les espèces envahissantes, il serait bon de (i) ré-analyser des jeux de données pré-existants, et éventuellement faire une méta-analyse, (ii) tester spécifiquement cette hypothèse dans des expérimentations dédiées. Premièrement, l'idée de **ré-analyse de jeux de données** peut profiter de l'énorme quantité de données générées par les nombreuses études en biologie de l'invasion, en particulier celles ayant cherché à tester l'hypothèse EICA ou l'évolution de certains traits après introduction. Un certain nombre d'espèces modèles ont été très étudiées dans ce contexte, dont la salicaire (*Lythrum salicaria*), le compagnon blanc (*Silene latifolia*), la centaurée maculée (*Centaurea maculosa*), l'arbre à suif (*Sapium sebiferum*), la baldingère faux-roseau (*Phalaris arundinacea*), le millepertuis perforé (*Hypericum perforatum*), *etc.* Deuxièmement, des **tests dédiés** sont nécessaires pour apporter des données brutes, et aussi pour pouvoir développer cette hypothèse, à partir des cas

particuliers des modèles utilisés. Idéalement, ce type de test nécessiterait, à partir d'une étude de génétique quantitative, d'étudier la variance et la covariance génétique entre les traits. Particulièrement intéressants sont les traits d'histoire de vie, et les traits liés à des pressions de sélection contraignantes dans la zone d'origine et absentes ou diminuées dans la zone d'introduction, comme les ennemis naturels. Ces pressions pourront être différentes selon les espèces considérées. Ensuite, une comparaison entre des populations d'origine et introduites, toujours dans un cadre de génétique quantitative, permettra de savoir si l'absence ou la modification des contraintes sélectives ont engendré une évolution des moyennes de traits et des corrélations entre ceux-ci. L'outil le plus approprié dans cette démarche est incontestablement la matrice de variance-covariance génétique (ou matrice G ; Encadré 2).

ENCADRE 2 - LA MATRICE G ET LES CONTRAINTES GENETIQUES

La matrice G est une matrice symétrique où chaque ligne (et colonne) correspond à un trait mesuré. La diagonale comporte la variance génétique pour chaque trait, et les éléments hors de la diagonale sont les covariances génétiques entre les traits. La matrice G est donc un résumé multi-traits de la variance génétique héritable dans une population, et des contraintes génétiques sur l'évolution phénotypique. Les méthodes d'analyse de cette matrice et de son évolution permettent de synthétiser et comparer sa géométrie multidimensionnelle, et ainsi de savoir dans quelles directions de l'espace phénotypique la variance génétique se situe principalement, et donc dans quelles directions la réponse à la sélection est possible ou contrainte (Figure E2 ; Stepan *et al.*, 2002 ; Walsh & Blows, 2009).

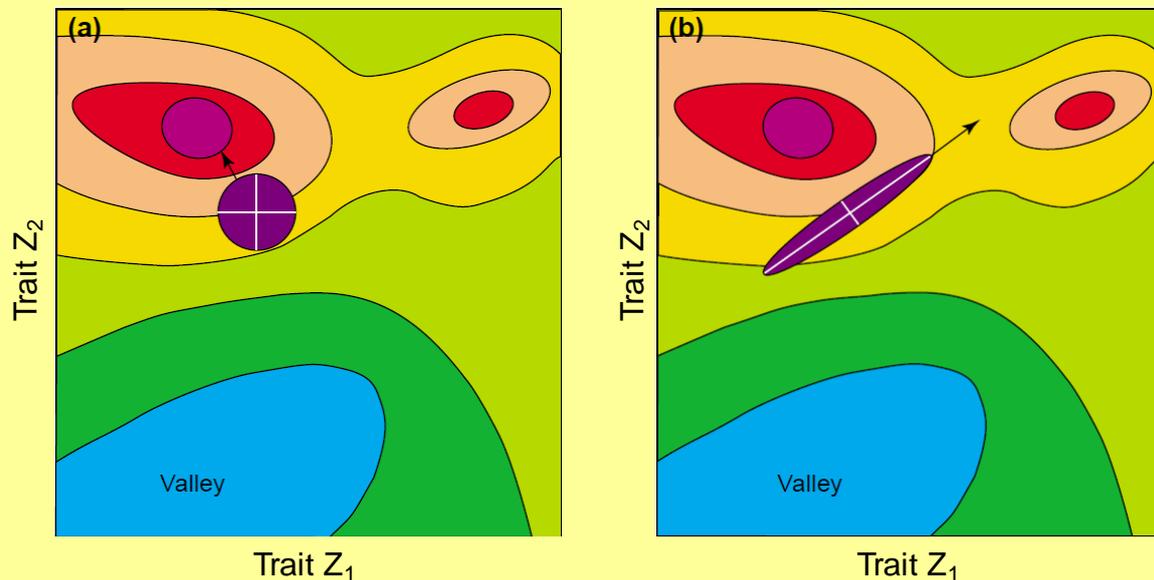


Figure E2 - Contrainte génétique sur l'adaptation à cause de la matrice G. (a) une population (en violet) se trouve dans un paysage adaptatif avec deux pics adaptatifs (en rouge) et une vallée adaptative (en bleu). Le pic le plus proche, sur la gauche, représente une *fitness* plus grande (couleur magenta) que le pic de droite. La population a une variation génétique modérée pour les deux traits Z_1 et Z_2 , et aucune corrélation ou covariance entre les traits, comme indiqué par le nuage de dispersion circulaire. Le gradient sélectif (β) est une mesure de l'intensité de la sélection et dans cette métaphore graphique, il correspond à la pente du paysage. En (a) cette population évoluerait directement vers le pic adaptatif de gauche (flèche) qui est l'optimum global pour cette région de l'espace phénotypique. (b) dans cet exemple, la seule différence est la forte covariation entre les deux traits, produisant une dispersion en ellipse. La matrice G décrit la taille et la forme de cette ellipse. Les deux traits ont une variation similaire à la population en (a), mais dans l'exemple (b), il n'y a quasiment aucune covariation génétique dans la direction où la sélection agit, *i.e.* vers le pic de gauche. La population évoluerait donc plus probablement à travers la pente adaptative dans la direction de plus grande variation génétique (flèche), après quoi la sélection serait dans la même direction que l'axe de variation maximale. La population évoluerait donc rapidement vers l'optimum local de droite. Cet exemple illustre bien l'effet potentiellement contraignant des corrélations génétiques et le fait que même une connaissance poussée des pressions de sélection ne permet pas de prédire la réponse d'une population, sans information sur la matrice G. Tiré de Stepan *et al.* (2002).

En effet, une approche de comparaison de matrices G entre des populations d'origine et introduites peut permettre de savoir si l'histoire d'invasion a engendré des changements dans celles-ci, et savoir dans quelle mesure ces changements ont pu faciliter ou contraindre l'adaptation, et donc le succès envahissant de l'espèce introduite (Bacigalupe, 2009 ; Colautti *et al.*, 2010 ; Calsbeek *et al.*, 2011). Ce type de démarche a été entrepris pour la première fois très récemment par Calsbeek *et al.* (2011), sur la plante envahissante *Phalaris arundinacea*. Ces auteurs ont estimé la matrice G de deux populations natives (en Europe) et deux populations introduites (Etats-Unis), à partir d'une expérimentation de génétique quantitative en serre. Les traits étudiés étaient la date d'émergence et des mesures de croissance végétative (par exemple la hauteur ou la biomasse aérienne). Calsbeek *et al.* (2011) ont également estimé la réponse à la sélection prédite pour chaque population, en fonction de ces matrices G, et de la direction et l'intensité de la sélection sur chaque trait attendue sur la base de la littérature, ou sur la base d'une expérience de sélection artificielle par la température et la disponibilité en eau. Leurs résultats mettent en évidence des différences dans l'architecture génétique et la réponse prédite à la sélection, mais celles-ci sont majoritairement présentes entre les populations de chaque zone (population du nord vs population du sud), plutôt qu'entre zone d'origine et zone envahie. Une étude précédente par Lavergne & Molofsky (2007) avait montré que les mêmes populations introduites étudiées présentaient une variance génétique plus grande que celles de la zone d'origine, du fait de la recombinaison entre des génotypes introduits issus des deux mêmes populations européennes étudiées par Calsbeek *et al.* (2011). Globalement, les résultats de ces deux études suggèrent donc que même si la variance génétique a augmenté au cours de l'introduction, des contraintes génétiques présentes dans la zone d'origine n'ont pas été relâchées durant l'invasion. Les différences d'architecture génétique entre les génotypes du nord et ceux du sud, dans la zone envahie, seraient dues à la sélection (Calsbeek *et al.*, 2011). Finalement, l'étude de Calsbeek *et al.* (2011) met aussi en évidence qu'il faut prendre en compte la variabilité de variance génétique et sa structure à l'intérieur des deux zones, par exemple en fonction de la latitude.

Cette approche me semble essentielle pour comprendre le potentiel évolutif dans les populations introduites et son impact sur le succès envahissant. Inclure plus de traits, notamment ceux liés aux défenses contre les ennemis, permettra en plus de tester l'importance de l'hypothèse RGC dans les invasions biologiques. Ce type d'étude relativement lourde sera plus facile à mettre en place chez les espèces herbacées. Les données ainsi produites devront être couplées à des données moléculaires, pour pouvoir différencier les effets sélectifs des

effets neutres, comme un goulot d'étranglement ou l'hybridation entre génotypes issus de populations sources différentes, dans le changement de la matrice G.

Le lien entre matrice G et niche écologique mérite d'être exploré plus systématiquement chez les espèces envahissantes, car il peut donner des informations sur ce qui contraint plus fréquemment la distribution géographique des espèces. En effet, Alexander & Edwards (2010) prédisent que si les études futures montrent que la conservation de la niche écologique est plutôt la règle chez les espèces introduites, cela suggèrera que les limites écologiques des espèces (dans leur zone d'origine) sont plutôt contraintes par des corrélations génétiques que par des processus comme les flux de gènes maladaptatifs (souvent rompus entre la zone native et la zone d'introduction) ou la variance génétique (souvent forte dans les populations introduites). Cependant, les résultats observés chez l'ajonc et chez d'autres espèces (par exemple chez *Centaurea maculosa*, Broennimann *et al.*, 2007 ; Treier *et al.*, 2009) suggèrent que la niche fondamentale peut également évoluer durant l'invasion. L'étude des changements de niche et l'étude des changements d'architecture génétique sont très complémentaires, car les données écologiques peuvent être nécessaires pour interpréter les contraintes génétiques révélées par la matrice G, et les données génétiques sont indispensables pour interpréter les mécanismes à l'origine du maintien ou de l'évolution des niches écologiques. Chez les espèces envahissantes, ce type d'approche peut donc offrir non seulement une meilleure vision du processus d'invasion biologique, mais aussi améliorer la compréhension des mécanismes régissant les limites écologiques des espèces.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agrawal AA (2007) Macroevolution of plant defense strategies. *Trends in Ecology and Evolution* **22**, 103-109.
- Agrawal AA (2011) Current trends in the evolutionary ecology of plant defence. *Functional Ecology* **25**, 420-432.
- Agrawal AA, Fishbein M (2006) Plant defense syndromes. *Ecology* **87**, S132-S149.
- Agrawal AA, Stinchcombe JR (2009) How much do genetic covariances alter the rate of adaptation? *Proceedings of the Royal Society of London B* **276**, 1183-1191.
- Ainouche A, Bayer RJ, Cubas P, Misset M-T (2003) Phylogenetic relationships within tribe Genistae (Papilionoideae) with special reference to genus *Ulex*. In: Klitgaard BB, Bruneau A (eds) *Advances in Legume systematics part 10, higher level systematics*, pp. 239-252. Royal Botanical Garden, Kew.
- Ainouche A, Mahé F, Affagard M, Ainouche ML, Misset M-T (2009a) Molecular evidence for an allopolyploid origin of the invasive European gorse, *Ulex europaeus* subsp. *europaeus* (Fabaceae, Genistae).
- Ainouche ML, Baumel A, Salmon A, Yannic G (2004) Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (Poaceae). *New Phytologist* **161**, 165-172.
- Ainouche ML, Fortune PM, Salmon A, Parisod C, Grandbastien MA, Fukunaga K, Ricou M, Misset MT (2009) Hybridization, polyploidy and invasion; lessons from *Spartina* (Poaceae). *Biological Invasions* **11**, 1159-1173.
- Alexander JM, Edwards PJ (2010) Limits to niche and range margins of alien species. *Oikos* **119**, 1377-1386.
- Alexander JM, Edwards PJ, Poll M, Parks CG, Dietz H (2009) Establishment of parallel altitudinal clines in traits of native and introduced forbs. *Ecology* **90**, 612-622.
- Allendorf FW, Lundquist LL (2003) Introduction: population biology, evolution, and control of invasive species. *Conservation Biology* **17**, 24-30.
- Alonso M, Canaple T, Citeau C, Duclaux M, Espasa L, Fuentes X, Varagnat A (2010) L'ajonc d'Europe en Bretagne. Projet d'ingénieur, AgroCampus Ouest, Rennes.
- Alpert P, Bone E, Holzappel C (2000) Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **3**, 52-66.
- Amsellem L, Noyer JL, Hossaert-McKey M (2001) Evidence for a switch in the reproductive biology of *Rubus alceifolius* (Rosaceae) towards apomixis, between its native range and its area of introduction. *American Journal of Botany* **88**, 2243-2251.
- Amsellem L, Noyer JL, Le Bourgeois T, Hossaert-McKey M (2000) Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology* **9**, 443-455.
- Atlan A, Barat M, Legionnet AS, Parize L, Tarayre M (2010) Genetic variation in flowering phenology and avoidance of seed predation in native populations of *Ulex europaeus*. *Journal of Evolutionary Biology* **23**, 362-371.

- Atlan A, Darrot C (2011) Les invasions biologiques entre ecologie et sciences sociales : quelles spécificités pour l'Outre-Mer Français ? *Terre et Vie* (sous presse)
- Bacigalupe LD (2009) Biological invasions and phenotypic evolution: a quantitative genetic perspective. *Biological Invasions* **11**, 2243-2250.
- Baker HG, Stebbins GL (eds) (1965) *The Genetics of Colonizing Species*, Academic Press
- Barat M, Tarayre M, Atlan A (2007) Plant phenology and seed predation: interactions between gorses and weevils in Brittany (France). *Entomologia Experimentalis et Applicata* **124**, 167-176.
- Barat M, Tarayre M, Atlan A (2008) Genetic divergence and ecological specialisation of seed weevils (*Exapion* spp.) on gorses (*Ulex* spp.). *Ecological Entomology* **33**, 328-336.
- Barbault A, Atramentowicz M (coord.) (2010). *Les invasions biologiques, une question de natures et de sociétés*. Quae, Versailles.
- Barrett SCH, Colautti RI, Eckert CG (2008) Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology* **17**, 373-383.
- Barrett SCH, Husband B (1990) The genetics of plant migration and colonisation. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS (eds) *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources*, pp. 254-277. Sinauer, Sunderland.
- Benkman CW (1995) The impact of tree squirrels (*Tamiasciurus*) on limber pine seed dispersal adaptations. *Evolution* **49**, 585-592.
- Berenbaum MR, Zangerl AR (1998) Chemical phenotype matching between a plant and its insect herbivore. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 13743-13748.
- Bermudez-Torres K, Martinez Herrera J, Figueroa Brito R, Wink M, Legal L (2009) Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *BioControl* **54**, 459-466.
- Bermudez-Torres K, Robledo Quintos N, Barrera Necha LL, Wink M (2002) Alkaloid profile of leaves and seeds of *Lupinus hintonii* C.P. Smith. *Zeitschrift für Naturforschung* **57**, 243-247.
- Bernays EA, Chapman RF (1994) *Host-plant selection by phytophagous insects* Chapman & Hall, New York.
- Biere A, Antonovics J (1996) Sex-specific costs of resistance to the fungal pathogen *Ustilago violacea* (*Microbotryum violaceum*) in *Silene alba*. *Evolution* **50**, 1098-1110.
- Biere A, Marak HB, van Damme JMM (2004) Plant chemical defense against herbivores and pathogens: generalized defense or trade-offs? *Oecologia* **140**, 430-441.
- Blair AC, Wolfe LM (2004) The evolution of an invasive plant: an experimental study with *Silene latifolia*. *Ecology* **85**, 3035-3042.
- Blossey B, Nötzold R (1995) Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants: a hypothesis. *Journal of Ecology* **83**, 887-889.
- Blows MW, Hoffman AA (2005) A reassessment of genetic limits to evolutionary change. *Ecology* **86**, 1371-1384.
- Blumenthal DM, Hufbauer RA (2007) Increased plant size in exotic populations: a common-garden test with 14 invasives species. *Ecology* **88**, 2758-2765.
- Boschin G, Annicchiarico P, Resta D, D'Agostina A, Arnoldi A (2008) Quinolizidine alkaloids in seeds of lupin genotypes of different origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 3657-3663.

- Bossdorf O, Auge H, Lafuma L, *et al.* (2005) Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia* **144**, 1-11.
- Bowman G, Tarayre M, Atlan A (2008) How is the invasive gorse *Ulex europaeus* pollinated during winter? A lesson from its native range. *Plant Ecology* **197**, 197-206.
- Broennimann O, Treier UA, Müller-Schärer H, *et al.* (2007) Evidence of climatic niche shift during biological invasion. *Ecology Letters* **10**, 701-709.
- Brown AHD, Marshall DR (1981) Evolutionary changes accompanying colonization in plants. In: Scudder GGE, Reveal JL (eds) *Evolution today*, pp 351-363. Carnegie-Mellon University, Pittsburg.
- Buckley YM, Downey P, Fowler SV, *et al.* (2003) Are invasives bigger? A global study of seed size variation in two invasive shrubs. *Ecology* **84**, 1434-1440.
- Butlin RK, Day TH (1985) Adult size, longevity and fecundity in the seaweed fly, *Coelopa frigida*. *Heredity* **54**, 107-110.
- Callaway RM, Aschehoug ET (2000) Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. *Science* **290**, 521-523.
- Callaway RM, Maron JL (2006) What have exotic plant invasions taught us over the past 20 years? *Trends in Ecology and Evolution* **21**, 369-374.
- Callaway RM, Ridenour WM (2004) Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers in Ecology and Environment* **2**, 436-443.
- Calsbeek B, Lavergne S, Patel M, Molofsky J (2011) Comparing the genetic architecture and potential response to selection of invasive and native populations of reed canarygrass. *Evolutionary Applications*.
- Calvel E (1809) *Mémoire sur l'ajonc ou genêt épineux*, 2nd edn. Marchant, Paris.
- Cano L, Escarré J, Vrieling K, Sans FX (2009) Palatability to a generalist herbivore, defence and growth of invasive and native *Senecio* species: testing the evolution of increased competitive ability hypothesis. *Oecologia* **159**, 95-106.
- Carmona D, Lajeunesse MJ, Johnson MTJ (2011) Plant traits that predict resistance to herbivores. *Functional Ecology* **25**, 358-367.
- Catford JA, Jansson R, Nilsson C (2009) Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Diversity and Distributions* **15**, 22-40.
- Chapman RF (1998) *The Insects* 4th edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Chater EH (1931) A contribution to the study of the natural control of gorse. *Bulletin of Entomological Research* **22**, 225-235.
- Clark LV, Jasieniuk M (2011) POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. *Molecular Ecology Resources* **11**, 562-566.
- Clements DR, Peterson DJ, Prasad R (2001) The biology of Canadian weeds. 112. *Ulex europaeus* L. *Canadian Journal of Plant Science* **81**, 325-337.
- Colautti RI, Barrett SCH (2010) Natural selection and genetic constraints on flowering phenology in an invasive plant. *International Journal of Plant Sciences* **171**, 960-971.
- Colautti RI, Eckert CG, Barrett SCH (2010) Evolutionary constraints on adaptive evolution during range expansion in an invasive plant. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences Series B* **11**, 1225-1229.

- Colautti RI, Maron JL, Barrett SCH (2009) Common garden comparisons of native and introduced plant populations: latitudinal clines can obscure evolutionary inferences. *Evolutionary Applications* **2**, 187-199.
- Comai L (2005) The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics* **6**, 836-846.
- Crawley MJ (1989) Chance and timing in biological invasions. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, *et al.* (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.
- Crawley MJ (2007) *The R Book*. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- Crooks J, Suarez AV (2006) Hyperconnectivity, invasive species, and the breakdown of barriers to dispersal. In: Crooks KR, Sanjayan MA (eds) *Connectivity conservation: maintaining connections for nature*. Cambridge University Press
- Cubas P (1999) *Ulex* L. In: Castroviejo S (ed.) *Flora Iberica: Plantas vasculares de la Peninsula Iberica e Islas Baleares*, pp. 212-239. Real Jardin Botanico, Madrid.
- Cubas P, Pardo C, Tahiri H (2005) Genetic variation and relationships among *Ulex* (Fabaceae) species in southern Spain and northern Morocco assessed by chloroplast microsatellite (cpSSR) markers. *American Journal of Botany* **92**, 2031-2043.
- Daehler CC (2005) Upper-montane plant invasions in the Hawaiian Islands: Patterns and opportunities. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **7**, 203-216.
- Darwin C (1839) *Voyages of the Adventure and Beagle*, London.
- Davidson AM, Jennions M, Nicotra AB (2011) Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecology Letters* **14**, 419-431.
- Davies JT (2006) *The efficacy of biological control agents of gorse, Ulex europaeus L., in Tasmania*. PhD Thesis, University of Tasmania.
- Davies JT, Ireson JE, Allen GR (2008) The phenology and impact of the gorse seed weevil, *Exapion ulicis*, on gorse, *Ulex europaeus*, in Tasmania. *Biological Control* **45**, 85-92.
- Davies WM (1928) The bionomics of *Apion ulicis* Forst. (Gorse weevil) with special reference to its role in the control of *Ulex europaeus* in New Zealand. *Annals of Applied Biology* **15**, 263-286.
- de Cordemoy EJ (1895) *Flore de l'île de La Réunion*. Klincksieck P, Paris.
- del Campo ML, Miles CL, Schroeder FC, *et al.* (2001) Host recognition by the tobacco hornworm is mediated by a host plant compound. *Nature* **411**, 186-189.
- Des Abbayes H, Claustres G, Corillon R, Corillon R, Dupont P (1971) *Flore et végétation du Massif armoricain*. Presse Universitaire de Bretagne, Saint-Brieuc.
- Desouhant E (1996) La ponte chez le balanin de la châtaigne, *Curculio elephas* (Gyll.) (Coléoptère: Curculionidae). *Annales de la Société Entomologique de France* **32**, 445-450.
- Desouhant E (1998) Selection of fruits for oviposition by the chestnut weevil, *Curculio elephas*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **86**, 71-78.
- Desprès L, David JP, Gallet C (2007) The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology and Evolution* **22**, 298-307.
- di Castri F (1989) History of biological invasions with special emphasis on the Old World. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, *et al.* (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.

- 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.
- Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**, 217-242.
- Ellstrand NC, Schierenbeck KA (2000) Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Science USA* **97**, 7043-7050.
- Ellstrand NC, Schierenbeck KA (2009) Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions* **11**, 1093-1105.
- Elzinga JA, Atlan A, Biere A, *et al.* (2007) Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology and Evolution* **22**, 432-439.
- Elzinga JA, Bernasconi G (2009) Enhanced frugivory on invasive *Silene latifolia* in its native range due to increased oviposition. *Journal of Ecology* **97**, 1010-1019.
- Esselink GD, Nybom H, Vosman B (2004) Assignment of allelic configuration in polyploids using the MAC-PCR (microsatellite DNA allele counting-peak ratios) method. *Theoretical and Applied Genetics* **109**, 402-408.
- Etterson JR, Shaw RG (2001) Constraint to adaptive evolution in response to global warming. *Science* **294**, 151-154.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**, 2611-2620.
- Ewart AJ (1909) *The Weeds, Poison Plants and Naturalised Aliens of Victoria*. Government printer, Melbourne.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**, 479-491.
- Facon B, Genton BJ, Shykoff JA, *et al.* (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology and Evolution* **21**, 130-135.
- Falconer DS, Mackay TFC (1996) *Introduction to quantitative genetics*, 4th edition edn. Longman, Essex, UK.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* **164**, 1567-1587.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* **7**, 574-578.
- Feoli-Chiappella L, Cristofolini G (1981) Serological contributions to the systematics of Ulex (Genisteae – Fabaceae) and allied genera. *Nordic Journal of Botany* **1**, 723-729.
- Firn J, Moore JL, MacDougall AS, *et al.* (2011) Abundance of introduced species at home predicts abundance away in herbaceous communities. *Ecology Letters* **14**, 274-281.
- Forgeard F, Lebouvier M (1991) Inflammabilité et combustibilité des principales espèces végétales des landes de Bretagne. *Bulletin d'Ecologie* **22**, 389-404.
- Futuyma DJ (2005) *Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

- Futuyma DJ (2009) *Evolution*, 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Gandon S (2002) Local adaptation and the geometry of host-parasite coevolution. *Ecology Letters* **5**, 246-256.
- Garcia-Ramos G, Rodriguez D (2002) Evolutionary speed of species invasions. *Evolution* **56**, 661-668.
- Gavrilets S, Scheiner SM (1993) The genetics of phenotypic plasticity. VI. Theoretical predictions for directional selection. *Journal of Evolutionary Biology* **6**, 49-68.
- Gay C (1846) *Historia fisica y politica de Chile. Botanica*. Gay C., Paris.
- Gay JC (2007) *L'oultre-mer francais, un espace singulier* Belin, Paris.
- Gaylord ML, Williams KK, Hofstetter RW, *et al.* (2008) Influence of temperature on spring flight initiation for southwestern Ponderosa Pine bark beetle (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Environmental Entomology* **37**, 57-69.
- Ghalambor CK, McKay JK, Carroll SP, Reznick DN (2007) Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* **21**, 394-407.
- Gilchrist GW, Lee CE (2007) All stressed out and nowhere to go: does evolvability limit adaptation in invasive species? *Genetica* **129**, 127-132.
- Gleason HA, Cronquist A (1991) *Manual of the Vascular Plants of Northeastern United States and Adjacent Canada*, 2nd edn. D VanNostrand Company Inc., Princeton, NJ.
- Godfray H CJ (1994) *Parasitoids. Behavioral and evolutionary ecology* Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M, Roslin T (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* **13**, 383-393.
- Gurevitch J, Fox GA, Wardle GM, Inderjit, Taub D (2011) Emergent insights from the synthesis of conceptual frameworks for biological invasions. *Ecology Letters* **14**, 407-418.
- Gutierrez D, Menendez R, Obeso JR (1996) Effect of ovule position on seed maturation and seed weight in *Ulex europaeus* and *Ulex gallii* (Fabaceae). *Canadian Journal of Botany* **74**, 848-853.
- Hamilton JA, Eckert CG (2007) Population genetic consequences of geographic disjunction: a prairie plant isolated on Great Lakes alvars. *Molecular Ecology* **16**, 1649-1660.
- Hanley ME, Lamont BB, Fairbanks MM, Rafferty CM (2007) Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **8**, 157-178/
- Hayes KR, Barry SC (2008) Are there any consistent predictors of invasion success? *Biological Invasions* **10**, 483-506.
- Helsen P, Verdyck P, Tye A, Van Dongen S (2009) Low levels of genetic differentiation between *Opuntia echios* varieties on Santa Cruz (Galapagos). *Plant Systematics and Evolution* **279**, 1-10.
- Hendry AP, Day T (2005) Population structure attributable to reproductive time: isolation by time and adaptation by time. *Molecular Ecology* **14**, 901-916.
- Henry JK (1915) *Flora of Southern British Columbia*. WJ Gage & Co., Toronto, ON.

- Herrera J (1999) Fecundity above the species level: ovule number and brood size in the Genistae (Fabaceae: Papilionideae). *International Journal of Plant Sciences* **160**, 887-896.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* **58**, 247-276.
- Hewitt GM (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* **405**, 907-913.
- Heywood VH (1989) Patterns, extents and modes of invasions by terrestrial plants. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, *et al.* (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.
- 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.
- Hilker M, Meiners T (2002) Induction of plant responses to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: a comparison. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **104**, 181-192.
- Hill DD (1955) Gorse control. *Station Bulletin* **553**. Agricultural Experiment Station, Oregon State College, Corvallis.
- Hill RL (1982) The phytophagous fauna of gorse (*Ulex europaeus* L.) and host plant quality. Unpublished Thesis. University of London, Imperial College, Silwood Park.
- Hill RL, Gourlay AH (2002) Host-range testing, introduction, and establishment of *Cydia succedana* (Lepidoptera: Tortricidae) for biological control of gorse, *Ulex europaeus* L., in New Zealand. *Biological Control* **25**, 173-186.
- Hill RL, Gourlay AH, Barker RJ (2001) Survival of *Ulex europaeus* seeds in the soil at three sites in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* **39**, 235-244.
- Hill RL, Gourlay AH, Fowler SV (2000) The biological control program against gorse in New Zealand. In: Spencer NR (ed.) *Proceedings of the X international Symposium on Biological Control of Weeds*, 909-917.
- Hill RL, Gourlay AH, Lee WG, Wilson JB (1996) Dispersal of seeds under isolated gorse plants and the impact of seed-feeding insects. *Proceedings of the 49th New-Zealand Plant Protection Conference*, 114-118.
- Hill RL, Gourlay AH, Martin L (1991) Seasonal and geographic variation in the predation of gorse seed, *Ulex europaeus* L., by seed weevil *Apion ulicis* Forst. *New Zealand Journal of Zoology* **18**, 37-43.
- Hill RL, Sandrey RA (1986) The costs and benefits of gorse. *Proceedings of the 39th New Zealand Weed and Pest Control Conference*, 70-73.
- Hoddle MS (1991) Gorse pod susceptibility and oviposition preference to the gorse weevil, *Apion ulicis* (Forster) (Coleoptera: Apionidae). *New Zealand Journal of Zoology* **18**, 31-35.
- Holm L, Doll J, Holm E, Pancho J, Herberger J (1997) *World weeds: natural histories and distribution* John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Honek A (1993) Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: A general relationship. *Oikos* **66**, 483-492.
- Honek A, Martinkova Z (2005) Pre-dispersal predation of *Taraxacum officinale* (dandelion) seed. *Journal of Ecology* **93**, 335-344.

- Honnay O, Bossuyt B, Jacquemyn H, Shimono A, Uchiyama K (2008) Can a seed bank maintain the genetic variation in the above ground plant population? *Oikos* **117**, 1-5.
- Hornoy B, Tarayre M, Hervé M, Gigord L, Atlan A (2011) Invasive plants and Enemy Release: evolution of trait means and trait correlations in *Ulex europaeus*. *PLoS ONE* **6**, e26275.
- Hoshovsky M (1989) Element stewardship abstract for *Ulex europaeus*. The Nature Conservancy, Arlington, VA.
- Huang W, Siemann E, Wheeler GS, *et al.* (2010) Resource allocation to defence and growth are driven by different responses to generalist and specialist herbivory in an invasive plant. *Journal of Ecology* **98**, 1157-1167.
- Huff DR, Peakall R, Smouse PE (1993) RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss [*Buchloë dactyloides* (Nutt.) Engelm.]. *Theoretical and Applied Genetics* **86**, 927-934.
- Hulme PE (2008) Phenotypic plasticity and plant invasions: is it all Jack? *Functional Ecology* **22**, 3-7.
- Hutchinson GE (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* **22**, 415-427.
- Isern TD (2007) A good servant but a tyrannous master: gorse in New Zealand. *The Social Science Journal* **44**, 179-186.
- Jaenike J (1978) On optimal oviposition behaviour in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* **14**, 350-356.
- Janzen DH (1975) Behavior of *Hymenaea courbaril* when its predispersal seed predator is absent. *Science* **189**, 145-147.
- Janzen DH (1980) When is it coevolution? *Evolution* **34**, 611-612.
- Johnson MTJ, Agrawal AA, Maron JL, Salminen J-P (2009) Heritability, covariation and natural selection on 24 traits of common evening primrose (*Oenothera biennis*) from a field experiment. *Journal of Evolutionary Biology* **22**, 1295-1307.
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* **11**, 94.
- Joshi J, Vrieling K (2005) The enemy release and EICA hypothesis revisited: incorporating the fundamental difference between specialist and generalist herbivores. *Ecology Letters* **8**, 704-714.
- Kaltz O, Shykoff JA (1998) Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity* **81**, 361-370.
- Kang M, Buckley YM, Lowe AJ (2007) Testing the role of genetic factors across multiple independent invasions of the shrub Scotch broom (*Cytisus scoparius*). *Molecular Ecology* **16**, 4662-4673.
- Keane RM, Crawley MJ (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 164-170.
- Keller SR, Sowell DR, Neiman M, Wolfe LM, Taylor DR (2009) Adaptation and colonization history affect the evolution of clines in two introduced species. *New Phytologist* **183**, 678-690.

- Keller SR, Taylor DR (2008) History, chance and adaptation during biological invasion: separating stochastic phenotypic evolution from response to selection. *Ecology Letters* **11**, 852-866.
- Kessler D, Gase K, Baldwin IT (2008) Field experiments with transformed plants reveal the sense of floral scents. *Science* **321**, 1200-1202.
- Kolar CS, Lodge DM (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution* **16**, 199-204.
- Kolbe JJ, Glor RE, Schettino LR, *et al.* (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* **431**, 177-181.
- Kollmann J, Banuelos MJ (2004) Latitudinal trends in growth and phenology of the invasive alien plant *Impatiens glandulifera* (Balsaminaceae). *Diversity and Distributions* **10**, 377-385.
- Korbecka G, Rymer PD, Harris SA, Pannell JR (2010) Solving the problem of ambiguous paralogy for marker loci: Microsatellite markers with diploid inheritance in allohexaploid *Mercurialis annua* (Euphorbiaceae). *Journal of Heredity* **101**, 504-511.
- Lafuma L, Balkwill K, Imbert E, Verlaque R, Maurice S (2003) Ploidy level and origin of the European invasive weed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* **243**, 59-72.
- Lahti DC, Johnson NA, Ajie BC, *et al.* (2009) Relaxed selection in the wild. **24**, 487-496.
- Lake JC, Leishman MR (2004) Invasion success of exotic plants in natural ecosystems: the role of disturbance, plant attributes and freedom from herbivores. *Biological Conservation* **117**, 215-226.
- Lambrinos JG (2004) How interactions between ecology and evolution influence contemporary invasion dynamics. *Ecology* **85**, 2061-2070.
- Lankau RA (2007) Specialist and generalist herbivores exert opposing selection on a chemical defense. *New Phytologist* **175**, 176-184.
- Lavergne S, Molofsky J (2007) Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **104**, 3883-3888.
- Leary JK, Hue NV, Singleton PW, Borthakur D (2006) The major features of an infestation by the invasive weed legume gorse (*Ulex europaeus*) on volcanic soils in Hawaii. *Biology and Fertility of Soils* **42**, 215-223.
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 386-391.
- Lee CE, Gelembiuk GW (2008) Evolutionary origins of invasive populations. *Evolutionary Applications* **1**, 427-448.
- Lee CE (2010) Evolution of invasive populations. In: Simberloff D, Rejmanek M (eds) *The Encyclopedia of Biological Invasions*. University of California Press.
- Lee WG, Allen RB, Johnson PN (1986) Succession and dynamics of gorse (*Ulex europaeus* L.) communities in the Dunedin Ecological District South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Botany* **24**, 279-292.
- Leger EA, Forister ML (2005) Increased resistance to generalist herbivores in invasive populations of the California poppy (*Eschscholzia californica*). *Diversity and Distributions* **11**, 311-317.

- Leger EA, Rice KJ (2003) Invasive California poppies (*Eschscholzia californica* Cham.) grow larger than native individuals under reduced competition. *Ecology Letters* **6**, 257-264.
- Leimu R, Syrjänen K (2002) Effects of population size, seed predation and plant size on male and female reproductive success in *Vincetoxicum hirundinaria* (Asclepiadaceae). *Oikos* **98**, 229-238.
- Lenormand T (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 183-189.
- Leon OA, Diaz A, Corzo L (2009) Selección y preparación del terreno para el proceso de restauración de zonas invadidas por *Ulex europaeus* (retamo espinoso) y plantaciones de *Pinus patula* (pino) y *Cupressus lusitanica* (ciprés). In : Vargas Rios O, Leon O, Diaz Espinosa A (eds) *Restauración ecológica en zonas invadidas por retamo espinoso y plantaciones forestales de especies exóticas*, pp 39-56. Universidad Nacional de Colombia.
- Leon OA, Vargas Rios O (2009) Caracterización espacial y conocimiento social de la invasión de retamo espinoso (*Ulex europaeus*) en la vereda El Hato (Localidad de Usme), pp In : Vargas Rios O, Leon O, Diaz Espinosa A (eds) *Restauración ecológica en zonas invadidas por retamo espinoso y plantaciones forestales de especies exóticas*, pp 68-92. Universidad Nacional de Colombia.
- Levin DA (2004) The ecological transition in speciation. *New Phytologist* **161**, 91-96.
- Levin DA (2006) Ancient dispersals, propagule pressure, and species selection in flowering plants. *Systematic Botany* **31**, 443-448.
- Levine JM, Adler PB, Yelenik SG (2004) A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters* **7**, 975-989.
- Liu H, Stiling P (2006) Testing the enemy release hypothesis: a review and meta-analysis. *Biological Invasions* **8**, 1535-1545.
- Lonsdale WM (1999) Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* **80**, 1522-1536.
- Loope LL, Mueller-Dombois D (1989) Characteristics of invaded islands, with special reference to Hawaii. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, *et al.* (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.
- Loveless MD, Hamrick JL (1984) Determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**, 65-95.
- Loveman B (2001) *Chile: the legacy of Hispanic capitalism*, 3rd edn. Oxford University Press.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, De Poorter M (2000) 100 of the World's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database, p. 12. The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN).
- Lundemo S, Falahati-Anbaran M, Stenoién HK (2009) Seed banks cause elevated generation times and effective population sizes of *Arabidopsis thaliana* in northern Europe. *Molecular Ecology* **18**, 2798-2811.
- Lynch M, Walsh B (1998) *Genetics and analysis of quantitative traits* Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.

- Macel M, Vrieling K, Klinkhamer PGL (2004) Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*. *Phytochemistry* **65**, 865-873.
- Mack RN (1991) Commercial seed trade: an early disperser of weeds in the United States. *Economic Botany* **45**, 257-273.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, *et al.* (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* **10**, 689-710.
- Maddox DM, Joley DB, Pitcairn MJ (2007) Studies on the biology of the Gorse Seed Weevil, *Exapion ulicis* (Forster 1771), in Northern California (Coleoptera: Curculionidae). *Pan-Pacific Entomologist* **83**, 32-40.
- Mahy G, Ennos RA, Jacquemart AL (1999) Allozyme variation and genetic structure of *Calluna vulgaris* (heather) populations in Scotland: the effect of postglacial recolonization. *Heredity* **82**, 554-660.
- Mahy G, Vekemans X, Jacquemart A-L, de Sloover J-R (1997) Allozyme diversity and genetic structure in South-Western populations of heather, *Calluna vulgaris*. *New Phytologist* **137**, 325-334.
- Markin GP (2008) *Ulex europaeus* L.: common gorse. In: Bonner FT, Karrfalt RP (eds) *The Woody Plant Seed Manual. Agric. Handbook No. 727*, pp 1140-1142. Washington DC, US Department of Agriculture, Forest Service.
- Markin GP, Conant P, Killgore E, Yoshioka E (2002) Biological control of gorse in Hawai'i: A program review. In: Smith CW, Denslow J, Hight S (eds) *Proceedings of workshop on biological control of native ecosystems in Hawai'i*, pp 53-61.
- Markin GP, Yoshioka E (1996) The phenology and growth rates of the weed gorse (*Ulex europaeus*) in Hawai'i. *Newsletter of the Hawaiian Botanical Society* **35**, 45-50.
- Maron JL, Vila M, Arnason JT (2004a) Loss of enemy resistance among introduced populations of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Ecology* **85**, 3243-3253.
- Maron JL, Vila M, Bommarco R, Elmendorf S, Beardsley P (2004b) Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* **74**, 261-280.
- Marrs RA, Sforza R, Hufbauer RA (2008) Evidence for multiple introductions of *Centaurea stoebe micranthos* (spotted knapweed, Asteraceae) to North America. *Molecular Ecology* **17**, 4197-4208.
- Mauricio R, Rausher MD (1997) Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. *Evolution* **51**, 1435-1444.
- Maximo P, Lourenço A, Tei A, Wink M (2006) Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. *Phytochemistry* **67**, 1943-1949.
- Mayhew PJ (2001) Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology and Evolution* **16**, 165-167.
- McIntosh ME (2002) Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology* **159**, 1-13.
- McNeely JA, Mooney HA, Neville LE, *et al.* (eds) (2001) *A Global Strategy on Invasive Alien Species*. IUCN, Gland, Switzerland.
- Messina FJ, Karren ME (2003) Adaptation to a novel host modifies host discrimination by the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *Animal Behaviour* **65**, 501-507.

- Metcalf CJE, Rees M, Buckley YM, Sheppard AW (2009) Seed predators and the evolutionarily stable flowering strategy in the invasive plant, *Carduus nutans*. *Evolutionary Ecology* **23**, 893-906.
- Millener LH (1962) Day-length as related to vegetative development in *Ulex europaeus* L.: II. Ecotype variation with latitude. *New Phytologist* **61**, 119-127.
- Misset M-T, Gourret J-P (1996) Flow cytometric analysis of the different ploidy levels observed in the genus *Ulex* L. (Fabaceae-Genistae) in Brittany (France). *Botanica Acta* **109**, 72-79.
- Mitchell CE, Agrawal AA, Bever JD, *et al.* (2006) Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters* **9**, 726-740.
- Mitchell CE, Power AG (2003) Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature* **421**, 625-627.
- Montague JL, Barrett SCH, Eckert CG (2008) Re-establishment of clinal variation in flowering time among introduced populations of purple loosestrife (*Lythrum salicaria*, Lythraceae). *Journal of Evolutionary Biology* **21**, 234-245.
- Monty A, Mahy G (2009) Clinal differentiation during invasion: *Senecio inaequidens* (Asteraceae) along altitudinal gradients in Europe. *Oecologia* **159**, 305-315.
- Monty A, Mahy G (2010) Evolution of dispersal traits along an invasion route in the wind-dispersed *Senecio inaequidens* (Asteraceae). *Oikos* **119**, 1563-1570.
- Mooney HA, Cleland EE (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **98**, 5446-5451.
- Morvan W (2003) Enquête sur la gestion de l'ajonc *Ulex europaeus* en Bretagne. Non publié.
- Moss GR (1959) The gorse seed problem **12**, 59-64.
- Muller S (2005) A propos de plantes invasives et de plantes envahissantes. *Le Monde des Plantes* **486**, 15.
- Müller C, Martens N (2005) Testing predictions of the 'evolution of increased competitive ability' hypothesis for an invasive crucifer. *Evolutionary Ecology* **19**, 533-550.
- Müller-Schärer H, Schaffner U, Steinger T (2004) Evolution in invasive plants: implications for biological control. *Trends in Ecology and Evolution* **19**, 417-422.
- Müller-Schärer H, Steinger T (2004) Predicting evolutionary change in invasive, exotic plants and its consequences for plant-herbivore interactions. In: Ehler LE, Sforza R, Mateille T (eds) *Genetics, evolution and biological control*, pp. 137-162. CABI, Wallingford, UK.
- Munz PA, Keck DD (1973) *A California Flora*. University of California Press.
- Myers JH, Bazely D (2003) Introduction. In: *Ecology and control of introduced plants*, pp. 1-13. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**, 1-10.
- Noble IR (1989) Attributes of invaders and the invading process: Terrestrial and vascular plants. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, *et al.* (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.
- Norambuena H, Carrillo R, Neira M (1986) Introducción, establecimiento y potencial de *Apion ulicis* como antagonista de *Ulex europaeus* en el sur de Chile. *Entomophaga* **31**, 3-10.

- Norambuena H, Escobar S, Rodriguez F (2000) The biocontrol of gorse, *Ulex europaeus*, in Chile: a progress report. In: Spencer NR (ed.) *Proceedings of the X international Symposium on Biological Control of Weeds*, 955-961.
- Norambuena H, Piper GL (2000) Impact of *Apion ulicis* Forster on *Ulex europaeus* L. seed dispersal. *Biological Control* **17**, 267-271.
- Norghauer JM, Martin AR, Mycroft EE, *et al.* (2011) Island invasion by a threatened tree species: Evidence for natural enemy release of Mahogany (*Swietenia macrophylla*) on Dominica, Lesser Antilles. *PLoS ONE* **6**, e18790.
- Nybom H (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* **13**, 1143-1155.
- Obbard DJ, Harris SA, Pannell JR (2006) Simple allelic-phenotype diversity and differentiation statistics for allopolyploids. *Heredity* **97**, 296-303.
- Ollerton J, Lack AJ (1992) Flowering phenology— an example of relaxation of natural selection? *Trends in Ecology and Evolution* **7**, 274–276.
- Opazo RG (1930) Monografía cultural de las diversas plantas agrícolas, Santiago, Chile.
- Orians CM, Ward D (2010) Evolution of plant defenses in nonindigenous environments. *Annual Review of Entomology* **55**, 439-459.
- Pandit MK, Pocock MJO, Kunin WE (2011) Ploidy influences rarity and invasiveness in plants. *Journal of Ecology* **99**, 1108–1115.
- Parsons WT, Cuthbertson EG (2001) *Noxious weeds of Australia*, 2nd edn. CSIRO Publishing, Collingwood.
- Pascal M, Lorvelec O, Vigne JD (2006) *Invasions biologiques et extinctions: 11000 ans d'histoire des vertébrés en France*. Belin, Paris.
- Pauchard A, Kueffer C, Dietz H, *et al.* (2009) Ain't no mountain high enough: plant invasions reaching new elevations. *Frontiers in Ecology and the Environment* **7**, 479-486.
- Paynter Q, Gourlay AH, Oboyski PT, *et al.* (2008) Why did specificity testing fail to predict the field host-range of the gorse pod moth in New Zealand? *Biological Control* **46**, 453-462.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**, 288-295.
- Peterson AT (2003) Predicting the geography of species invasions via ecological niche modeling. *The Quarterly Review of Biology* **78**, 419-433.
- Pigliucci M (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology and Evolution* **20**, 481-486.
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D (2000) Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* **50**, 53–65.
- Pons A, Couteaux M, de Beaulieu JL, Reille M (1990) Plant invasions in Southern Europe from the Paleoecological point of view. In: di Castri F, Hansen AJ, Debussche M (eds) *Biological invasions in Europe and the Mediterranean Basin*, pp 169-178. Kluwer Academic Publishers.
- Prentis PJ, Wilson JRU, Dormontt EE, Richardson DM, Lowe AJ (2008) Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science* **13**, 288-294.

- Price TD, Qvarnström A, Irwin DE (2003) The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences Series B* **270**, 1433-1440.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Probert RJ (2000) The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner M (ed.) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*, 2nd edn, pp261-292. CABI, Wallingford, UK..
- Proença CEB, Gibbs PE (1994) Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist* **126**, 343-354.
- Pryor MR, Dana RH (1952) Gorse control. *Calif. Dept. Agric. Bull.* **41**, 43-45.
- Puentes A, Basanta M (2002) Architecture of *Ulex europaeus*: changes in the vertical distribution of organs in relation to plant height and season. *Journal of Vegetation Science* **13**, 793-802.
- Pysek P, Pergl J, Jarosik V (2011): Alien plants introduced by different pathways differ in invasion success: unintentional introductions as greater threat to natural areas? *PLoS ONE* **6**, e24890
- R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ramsey J, Schemske DW (1998) Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**, 467-501.
- Redmon SG, Forrest TG, Markin GP (2000) Biology of *Bruchidius villosus* (Coleoptera: Bruchidae) on scotch broom in North Carolina. *Florida Entomologist* **83**, 242-253.
- Reed DH, Frankham R (2001) How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? *A Meta-Analysis. Evolution* **55**, 1095-1103.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* **17**, 230-237.
- Rees M, Hill RL (2001) Large-scale disturbances, biological control and the dynamics of gorse populations. *Journal of Applied Ecology* **38**, 364-377.
- Rejmanek M (1989) Invasibility of plant communities. In: Drake JA, Mooney HA, di Castri F, et al. (eds) *Biological invasions: a global perspective*. John Wiley & Sons.
- Rejmanek M, Richardson DM (1996) What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* **77**, 1655-1661.
- Reyes O, Casal M, Castro Rego F (2009) Resprouting ability of six atlantic shrub species. *Folia Geobotanica* **44**, 19-29.
- Reznick DN, Ghalambor CK (2001) The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* **112-113**, 183-198.
- Richardson DM, Allsopp N, D'Antonio CM, Milton SJ, Rejmanek M (2000) Plant invasion - the role of mutualisms. *Biological Reviews* **75**, 65-93.
- Richardson DM, Pysek P (2006) Plant invasions: merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography* **30**, 409-431.
- Richardson RG, Hill RL (1998) The biology of Australian weeds. 34. *Ulex europaeus* L. *Plant Protection Quarterly* **13**, 46-58.

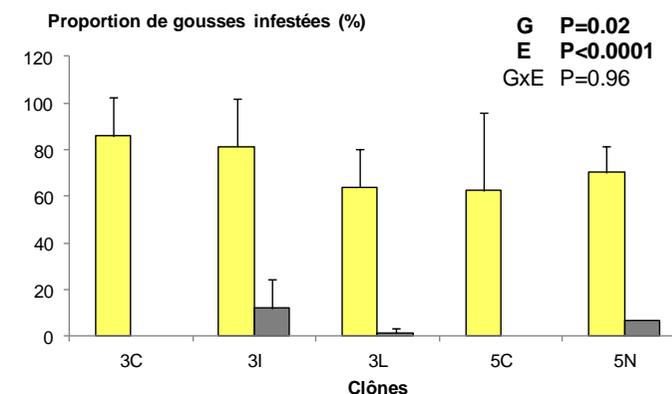
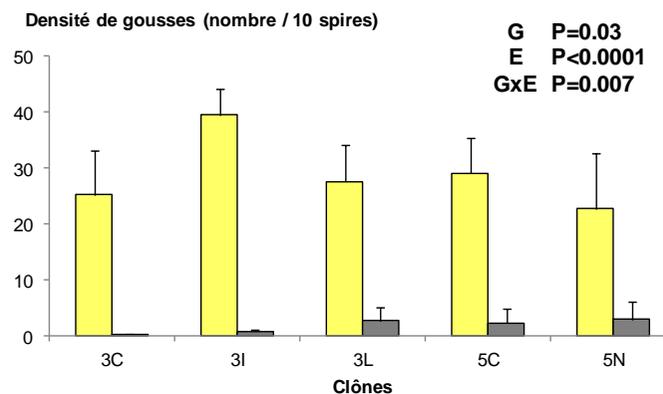
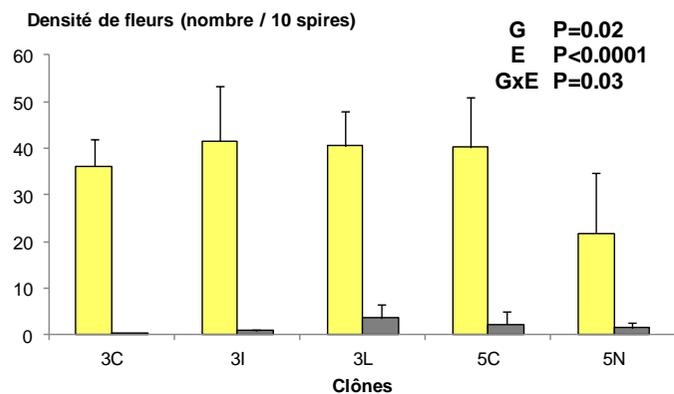
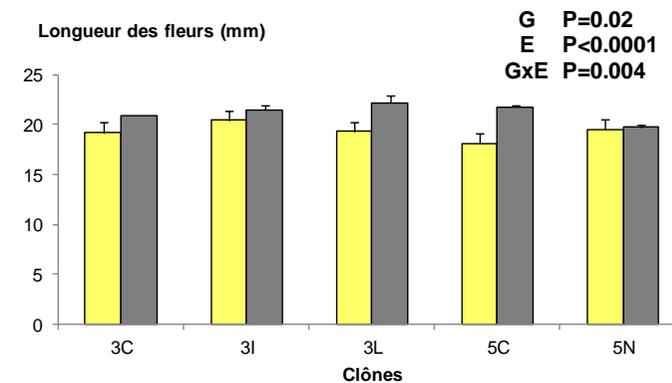
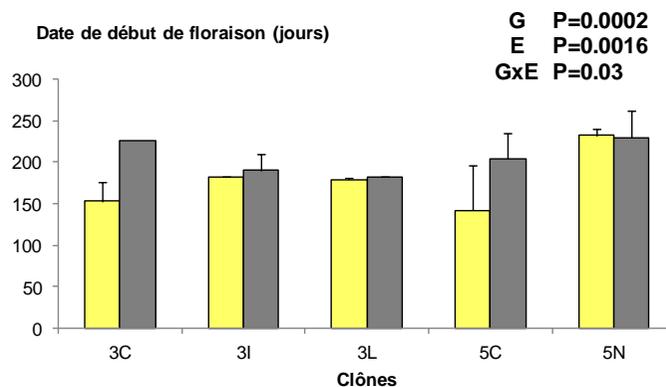
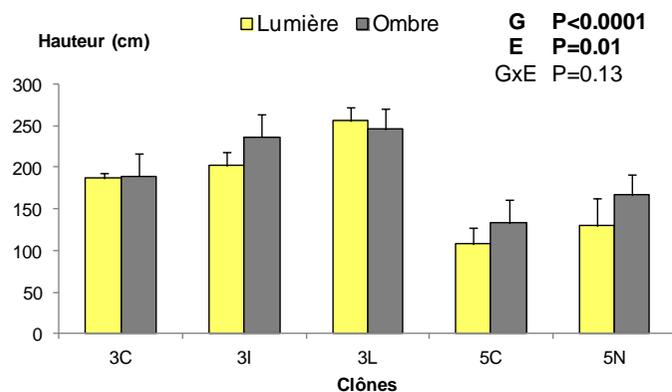
- Ridenour WM, Vivanco JM, Feng Y, Horiuchi J-I, Callaway RM (2008) No evidence for trade-offs: *Centaurea* plants from America are better competitors and defenders. *Ecological Monographs* **78**, 369-386.
- Ridley HN (1930) *The dispersal of plants throughout the world* L. Reeve & Co, Ltd., Ashford, U.K.
- Roach DA, Wulff RD (1987) Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**, 209-235.
- Roff DA (2000) The evolution of the G matrix: selection or drift? *Heredity* **84**, 135-142.
- Roff DA (2002) *Life history evolution* Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA.
- Roff DA, Fairbairn DJ (2007) The evolution of trade-offs: where are we? *Journal of Evolutionary Biology* **20**, 433-447.
- Romani R, Salerno G, Frati F, *et al.* (2005) Oviposition behaviour in *Lygus rugulipennis*: a morpho-functional study. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **115**, 17-25.
- Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS, *et al.* (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**, 305-332.
- Salmon A, Ainouche ML, Wendel JF (2005) Genetic and epigenetic consequences of recent hybridization and polyploidy in *Spartina* (Poaceae). *Molecular Ecology* **14**, 1163-1175.
- Sanchez-Tapia A (2007) Efecto del sombreado artificial sobre el retamo espinoso (*Ulex europaeus* L.) en el embalse de Chisacá. In: Restauración ecológica del bosque altoandino. Estudios diagnósticos y experimentales en los alrededores del embalse de Chisacá (localidad de Usme, Bogotá). UNAL. Facultad de ciencias, departamento de biología. Bogotá D.C.
- SAS Institute 2005. Version 9.1. SAS institute, Cary, NC.
- Sax DF, Stachowicz JJ, Brown JH, *et al.* (2007) Ecological and evolutionary insights from species invasions. *Trends in Ecology and Evolution* **22**, 465-471.
- Scheiner SM (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**, 35-68.
- Scheirs J, Zoebisch TG, Schuster DJ, de Bruyn L (2004) Optimal foraging shapes host preference of a polyphagous leafminer. *Ecological Entomology* **29**, 375-379.
- Schlaepfer DR, Edwards P, Billeter R (2010) Why only tetraploid *Solidago gigantea* (Asteraceae) became invasive: a common garden comparison of ploidy levels. *Oecologia* **163**, 661-673.
- Schlaepfer MA, Sax DF, Olden JD (2011) The potential conservation value of non-native species. *Conservation Biology* **25**, 428-437.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M (2005) *Insect-plant biology*, 2nd edn. Oxford University Press Inc., New York.
- Seifert EK, Bever JD, Maron JL (2009) Evidence for the evolution of reduced mycorrhizal dependence during plant invasion. *Ecology* **90**, 1055-1062.
- Seymour FC (1982) *The flora of New England*, 2nd edn. In: Moldenke HN, Moldenke AL (eds) *Phytologia Memoirs* **5**. Plainfield, NJ.
- Sharifi Tehrani M, Mardi M, Sahebi J, Catalan P, Diaz-Perez A (2009) Genetic diversity and structure among Iranian tall fescue populations based on genomic-SSR and EST-SSR marker analysis. *Plant Systematics and Evolution* **282**, 57-70.

- Sheppard A (2004) A search in Spain and Portugal for potential biocontrol agents for gorse (*Ulex europaeus europaeus* L.) in Hawai'i. CSIRO Entomology.
- Sidney M, Brown K, Judd GJR, Gries G (2008) Stimuli affecting selection of oviposition sites by female peach twig borer, *Anarsia lineatella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology* **132**, 538-544.
- Siemann E, Rogers WE (2001) Genetic differences in growth of an invasive tree species. *Ecology Letters* **4**, 514-518.
- Siemann E, Rogers WE (2003) Reduced resistance of invasive varieties of the alien tree *Sapium sebiferum* to a generalist herbivore. *Oecologia* **135**, 451-457.
- Sinervo B, Svensson E (2002) Correlational selection and the evolution of genomic architecture. *Heredity* **89**, 329-338.
- Sixtus CR, Scott RR, Hill GD (2007) The phenology of *Cydia succedana* on gorse in Canterbury. *New Zealand Plant Protection* **60**, 146-151.
- Smith MW, Mulder PG (2009) Oviposition characteristics of pecan weevil. *Southwestern Entomologist* **34**, 447-455.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry*, 3rd edn. WH Freeman, New York.
- Stastny M, Schaffner U, Elle E (2005) Do vigour of introduced populations and escape from specialist herbivores contribute to invasiveness? *Journal of Ecology* **93**, 27-37.
- Steppan SJ, Phillips PC, Houle D (2002) Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 320-327.
- Stockwell CA, Hendry AP, Kinnison MT (2003) Contemporary evolution meets conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* **18**, 94-101.
- Strausbaugh PD, Core EL (1977) *Flora of West Virginia*, 2nd edn. Seneca Books, Inc, Morgantown, WV.
- Strayer DL, Eviner VT, Jeschke JM, Pace ML (2006) Understanding the long-term effects of species invasions. *Trends in Ecology and Evolution* **21**, 645-651.
- Suarez AV, Tsutsui ND (2008) The evolutionary consequences of biological invasions. *Molecular Ecology* **17**, 351-360.
- Tarayre M, Bowman G, Schermann-Legionnet A, Barat M, Atlan A (2007) Flowering phenology of *Ulex europaeus*: ecological consequences of variation within and among populations. *Evolutionary Ecology* **21**, 395-409.
- te Beest M, Le Roux JJ, Richardson DM, Brysting AK, Suda J, Kubesova M, Pysek P (2011) The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* doi: 10.1093/aob/mcr277
- Teles-Pontes WJ, Rodrigues Lima E, Cunha EG, *et al.* (2010) Physical and chemical cues affect oviposition by *Neoleucinodes elegantalis*. *Physiological Entomology* **35**, 134-139.
- Thomé OW (1885) *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*. Gera, Germany.
- Thompson JN (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **47**, 3-14.
- Thompson JN (1998) Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology and Evolution* **13**, 329-332.

- Thompson JN (2005) *The geographic mosaic of coevolution* The University of Chicago Press, Chicago & London.
- Torchin ME, Lafferty KD, Dobson AP, McKenzie VJ, Kuris AM (2003) Introduced species and their missing parasites. *Nature* **421**, 628-630.
- Treier UA, Broennimann O, Normand S, *et al.* (2009) Shift in cytotype frequency and niche space in the invasive plant *Centaurea maculosa*. *Ecology* **90**, 1366-1377.
- Tsutsui ND, Suarez AV, Holway DA, Case TJ (2000) Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **97**, 5948-5953.
- Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, *et al.* (1968) *Flora Europaea Vol. 2: Rosaceae to Umbelliferae* Cambridge University Press, Cambridge.
- Valéry L, Fritz H, Lefeuvre JC, Simberloff D (2008) In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biological Invasions* **10**, 1345-1351.
- van der Meijden E (1996) Plant defence, an evolutionary dilemma: contrasting effects of (specialist and generalist) herbivores and natural enemies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **80**, 307-310.
- van Kleunen M, Fischer M (2005) Constraints on the evolution of adaptive plasticity in plants. *New Phytologist* **166**, 49-60.
- van Zandt PA, Mopper S (1998) A meta-analysis of adaptive deme formation in phytophagous insect populations. *American Naturalist* **152**, 595-604.
- van Zeist W (1963) Recherches palynologiques en Bretagne occidentale. *Revue Norois* **37**, 5-19.
- van Zeist W (1964) A paleobotanical study of some bogs in western Brittany (Finistère), France. *Overdruk uit Palaeohistoria* **10**, 157-180.
- Vila M, Espinar J, Hejda M, *et al.* (2011) Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. *Ecology Letters* **14**, 702-708.
- von Holle B, Simberloff D (2005) Ecological resistance to biological invasion overwhelmed by propagule pressure. *Ecology* **86**, 3212-3218.
- Walker B, Steffen W (1997) An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems. *Conservation Ecology [online]* **1**, 2. Available from the Internet. URL: <http://www.consecol.org/vol1/iss2/art2/>.
- Walsh B, Blows MW (2009) Abundant genetic variation + strong selection = multivariate genetic constraints: a geometric view of adaptation. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **40**, 41-59.
- Webb NR (1998) The traditional management of European heathlands. *Journal of Applied Ecology* **35**, 987-990.
- Weber E, Schmid B (1998) Latitudinal population differentiation in two species of *Solidago* (Asteraceae) introduced into Europe. *American Journal of Botany* **85**, 1110-1121.
- Whitney KD, Ahern JR, Campbell LG (2009) Hybridization-prone plant families do not generate more invasive species. *Biological Invasions* **11**, 1205-1215.
- Williamson M, Fitter A (1996) The varying success of invaders. *Ecology* **77**, 1661-1665.
- Wink M (1988) Plant breeding: Importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics* **75**, 225-233, 1988

- Wink M (1992) The Role of quinolizidine alkaloids in plant insect interactions. In: Bernays EA (ed.) *Insect-plant interactions*, Vol. IV, pp 133-169. CRC-Press, Boca Raton.
- Wink M (1993) Quinolizidine alkaloids. In: Waterman P (ed.) *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 8, pp 197-239. Academic press, London.
- Wink M (1998) Chemical ecology of alkaloids. In: Roberts MF, Wink M (eds) *Alkaloids: Biochemistry, ecology and medicinal applications*, pp 265-300. Plenum, New York.
- Wink M, Botschen F, Gosmann C, *et al.* (2010) Chemotaxonomy seen from a Phylogenetic Perspective and Evolution of Secondary Metabolism. *Annual Plant Reviews* **40**, 364-433.
- Wink M, Hartmann T, Witte L, Rheinheimer J (1982) Interrelationship between quinolizidine alkaloid producing legumes and infesting insects: Exploitation of the alkaloid-containing phloem sap of *Cytisus scoparius* by the broom aphid, *Aphis cytisorum*. *Zeitschrift für Naturforschung* **37 c**, 1081-1086.
- Wink M, Roberts M (1998) Compartmentation of alkaloid synthesis, transport and storage. In: Roberts MF, Wink M (eds) *Alkaloids: Biochemistry, ecology and medicinal applications*, pp 239-262. Plenum, New York.
- Wink M, Witte L (1991) Storage of quinolizidine alkaloids in *Macrosiphum albifrons* and *Aphis genistae* (Homoptera: Aphididae). *Entomologia Generalis* **15**, 237-254.
- Winkelman R (1999), Immigration: The New Zealand Experience, IZA Discussion Paper No. 61.
- Wippich C, Wink M (1985) Biological properties of alkaloids: Influence of quinolizidine alkaloids and gramine on the germination and development of powdery mildew, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Experientia* **41**, 1477-1479.
- Wolfe LM, Burns JL (2001) A rare continual flowering strategy and its influence on offspring quality in a gynodioecious plant. *American Journal of Botany* **88**, 1419-1423.
- Wolfe LM, Elzinga JA, Biere A (2004) Increased susceptibility to enemies following introduction in the invasive plant *Silene latifolia*. *Ecology Letters* **7**, 813-820.
- Xu CY, Julien MH, Fatemi M, *et al.* (2010) Phenotypic divergence during the invasion of *Phyla canescens* in Australia and France: evidence for selection-driven evolution. *Ecology Letters* **13**, 32-44.
- Yang C-H, Belawat P, Hafen E, Jan LY, Jan Y-N (2008) *Drosophila* egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes. *Science* **319**, 1679-1683.
- Zabkiewicz JA (1976) The ecology of gorse and its relevance to new forestry **18**, 63-68.
- Zou J, Rogers WE, Siemann E (2008) Increased competitive ability and herbivory tolerance in the invasive plant *Sapium sebiferum*. *Biological Invasions* **10**, 291-302.
- Zwölfer H (1962) *Ulex europaeus* project; European investigations for New Zealand. Unpublished report, No. 2. Commonwealth Institute of Biological Control, Delémont, Switzerland

ANNEXES



ANNEXE 1 - PLASTICITE PHENOTYPIQUE POUR L'ANNEE 2009. Les moyennes de trait par génotype (moyenne sur les cinq clones) sont données avec l'écart-type. Pour chaque trait, la p-valeur P est donnée pour les effets « génotype » G , « environnement » E , et leur interaction $G \times E$. Les effets significatifs sont en gras. Pour le génotype 3C, la proportion de gousses infestées n'a pas pu être estimée sous l'ombrière, et une seule mesure de date de début de floraison et de longueur de fleurs a pu être prise (la valeur est donc représentée sans écart-type). Pour le génotype 5N, une seule mesure de parasitisme a pu être récoltée (la valeur est donc représentée sans écart-type). Voir CHAPITRE 2.

ANNEXE 2

SYNTHESE DES DONNEES HISTORIQUES SUR L'INTRODUCTION DE L'AJONC DANS LE MONDE

En Océanie

Nouvelle-Zélande

L'ajonc d'Europe a été introduit en Nouvelle-Zélande avant 1835, année où Charles Darwin en a reporté la présence dans la *Bay of Islands*, sur l'île du Nord (Darwin, 1839). L'ajonc aurait été introduit en Nouvelle-Zélande à partir d'Angleterre au début des années 1800s, avant la colonisation organisée (Isern, 2007). L'ajonc était utilisé en Nouvelle-Zélande comme fourrage pour les moutons, ainsi que pour constituer des haies, et son usage était encouragé, les graines d'ajonc étant même distribuées ou vendues (Lee *et al.*, 1986 ; Myers & Bazely, 2003). La propagation de l'ajonc en Nouvelle-Zélande a ensuite suivi l'installation des immigrants, en grande majorité anglais, écossais et irlandais (Isern, 2007 ; Winkelmann, 1999).

L'ajonc a été officiellement déclaré comme peste végétale vers 1900, et il est aujourd'hui présent sur les deux îles de Nouvelle-Zélande, où il occupe environ 5% des terrains non-occupés par des forêts indigènes ou la végétation alpine ou sub-alpine (Hill *et al.*, 2000). On le trouve entre le niveau de la mer et jusqu'à 1400 m d'altitude (Zabkiewicz, 1976).

Australie

L'ajonc aurait aussi été introduit en Australie dans les années 1800s par les colons européens, pour ses usages en tant que plante ornementale, pour faire des haies, et comme fourrage. Il a été reporté que l'ajonc était cultivé en Nouvelle-Galles du Sud en 1803, et il était listé dans un catalogue de pépinière tasmanienne en 1845 (Parsons & Cuthbertson, 2001). Il a été décrit comme naturalisé en 1889, et vers 1900 il était considéré comme une peste végétale (Ewart, 1909).

L'ajonc est présent dans tous les états australiens, excepté le Territoire du Nord, mais il est surtout abondant en Victoria et en Tasmanie (Richardson & Hill, 1998). On le trouve du niveau de la mer jusqu'à 800 m d'altitude, en Tasmanie (Davies, 2006).

Dans des îles tropicales

Ile de La Réunion

L'ajonc a été introduit sur l'île de La Réunion avant 1895, puisque la plante est reportée comme naturalisée dans la Plaine des Cafres (zone agricole) dans la première flore de La Réunion (de Cordemoy, 1895). L'île étant une possession française depuis 1640 (elle a été possédée par les Anglais, mais seulement entre 1810 et 1815), il est probable que l'ajonc y ait été introduit à partir de France par les colons (voir *l'Arrêté du 4 novembre 1851 concernant la colonisation des Plaines des Cafres et des Palmistes*).

On trouve l'ajonc dans la Plaine des Cafres, les Hauts de l'Ouest, le Plaine des Palmistes, et la Région du Volcan, entre 1000 et 2200 m d'altitude (Atlan & Tarayre, obs. pers. ; Julien Triolo, com. pers.).

Archipel de Hawaii

L'ajonc a probablement été introduit à Hawaii aux alentours des années 1900s quand l'industrie du coton y a été établie, et il était considéré comme naturalisé dès 1910 (Daehler, 2005), et considéré comme une peste végétale vers 1925 sur l'île de Maui, et plus globalement dans les années 1950s après son expansion due en partie au passage de l'élevage de moutons à l'élevage de bétail (Markin *et al.*, 2002).

On trouve l'ajonc sur les îles de Maui et Hawaii, entre 760 et 2230 m d'altitude, dans les zones à climat tempéré (Markin & Yoshioka, 1996 ; Daehler, 2005).

Ile de Saint-Hélène

L'ajonc est présent sur l'île de Saint-Hélène (Atlantique sud), où il aurait été introduit par les Hollandais (Calvel, 1809), qui ont possédé l'île de 1633 à 1651.

En Amérique du Sud

Chili

L'ajonc aurait été introduit au Chili au début du XIX^{ème} siècle comme source de fourrage et comme plante de haie (Opazo, 1930). Il aurait été introduit par le botaniste anglais John Miers à Concon avant 1846 (Gay, 1846), et par les colons allemands autour de Puerto Montt dans la deuxième moitié du XIX^{ème} siècle. Vers les années 1930s, l'ajonc est devenu une peste naturalisée dans les provinces de Chiloé et Valdivia, dans le sud du Chili (Opazo, 1930).

Au Chili, on trouve l'ajonc entre les 33^{ème} et 53^{ème} parallèles de latitude sud, principalement du niveau de la mer jusqu'à 200 m d'altitude (Norambuena *et al.*, 2000 ; Buckley *et al.*, 2003 ; Irène Till-Bottraud, com. pers.).

Colombie

L'ajonc a été introduit en 1946 par la EAAB, l'entreprise d'eau et d'assainissement de Bogota, pour la construction du réservoir de Chisaca. L'ajonc y a été utilisé pour reforester la zone, peu après qu'il ait été introduit dans la région pour constituer des haies (Leon *et al.*, 2009).

L'ajonc est présent en Colombie uniquement dans la région andine et sub-andine, principalement dans les départements de Cundimarca et Antioquia (Sanchez-Tapia, 2007). On le trouve entre 1800 et 3600 m d'altitude (Leon & Vargas Rios, 2009).

En Amérique du Nord

L'ajonc a été introduit aux Etats-Unis au début du XIX^{ème} siècle, période où il était présent sur les catalogues de pépinières, dès 1807 dans l'est (Pennsylvanie, puis New Jersey, Etat de New York, Massachusetts, Maryland), puis en Californie à partir de 1894 (Mack, 1991). L'ajonc aurait aussi été introduit en Oregon en 1894 à partir d'Irlande, par Lord George Bennett, un immigrant irlandais qui a fondé la ville de Bandon en 1873 (Hill, 1955).

L'ajonc s'est ensuite répandu (notamment grâce à son usage pour faire des haies entre les champs) au sud jusque San Diego, et au nord sur toute la côte ouest pour atteindre l'île de Vancouver en Colombie Britannique (Canada) au début du XX^{ème} siècle (Henry, 1915 ; Clements *et al.*, 2001). Depuis les années 1950, il est bien établi à travers l'ouest de l'Etat de Washington, l'Oregon, et le nord de la Californie, et est éparé dans le sud de la Californie (Pryor & Dana, 1952). On trouve l'ajonc du niveau de la mer jusqu'à 1000 m d'altitude, en Californie (Clements *et al.*, 2001 ; Buckley *et al.*, 2003).

ANNEXE 3

SYNTHESE DES MESURES EN POPULATIONS NATURELLES D'AJONC

Tableau A1 - Hauteur d'ajoncs adultes dans divers sites du monde.

Site	Localisation	Alt. (m)	Hauteur (cm)			Références
			N	gamme	moyenne	
Zone d'origine						
France (Bretagne)						
Kerguzul	48,0°N - 03,2°W	200	11	120-400	227±86	1
Cap de la Chèvre	48,1°N - 04,5°W	0	15	58-116	82±18	1
Pointe Meinga	48,7°N - 01,9°W	0	15	85-203	124±37	1
Château-de-Vaux	48,0°N - 01,6°W	50	15	125-335	241±57	1
Péninsule ibérique						
Mont Pedroso (Espagne)	42,9°N - 08,6°W	450	55	<150	-	2
Zone envahie						
Amérique du Nord						
Colombie Britannique	48,4°N - 123,7°W	-	-	<480	-	3
Colombie						
Vereda el Hato	04,4°N - 74,2°W	3150	-	50-340	-	4
La Réunion						
Piton de Brèdes	21,2°S - 55,6°E	1500	15	121-230	172±31	1
Luc Boyer	21,1°S - 55,6°E	1100	15	79-215	155±34	1
Maïdo Pique-Nique	21,1°S - 55,4°E	2100	15	60-200	138±46	1
Calistemon	21,3°S - 55,6°E	1250	15	79-280	166±65	1
Tasmanie						
Stonehenge	43,4°S - 147,7°E	300	-	100-200	-	5
Lymington	43,2°S - 147,0°E	20	-	100-300	-	5
Nouvelle-Zélande						
Dunedin	45,9°S - 170,6°E	<739	-	50-700	-	6
McLeans Island	43,5°S - 172,5°E	60	15	-	81±30	7
Hinewai Reserve	43,8°S - 173,0°E	470	15	-	141±60	7
Burnham	43,6°S - 172,5°E	60	10	100-160	130	8

1 : Hornoy, Tarayre & Atlan (données non publiées) ; 2 : Puentes & Basanta (2002) ; 3 : Clements *et al.* (2001) ; 4 : Leon & Vargas Rios (2009) ; 5 : Davies *et al.* (2008) ; 6 : Lee *et al.* (1986) ; 7 : Sixtus *et al.* (2007) ; 8 : Hill *et al.* (1996).

Tableau A2 - Nombre de graines par gousse d'ajoncs dans divers sites du monde.

Site	Localisation	Alt. (m)	Graines / gousse mûre				Références
			N _{ind} ^a	N _{gou} ^b	gamme	moyenne	
Zone d'origine							
Iles britanniques							
Invergordon	57,7°N - 04,2°E	5	-	206	-	3,7	1
Lossiemouth Cemetery	57,7°N - 03,3°E	15	-	196	-	4,1	1
Scotston Moor, Aberdeen	57,2°N - 02,1°E	65	-	247	-	2,94	1
Balgownie, Aberdeen	57,2°N - 02,1°E	65	-	210	-	3,36	1
Hazelhead, Aberdeen	57,2°N - 02,1°E	65	-	99	-	3,5	1
France							
Pointe Meinga	48,7°N - 01,9°W	0	4	27	1-6	3,74±1,23	2
Château-de-Vaux	48,0°N - 01,6°W	50	11	85	1-8	3,71±1,56	2
Wissant	50,9°N - 01,7°W	0	30	295	1-12	5,34±1,95	2
Péninsule ibérique							
Espagne - Portugal (20 sites)	-	-	-	-	-	2,84±0,19	3
Zone envahie							
Amérique du Nord							
San Rafael, Californie	38,0°N - 122,5°W	-	-	-	-	4,5	4
Chili							
Carillanca	38,7°S - 72,4°W	-	-	-	-	3,44	5
La Réunion							
Piton de Brèdes	21,2°S - 55,6°E	1500	5	50	2-11	4,70±1,82	2
Luc Boyer	21,1°S - 55,6°E	1100	10	100	1-7	3,01±1,18	2
Maïdo Pique-Nique	21,1°S - 55,4°E	2100	2	15	1-5	3,53±0,92	2
Calistemon	21,3°S - 55,6°E	1250	13	130	1-8	3,92±1,45	2
Tasmanie							
Stonehenge	43,4°S - 147,7°E	300	30	1093	0-10	3,6±1,7	6
Lymington	43,2°S - 147,0°E	20	30	1203	0-9	2,8±1,4	6
Nouvelle-Zélande							
Burnham	43,6°S - 172,5°E	60	-	-	-	3,5	7
Hoon Hay Valley	43,6°S - nd	380	-	-	-	4,2	7
Ahuriri	44,3°S - 169,6°E	-	-	-	-	3,3	7
Lyttelton	43,6°S - 172,7°E	-	-	-	-	3,7	7
Tai Tapu	43,7°S - 172,5°E	-	-	-	-	3,7	7
Rakaia	43,8°S - 172,0°E	-	-	-	-	2,9	7

^a nombre d'individus d'ajonc étudiés

^b nombre total de gousses ouvertes

1 : Chater (1931) ; 2 : Hornoy, Tarayre & Atlan (données non publiées) ; 3 : Sheppard (2004) ; 4 : Maddox *et al.* (2007) ; 5 : Norambuena *et al.* (1986) ; 6 : Davies *et al.* (2008) ; 7 : Rees & Hill (2001).

Tableau A3 - Phénologie de floraison de l'ajonc dans divers sites du monde.

Site	Localisation	Alt. (m)	Floraison		Références
			gamme	pic	
Zone d'origine					
Iles britanniques	-	-	automne-printemps	printemps	1
France	-	-	automne-printemps	printemps	2,3
Péninsule ibérique	-	-	automne-printemps	-	4
Zone envahie					
Amérique du Nord					
Colombie Britannique	48,4°N - 123,7°W	-	automne-printemps	printemps	5
Californie	-	-	hiver-été	-	6
Oregon	-	-	hiver-printemps	printemps	7
Nord-est des Etats-Unis	-	-	printemps-été	-	8,9,10
Hawaii					
Mauna Kea	19,7°N - 155,5°W	1800	automne-été	hiver	11
Olinda	20,8°N - 156,3°W	1050	été-hiver	hiver	11
Haleakala	20,7°N - 156,2°W	1950	été-hiver	hiver	11
La Réunion					
Piton de Brèdes	21,2°S - 55,6°E	1500	automne-printemps	hiver (printemps)	12
Piton Maïdo	21,1°S - 55,4°E	2200	automne-été	hiver (printemps)	12
Route des Tamarins	21,2°S - 55,4°E	1600	automne-été	hiver (printemps)	12
Piton de l'Eau	21,2°S - 55,7°E	2100	automne-été	hiver (printemps)	12
Tasmanie					
Stonehenge	43,4°S - 147,7°E	300	-	printemps	13
Lymington	43,2°S - 147,0°E	20	-	automne-printemps	13
Nouvelle-Zélande					
Burnham	43,6°S - 172,5°E	60	-	automne (printemps)	14
Hoon Hay Valley	43,6°S - nd	380	-	(automne) printemps	14
Wiri	37,0°S - 174,9°E	25	-	automne-printemps	14
Ashley Forest	43,2°S - 172,6°E	-	automne-printemps	-	15
Lincoln	43,6°S - 172,5°E	15	automne-printemps	-	15
Lake Rotoiti	38,1°S - 176,3°E	350	hiver-été	-	15
Kaharoa	37,9°S - 176,2°E	450	hiver-été	-	15

Les saisons ont été « corrigées » pour les régions de l'hémisphère sud.

Les saison entre parenthèses indiquent un deuxième pic de floraison, mais moins important.

1 : Chater (1931) ; 2 : Des Abbayes *et al.* (1971) ; 3 : Tarayre *et al.* (2007) ; 4 : Cubas (1999) ; 5 : Clements *et al.* (2001) ; 6 : Munz & Keck (1973) ; 7 : Markin (2008) ; 8 : Strausbaugh & Core (1977) ; 9 : Seymour (1982) ; 10 : Gleason & Cronquist (1991) ; 11 : Markin & Yoshioka (1996) ; 12 : Atlan & Tarayre (données non publiées) ; 13 : Davies *et al.* (2008) ; 14 : Hill *et al.* (1991) ; 15 : Paynter *et al.* (2008).

ANNEXE 4

ÉTUDE PRELIMINAIRE DES CONDITIONS DECLENCHANT LE VOL CHEZ *EXAPION ULICIS*

Introduction

Dans l'étude du comportement de choix d'hôte des charançons *Exapion ulicis* et de leur interaction avec l'ajonc, un élément essentiel et de savoir quand et comment ils dispersent. En effet, savoir à quel moment les apions dispersent par rapport à la phénologie de leur plante hôte peut permettre d'inférer quels traits de la plante sont impliqués dans le choix d'hôte (attractivité/défense des fleurs, défense des gousses et des parties végétatives). Nos observations dans la nature et au laboratoire nous ont montré que les apions se déplacent principalement en marchant, tout au long de l'année. Cependant, en dessous de 10°C, ils sont immobiles et cessent toute activité. Nous savions également qu'ils sont capables de voler car nous avons pu les voir voler dans les élevages au laboratoire, ou dans la nature, mais très rarement. De plus, les jardins expérimentaux d'ajonc mis en place au cours des années, bien que non directement accolés à d'autres *patches* d'ajoncs, ont tous été colonisés naturellement par des apions dès la première année de fructification. Par contre, nous ne connaissons pas les critères qui influencent le vol (saison, température, luminosité, *etc*).

L'objectif de cette étude préliminaire était donc d'explorer quand les apions sont capables de voler en conditions naturelles. En particulier, nous voulons savoir (i) à quelles heures de la journée les apions volent-ils ? (ii) si et comment la température influence le vol des apions. Pour ce faire, nous avons réalisé une expérience d'envol des charançons en conditions semi-naturelles.

Matériel et Méthodes

Expérience

Les apions utilisés dans cette expérience ont été collectés dans une population naturelle d'ajonc sur le campus de Beaulieu, à Rennes, et ont été maintenus en élevage avec de la nourriture (des fleurs d'ajonc) et de l'eau, pendant quelques jours avant les expériences.

Pour chaque expérience, entre 24 et 35 apions ont été lâchés dans une boîte en plastique (diamètre : 11 cm, hauteur: 8 cm), avec un *sex ratio* reflétant celui de la population naturelle de collecte, *i.e.* un mâle pour deux femelles. Les boîtes ne contenaient ni eau ni source de nourriture, et leurs parois ont été recouvertes de fluon. Le fluon empêche les pattes des insectes d'adhérer aux parois, si bien que le seul moyen pour les apions de s'échapper de la boîte était de s'envoler. Les boîtes ont été posées sur le sol entre des plates-bandes d'ajoncs, en trois sites différents, d'un jardin expérimental contenant uniquement des plantes d'origine bretonne (décrit dans Atlan *et al.*, 2010).

Dans chaque site de l'expérience, une boîte contenant des apions a été déposée à 9h00, 12h00, 15h00, et 18h00. Ces quatre boîtes d'un même site étaient contenues dans un diamètre de 30 cm maximum (et donc les conditions étaient homogènes entre les boîtes d'un même site), et protégées de la pluie par un abri transparent (Figure A1). Les apions contenus dans ces boîtes ont été comptés à chaque visite, *i.e.* toutes les 30-60 minutes, de 9h00 à 19h00. La température au niveau des boîtes contenant les apions a été mesurée toutes les 30 minutes avec un thermomètre enregistreur HI141JH (Hanna Instruments) couplée à une sonde thermocouple de type K.

L'expérience a été effectuée dans trois sites du jardin le 5 mai 2009, et répétée dans ces mêmes sites le 19 mai 2009. Le ciel était dégagé le 5 mai, et plus nuageux le 19 mai, mais il n'a plu aucun de ces deux jours.

Analyse numérique

Pour estimer les températures qui permettent le vol chez *Exapion ulicis*, nous avons choisi d'estimer la température à laquelle 10, 50, et 90% des apions dispersants se sont envolés (T_{10} ,

T_{50} , et T_{90} , respectivement). Les apions considérés comme dispersants sont les apions qui se sont envolés d'une boîte avant la fin de l'expérience.



Figure A1 - Dispositif utilisé pour les tests de vol dans un site du jardin expérimental. Les boîtes fluonnées contenant des apions sont ajoutées (à 9h, 12h, 15h, et 18h) côte-à-côte sous un abri en plexiglas sous lequel une sonde enregistre la température.

Résultats

Proportion d'apions dispersants

Dans les boîtes d'envol déposées à 9h00, la proportion d'apions envolés avant la fin de l'expérimentation est forte, et varie entre 60 et 87% sauf dans un cas. En effet, dans l'un des

sites, moins de 50% des apions se sont envolés durant l'expérience du 5 mai, probablement du fait d'une température trop faible (site situé à l'ombre). Les données du 5 mai pour ce site n'ont donc pas été utilisées pour calculer T_{10} , T_{50} , et T_{90} , et leur estimation repose donc sur cinq réplicats.

Effets de l'heure et de la température

Durant les deux jours d'expérience, la température a augmenté (de façon plutôt linéaire) entre 9h00 et 14h30 environ. Ensuite, la température formait un plateau mais avec de fortes variations, avant de baisser à partir de 17h00 environ (voir Figure A2). L'estimation de T_{10} , T_{50} et T_{90} a donc été effectuée sur les apions relâchés dans les boîtes à 9h00. Typiquement, les apions relâchés à 9h00 restent dans la boîte plusieurs heures, alors que les apions relâchés à 12h00 s'envolent plus rapidement, et que ceux relâchés à 15h00 et 18h00 commencent à s'envoler presque immédiatement après avoir été relâchés. Un exemple de ce qui a été observé dans les différents réplicats est visible dans la Figure A2.

La température à partir de laquelle 10% des apions dispersants se sont envolés est $T_{10}=17,8\pm 0,9^{\circ}\text{C}$ (N=5). La température à partir de laquelle 50% des apions dispersants se sont envolés est $T_{50}=19,0\pm 1,7^{\circ}\text{C}$ (N=5). La température à partir de laquelle 90% des apions dispersants se sont envolés est $T_{90}=21,5\pm 3,3^{\circ}\text{C}$ (N=5). Il est intéressant de noter que dans un des réplicats, la température est restée constante entre 11h00 et 12h30 ($17,1\pm 0,2^{\circ}\text{C}$), et les apions dispersants ont commencé à s'envoler à 11h00, et plus de 50% d'entre eux étaient envolés à 12h30, avant que la température ne recommence à augmenter. Ceci suggère que la température seuil pour l'envol est suffisante pour permettre à la plupart des apions dispersants de s'envoler, si elle dure suffisamment longtemps.

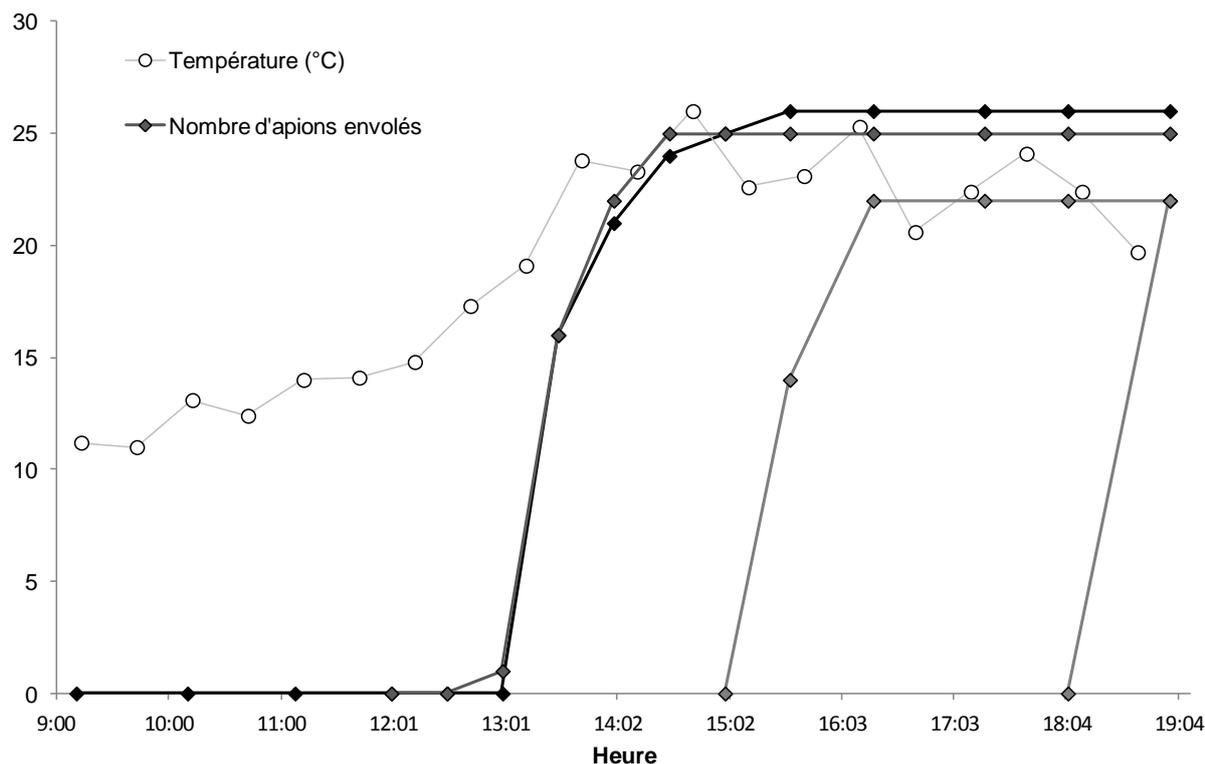


Figure A2 - Evolution du nombre d'apions envolés des boîtes déposées à différentes heures et évolution de la température, en fonction de l'heure de la journée, dans le réplicat A, le 5 mai 2009.

Discussion

Paramètres influençant l'envol des apions

Dans notre expérience, deux effets sont confondus : l'effet de l'heure et l'effet de la température. Cependant, même si les apions lâchés à 9h00 restent quelques heures dans la boîte avant de s'envoler, les apions lâchés plus tard, quand la température est plus élevée, s'envolent immédiatement. Ceci suggère que le délai entre le lâcher et l'envol chez les apions lâchés à 9h00 est plutôt dû à un effet de la température, plutôt qu'au temps nécessaire avant la possibilité d'un envol (par exemple s'ils ont été stressés par les conditions d'élevage et de lâcher). Dans tous les réplicats, une fois le seuil de température dépassé, la majorité des apions dispersants s'envole rapidement (Figure A2). Nos résultats suggèrent que la température seuil pour l'envol est suffisante pour permettre à la plupart des apions dispersants de s'envoler, si elle dure suffisamment longtemps. L'observation qu'une partie des apions ne

disperse pas, dans tous les réplicats de l'expérience, peut s'expliquer notamment par leur état physiologique (en termes d'énergie par exemple), par des comportements copulatoires, ou par leur décès au cours de l'expérience.

Nos résultats montrent que la température minimale permettant aux charançons *Exapion ulicis* de voler est d'environ 18°C (T_{10}). Le vol demande en effet un très fort taux métabolique, qui dépend de la disponibilité de l'oxygène disponible, de l'énergie stockée par l'insecte (sucres, lipides), et de la température des muscles (Chapman, 1998). En particulier, le vol n'est possible que quand la température est assez importante pour que les cycles de contraction-relâchement des muscles antagonistes impliqués dans le mouvement des ailes soient assez fréquents (Chapman, 1998). La température initiant le vol chez *E. ulicis* est dans la même gamme que celle initiant le vol chez huit autres espèces de Curculionidae (entre 15 et 20°C ; Gaylord *et al.*, 2008). Nos données révèlent en outre que la plupart des apions dispersants sont envolés quand la température atteint environ 19°C, et au-dessus de 21°C quasiment tous les apions dispersants se sont envolés. Ces valeurs sont très proches de la température « seuil » d'environ 18°C (T_{10}), suggérant qu'une fois que la température dépasse les 18-20°C, tous les apions dispersants sont capables de voler.

Conséquences pour la dispersion en populations naturelles

A Rennes, la température de 18°C peut être atteinte entre mars et octobre (parfois jusque début novembre), mais principalement de juin à août. Les apions sont donc capables de voler du printemps jusqu'à l'automne inclus, avec un pic en été. Au printemps, les populations d'ajonc sont à leur pic de floraison, et les apions se reproduisent. Le vol à cette période peut donc servir à trouver une plante-hôte pour trouver un partenaire, se nourrir, ou pondre. En été, les gousses mûres d'ajonc s'ouvrent, libérant les adultes issus des pontes de printemps. En automne, la croissance végétative de l'ajonc, commencée durant le printemps et l'été, se termine. Le vol à cette période peut donc aussi permettre aux apions de disperser, et de choisir une plante-hôte pour se nourrir et passer l'hiver. Des observations directes et la pose de pièges permettraient de mieux connaître les périodes et les distances de dispersion chez *Exapion ulicis*.

Résumé

Etudier les invasions biologiques est essentiel dans le cadre de la conservation de la biodiversité. De plus, elles représentent de véritables expérimentations grandeur nature pour appréhender les processus écologiques et évolutifs. La problématique de cette thèse est d'étudier la contribution de processus évolutifs dans le succès envahissant de l'ajonc d'Europe, *Ulex europaeus*, à travers le monde, notamment en relation avec la perte de ses ennemis naturels (*Enemy Release*). La première partie s'intéresse à l'évolution de l'ajonc dans sa zone d'origine et au moment de l'introduction dans de nouvelles régions, (i) en synthétisant les résultats concernant le polymorphisme de traits et la plasticité phénotypique, (ii) en couplant des données historiques et moléculaires pour inférer le mode d'introduction de l'ajonc dans le monde et ses conséquences sur la diversité génétique introduite. La deuxième partie s'intéresse à l'évolution post-introduction des populations d'ajonc. Elle s'appuie principalement sur des comparaisons en jardin expérimental d'ajoncs issus de populations de régions d'origine et envahies. L'évolution des traits d'histoire de vie et des stratégies de défense contre les ennemis a été étudiée en lien avec la perte d'ennemis spécialistes en zone introduite. Nos résultats suggèrent que l'histoire évolutive dans la zone d'origine et le mode d'introduction volontaire par l'Homme ont conféré un fort potentiel évolutif aux populations d'ajonc introduites. De plus, un relâchement des corrélations génétiques dans les régions d'introduction a pu entraîner une évolution plus libre des traits d'histoire de vie, facilitant l'adaptation locale à une large gamme d'environnements. Ces résultats suggèrent que l'étude conjointe des niches écologiques et des matrices G pourrait permettre une meilleure compréhension des processus impliqués dans les invasions biologiques.

Mots-clés : invasions biologiques, *Ulex europaeus*, corrélations génétiques, expansion de niche, interaction plante-insecte, hypothèse EICA

Abstract

The study of biological invasions is essential in conservation biology. In addition, invasive species represent natural experiments to explore ecological and evolutionary processes. The topic of this thesis is the study of evolutionary processes involved in the worldwide invasive success of gorse, *Ulex europaeus*, in relation to the loss of its natural enemies (*Enemy Release*). The first part of this thesis deals with the evolution of gorse in its native range and during its introduction into new regions, (i) by synthesizing results on trait polymorphism and on phenotypic plasticity in the native range, (ii) by combining historical and molecular data to infer the mode of introduction of gorse across the world, and its consequences on introduced genetic diversity. The second part of the thesis deals with the post-introduction evolution of gorse populations. It is mainly based on common garden comparisons of gorses from native and invaded regions. The evolution of life-history traits and defense strategies against specialists was investigated in connection with *Enemy Release*. Our results suggest that the evolutionary history in the native range and the deliberate introduction by man provided introduced gorse populations with a high evolutionary potential. In addition, a relaxation of some genetic correlations in the invaded range could have allowed traits to evolve more freely, and could have promoted local adaptation to various environments. These results suggest that the joint study of G matrix and niche expansion could provide new insights into the processes involved in biological invasions.

Key words: invasive species, *Ulex europaeus*, genetic correlations, niche expansion, plant-insect interactions, EICA hypothesis