Thèse présentée par Jawad Abdelkrim

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Paris VI

Spécialité : Biologie des Populations et Ecologie

Sur le thème

Structuration génétique de populations introduites de rats *Rattus rattus* (Berkenhout, 1769) et *Rattus norvegicus* (Linné, 1758) en milieu insulaire :

L'outil génétique au service de l'étude des invasions biologiques et de l'aide à leur gestion.

Soutenance prévue le 23 juin 2005, à l'Université Pierre et Marie Curie,
après avis de :

M. Daniel Simberloff	Rapporteur
M. Arnaud Estoup	Rapporteur

devant un jury composé de

M. Daniel Simberloff	Rapporteur
M. Arnaud Estoup	Rapporteur
M. Robert Barbault	Examinateur
M. Michel Pascal	Examinateur
Mme Sarah Samadi	Examinatrice
M. Simon Tillier	Directeur de thèse

Résumé

Les invasions biologiques en milieux insulaires sont de plus en plus nombreuses et constituent une cause majeure de perte de biodiversité dans ces écosystèmes. L'objectif de cette thèse est de comprendre le fonctionnement de ces populations introduites afin d'en améliorer la gestion, à travers l'exemple de deux espèces de rongeurs, *Rattus rattus* et *R. norvegicus*. Pour cela, une étude génétique de la structure de populations a été menée dans différentes provinces biogéographiques (Atlantique, Méditerranée, Antilles) à partir d'individus issus principalement d'opérations d'éradication.

Deux applications intervenant à deux étapes différentes du processus décisionnel lors d'opérations d'éradication ont été mises en oeuvre. La première application consiste à déterminer les flux de gènes existant entre des populations occupant des îles proches afin de proposer une définition objective de l'unité d'éradication. La seconde application intervient en aval de l'opération d'éradication, dans les cas où l'espèce nuisible est à nouveau observée. Dans ce cas, l'utilisation d'outils moléculaires permet de déterminer s'il s'agit d'individus ayant survécu à la tentative d'éradication ou s'ils correspondent à une nouvelle invasion. Par ailleurs, ces jeux de données originaux ont également permis d'étudier les effets fondateurs et de tester plusieurs méthodes de détection de goulets d'étranglement dans une situation quasi-expérimentale causée par un échec d'éradication. Enfin, la dynamique d'une population de *R. rattus* à l'échelle d'un archipel a été étudiée et a permis d'aborder la question des processus évolutifs agissant sur le fonctionnement des populations ayant subit un fort effet fondateur dans le contexte de l'évolution en milieu insulaire.

Abstract

Rates of biological invasions on islands are increasing rapidly and constitute a major cause of biodiversity loss in these ecosystems. The objective of this thesis is to understand the functioning of introduced populations in order to improve their management through the example of two rodent species, *Rattus rattus* and *R. norvegicus*. A genetic study of population structure was realized in various biogeographic areas (Atlantic coast, Mediterranean sea, and Caribbean islands), using the sampling that results primarily from eradication operations.

Two applications integrated to the decision-making process of eradications were developed. The first application consists in evaluating gene flows existing between populations occupying neighbouring islands in order to propose an objective delimitation of eradication units. The second application is used if the pest is observed again after the eradication attempt. In this case, molecular tools allow to determine whether the cause of the failure is the survival of some individuals to the eradication attempt, or a new invasion. In addition, these original datasets also made possible the study of founder effects and the test of several methods of bottlenecks detection in the experiment-like situation following failure of eradication. Finally, the study of the fine-grained population structure of *R. rattus* in a Mediterranean archipelago allows the discussion of evolutionary processes that explain the functioning of such insular populations issued from a founder event.

Remerciements

Je tiens à remercier l'ensemble des personnes qui ont permis à ce travail d'aboutir, aussi bien dans le secteur de la recherche qu'à « l'extérieur », à travers les différentes activités qui ont eu de l'importance pendant toutes ces années.

Je voudrais remercier Simon Tillier pour son accueil au sein de l'équipe « Espèce et spéciation », et pour m'avoir permis de m'enrichir de cet environnement évolutionniste.

Hervé Le Guyader a joué un rôle important dans la concrétisation de ce sujet de thèse par son enthousiasme et sa volonté de voir cette problématique se développer.

Mes plus profonds remerciements vont à Sarah Samadi pour son encadrement de qualité, et pour m'avoir permis, par sa rigueur et son acharnement contre la « fainéantise intellectuelle », de progresser dans l'exercice de la recherche scientifique. Ces années de travail en sa compagnie auront été riches en enseignements.

Je remercie également de tout mon cœur Michel « El Ratator » Pascal, qui s'est battu pour que cette thèse puisse se réaliser et pour son encadrement, qui bien qu'à distance, a été régulier et sans faille. Il m'a initié aux problématiques invasives avec beaucoup d'enthousiasme et m'a fait découvrir le travail de terrain dans des conditions magnifiques.

L'équipe de choc n'aurait été complète sans Marie-Catherine Boisselier qui, présente depuis le début de mes aventures « muséales », a toujours été disponible et m'a fait profiter tant de ses qualités scientifiques que de sa bienveillance et ses coups de pouces réguliers. Pour tout cela, je tiens à la remercier chaleureusement.

Je voudrais également remercier Philippe Clergeau pour son accueil au sein de l'équipe « Gestion des Populations Invasives » de l'INRA de Rennes, ainsi qu'aux autres membres de cette équipe et plus particulièrement à Olivier Lorvelec et Patricia Le Quilliec pour leur aide.

Merci à Denis Couvet et à Arnaud Estoup pour avoir accepté de participer à mon comité de thèse.

Mes remerciements vont aussi à Claire Calmet, pour son aide lors de la prise en main du « sujet *Rattus* », ainsi que pour ces agréables moments de chant lyrique en salle de manip !

Les arcanes de la biologie moléculaire et l'art de manier la pipette m'ont été dévoilés par l'équipe du Service de Systématique Moléculaire du MNHN. Je remercie pour cela Eric Pasquet de m'y avoir accueilli ainsi qu'Annie Tillier et Céline Bonillo pour leur soutien régulier. Enfin, mes plus grands remerciements vont à Josie Lambourdière qui m'a initié à l'univers de la paillasse en général et aux microsatellites en particulier. Tout cela avec une capacité incroyable à ne pas perdre son sourire et son enthousiasme, même face aux plus abominables perfidies que la biologie moléculaire réserve !

Je tiens également à remercier l'ensemble des structures et des personnes ayant participées aux missions d'éradication et d'échantillonnage à la base de ce travail et plus particulièrement le Conservatoire du Littoral, l'ONCFS et la LPO. Pour les souvenirs inoubliables de missions de terrain sur les magnifiques îles bretonnes, je remercie Louis « La Hulotte » Dutouquet. Ces rencontres avec les acteurs de terrain ont été déterminantes dans mes choix et ma façon d'aborder cette étude. Ce travail n'aurait été possible sans la participation du Conservatoire de Littoral et de plusieurs Réserves Naturelles (Martinique, Guadeloupe et Corse). Je remercie pour cela Denis Bredin et son appui.

De l'autre côté de la planète, d'autres rencontres ont également eu une importance majeure dans mon travail. Pour cela, je tiens à remercier l'ensemble des chercheurs néo-zélandais qui m'ont accueilli et plus particulièrement Mick Clout et Rachel Fewster, ainsi que Scott Baker pour son invitation à présenter mes travaux dans son laboratoire. Mes remerciements les plus vifs vont à James Russell, (le seul néo-zélandais qui délaisse la mer et le rugby pour l'escrime !), avec qui une réelle collaboration scientifique a débuté. Au-delà des sciences, je tiens également à le remercier pour son amitié et la découverte de ce pays magnifique qu'il m'a offertes.

Pour tous les soucis administratifs que j'ai pu poser, je remercie Nicole Bonneville du côté muséum, ainsi que Céline Deslandes, Patricia Dubois, Nathalie Huet et Guylène Roudaut pour l'INRA.

Pour l'ambiance et les discussions qu'ils ont générées, je tiens à remercier les étudiants et chercheurs avec qui j'ai fait un bout de parcours à Jussieu et au muséum : Jean-mich, Philou, Pedro, Raphaëlle, Régis, Yann, Anne, Seb, Steph, Jacques, Marj, Adou, Alex, Jean-Marc, Jérôme, Jean-François, Lionel, Cyrille, Gaël, Benjamin, Germinal, Nico, Tony, Vincent… et bien d'autres

Pour tous les « à côté », je remercie tous mes amis et toutes les personnes avec qui j'ai passé de bons moments, que ce soit autour de la musique, d'un tatami ou d'autres activités sans lesquelles il n'y aurait pas d'équilibre… Evidemment, big up à la fameuse « bande à Max », comme d'hab', et pour de nombreuses années encore, sans aucun doute !

Enfin, merci à toute ma famille, du Pays Basque jusqu'à l'Algérie, qui m'a construit et accompagné dans toutes ces aventures. Merci à Mélanie pour sa patience et bien plus encore…

Table des matières

I. Introduction ***1***

I.A. Ecosystèmes insulaires et invasions biologiques 2

I.A.1. Richesse et intérêt des écosystèmes insulaires *2*

I.A.2. Fragilité des écosystèmes insulaires *5*

I.A.3. Ecosystèmes insulaires et invasions biologiques *6*

I.B. Les éradications en milieu insulaire 9

I.B.1 Un outil en développement pour la biologie de la conservation *9*

I.B.2. Limites et échecs des stratégies d'éradication *10*

I.B.3. Biologie moléculaire, conservation et stratégies d'éradication *10*

I.B.4. Invasions et éradications :expérimentations en laboratoire insulaire *11*

I.C. Amélioration et valorisation des éradications 12

II. Mieux éradiquer pour mieux restaurer : le cas de R. norvegicus sur les îles Bretonnes ***14***

II.A. Relations conflictuelles entre démarche scientifique et éradication 15

II.B. Génétique des populations et amélioration des stratégies d'éradication 16

II.C. Un modèle de choix : le rat surmulot en Bretagne 20

II.D. Résultats et implications en termes de gestion 24

Publication #1 - Genetic population structure and eradication strategies: *27*

A case study on the introduced Rattus norvegicus on Brittany islands (France)

III. Colonisations anciennes, invasions récentes et échecs d'éradication : différentes échelles temporelles de« fondations insulaires » ***28***

III.A. Evaluation génétique des causes d'un échec d'éradication 29

III.B. Premier exemple : échec d'éradication du rat noir en Martinique 32

III.C. Second exemple : échec d'éradication du rat noir en Guadeloupe 35

III.D. Implications en termes de gestion 36

III.E. Tests des méthodes génétiques de détection de bottleneck et scénarios de colonisation 37

Publication #2 Structuration génétique de populations insulaires allochtones de R. rattus des îlets de Sainte Anne :Aide à la gestion d'espèces introduites en milieu insulaire. *43*

Publication #3 Island colonization and founder effects: The invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (Rattus rattus) *44*

IV. Structure génétique et fonctionnement démographique d'une population introduite en milieu insulaire : le cas de R. rattus sur les îles Lavezzi (Corse) ***45***

IV.A. Introduction 46

IV.B. Matériel et méthode 49

IV.B.1. Matériel biologique et marqueurs génétiques *49*

IV.B.2. Analyses statistiques *49*

IV.C. Résultats 52

IV.C.1. Diversité génétique *52*

IV.C.2. Structuration génétique à l'échelle de l'île Lavezzu *53*

IV.C.3. Comparaison de la composition génétique de l'île Lavezzu et des îlots périphériques *55*

IV.C.4. Détection de goulets d'étranglement *56*

IV.C.5. Apparentement entre individus *57*

IV.D. Discussion 58

IV.D.1. Structuration génétique sur l'île Lavezzu *58*

IV.D.2. Relation entre l'île Lavezzu et les îlots périphériques *58*

IV.D.3. Histoire, fonctionnement de population et implications en termes de gestion *59*

IV.D.4. Hypothèses évolutives sur le fonctionnement de la population *61*

V. Conclusion générale et perspectives ***63***

V.A. Une valorisation scientifique des invasions biologiques et des opérations d'éradication 64

V.B. Originalité par rapport au domaine appliqué 65

V.C. Originalité par rapport à l'étude des populations insulaires 66

V.D. Etude de populations en interaction : une perspective 68

Bibliographie ***70***

Annexe ***80***

I.

Introduction

I.A. Ecosystèmes insulaires et invasions biologiques

I.A.1. Richesse et intérêt des écosystèmes insulaires

Les écosystèmes insulaires sont remarquables par la singularité de leur faune et de leur flore. Si la théorie de la biogéographie insulaire prédit qu'à surface égale, leur richesse spécifique est en moyenne inférieure à celle observée sur les continents (MacArthur, Wilson, 1963), prédiction d'ailleurs soutenue par plusieurs études empiriques (Gorman, 1979; May, 1975), les îles atteignent des records en termes de taux d'endémisme, comme l'illustre le tableau 1, issu de Whittaker (1998).

Ile ou Archipel	**Nombre d'espèces total**	**Endémiques**	**% d'endémisme**
Plantes supérieures			
Bornéo	20000-25000	6000-7500	30
Nouvelle-Guinée	15000-20000	10500-16000	70-80
Madagascar	8000-10000	5000-8000	68,4
Cuba	6514	3229	49,6
Japon	5372	2000	37,2
Jamaïque	3308	906	27,4
Nouvelle-Calédonie	3094	2480	80,2
Nouvelle-Zélande	2371	1942	81,2
Seychelles	1640	250	15,2
Fidji	1628	812	49,9
Ile Maurice et Réunion	878	329	37,5
Sainte-Hélène	74	59	79,7
Gastéropodes terrestres			
Iles Hawaï	≈1000	≈1000	99,9
Japon	492	487	99
Madagascar	380	361	95
Nouvelle-Calédonie	300	≈299	99
Madère	237	171	88
Iles Canarie	181	141	77,9
Iles Mascareignes	145	127	87,6
Rapa	>105	>105	100?

Tableau 1 Richesse spécifique et endémisme chez les plantes supérieures et les gastéropodes terrestres de plusieurs îles et archipels (d'après (Whittaker, 1998))

D'autre part, les populations insulaires partagent souvent un cortège de traits d'histoire de vie originaux, regroupés sous le terme de syndrome d'insularité (Blondel, 1995). Cette singularité a très tôt intrigué les naturalistes et a été un élément significatif de l'élaboration de la théorie de l'évolution de Charles Darwin. En 1835 au cours de sa célèbre expédition à bord de HMS Beagle, Darwin, alors âgé de 24 ans, fait un séjour de deux semaines sur les îles Galápagos. Il y observe une incroyable diversité de formes. L'exemple le plus classique à cet égard est celui des pinsons, dont certains taxons ne sont présents que sur une seule île de cet archipel et présentent des adaptations locales très marquées, notamment en rapport à leur régime alimentaire. Ce cas, largement étudié par la suite (Lack, 1947; Petren *et al.*, 1999, Grant, 1986 #555; Sato *et al.*, 1999), est devenu un exemple classique de sélection diversifiante et de déplacement de caractères ayant abouti à une radiation adaptative.

L'étude des populations insulaires joue également un rôle important dans la compréhension des processus de spéciation. Les colonisations insulaires mettent généralement en jeu un nombre limité de fondateurs (Whittaker, 1998). Ce phénomène engendre en général une diminution de la diversité génétique au sein de la population nouvellement fondée comparée à celle de la population d'origine, accompagnée d'une augmentation rapide de la différenciation génétique (Chakraborty, Nei, 1977; Leberg, 1992). De tels effets fondateurs peuvent être à l'origine d'une cascade de changements génétiques, regroupés sous le terme controversé de « révolution génétique », qui peuvent conduire à une spéciation rapide (Mayr, 1954). D'autres modèles de spéciation faisant intervenir l'effet fondateur ont depuis été développés, précisant son rôle dans le phénomène de spéciation (Templeton, 1980). Cependant ces modèles, principalement testés sur des populations introduites artificiellement (Broders *et al.*, 1999; Grant, 2001; Tarr *et al.*, 1998) ne sont que rarement confrontés à des situations naturelles (Clegg *et al.*, 2002).

La vie insulaire peut également entraîner des changements comportementaux. En effet, les populations insulaires atteignent souvent de fortes densités comparées à leurs homologues continentales, en raison de la surface limitée des îles et de la réduction des possibilités de dispersion des individus. Dans une pareille situation de compétition accrue, on peut s'attendre à une augmentation des comportements agonistiques au sein de la population (King, 1973). Une réponse adaptative à cette situation serait le développement d'une structure en groupes d'apparentés, qui permettrait non seulement un maintien à bas niveau des comportements

agressifs, mais aussi la croissance de la population et son maintien à haute densité. Il a par exemple été montré de façon expérimentale que la survie des jeunes et le succès de reproduction sont supérieurs dans des populations présentant une structuration en groupe d'individus apparentés chez le Campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*) (Ylönen *et al.*, 1990) et le Campagnol de Townsend (*Microtus townsendii*) (Lambin, Yoccoz, 1998).

Ainsi, la diversité biologique en milieu insulaire est à la fois riche par sa nature même, mais également par ce qu'elle amène comme questionnement en termes de processus évolutifs. Par ailleurs, la diversité spécifique réduite permet d'étudier et de modéliser de manière plus aisée les processus à l'œuvre dans le maintien des équilibres écologiques. En 1902 déjà, Alfred Russell Wallace écrivait :

… it is not too much to say that when we have mastered the difficulties presented by the peculiarities of island life we shall find it comparatively easy to deal with the more complex and less clearly defined problems of continental distribution…

(Wallace, 1902)

Les causes d'une telle originalité sont à mettre en relation avec deux caractéristiques principales de ces écosystèmes. La première est leur surface souvent limitée relativement aux zones dites continentales, puisque la distinction entre continent et île ne tient avant tout qu'à un jugement arbitraire au niveau de ce paramètre (Grant, 1998). La seconde cause classiquement invoquée est leur isolement géographique important. Surface réduite et isolement géographique entraînent d'une part une limitation du nombre d'espèces pouvant être accueillies, et d'autre part des modalités d'évolution originales. En effet, l'absence d'apports migratoires (pas d'homogénéisation génétique et favorisation des adaptations locales), ainsi que des effectifs de populations la plupart du temps réduits (dérive génétique importante) vont favoriser la différenciation insulaire.

Le partage de conditions de vies et de pressions de sélection particulières est souvent à l'origine de réponses adaptatives convergentes. Par exemple, un trait couramment observé chez les oiseaux et les insectes est une réduction des capacités de vol. Une réduction des ailes est observée de façon convergente chez le Casoar (*Casuarius sp)* d'Australie, chez les Kiwis

(*Apteryx sp*) de Nouvelle-Zélande ou chez le Dodo, *Raphus cucullatus* (Linné, 1758) de l'île Maurice.

Pour toutes ces raisons, les îles ont été rapidement considérées comme de véritables « laboratoires naturels », propices à l'étude de l'évolution des espèces et du fonctionnement des écosystèmes.

I.A.2. Fragilité des écosystèmes insulaires

Ces mêmes facteurs (isolement géographique, surface réduite, nombre limité d'espèces), qui font l'originalité de ces écosystèmes, sont également à l'origine de leur extrême fragilité. L'une des explications classiques est le relâchement de la pression de sélection liée à l'absence de prédateurs de certains groupes écologiques. . De fait, on observe que ces espèces sont en général particulièrement inadaptées et non-compétitives lorsqu'un prédateur allochtone est introduit dans de tels écosystèmes. Cette caractéristique des espèces insulaires leur a valu le qualificatif de « naïf ». Par exemple, dans de nombreux cas, la faune mammalienne endémique des îles se limite aux seuls chiroptères (Atkinson, 1989), voire à aucun mammifère (écosystèmes dits « dysharmoniques »). De même, les plantes insulaires ne disposent généralement pas de moyens de défense efficaces contre les mammifères herbivores comme une forte fécondité, une production de toxine ou de substances répulsives, ou encore des organes de défense physiques comme les épines (Atkinson, 1989). De même, les comportements anti-prédation sont souvent absents dans les faunes insulaires (Atkinson, 1985; Diamond, 1984; Moors, Atkinson, 1984). L'atrophie des ailes évoquée précédemment est un bon exemple de convergence adaptative qui a facilité la disparition de plusieurs espèces d'oiseaux, incapables de fuir des prédateurs introduits à la suite de l'installation humaine, comme les Dodos de l'île Maurice ou encore les Moas de Nouvelle-Zélande. Au delà de la pression de prédation, l'introduction d'espèces entraîne d'autres types d'interactions auxquels les espèces insulaires ne sont généralement pas adaptées, comme la compétition pour les ressources, le parasitisme ou l'introduction de pathogènes (Williamson, 1996).

Par ailleurs, la « simplicité » de fonctionnement de ces écosystèmes (notamment de leurs réseaux trophiques) les rend particulièrement sensibles au déséquilibre d'un de leurs éléments constitutifs. En effet, peu d'espèces insulaires possèdent des fonctions écologiques

redondantes et l'extinction ou la diminution des effectifs d'une d'entre elles peut entraîner un déséquilibre conduisant à un dysfonctionnement majeur à l'échelle de l'écosystème.

I.A.3. Ecosystèmes insulaires et invasions biologiques

Le problème de la fragilité des écosystèmes insulaires face aux introductions d'espèces allochtones devient de plus en plus pressant puisque depuis plusieurs siècles, et plus particulièrement ces 50 dernières années, leur rythme s'est accéléré de manière significative (Di Castri, 1989; Mack *et al.*, 2000). Cette accélération notable est étroitement liée à l'histoire des populations humaines, et particulièrement à l'augmentation de leurs activités commerciales et du développement des transports à large échelle géographique, comme l'indique le tableau 2 établi d'après Di Castri (1989).

Ces introductions peuvent avoir été volontaires ou non. Les introductions volontaires ont été réalisées pour des raisons économiques et sociétales. Ainsi, lors de la colonisation de la Nouvelle-Zélande, les Européens ont apporté avec eux nombre d'espèces animales et végétales qu'ils avaient l'habitude d'exploiter ou qui leur rappelaient leur terre d'origine. Le retour secondaire à l'état sauvage d'espèces domestiquées est également une cause courante d'invasions biologiques, comme c'est le cas pour le lapin, *Oryctolagus cuniculus* (Linné, 1758) en Australie ou le chat sur les Iles Kerguelen. De même, le nombre d'espèces végétales (Angiospermes) d'origine domestique, introduites aux Etats-Unis, est estimé à 5000 (Morse *et al.*, 1995), ce qui n'est pas négligeable face aux quelque 17000 espèces autochtones (Morin, 1995).

Avant 1500	Après 1500	Siècle dernier
Déforestation Agriculture Elevage Migration et nomadisme Trafic côtier Installation sur des îles (e.g. la Corse) Colonies côtières (e.g. Grèce et Phénicie) Développement de grands Empires (Perse, Romain, Arabe…) Guerres longues et expansion militaires Invasions Germaniques et Asiatiques Commerce maritime	Exploration, découvertes et colonisation par les Européens Etablissement de Marchés favorisant la globalisation des échanges (e.g. Londres, Amsterdam) Grandes colonies Européennes accompagnées de leurs pratiques agricoles « Révolution » dans les habitudes alimentaires en Europe (e.g. consommation accrue de café, chocolat, riz, sucre, maïs, bœuf, agneau…) Esclavage (migration Asiatique et Africaine) Etablissement de missionnaires Occupation Russe de l'Asie centrale Introductions intentionnelles dans l'Ancien Monde (Sociétés d'acclimatation, jardins botaniques, zoos, agriculture, ornementation…) Emigration à grande échelle depuis l'ancien Monde (guerres de religion, guerres civiles, famines…)	Amélioration des transports (Routes, chemins de fers, navigation) Grands travaux d'irrigation et de développement de l'énergie hydraulique Ouverture de canaux inter-océaniques (Suez, Panama, Volga-Don) Développement de l'aviation Guerres Mondiales et déplacements de populations humaines « Décolonisation » Emergence de compagnies multinationales Déforestation tropicale Boisement de région arides avec des espèces exotiques Urbanisation accrue Utilisation d'organismes génétiquement modifiés

Tableau 2 Influences de l'Histoire Humaine dans l'Ancien Monde en lien avec les invasions biologiques. (Etabli d'après (Di Castri, 1989)).

L'accélération des transports et des échanges économiques a également favorisé l'introduction involontaire d'espèces variées. Sakai *et al.* (2001) ont décrit trois étapes nécessaire au succès d'une invasion biologique. Il s'agit (a) de l'introduction, (b) de la colonisation et de l'établissement de la population et enfin (c) de la dispersion. Williamson & Fritter (1996) ont suggéré que la probabilité de succès d'une invasion biologique suit une loi appelée loi des dixièmes ou « rule of tens ». Selon cette « loi », seul un dixième des espèces introduites survivrait à l'introduction et parmi elles, seul un dixième parviendrait à s'établir et à disperser ; enfin, seul un dixième de ces dernières présenterait une menace pour l'écosystème d'accueil.

Cependant, cette « Loi » empirique est bien souvent contredite et, si faible que soit le rapport entre espèces introduites et espèces invasives, l'impact de ces invasions biologiques se fait ressentir à plusieurs niveaux. Le premier impact est d'ordre économique. Une enquête réalisée en 1993 par le gouvernement américain évaluait à un milliard de dollars le coût annuel des invasions biologiques pour l'économie américaine (ne sont pas pris en compte les impacts environnementaux ou de santé publique). De récentes études portent cette estimation à 100 (Barbier, 2004) et 137 milliards de dollars (Pimentel *et al.*, 2000) en 2004. Les invasions biologiques ont également un fort impact au niveau sanitaire. En effet, de nombreuses épidémies ou épizooties parmi les plus sévères ont pour origine des invasions biologiques. Le vibrion cholérique a par exemple été transporté en Amérique du Sud dans les eaux de ballast de navires (Ruiz *et al.*, 1997). Par ailleurs, de nombreuses espèces invasives sont des réservoirs pour différents pathogènes. C'est le cas de plusieurs espèces de rongeurs comme le rat noir, *R. rattus,* ou le rat surmulot, *R. norvegicus*. Enfin, ces invasions biologiques ont un impact environnemental majeur. Elles sont aujourd'hui considérées comme l'une des deux causes principales de la perte de diversité spécifique à l'échelle mondiale (Alonso *et al.*, 2001; Diamond, 1989; Vitousek *et al.*, 1997). L'importance de cet impact a été comparée récemment à celle des changements climatiques globaux (Mooney, Cleland, 2001). Entre 1600 et nos jours, les introductions d'espèces par l'Homme sont à l'origine de l'extinction de 90 % des 30 espèces de reptiles et amphibiens (Honegger, 1981), 93 % des 176 espèces ou sous-espèces d'oiseaux (King, 1985) et 71 % des 114 espèces de mammifères (Diamond, 1984) dont l'extinction est documentée.

I.B. Les éradications en milieu insulaire

I.B.1 Un outil en développement pour la biologie de la conservation

Afin de rétablir un certain équilibre dans des écosystèmes altérés par de telles invasions biologiques, la solution la plus immédiate consiste naturellement à éliminer l'espèce invasive. En milieu continental, l'élimination totale de la population nuisible est souvent techniquement délicate, voire impossible. En effet, les surfaces à considérer sont souvent trop grandes pour envisager l'éradication de tous les individus. D'autre part, l'immigration depuis des populations extérieures est difficilement contrôlable. Une stratégie de gestion dite de « contrôle » visant à maintenir les effectifs en dessous d'un seuil critique est en conséquence souvent envisagée. Pour être efficace, cette stratégie doit être menée sur le long terme et se révèle au final souvent très coûteuse. Par exemple, il a été estimé qu'aux Etats-Unis, le contrôle potentiel des populations de pigeons coûterait annuellement 1,1 milliard de dollars (Pimentel *et al.*, 2000).

En revanche, lorsqu'il s'agit d'îles de surface limitée, la stratégie d'éradication devient beaucoup plus réaliste si une méthodologie rigoureuse est respectée (Bomford, O'Brien, 1995). Les méthodes les plus couramment utilisées dans le cadre de l'éradication de mammifères introduits sont le tir, le piégeage et l'empoisonnement. Depuis quelques dizaines d'années, l'éradication d'espèces nuisibles est devenue un véritable outil de la biologie de la conservation, puisque de nombreux exemples de reprises démographiques d'espèces auparavant menacées ont été observés après l'éradication d'une espèce nuisible (Innes *et al.*, 1999; Lorvelec, Pascal, 2005; Pascal *et al.*, in press).

Ces 20 dernières années, des éradications ont été réalisées avec succès sur des îles de surfaces toujours plus grandes. Par exemple, en Nouvelle-Zélande, *R. norvegicus* est maintenant éliminé d'îles de plus de 11000 ha, c'est-à-dire, plus de trois ordres de grandeur supérieure à ce qui était réalisé il y a 40 ans (Clout, Veitch, 2002). Ces opérations d'envergure toujours croissante ont amené Daniel Simberloff (2002) à écrire un article intitulé : « Today Tiritiri Matangi, tomorrow the world! Are we aiming too low in invasives control? » En effet, cette île de 220 hectares, située à 30 km de la ville d'Auckland en Nouvelle-Zélande, est un exemple de ce qui peut se faire de mieux en termes de restauration d'écosystèmes altérés. Après 120 ans d'appauvrissement dû à une activité agricole intense, l'île a été entièrement reboisée, débarrassée de tous les mammifères allochtones et diverses espèces menacées ont

ainsi pu y être réintroduites (parmi lesquels le fameux rhynchocéphale, *Sphenodon punctatus* (Gray, 1842)).

I.B.2. Limites et échecs des stratégies d'éradications

Bien que de nombreuses tentatives d'éradications soient couronnées de succès, un nombre non négligeable d'opérations ne parviennent pas à éliminer l'espèce cible, ou à empêcher celle-ci de recoloniser rapidement. Cependant, la proportion d'échecs est difficile à estimer car ceux-ci ne sont généralement pas publiés dans la littérature scientifique. A ce sujet, C. R. Veitch relate *in* Courchamp *et al* (2003) que 7% des opérations conduites en Nouvelle-Zélande sont des échecs. Or, ces opérations ont non seulement un coût financier important, mais également un coût écologique non négligeable, principalement lorsque de grandes quantités d'appâts toxiques sont utilisés. Un numéro spécial de New Zealand Journal of Ecology consacré aux conséquences de l'utilisation de produits toxiques lors des campagnes de contrôle ou d'éradication souligne les risques d'intoxications secondaires (Gillies, Pierce, 1999; Innes, Barker, 1999) voir tertiaire (Eason *et al.*, 1999). Dans certain cas, l'ironie du sort (ou plutôt le manque d'expérience) a amené à mettre fin à une tentative d'éradication à la suite d'une mortalité inquiétante de l'espèce dont la sauvegarde avait motivé l'opération (Thorsen *et al.*, 2000). Il apparaît donc important de limiter au maximum les risques d'échec de telles opérations, dans l'attente de la mise au point de technologies moins destructrices.

I.B.3. Biologie moléculaire, conservation et stratégies d'éradication

Si l'utilisation des modèles et des outils de la génétique des populations est de plus en plus répandue dans le domaine de la biologie de la conservation, elle est encore peu développée dans le domaine des invasions biologiques en général, et plus particulièrement dans le domaine des éradications. En effet, la biologie moléculaire entre déjà dans nombre de problématiques de la biologie de la conservation, comme la définition des unités à conserver ou « management unit » ou encore la détection de réduction d'effectif efficace (ou bottleneck) pouvant entraîner une dépression de consanguinité, altérant la *fitness* des individus et augmentant les probabilités d'extinctions des populations (Crnokrak, Roff, 1999). Ainsi, la génétique est réellement intégrée aux processus décisionnels concernant certains aspects de la biologie de la conservation. L'élément à sauvegarder n'est plus simplement l'espèce d'intérêt

mais son potentiel génétique. Toutes les populations d'une même espèce ne représentent pas la même priorité en fonction de leur « état génétique » et notamment de leur niveau de polymorphisme. L'intégration de la génétique des populations à la biologie de la conservation a contribué à l'émergence de la génétique de la conservation (Frankham *et al.*, 2002).

Cependant, peu d'applications ont jusque-là été proposées dans l'optique d'une amélioration des stratégies d'éradication. L'objectif premier de cette thèse est de développer l'utilisation des outils génétiques dans le cadre des stratégies d'éradication. Le but est de proposer différentes applications, simples et réalistes dans leur mise en oeuvre, pouvant apporter une aide réelle à la prise de décision dans le cadre de campagnes d'éradication d'espèces introduites en milieu insulaire.

I.B.4. Invasions et éradications :expérimentations en laboratoire insulaire

Si les milieux insulaires sont assimilables à des laboratoires naturels, les invasions biologiques peuvent y êtres perçues comme de véritables expériences. En effet, il s'agit souvent de situations relativement récentes et bien documentées, mettant en jeu un nombre d'éléments clés limité. Il est alors possible de suivre, *in vivo*, l'implication de l'introduction d'un élément « perturbateur » dans un écosystème insulaire. Même si la priorité doit rester de rétablir au plus vite un fonctionnement équilibré des écosystèmes envahis (i.e. où le développement d'une espèce ne se fait pas au détriment de l'ensemble de la biodiversité), il serait absurde de ne pas envisager ces situations de manière rigoureuse et scientifique afin d'en mieux comprendre le fonctionnement. Cela reviendrait à refuser d'étudier une maladie sous prétexte que le but réel est de la faire disparaître. D'autre part, ces événements sont assimilables à des réalisations contemporaines de colonisations insulaires. Leur étude peut donc nous informer sur les processus à l'œuvre lors de tels événements.

Comme cela a été exposé précédemment, les colonisations insulaires, induites ou non par l'homme, sont généralement le fait d'un nombre réduit d'individus. Ainsi, la propagation d'une espèce d'île en île correspond à une succession d'effets fondateurs. La reconstruction de la succession chronologique de ces événements à l'aide de données de polymorphisme génétique doit donc permettre d'inférer les schémas de colonisation et de proposer des scénarios biogéographiques. A l'inverse, dans le cas d'histoires de colonisations connues, comme celles de certaines invasions biologiques documentées, il doit être possible de tester l'efficacité et la sensibilité temporelle des différentes méthodes de détection de goulets d'étranglement (ou bottleneck) classiquement utilisées. Poussant cette démarche à l'extrême,

les échecs d'éradication offrent même des situations expérimentales d'études de bottleneck puisqu'elles permettent de comparer la population avant et après réduction de son effectif efficace. Il est alors possible d'observer de manière précise l'influence du bottleneck sur la diversité génétique. Un tel événement mime en quelque sorte l'installation de l'espèce sur l'île puisque même en cas d'échec de l'éradication, la population doit reprendre sa croissance démographique à partir d'un nombre réduit d'individus.

Enfin, comme nous l'avons vu précédemment, les populations insulaires peuvent présenter des traits morphologiques et comportementaux, voire une organisation sociale, qui les différencient des populations continentales et résultent de processus évolutifs dûs à l'insularité. Or, le matériel biologique issu des opérations d'éradication en milieu insulaire est potentiellement une source de données extrêmement riche pour aborder l'étude de l'évolution insulaire. Dans ce cadre, le protocole développé par l'équipe « Gestion des Populations Invasives » de l'INRA de Rennes (Pascal *et al.*, 1996b) permet d'obtenir plus de 90% des individus de la population éradiquée, ainsi que la localité précise de capture de chacun de ces individus. Ce protocole doit donc permettre d'étudier la structure génétique et le fonctionnement de ces populations de manière fine : non pas à travers un échantillonnage limité de la population, mais avec la quasi-totalité de ses effectifs.

I.C. Amélioration et valorisation des éradications

Les opérations d'éradication menées par l'INRA (Lorvelec, Pascal, 2005), concernant les rongeurs *R. norvegicus, R. rattus* et la souris domestique *Mus musculus* (Linné, 1758), mais aussi la mangouste de Java, *Herpestes javanicus* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1818) ainsi que le putois *Mustela putorius* (Linné, 1758), sont à l'origine d'une quantité importante de matériel biologique, issue de 45 îles ou îlots (d'une superficie allant de 0,1 à 120 ha) provenant de 11 archipels et 3 provinces biogéographiques (Océanique tempérée, Méditerranéenne, Tropicale humide). Ces « échantillons » quasi-exhaustifs ont d'ores et déjà permis de réaliser plusieurs études scientifiques ayant notamment abouti à la mise en évidence de la constitution de nouveaux couples fonctionnels hôte-parasite (Pisanu, 1999), ou encore à la mise en évidence du rôle majeur de la souris grise dans l'épidémiologie de la leptospirose dans les Antilles françaises (Michel, 2001; Pascal *et al.*, 2004b).

L'objet de cette thèse est donc de développer la valorisation des opérations d'éradication à travers, cette fois-ci, l'utilisation des outils de la biologie moléculaire et des modèles de la génétique des populations. Cette valorisation consiste à la fois au développement et au test d'applications destinées à améliorer les stratégies d'éradication. En confrontant les modèles de la génétique des populations à ces jeux de données, elle permet également d'étudier de manière originale la détection de variations démographiques ainsi que la structure génétique des populations. Cette étude s'articule de la façon suivante :

La seconde partie s'attache, dans la continuité du travail de Calmet *et al.* (2001) à développer et tester une première application ***concernant la délimitation objective de l'unité d'éradication***, c'est-à-dire l'ensemble des populations interconnectées par de la migration et nécessitant d'être éradiquées simultanément pour limiter les risques de recolonisation rapide. Cette question sera traitée à travers l'exemple de populations de *R. norvegicus* des îles de cinq archipels de Bretagne qui fait l'objet de la publication #1.

La troisième partie traite de l'étude des échecs d'éradication, c'est-à-dire lorsque des individus sont observés à nouveau après une tentative d'éradication et a pour but, tout en proposant ***une seconde application visant à déterminer les causes de l'échec d'éradication***, de profiter de cette situation originale pour ***tester les méthodes classiquement utilisées pour la détection des variations démographiques dans une situation de goulets d'étranglement à différentes échelles temporelles et pour discuter des scénarios de colonisation***. Cette étude fait l'objet de la publication #2 ainsi que de la publication #3.

Enfin, l'étude initiée dans la quatrième partie répond à une demande des gestionnaires de la réserve naturelle des Lavezzi (Parc International Marin des Bouches de Bonifacio) et vise à ***améliorer les connaissances du fonctionnement démographique et de la dynamique des populations à l'échelle de l'archipel afin d'assurer la pérennité de l'éradication de R. rattus***. Afin de répondre à cette demande, une étude fine de la structure génétique des populations à l'échelle de l'archipel a été entreprise. Les résultats de ce travail ont permis de proposer des ***hypothèses sur les causes de la structure observée en termes de biologie évolutive***.

II.

Mieux éradiquer pour mieux restaurer : le cas de R. norvegicus sur les îles Bretonnes

II.A. Relations conflictuelles entre démarche scientifique et éradication

Les opérations d'éradication ont longtemps été menées suivant une approche empirique, souvent détachée de la sphère scientifique et expérimentale. Ceci peut s'expliquer par au moins deux raisons. La première est d'ordre pratique. En effet, l'élimination d'une espèce invasive est d'autant plus simple et réaliste qu'elle intervient rapidement après son arrivée, c'est-à-dire avant qu'elle ait eu le temps de s'établir et de se disperser. De plus, l'application du principe de précaution conduit à favoriser l'action rapide plutôt que l'accumulation de connaissances sur la biologie des espèces invasives. Daniel Simberloff insiste de la façon suivante sur cette nécessité d'action rapide dans un article intitulé « How much information on population biology is needed to manage introduced species? » (2003) :

> *« Of course, the methods deployed in such a rapid response are likely to resemble a blunderbuss attack rather than a surgical strike. But because of their population growth and dispersal abilities, introduced species are one target of resource management at which it is often better to shoot first and ask questions later »*

Ainsi, il existe un réel décalage entre les délais que demande souvent une démarche scientifique et l'expérimentation d'une part, et la nécessité d'une action rapide avant que les capacités techniques disponibles ne permettent plus de gérer efficacement la situation d'autre part.

La seconde raison est liée à une certaine vision des éradications comme une activité technique, dont qui plus est l'éthique et la justification seraient discutables. Il y aurait ainsi d'un côté, un domaine scientifique appelé la biologie de la conservation, et de l'autre, une activité technique destructrice correspondant à l'éradication. En fait, l'éradication d'espèces introduites est à la fois un outil pleinement justifié dans un soucis

de conservation, mais également un terrain propice à l'expérimentation, comme nous le montrerons dans le chapitre consacré à l'étude des goulets d'étranglement.

II.B. Génétique des populations et amélioration des stratégies d'éradication

Après plusieurs décennies de pratique, les protocoles décisionnels ont été précisés et rationalisés. Plusieurs conditions doivent être remplies pour que l'éradication soit menée dans des conditions maximisant la probabilité de réussite. Un exemple de diagramme décisionnel, adapté à l'éradication de mammifères en milieu insulaire, est présenté dans l'article de Courchamp *et al*. (2003) (Figure 1).

Après avoir déterminé si l'éradication est justifiée, la première étape de la phase méthodologique (en rouge dans le diagramme), est la détermination de l'entité à éradiquer. Cette étape peut paraître triviale dans le cadre de l'éradication de mammifères en milieux insulaires du fait d'un préjugé souvent retrouvé, voulant qu'une île soit équivalente à au moins une population. En effet, s'il est bien perçu que plusieurs populations de la même espèce peuvent coexister sur une même île, il apparaît plus difficile d'appréhender des flux migratoires non négligeables entre les populations de plusieurs îles d'un même archipel. Pourtant, rien ne permet d'écarter cette éventualité pour de nombreuses espèces de mammifères. D'une part, l'espèce peut disposer de capacités natatoires développées, et d'autre part, des transports associés à des mouvements humains peuvent exister. Ainsi, si la connectivité entre « populations » d'îles proches est ignorée et que seule l'île d'intérêt est prise en compte, la pérennité de l'opération d'éradication peut être compromise sur le long terme par recolonisation depuis ces sources voisines. Il apparaît donc nécessaire ***de définir d'une manière objective l'unité à considérer lors d'une éradication***.

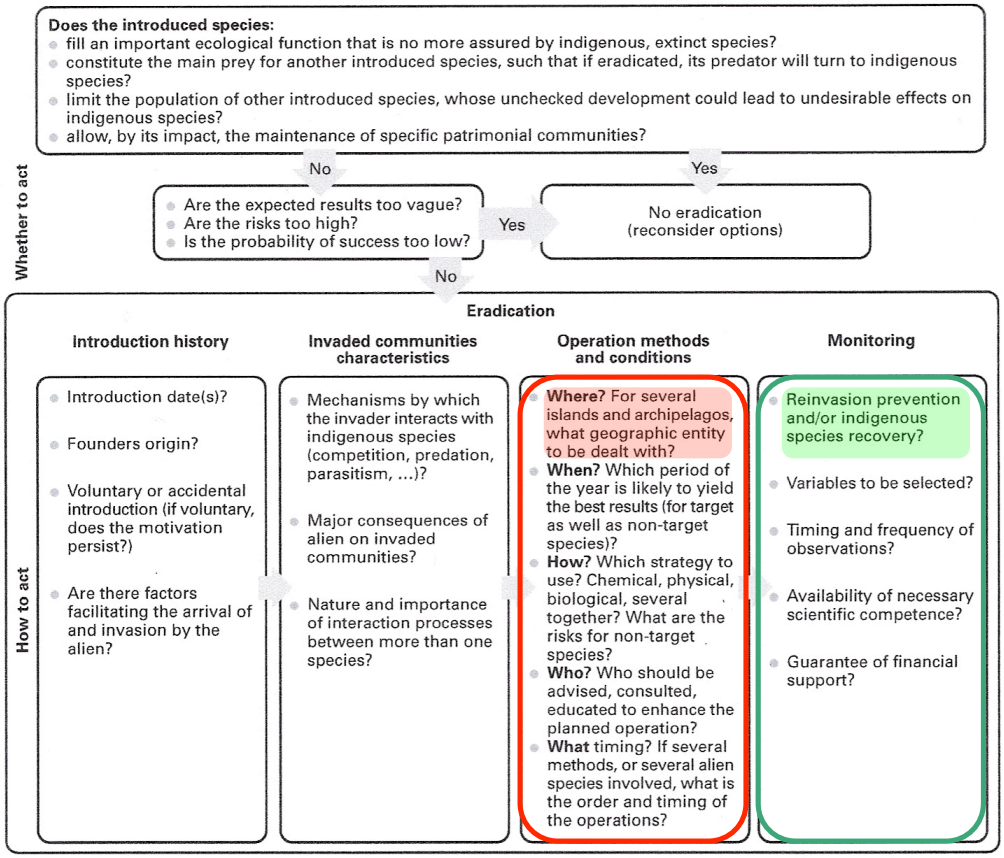


Figure 1 Diagramme décisionnel pour l'éradication de mammifères en milieu insulaire (Courchamp *et al.*, 2003). L'encadré rouge indique la phase méthodologique, sur laquelle porte notre première application génétique, qui se rapporte plus particulièrement au paragraphe « where? ». En vert correspond la phase à laquelle se rapporte l'application proposée dans la seconde partie.

Cette unité ne doit pas être définie sur des critères géographiques *a priori*, mais sur une évaluation rigoureuse des limites de la population, au sens biologique du terme. Cette tâche est en général irréalisable par des moyens d'observation directs. En revanche, la génétique des populations, qui modélise les effets de la démographie (effectifs des populations et migration entre les populations) et de la sélection sur la diversité génétique au sein des populations, peut permettre de délimiter les unités d'éradication de façon indirecte. En effet, l'étude du polymorphisme génétique neutre doit permettre d'inférer, dans le cadre des hypothèses faites sur le fonctionnement des populations et des modalités d'évolution des marqueurs neutres choisis, les taux de migration qui sont les

éléments clés permettant de délimiter les unités à éradiquer. Nous nous proposons donc de développer une méthode de définition génétique de « l'unité d'éradication » permettant d'aider les gestionnaires dans leur processus décisionnel en apportant une information sur la pérennité de l'opération (Abdelkrim *et al.*, in press; Courchamp *et al.*, 2003).

L'idée qui guide cette étude est d'évaluer le niveau de différentiation génétique entre des populations localisées sur des îles proches afin d'estimer le niveau d'isolement génétique entre elles. Dans le cadre actuel de la théorie de l'évolution, il est reconnu que les principales forces expliquant la diversité génétique d'une population naturelle sont la sélection, la dérive et la migration. Dans le cadre de notre problématique, nous cherchons inférer à partir de la diversité génétique les caractéristiques démographiques des espèces envahissantes. Ces caractéristiques déterminent l'influence de la dérive génétique et de la migration sur la diversité génétique. En utilisant des marqueurs génétiques neutres, on peut espérer, en première approximation, s'affranchir de la composante « sélection ». La dérive génétique a tendance à augmenter la différenciation entre populations au cours du temps car chaque population subit un processus d'échantillonnage aléatoire qui lui est propre. A l'inverse, l'échange d'individus par migration tend à homogénéiser les fréquences alléliques entre les populations. Dans ce cadre, une forte différentiation génétique entre populations s'explique par l'isolement des populations qui permet à chacune d'elle d'acquérir au cours du temps une signature génétique propre, via un processus de dérive indépendant dans chaque population. Inversement une faible différenciation, et donc un partage de la diversité génétique, indiquent sinon l'existence de flux de gènes entre les populations, au moins une origine commune récente.

Cette ébauche nous permet déjà d'entrevoir l'importance des paramètres historiques tels que le temps écoulé depuis l'introduction, le nombre de fondateurs ou la démographie de la population suite à l'introduction. En effet, ces paramètres conditionnent la vitesse de la dérive génétique.

La fondation de ces populations étant généralement le fait de quelques individus seulement, de forts effets fondateurs vont avoir un effet majeur sur la répartition du polymorphisme génétique. Ainsi, deux populations récemment installées sur deux îles voisines peuvent être fortement différenciées génétiquement par simple effet fondateur et

ce, malgré un flux de gènes actif. Simplement, l'installation est trop récente pour que la migration ait eu le temps d'homogénéiser les fréquences alléliques. A l'inverse, deux populations faiblement différenciées génétiquement peuvent être complètement isolées. En effet, si leur fondation est récente et si ces deux populations ont été fondées depuis la même source (avec un effet fondateur faible), l'action de la dérive peut ne pas avoir eu le temps suffisant pour entraîner une différenciation génétique significative.

Il faut pouvoir distinguer ces différents cas pour pouvoir interpréter correctement la structuration génétique observée. Dans une situation ambiguë, la connaissance de certaines données historiques peut permettre de distinguer l'action de la migration de celle de la dérive et des événements démographiques. Par exemple, si deux populations introduites anciennement sont fortement différenciées, il faut considérer, en plus de l'effet fondateur, qu'un isolement suffisamment important doit exister. A l'inverse, deux populations fondées anciennement et faiblement différenciées génétiquement ont sans doute un niveau de connectivité non négligeable, puisque des générations de dérive génétique n'ont pas entraîné de différenciation significative. Ainsi, des informations externes au jeu de données génétiques comme la connaissance de l'âge de la fondation permettent, si ce n'est d'éliminer certaines hypothèses, au moins de privilégier l'une d'entre elles.

L'inférence de flux géniques entre populations en réalité isolées ne serait pas nuisible à l'efficacité de l'opération d'éradication dans le contexte de notre application puisque cela résulterait en la prise en compte d'une unité d'éradication plus importante que nécessaire. En revanche, cela entraînerait un coût financier supérieur à celui d'une opération mieux ciblée. En revanche, l'inférence d'un isolement suffisant pour ne pas inclure une population dans l'unité d'éradication, alors qu'elle échange en réalité des migrants avec l'île d'intérêt, serait catastrophique pour la pérennité des résultats de l'opération. En effet, cela augmenterait grandement les chances de recolonisation rapide de l'île d'intérêt par les populations voisines ignorées lors de la définition de l'unité d'éradication.

II.C. Un modèle de choix : le rat surmulot en Bretagne

L'étude des mammifères introduits en général et plus particulièrement des rats revêt un caractère à la fois prioritaire en termes de conservation, et pratique au niveau expérimental. Priorité pour la biologie de la conservation, car les mammifères sont reconnus comme ayant le plus grand impact parmi les groupes de vertébrés (Ebenhard, 1988; Lever, 1994). Ceci est en partie attribuable à l'absence souvent observée de mammifères terrestres dans la plupart des écosystèmes insulaires envahis (Atkinson, 2001). De plus, les introductions d'espèces mammaliennes sont particulièrement nombreuses en milieu insulaire. Ebenhard (1988) en recense 644. Flux (1994) établit que plus de 800 îles sont actuellement envahies par le Lapin (*O. cuniculus*) et Atkinson (1989) met en évidence que 65 archipels majeurs de la planète sont envahis par des chats. Leur caractère pratique résulte, entre autres, du fait que ce sont souvent les invasions les mieux documentées. Ces espèces sont, de par leur taille souvent importante et le nombre limité d'individus (en comparaison à des populations d'insectes ou de plantes, par exemple), plus propices à l'observation, d'une part, et à la mise en œuvre d'opérations d'éradication d'autre part.

Parmi les mammifères introduits, les rats occupent une des premières places en termes de colonisation à l'échelle mondiale. En effet, les trois Muridés *R. norvegicus*, *R. rattus* ainsi que le rat du Pacifique, *R. exulans* (Peale, 1848), ont en 3000 ans été introduit par l'Homme (Figure 2) dans près de 82% des îles ou archipels du monde (Atkinson, 1985).

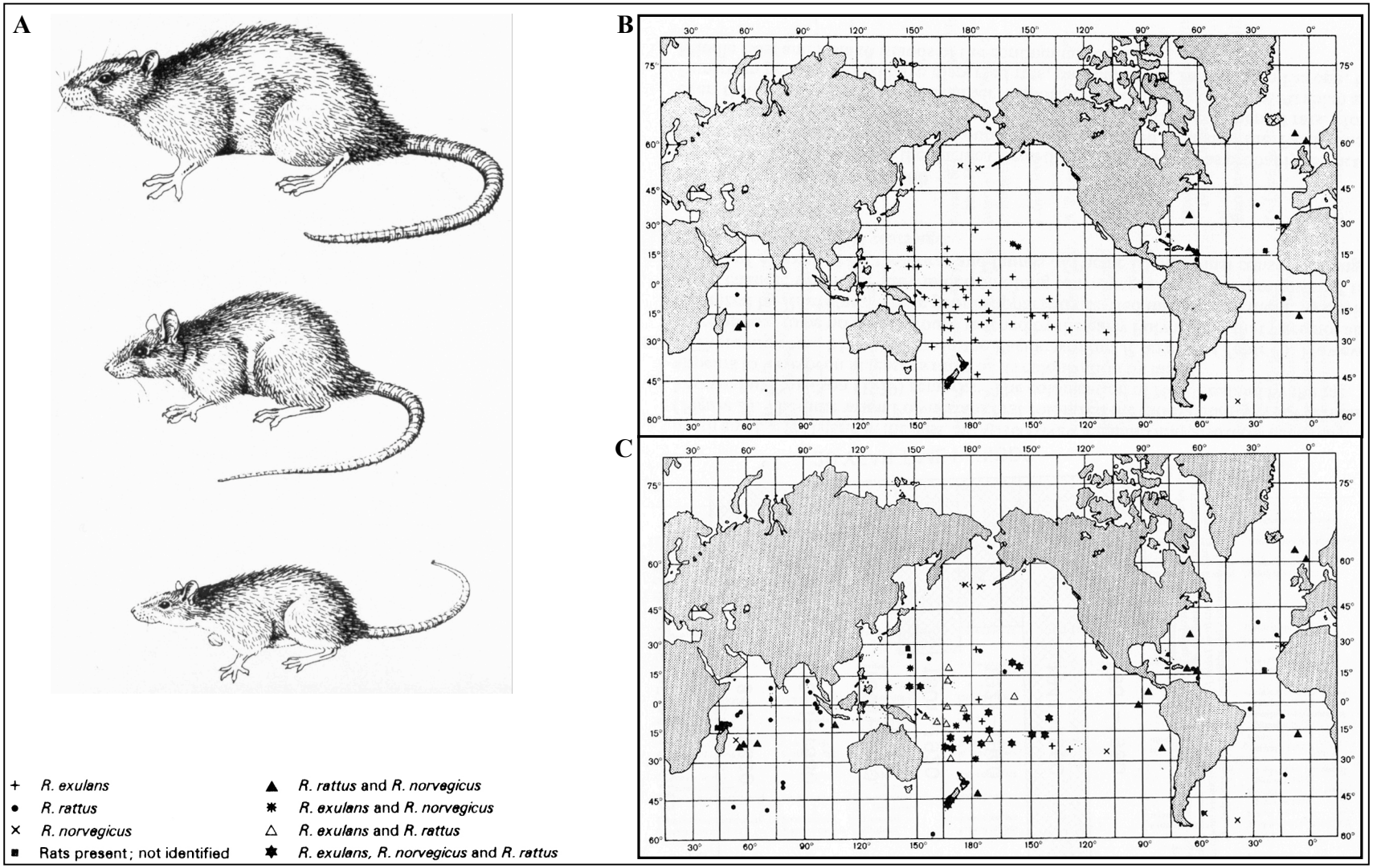


Figure 2 **A** De haut en bas, *Rattus norvegicus*, *R. rattus* et *R. exulans*. Présence attestée de ces trois espèces en milieu insulaire en **B** 1850 et **C** 1980 (d'après Atkinson (1985)).

Dans ces milieux insulaires, le plus gros de ces trois rats, *R. norvegicus*, a la réputation d'être un élément perturbateur majeur, notamment par la prédation qu'il exerce sur les oiseaux en général, et en particulier sur les oiseaux nichant au sol (Burger, 1994; Moors, Atkinson, 1984). Il figure sur la liste établie par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature et des Ressources Naturelles (Lowe *et al.*, 2000) parmi les 100 espèces dont l'introduction provoque les perturbations les plus importantes aux écosystèmes insulaires. Son impact négatif sur des populations autochtones d'insectes, de crustacés, de reptiles, d'oiseaux et de mammifères est documenté (Atkinson, 1985; Moors, 1985; Pascal *et al.*, 1998; Towns, Broome, 2003).

Les plus anciennes traces connues attestant la présence de *Rattus norvegicus* ou rat Surmulot en Europe ne remontent qu'au XVIème siècle (Cheylan, 1984). Originaire d'Asie centrale, ce n'est que pendant la première partie du XVIIIème siècle qu'il aurait envahit massivement l'Europe de l'Ouest (Vigne, Villié, 1995). Dans l'état actuel des connaissances, sa présence n'aurait donc pas plus de 400 ans sur les côtes bretonnes.

Etant données les connaissances de l'impact potentiel de cette espèce sur les espèces d'oiseaux nicheurs de plusieurs îles bretonnes, une campagne d'éradication a été entamée par les gestionnaires de cette région en 1994. Le protocole employé prévoit successivement une phase intensive de piégeage et une phase brève utilisant des appâts toxiques (Pascal *et al.*, 1996b). Ceci a pour but de limiter l'exposition des espèces non-cibles aux appâts toxiques. Par ailleurs, l'utilisation combinée de différentes méthodes se révèle souvent plus efficace que l'utilisation d'une seule.

Ces campagnes se sont avérées dans l'ensemble efficaces et ont confirmé l'existence d'un impact significatif de *R. norvegicus* sur les populations autochtones puisque, par exemple, pendant les quatre années suivant l'élimination du Surmulot de l'île de Trielen (Archipel de Molène) en 1996, le nombre de couples nicheurs du Pipit maritime, *Anthus petrosus* (Montagu, 1798), du Troglodyte mignon, *Troglodytes troglodytes* (Linné, 1758) et de l'Accenteur mouchet, *Prunella modularis* (Linné, 1758), tous trois insectivores, ont été respectivement multipliés par 6, 3 et 2 (Kerbiriou *et al.*, 2004). De la même façon, quatre ans après l'élimination du Surmulot de l'ensemble de l'Archipel des Sept-Îles en 1994, l'indice d'abondance des populations de la forme Ouest européenne (Taberlet *et al.*, 1998) de la Musaraigne des jardins, *Crocidura suaveolens* (Pallas, 1811), a été multiplié par 16 (Pascal *et al.*, in press).

Lors de cette campagne, les unités d'éradication ont été évaluées sur des critères géographiques *a priori*. C'est donc une évaluation, *a posteriori*, du bien fondé des choix

réalisés par les gestionnaires, qui a été par la suite entreprise à l'aide d'outils génétiques. Cette étude profite de la présence de situations géographiques variées et d'un matériel biologique abondant afin de tester la faisabilité et l'intérêt d'une telle méthode dans une situation réelle. Les 510 rats surmulots analysés proviennent de différentes opérations d'échantillonnage et d'éradication couvrant trois sites continentaux et 18 îles ou îlets de cinq archipels (Figure 3).

Figure 3 Echantillonnage de *Rattus norvegicus* provenant des 18 îles et des trois localités continentales bretonnes (Abdelkrim *et al.*, in press).

Ainsi, le système d'étude se compose de cinq archipels qui peuvent être *a priori* définis sur des critères géographiques de la façon suivante. Tout d'abord, les Archipels de Saint Riom (Ile principale + îlets périphériques) et des Sept-Iles (au sens strict c'est-à-dire à l'exclusion de l'île voisine Tomé) sont caractérisés par des distances inter-îles très réduites, inférieures à quelques centaines de mètres. A l'inverse, l'île Tomé est distante de plusieurs kilomètres de ces dernières. De même, les distances inter-îles pour les Archipels d'Ouessant (à l'exception de la distance Ile Trielen-Ile aux Chrétiens) et d'Houat sont importantes et vont de plusieurs centaines de mètres à quelques kilomètres.

Afin de réaliser une étude fine du polymorphisme génétique de ces populations, nous avons choisi comme marqueurs moléculaires les marqueurs microsatellites, en raison de leur fort taux de polymorphisme (Bruford, Wayne, 1993; Estoup, Angers, 1998; Jarne, Lagoda, 1996). L'étude de la génétique des populations de *R. norvegicus* est facilitée car une carte de son génome a été réalisée à l'aide de centaines de marqueurs microsatellites dont la localisation chromosomique est par conséquent connue (Jacob *et al.*, 1995).

Outre l'analyse du polymorphisme génétique « classique » décrite dans le paragraphe précédent, d'autres méthodes d'évaluation de la structuration et de détection de migrants ont été utilisées. Il s'agit d'une part des méthodes d'assignation telles qu'implémentées dans le logiciel GENECLASS 2.0 (Piry *et al.*, 2004) et d'autre part des méthodes bayésiennes de regroupement telles qu'implémentées dans le logiciel STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). La description détaillée de l'aspect méthodologique de cette analyse se trouve dans la publication #1.

II.D. Résultats et implications en termes de gestion

Ce paragraphe reprend et discute les principaux résultats exposés dans la publication #1. Un niveau de polymorphisme particulièrement important a été observé au sein des échantillons continentaux avec un nombre d'allèles moyens par locus allant de 5,63 à 8,63. En comparaison, les valeurs obtenues sur les îles bretonnes vont de 1,38 sur l'Ile aux Chevaux à 4,5 sur l'Ile des Rimains.

D'autre part, les niveaux de différenciation entre îles sont variables d'un archipel à l'autre. Les valeurs de F_{st} sont extrêmement faibles dans le cas de l'ensemble de l'archipel de Riom (0,09), et de l'archipel des Sept-Iles au sens strict, c'est-à-dire lorsque est exclu l'échantillon de l'île Tomé (0,07). Au contraire, ce paramètre décrivant la différenciation génétique entre populations atteint des valeurs importantes dans le cas de l'archipel d'Iroise (0,52) et de l'archipel d'Houat (0,68), ainsi que pour l'archipel des Sept-Iles lorsque l'île Tomé est considérée (0,33).

Les résultats des tests d'assignation et de regroupement indiquent également que les niveaux d'isolement entre les îles des différents archipels sont très contrastés. D'une part, plusieurs îles présentent avec les îles voisines des niveaux de différenciation génétiques tels

qu'elles vérifient l'hypothèse « une île = une population ». Il s'agit de l'île Tomé, proche de l'archipel des Sept-Iles, de l'île d'Houat et de l'île aux Chevaux et enfin des îles d'Ouessant et Molène dans l'archipel d'Iroise. A l'opposé, ces méthodes indiquent que plusieurs ensembles d'îles ne représenteraient à chaque fois qu'une seule unité génétique. C'est le cas de l'archipel Saint Riom dans son ensemble, ainsi que de l'archipel des Sept-Iles au sens strict, ainsi que de l'Ile Trielen et de l'Ile aux Chrétiens en mer d'Iroise.

Au vu de ces résultats, la distance géographique entre îles semble être, comme attendu, le paramètre explicatif majeur de l'isolement entre populations insulaires. Les choix des gestionnaires qui avaient été réalisés par rapport à ce critère a priori, sont globalement validés par cette étude génétique. En effet, le choix d'éradiquer simultanément les populations de rats de l'Ile aux Chrétiens et de l'Ile Trielen se justifie étant donné la proximité génétique de celles-ci, ce qui suggère des échanges importants. De la même façon, cette étude valide la nécessité de prendre en compte jusqu'aux plus petits îlets de l'Archipel Saint Riom. La pérennité de l'opération d'éradication sur l'Ile aux Chevaux paraît réaliste même en l'absence d'éradication de la population de l'Ile d'Houat. Il en est de même dans le cas de l'opération concernant l'Ile aux Chrétiens et l'île Trielen qui doit être durable, malgré la présence d'une population importante de rats sur l'île d'Ouessant. Ces derniers résultats sont particulièrement rassurants car mener une opération d'éradication sur des îles de surfaces importantes et fortement anthropisées telles que l'Ile d'Ouessant et l'Ile d'Houat aurait été techniquement difficile à réaliser d'une part, et à pérenniser d'autre part, en raison de l'important trafic maritime qui existe entre ces îles et le continent.

Cependant, ce travail montre qu'il n'est pas possible d'évaluer avec certitude la distance géographique minimale qui assure un isolement total entre les îles. Si une distance de plus de quelques kilomètres est une indication forte d'isolement, des distances de l'ordre de quelques centaines de mètres peuvent aussi bien résulter en des échanges d'individus importants, comme c'est le cas entre l'Ile aux Moines, l'Ile Plate et l'île Bono, ou en un isolement génétique comme c'est le cas entre Trielen et Molène par exemple.

Ainsi, ces résultats contrastés, dans un même ensemble biogéographique, soulignent l'intérêt d'une telle évaluation génétique des unités d'éradication à considérer pour assurer la durabilité des résultats à plus long terme. De plus, l'extrapolation à d'autres régions de résultats obtenus dans un contexte biogéographique donné peut difficilement être réalisée, puisque des paramètres environnementaux comme la direction et la force des courants, ou la température de l'eau doivent influer fortement sur les capacités de migration inter-îles.

Cette nouvelle étape, située en amont du protocole décisionnel des gestionnaires et des acteurs de terrains lors de la planification d'une opération d'éradication en milieu insulaire peut être mise en œuvre simplement. Tout d'abord, toute opération d'éradication est précédée d'une phase d'observation, et d'évaluation de la nécessité et de la faisabilité de l'opération. L'échantillonnage nécessaire à l'étude génétique (20 à 30 individus) peut être réalisé lors de ces opérations préliminaires, moyennant un effort de piégeage modéré. Les analyses génétiques peuvent être réalisées pendant que les études écologiques (inventaire faunistique et floristique, évaluation des relations entre les espèces présentes) sont menées. Ainsi, cette étude génétique peut se faire en parallèle des opérations déjà couramment réalisées, sans imposer un délai supplémentaire. De plus, des marqueurs microsatellites sont maintenant disponibles pour les espèces invasives majeures.

PUBLICATION #1

Genetic population structure and eradication strategies: A case study on the introduced *Rattus norvegicus* on Brittany islands (France)

Jawad Abdelkrim, Michel Pascal, Claire Calmet & Sarah Samadi

Conservation Biology

(sous presse)

The importance of assessing population genetic structure prior to eradication of invasive species: Examples from insular *Rattus norvegicus* populations.

Jawad Abdelkrim*[§], Michel Pascal[§], Claire Calmet*, Sarah Samadi*

*UMR 7138: CNRS, IRD, Muséum National d'Histoire Naturelle, Université de Paris 6 « Systématique, Adaptation, Evolution », Département de Systématique et Evolution, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier, F-75005 Paris, France;

[§]Equipe "Gestion des Populations Invasives", Institut National de Recherche Agronomique, Station SCRIBE, Campus de Beaulieu, F-35042 Rennes, France

Running title: Genetic tools and eradication strategies

Keywords: *Rattus norvegicus*, biological invasion, eradication unit, islands, population structure, microsatellite markers, assignment test

Corresponding author:

Jawad ABDELKRIM, CNRS UMR7138/IRD UR 148 « Systématique, Adaptation, Evolution », Service de Systématique Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier, 75005, Paris, France.

Email: jawad@mnhn.fr

Word count: 5294

Abstract

To determine the inter-island migration abilities of pest species and delimit eradication units enables more viable long term eradication campaigns , because recurrent colonization from neighboring islands can be avoided. Here, we examined the genetic structure of the invasive Norway rat, *Rattus norvegicus*, to identify gene flow between islands and delimit population units at different geographical scales. We investigated variation in eight microsatellite loci in rat populations from 18 islands, representing five archipelagos of the Brittany coast (France). Although most islands are isolated from each other, short genetic distances, weak F_{st} values between close islands, and a high level of cross-assignment show that individuals collected on different islands could represent a single population unit. A Bayesian clustering method also supports the existence of high levels of gene flow between some neighboring islands. Thus, the statement "one island equals one population" can be false when inter-island distances are less than a few hundred meters. Genetic studies enables definition of island-clusters, with potential migration, that should be considered as eradication units. To avoid re-invasion and to minimize ecological and economic costs, rats on all islands in an eradication unit should be eradicated simultaneously. We suggest that the genetic monitoring performed in the current investigation should be applied for management of any pest.

Introduction

During the last few centuries, the rate of biological invasions experienced a significant acceleration, presumably as a result of increased international trade and transport (Di Castri 1989; Mack et al. 2000; Pascal et al. 2003). As invasive species have been identified as the second main cause of biodiversity loss after habitat destruction (Alonso et al. 2001) and the main cause of species extinctions in island ecosystems (Clout & Veitch 2002), studies dealing with processes of colonization and control of alien populations are major topics for conservation biologists and a priority for wildlife management (D'Antonio & Kark 2002).

The norway rat, *Rattus norvegicus* (Berkenhout 1769), along with the ship rat, *R. rattus,* and the pacific rat, *R. exulans,* has been introduced to over 80% of the world's islands (Atkinson 1985). *R. norvegicus* is regarded as one of the 100 world's worst invasive alien species, as listed by the IUCN (Lowe et al. 2000). It is known to have caused declines or extinctions of many insular species {Atkinson, 1985 #180}, including birds in Brittany (Kerbiriou et al. 2004). Moreover, the *R. norvegicus* often act as a reservoir and vector of several pathogenic agents such as *Leptospira interrogans* (Sunbul et al. 2001) and *Salmonella enterica* (Hilton et al. 2002).

Many studies have shown that eradication of alien mammals is a powerful conservation tool for insular ecosystems and many spectacular recoveries of threatened species have followed eradication campaigns (Towns et al. 2001; Graham & Veitch 2002; Kerbiriou et al. 2004; Pascal et al. in press). Recent technical advances allow the eradication of *R. norvegicus* from islands over 3000 ha, three orders of magnitude larger than what was possible 40 years ago (Clout & Veitch 2002). Nevertheless, eradication operations typically have large economic and ecological costs. Although many eradication campaigns have succeeded, some have failed (Thorsen et al. 2000). For example, among the eradication campaigns conducted on 144 New Zealand islands, 7% failed (Courchamp et al. 2003). Thus,

before an agency invests in an eradication campaign, risks and causes of eradication failure should be assessed.

On islands, one major risk of eradication failure is the ability of the target species to recolonize from neighboring islands or from the adjacent mainland. Groups of islands interconnected, or geographically close enough to allow migration has been called 'eradication units' (Robertson & Gemmell in press). Such 'eradication units' can be defined as genetically isolated units with clusters of populations that must be eradicated at the same time in order to maximize the long-term success of the operation. To identify eradication units is not easy beacuse migration patterns depend on multiple biological, geographical and human factors (Russell & Clout 2004). Moreover, direct observations of migration events do not easily allow identification of routes of potential recolonization, in particular if migration events are rare. The analysis of the genetic population structure of the target species among the cluster of islands and its interpretation in terms of gene flow may provide an alternative approach to identify eradication units.

Genetic information on *R. norvegicus* populations in the wild is scarce and generally not oriented towards population structure (Klöting et al. 1997; Voigt et al. 1997; Voigt et al. 2000; Klöting et al. 2003). *R. norvegicus* is native to northern China and Mongolia. It reached Europe during the 14th century (Cheylan 1984) and spread massively through Western Europe during the 18th century (Vignes & Villié 1995). A previous study of genetic variation of *R. norvegicus* populations using microsatellite DNA was conducted in the insular complex of Ushant Island and the Molène Archipelago located off the Brittany coast (Calmet et al. 2001). This study demonstrated that, in most cases, each population on each island was founded independently and that they do not exchange migrants. Nevertheless, low levels of genetic differentiation within two pairs of islands suggested that migration events were likely to occur.

In order to extend the results of Calmet et al. (2001) in more diversified insular situations, we investigated genetic variation in *R. norvegicus* populations from 18 islands belonging to five archipelagos off the Brittany coast. Analysis of the genetic structure of these insular populations was performed using several spatial scales and led to an *a posteriori* discussion about successes and checks on evaluation of the eradication attempts. Finally, our aim was to acquire information about the invasion history of *R. norvegicus* on the Brittany Islands.

Material and methods

Population sampling

A total of 510 individuals were collected from three mainland sites and 18 islands off the coast of Brittany (France). The sampled islands belong to five different archipelagos (Figure 1). Except for Ushant and Houatt populations, all the other insular samples were collected during rat eradication attempts (Pascal et al. 1996; Kerbiriou et al. 2004; Lorvelec & Pascal 2004; Pascal & Lorvelec in press). The strategy used for these eradications included successive use of trapping and poisoning. Trapping allows the capture of more than 90 % of the individuals. The inclusion of three mainland samples enable comparison of genetic diversity between insular and mainland populations. Since the mainland samples were not collected on the coast adjacent to the islands, they were not used to identify the geographical origin of the insular population founders. Where the number of trapped animals was less than 20, all individuals were analyzed, whereas only sub-samples were used when this number exceeded 20 (Table 1). *R. norvegicus* phalanges were preserved in 80% alcohol and stored at 4°C before extraction of genomic DNA using the DNeasy 96 tissue kit (Qiagen). Owing to problems of preservation, some older samples show a high percentage of missing data.

Detection of length polymorphism of microsatellite loci

To investigate genetic variation we used eight microsatellite markers previously characterized for *R. norvegicus* genome mapping (Jacob et al. 1995) (D10Mit5, D11Mgh5, D13UW1, D19Mit2, D10Rat20, D7Rat13, D5Rat83 and D16Rat81). The microsatellite loci were chosen on basis of their location on different chromosomes in order to avoid potential linkage. Each forward primer was labelled with fluorescent dyes before amplification by polymerase chain reaction (PCR), with an annealing temperature of 55°C and 35 cycles, except for D13UW1

and D19Mit2 (40 and 37 cycles respectively). PCR was performed in 10 µL volumes, containing 1µg DNA, 0.1µM of one primer labelled with 5' fluor labels and 0.2 of the other primer, 0.2µM of each dNTP, 1 unit Taq polymerase, and 1X reaction buffer with 1.5 mM $MgCl_2$. All PCR products were pooled in a single run on an ABI prism 310 capillary electrophoresis system (Applied Biosystems). Amplification size was scored using GeneScan Analysis software v. 3.1.2.

Statistical treatments

Within-population variation

Numbers of alleles were calculated for each locus and population using the program Microsatellite Analyser (MSA) 3.00 (Dieringer & Schlötterer 2002). For small populations (fewer than 20 individuals) all individuals were analyzed. Thus, for small populations, exact distributions of allele numbers were obtained and not estimations. Since other populations sample sizes are not small, corrections for differences in sample size are useless. Nevertheless, one must be cautious while interpreting and comparing such genetic diversity values. The frequency of each allele per locus, the observed heterozygosity, the expected heterozygosity and deviations from Hardy-Weinberg expectations were computed using GENEPOP software version 3.3 (Raymond & Rousset 1995). For loci with fewer than five alleles, an exact test of Hardy-Weinberg proportions was performed. For loci with five or more alleles, an unbiased estimate of the exact probability was obtained using the Markov chain method of Guo & Thompson (1992) for each combination of locus and population. Sequential Bonferroni tests were used to compute the critical significance levels for simultaneous statistical tests (Rice 1989). Genotypic associations between all pairs of loci were tested for each sample using Fisher's test on RxC contingency tables using GENEPOP 3.3.

Analysis of population structure

F_{is}, F_{st} and F_{it} parameters were estimated following Weir & Cockerham (1984). The significance level of the F_{st} value was tested for each population pair by calculating the *P-value* of the F_{st} estimate. All these calculations were conducted using MSA 3.00, and significance levels were determined by making 10,000 permutations of genotypes among groups. A pair-wise matrix of Cavalli-Sforza and Edwards chord distance (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) was obtained using MSA and a dendrogram was constructed using the neighbor-joining method (Saitou & Nei 1987). Node support was estimated with 1000 bootstrap replicates, using the package PHYLIP 3.5c (Felsenstein 1989).

To assess the structure of insular populations an analysis of molecular variance (AMOVA) was performed using Arlequin 2.001 software. Genetic variation was partitioned into three levels: within islands, among islands within archipelago and among archipelagos.

The number and the geographical limits of the insular populations were inferred using two different assignment tests. Only individuals successfully typed for more than four loci (i.e. more than 50% of the genotypic information) have been considered in these analyses. With this exception, both tests were applied to the whole dataset. First, the fully Bayesian clustering method implemented in STRUCTURE version 2.1 (Pritchard et al. 2000) was used in order to determine the most likely number (K) of population units; the program was run five times for each value of K from 1 to 18 (i.e. the number of islands). For each value of K, the run with the highest likelihood has been retained. The model with admixture and the correlated frequencies option were used. No information on population origin of the individuals was used. After some preliminary tests of the convergence time needed for the Monte-Carlo Markov Chain, a burn-in period of 100,000 steps followed by 500,000 steps was

chosen. Once the number of population units K was estimated, the proportion of membership of each island (e. g. the proportion of genome sampled on it) in each cluster was calculated.

Population structure was also explored using GENECLASS software version 1.0.02 (Cornuet et al. 1999). These assignment and exclusion methods, originally used to identify the geographic origin of an unknown individual (Eldridge et al. 2001; Manel et al. 2002), can also be used as accurate tools for understanding real time population structure and spatial dynamics (Paetkau et al. 1995; Kyle & Strobeck 2001; Cegelski et al. 2003). The assignment test estimates the likelihood of the multi-locus genotype of a given individual originating from one of a set of putative source populations and determines its most probable origin. The cross-assignment percentage, defined as the percentage of individuals assigned to an island other than the one they were sampled on, was also computed. A complementary statistical approach consists of performing an exclusion test (Cornuet et al. 1999), that is to say, calculating the probability that a population is the origin of each individual, with a given threshold. We chose a threshold of 0.05, and the rejection probability was obtained by simulating 10,000 individuals from allelic frequencies. While the previous assignment test indicates only the "most likely origin" of an individual, the exclusion test allows i) rejecting statistically all the populations if the "real origin" has not been sampled, and ii) indentifying the populations that cannot be statistically rejected as origin of an individual even if they are not the most likely. The Bayesian method, first proposed by Rannala & Mountain (1997), was chosen since Cornuet et al (1999) showed with various simulated data sets that it was the most accurate of the three available in the software GENECLASS. In order to compute the allelic frequencies in each population, we used the "leave one out" option.

Finally, two tests of the relation between the geographic distance and the level of differentiation between islands were used. First, a Mantel test was conducted (Mantel 1967) comparing the matrix of log-transformed geographic distances between all the islands

(shortest distance coast-to-coast) to the pair-wise F_{st} matrix using Genetix software v4.05 (Belkhir et al. 1996-2004). Second, since only intra-archipelago comparisons are relevant regarding short-distance migration, the significance level of the Pearson correlation coefficient for all intra-archipelago pairs of islands was also calculated.

Results

Within population genetic diversity

The tests for linkage disequilibrium were not significant. The analysed microsatellite loci were thus assumed to be independent for all statistical treatments. All eight loci are polymorphic in at least one population. The total number of alleles per locus ranges from 9 to 25 and thehe mean observed heterozygosity per population ranges from 0.09 to 0.85 (Table 1). The mean number of alleles over all loci is significantly larger for the mainland samples (from 5.63 to 8.63) than for insular samples (from 1.25 to 4.62) when they are compared with a Wilcoxon signed rank test (p=0.035). Global departure from Hardy-Weinberg equilibrium was observed on Ushant, Chatellier and Houatt islands and on the mainland. However, these global tests are only supported by zero to two loci in separate tests after sequential Bonferroni corrections.

Population structure analysis

The analyses of molecular variance shows that the within-island level explained 90.18% of the total genetic variance whereas the among-islands-within-archipelago and among-archipelago components explained respectively 4.89% and 4.93 %. The variance components among archipelago, among islands within archipelago and within islands are 0.025, 0.024 and 0.454 respectively. The three hierarchical levels of the analysis are significant. F_{st} values calculated between all pairs of insular populations are significant for all pair-wise comparisons except between most islands of the St Riom Archipelago. These analyses revealed a high level of population structure within as well as between archipelagos. Most islands are highly differentiated from each other, even within an archipelago. Indeed, Houatt and Chevaux islands in the Houatt Archipelago, Molène and Ushant Islands from the Iroise

Archipelago, Tomé Island from the Sept-Iles Archipelago, and Chatelliers Island from the Rimains Archipelago are all separated from all other samples by high genetic distances (Figure 2). All individuals from this set of islands, except one from Tomé Island, are assigned to the island where they were trapped by the program GENECLASS (Table 2). Other islands, even in the same archipelago, are rejected as possible origins (data not shown). Each sample is identified as a single population by clustering methods, by the program STRUCTURE, when K increases (Table 3).

In three cases we find little or no population structure. First, among the islands of the Iroise Archipelago, short genetic distances separated Trielen and Chrétien Islands and in the neighbor-joining tree (Figure 2) their grouping is supported by a bootstrap value of 99%. Moreover, although the cross-assignment percentage between these two islands is low (Table 2), most individuals cannot be statistically rejected from both islands by exclusion tests (data not shown). The clustering methods grouped these two islands together even for K=10 (Table 3). Second, on the distance tree, Sept-Iles Archipelago islands (except Tomé Island), are close to each other and their grouping is supported by a bootstrap value of 95%. When we exclude Tomé Island from the archipelago, the global archipelago F_{st} decreases from 0.33 to 0.07 while the within-archipelago cross-assignment percentage increases from 11.9% to 17.7%. The exclusion test reveals that few individuals from each island are excluded from the other islands. Moreover, the three islands share all their alleles. A clustering process groups them in one cluster for K=7, but a split that does not correspond to the islands geography is obtained with higher K-values. Finally, no structure is observed among the islands of the St Riom archipelago. The F_{st} value for this archipelago is very low (0.09). The short genetic distances between these islands are supported in the dendrogram by a bootstrap value of 99%. The cross-assignment percentage within this archipelago is 36.4% and the exclusion test show that

all islands of this archipelago are possible origins for each individual. The individuals of St Riom islands are grouped in the same cluster for all tested values of K.

Finally, the Spearman correlation coefficient calculated between intra-archipelago geographic distances and F_{st} is significant. The Mantel test conducted on the whole inter-island distance matrix is also highly significant.

Discussion

From genetic structure to gene flow

One of the critical issues in interpretation of the distribution of genetic variation among populations is that shared polymorphism, and hence genetic proximity, can be due to either a shared origin or ongoing gene flow. For the purpose of eradication projects, it is critical to distinguish between these two sources of genetic similarity, because ongoing gene flow with neighboring islands could lead to project failure because of recolonisation. Another misleading situation that is critical to detect in eradication projects is the existence of low and/or recent gene flow between populations that have previously diverged and, thus, could be interpreted as totally isolated from each other.

Nevertheless, unintentional introductions or invasions of mammals on islands generally involve very few individuals (Kilpatrick 1981; Berry 1986). During population foundation, random sampling effects can lead to an immediate burst of differentiation (Mayr 1954; Berry 1983). The detection of such founder effects depends on the variability of the genetic marker used. Indeed, if the markers were highly polymorphic in the source population, two independent samplings of one or a few individuals could lead to an instantaneous strong genetic differentiation between two populations independently founded. The differentiation is then accentuated by genetic drift through time and may apart from differences in gene frequencies also involve the existence of private alleles (e. g. alleles present on only one island). In such situations, even low or recent exchange between populations located on different islands should be detected (Slatkin 1985). In the case of important founder effects and when we use polymorphic markers as microsatellites, the detection of a genetic proximity between two populations should be interpreted as ongoing gene flow.

Population genetics and colonisation dynamics

In our study, the interpretation of the structure of genetic variability in terms of population founding and migration events is congruent with information about colonization history and geography. Most islands are geographically completely isolated, and, similarly, the genetic distance between populations on separate islands are usually large. For all these isolated islands, all the individuals are assigned without ambiguity to the island where they have been trapped. A clustering method indicates that each of these islands is a single biological population. Moreover, the level of intra-population variability is lower than in mainland populations, which indicates both small population size and probable bottleneck effects during the founder event. These results are in accordance with the well established theoretical relationship between population bottlenecks and loss of genetic variation (Wright 1931; Nei et al. 1975; Chakraborty & Nei 1977).

For example, *R. norvegicus* was first reported on Trielen Island following a shipwreck in 1912. The very low genetic diversity of the population eradicated on this island in 1996 can be interpreted as resulting from a very limited number of founders from this shipwreck (the extreme would be a single pregnant female). This island is geographically highly isolated from other islands of the Iroise Archipelago except from Chrétien Island, to which it is partially connected at low tide. All the other islands of the Iroise Archipelago are genetically highly divergent and show many private alleles, which allow the establishment of a genetic signature for each island. It is likely, as noted by Calmet et al. (2001), that *R. norvegicus* populations on each island correspond to independent colonization events.

Another situation is found in the Sept-Iles Archipelago. Populations on all islands (except Tomé) are genetically close, as would be expected from the short geographical distances. The analyses of the genetic structure suggest at least two founding events and no

subsequent genetic exchanges between Tomé and the three others islands. Finally, the Houatt Archipelago reveals yet another situation: The rat population on Chevaux Island exhibits reduced genetic diversity compared to the population located on Houatt Island. Most alleles present in the former are also present in the latter. These results support the hypothesis of a step-by-step colonization, first on Houatt Island, and then on Chevaux Island. This last case can be interpreted as a shared origin with an absence of current gene flow. Historical data support this hypothesis. During the 19th century, the farmers on Houatt brought their cattle to Chevaux island and back once a year, and may then have mediated the transfer of R. norvegicus specimens between the islands.

From gene flow to eradication strategies

Evidences of migration between islands can be revealed by the study of genetic structure. In our study, such signatures of rat movements result from insular systems exhibiting short inter-islands distances. This is examplified in the St Riom Archipelago, the three adjacent islands in the Sept-Iles Archipelago and the islands Trielen and Chrétien of the Iroise Archipelago. Only homogenization by regular migration events can generate such genetic similarities. Although the present study does not allow the determination of a distance threshold below which migration between islands is expected, less than a few hundred meters does not seem enough to prevent migration. Such information suggests eradication strategies as follows: for isolated islands (e.g., islands without other islands or mainland within a few kilometres), it is reasonable to focus the eradication on the chosen island only. Conversely, when islands are connected by consistent gene flow, eradication should include whole groups of islands simultaneously. Geographical evidence is not sufficient to determine the eradication scale, particularly when information about the colonization ability of the target species is scarce. The use of indirect methods using genetic markers should be a preliminary step of the

management process, to minimize failure risks and reduce the eradication cost and environmental impact, and to avoid eradication on scales larger than necessary. Such genetic monitoring could be extended to any pest species for which a clear direct measure of gene flow is not available.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Arnaud Estoup, Marie-Catherine Boisselier, James Russell, Daniel Simberloff, Carl-Gustaf Thulin, and three anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript. The eradications that provided rat samples were carried out thanks to the involvement of staff from the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), Ligue pour la Protection des Oiseaux (LPO), Société d'Étude et de Protection de la Nature en Bretagne (SEPNB), and Conservatoire du Littoral et des Rivages Lacustres (CEL). Field operations were funded by the European Union (Life Nature N° B4-3200/98/470), the Direction Régionale de l'Environnement Bretagne, and the Total Foundation. The genetic work was supported by a PhD grant to J. Abdelkrim from the CEL and was conducted at the "Service de Systématique Moléculaire" (IFR 101 - CNRS) of the Natural History Museum of Paris.

Literature cited

Alonso, A., F. Dal lmeier, E. Granek, and P. Raven 2001. Biodiversity: Connecting with the Tapestry of Life. Smithsonian Institution. Monitoring and Assessment of Biodiversity., Washington, D.C.

Atkinson, I. A. E. 1985. The spread of commensal species of *Rattus* to oceanic islands and their effects on island avifaunas. ICBP Technical Publication **3**:35-79.

Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste, and F. Bonhomme. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II Montpellier, France.

Berry, R. J. 1983. Diversity and differenciation: the importance of island biology for general theory. Oikos **41**:523-529.

Berry, R. J. 1986. Genetics of insular populations of mammals, with particular reference to differentiation and founder effects in british small mammals. Biological Journal of the Linnean Society **28**:205-230.

Calmet, C., M. Pascal, and S. Samadi. 2001. Is it worth eradicating the invasive pest *Rattus norvegicus* from Molène archipelago? genetic structure as a decision-making tool. Biodiversity and Conservation **10**:911-928.

Cavalli-Sforza, L. L., and A. W. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. Am J Hum Genet **19**:Suppl 19:233+.

Cegelski, C. C., L. P. Waits, and N. J. Anderson. 2003. Assessing population structure and gene flow in Montana wolverines (Gulo gulo) using assignment-based approaches. Molecular Ecology **12**:2907-2918.

Chakraborty, R., and M. Nei. 1977. Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. Evolution **31**:347-356.

Cheylan, G. 1984. Le rat surmulot, *Rattus norvegicus*. in SFEPM, editor. Atlas des mammifères sauvages. MNHN, Paris.

Clout, M. N., and C. R. Veitch. 2002. Turning the tide of biological invasion: the potential for eradicating invasive species. Pages 1-3 in C. R. Veitch, and M. N. Clout, editors. Turning the tide: the eradication of invasive species. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Cornuet, J. M., S. Piry, G. Luikart, A. Estoup, and M. Solignac. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. Genetics **153**:1989-2000.

Courchamp, F., J.-L. Chapuis, and M. Pascal. 2003. Mammal invaders on islands: Impact, control and control impact. Biological Review **78**:347-383.

D'Antonio, C. M., and S. Kark. 2002. Impacts and extent of biotic invasions in terrestrial ecosystems. Trends in Ecology and Evolution **17**:202-204.

Di Castri, F. 1989. History of biological invasions with special emphasis on the old world. Page 30 in J. A. Drake, editor. Biological invasions: a global perspective. John Wiley & sons Ltd.

Dieringer, D., and C. Schlötterer. 2002. Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large data set. Molecular Ecology Notes **3**:167-169.

Eldridge, M. D., J. E. Kinnear, and M. L. Onus. 2001. Source population of dispersing rock-wallabies (Petrogale lateralis) identified by assignment tests on multilocus genotypic data. Molecular Ecology **10**:2867-2876.

Felsenstein, J. 1989. Phylogeny Inference Package (Version 3.2). Cladistics **5**:164-166.

Graham, M. F., and C. R. Veitch. 2002. Changes in birds numbers on Tiritiri Matangi Island, New Zealand, over the period of rat eradication. Pages 120-123 in C. R. Veitch, and

M. N. Clout, editors. Turning the tide: the eradication of invasive species. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Guo, S. W., and E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. Biometrics **48**:361-372.

Hilton, A. C., R. J. Willis, and S. J. Hickie. 2002. Isolation of Salmonella from urban wild brown rats (Rattus norvegicus) in the West Midlands, UK. International Journal of Environmental Health Research **12**:163-168.

Jacob, H. J., D. M. Brown, R. K. Bunker, M. J. Daly, V. J. Dzau, A. Goodman, G. Koike, V. Kren, T. Kurtz, A. Lernmark, and et al. 1995. A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. Nature genetics **9**:63-69.

Kerbiriou, C., M. Pascal, I. Le Viol, and J. Garoche. 2004. Conséquence sur l'avifaune terrestre de l'île de Trielen (réserve naturelle d'Iroise; Bretagne) de l'éradication du surmulot (*Rattus norvegicus*). Revue d'Écologie (Terre & Vie) **59**: 319-329.

Kilpatrick, C. W. 1981. Genetic structure of insular populations. Pages 28-59 in M. H. Smith, and J. Joue, editors. Mammalian population genetics. University of Georgia Press, Athens, Georgia.

Klöting, I., C. Nitschke, and J. Van den Brandt. 2003. Impact of genetic profiles on experimental studies: outbred versus wild rats. Toxicology and Applied Pharmacology **189**:68-71.

Klöting, I., B. Voigt, and P. Kovacs. 1997. Comparison of genetic variability at microsatellite loci in wild rats and inbred rat strains (Rattus norvegicus). Mammalian genome **8**:589-591.

Kyle, C. J., and C. Strobeck. 2001. Genetic structure of North American wolverine (Gulo gulo) populations. Molecular Ecology **10**:337-347.

Lorvelec, O., and M. Pascal. 2004. French alien mammal eradication attempts and their consequences on the native fauna and flora. Biological Invasion **6**:in press.

Lowe, S., M. Browne, and S. Boudjelas. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. Page 11. Invasive Species Specialist Group, Auckland.

Mack, R. N., D. Simberloff, W. M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout, and F. Bazzaz. 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. Ecological Applications **10**:689-710.

Manel, S., P. Berthier, and G. Luikart. 2002. Detecting wildlife poaching: identifying the origin of individuals with Bayesian assignement tests and multilocus genotypes. Conservation Biology **16**:650-659.

Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and generalized regression approach. Cancer Research **27**:209-220.

Mayr, E. 1954. Changes of genetic environment and evolution. Pages 157-180 in J. Huxley, A. C. Hardy, and E. B. Ford, editors. Evolution as a process. Allen & Unwin, London.

Nei, M., T. Maruyama, and R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution **29**:1-10.

Paetkau, D., W. Calvert, I. Stirling, and C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology **4**:347-354.

Pascal, M., J. F. Cosson, F. Bioret, P. Yésou, and S. F. 1996. Réflexion sur le bien-fondé de restaurer une certaine biodiversité de milieux insulaires par l'éradication d'espèces exogènes. Cas de certains mammifères d'îles de Bretagne (France). Vie et milieu **46**:345-354.

Pascal, M., and O. Lorvelec. in press. French alien mammal eradication attempts in protected areas. Their major consequences on the native fauna and flora. ALIENS, Newsletter 18.

Pascal, M., O. Lorvelec, J. D. Vignes, P. Keith, and P. Clergeau. 2003. Évolution holocène de la faune de Vertébrés de France : invasions et disparitions. Page 381. INRA, CNRS, MNHN. Rapport au Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, Paris.

Pascal, M., F. Siorat, O. Lorvelec, P. Yésou, and D. Simberloff. in press. A pleasing Norway rat eradication consequence: two shrew species recover. Diversity and distribution.

Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics **155**:945-959.

Raymond, M., and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact test and ecumenicism. Journal of Heredity **86**:248-249.

Rice, W. R. 1989. Analizing tables of statistical tests. Evolution **43**:223-225.

Robertson, B. C., and N. J. Gemmell. in press. Defining eradication units in pest control programmes. Journal of Applied Ecology.

Russell, J. C., and M. N. Clout. 2004. Modelling the distribution and interaction of introduced rodents on New Zealand offshore islands. Global Ecology and Biogeography **13**:497–507.

Saitou, N., and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution **4**:406-425.

Slatkin, M. 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. Evolution **39**:53-65.

Sunbul, M., S. Esen, H. Leblebicioglu, M. Hokelek, A. Pekbay, and C. Eroglu. 2001. Rattus norvegicus acting as reservoir of leptospira interrogans in the Middle Black Sea region of Turkey, as evidenced by PCR and presence of serum antibodies to Leptospira strain. Scandinavian journal of infectious diseases **33**:896-898.

Thorsen, M., R. Shorten, P. Lucking, and V. Lucking. 2000. Norway rats (*Rattus norvegicus*) on Fregate Island, Seychelles: the invasion; subsequent eradication attempts and implications for the island's fauna. Biological Conservation **96**:133-138.

Towns, D. R., C. H. Daugherty, and A. Cree. 2001. Raising the prospect for a forgotten fauna: a review of 10 years of conservation effort for New Zealand reptiles. Biological Conservation **99**:3-16.

Vignes, J. D., and P. Villié. 1995. Une preuve archéologique du transport d'animaux par bateau: le crâne de *Rattus norvegicus* de l'épave du ça ira (Saint Florent, Haute-Corse, fin du 18ème siècle). Pages 411-416. L'homme méditerrannéen. Publication Université de Provence, Aix-en-Provence.

Voigt, B., K. Kitada, I. Klöting, and T. Serikawa. 2000. Genetic comparison between laboratory rats and japanese and German wild rats. Mammalian genome **11**:789-790.

Voigt, B., P. Kovacs, L. Vogt, and I. Klöting. 1997. How heterozigous are wild rats (*Rattus norvegicus*)? Transplantation proceedings **29**:1772-1773.

Weir, B. S., and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution **38**:1358-1370.

Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. Genetics **28**:114-138.

Table headings

Table 1 General information and genetic diversity of *Rattus norvegicus* on Brittany islands from eight microsatellite markers

n: number of rats genotyped A: mean number of alleles among loci; He and Ho: expected and observed heterozygosity; HW: P-value of Hardy-Weinberg equilibrium global test (-: non-significant and **: highly significant). F_{st} values have been calculated among islands within each archipelago and among all islands.

Table 2 Results of the assignment test using GENECLASS (Belkhir et al. 2004).

For each sampling location (horizontally), the number of individuals assigned to each population is indicated (*n* is the sample size). In bold, the number of individuals assigned to the island where they have been sampled. Framed are the intra-archipelago assignments (i. e. individuals assigned to an island belonging to the archipelago they have been sampled in). The percentage of cross-assignments for each archipelago is indicated.

Table 3 Results of the Bayesian clustering analysis using STRUCTURE software for values of K from 7 to 10 (Pritchard et al. 1999). Populations of *Rattus norvegicus* on islands with the same number are clustered together. Clusters are arbitrarily numbered from 1 to K.

Figures Headings

Figure 1 Map of the Brittany coast showing the 5 archipelagos and the mainland samples of *Rattus norvegicus*

The following short names are used for the sample sites

Iroise Archipelago		**Rimains Archipelago**		**Continental samples**	
Ushant Island	(Ou)	Chatellier Island	(Ca)	Finistere	(Fi)
Molène	(Mo)			Bilho	(Bi)
Trielen Island	(Tr)	**Houatt Archipelago**		Massereau	(Ma)
Chrétien Island	(Ic)	Houatt Island	(Ho)		
		Chevaux Island	(Ch)		
Sept-Iles Archipelago					
Bono Island	(Bo)	**St Riom Archipelago**			
Moine Island	(Im)	St Riom Island	(Sr0)		
Plate Island	(Pl)	Islet 1 to 6	(Sr1 to Sr6)		
Tomé Island	(To)				

Figure 2 Neighbor-joining tree of insular and mainland populations of *Rattus norvegicus*

Nodes supported by bootstrap values superior to 80% are indicated. For abbreviations used, see figure 1.

Table 1

	Archipelago	Island	surface (ha)	n	A	He	Ho	HW
Insular samples	**Houatt**	Chevaux	293	11	1.38	0.10	0.10	-
		Houatt	2.5	24	2.50	0.39	0.27	0.03
		F_{st} = 0.68						
	Iroise	Ushant	1557	20	4.00	0.56	0.47	0.003
		Molène	45.3	17	3.63	0.48	0.42	-
		Trielen	14.5	24	2.13	0.20	0.18	-
		Chrétiens	1.3	12	1.25	0.07	0.09	-
		F_{st} = 0.52						
	Sept-Îles	Bono	22	96	3.75	0.48	0.49	-
		Moines	9	24	3.50	0.51	0.49	-
		Plate	5	24	3.75	0.47	0.47	-
		Tomé	30	72	4.62	0.60	0.59	-
		F_{st} = 0.33						
	St Riom	St Riom	14.5	45	4.38	0.53	0.51	-
		Sr1	<1	12	2.13	0.39	0.49	-
		Sr2	<1	13	2.25	0.40	0.44	-
		Sr3	<1	7	2.25	0.42	0.56	-
		Sr4	<1	23	3.38	0.46	0.51	-
		Sr5	<1	5	2.38	0.41	0.43	-
		Sr6	<1	8	2.88	0.46	0.48	-
		F_{st} = 0.09						
	Rimains	Chatellier	1.5	32	4.50	0.63	0.64	0.005
		Overall insular F_{st} = 0.41						
Continental samples	**Area**	**Locality**						
	Finistère	-	-	24	8.63	0.77	0.70	**
	Mouth of the Loire river	Massereau	-	7	5.63	0.75	0.85	-
		Bilho	-	17	5.63	0.69	0.63	**

Table 2

			Continental			*Insular*															
		n	**Fi**	**Ma**	**Bi**	**Ch**	**Ho**	**Mo**	**Ou**	**Tr**	**Ic**	**Bo**	**Im**	**Pl**	**To**	**Sr0**	**Sr1**	**Sr2**	**Sr3**	**Sr4**	**Sr5**	**Sr6**	**Ca**
Continental	**Finistère**	*24*	**23**																				1
	Massereau	*7*	1	**6**																			
	Bilho	*16*		1	**15**																		
Houatt	**Chevaux**	*24*				**24**																	
	Houatt	*10*					**10**																
Iroise	**Molène**	*14*						**14**															
	Ushant	*18*							**18**														
	Triélen	*22*								**19**	3												
	Chrétien	*9*									**9**												
Insular **Sept-Iles**	**Bono**	*83*										**72**	3	8									
	Moine	*23*										3	**16**	4									
	Plate	*24*										2	3	**19**									
	Tomé	*72*												1	**71**								
St Riom	**St Riom**	*38*														**29**	1	1	1	4		2	
	Sr1	*2*																1		1			
	Sr2	*6*														1	1	**3**	1				
	Sr3	*3*														2					1		
	Sr4	*15*														2		1		**11**	1		
	Sr5	*5*																		1	**2**	2	
	Sr6	*8*														3					1	**4**	
Rimains	**Chatellier**	*32*																					**32**

Cross-assignment = 0%

Cross-assignment = 4.7%

Cross-assignment = 11.9%

Cross-assignment = 36.4%

Table 3

Archipelago	Island	K = 7	K = 8	K = 9	K = 10
Houatt	**Chevaux**	*1*	*1*	*1*	*1*
	Houatt	*1*	*1*	*2*	*2*
Iroise	**Ushant**	*2*	*2*	*3*	*3*
	Molène	*3*	*3*	*4*	*4*
	Trielen	*3*	*3*	*4*	*5*
	Chrétien	*3*	*3*	*4*	*5*
Sept-Iles	**Bono**	*4*	*4 & 5*	*5 & 6*	*6 & 7*
	Plate	*4*	*4 & 5*	*5 & 6*	*6 & 7*
	Moine	*4*	*4 & 5*	*5 & 6*	*6 & 7*
	Tomé	*5*	*6*	*7*	*8*
St Riom	**St Riom**	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr1	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr2	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr3	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr4	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr5	*6*	*7*	*8*	*9*
	Sr6	*6*	*7*	*8*	*9*
Rimains	**Chatelliers**	*7*	*8*	*9*	*10*

Figure 1

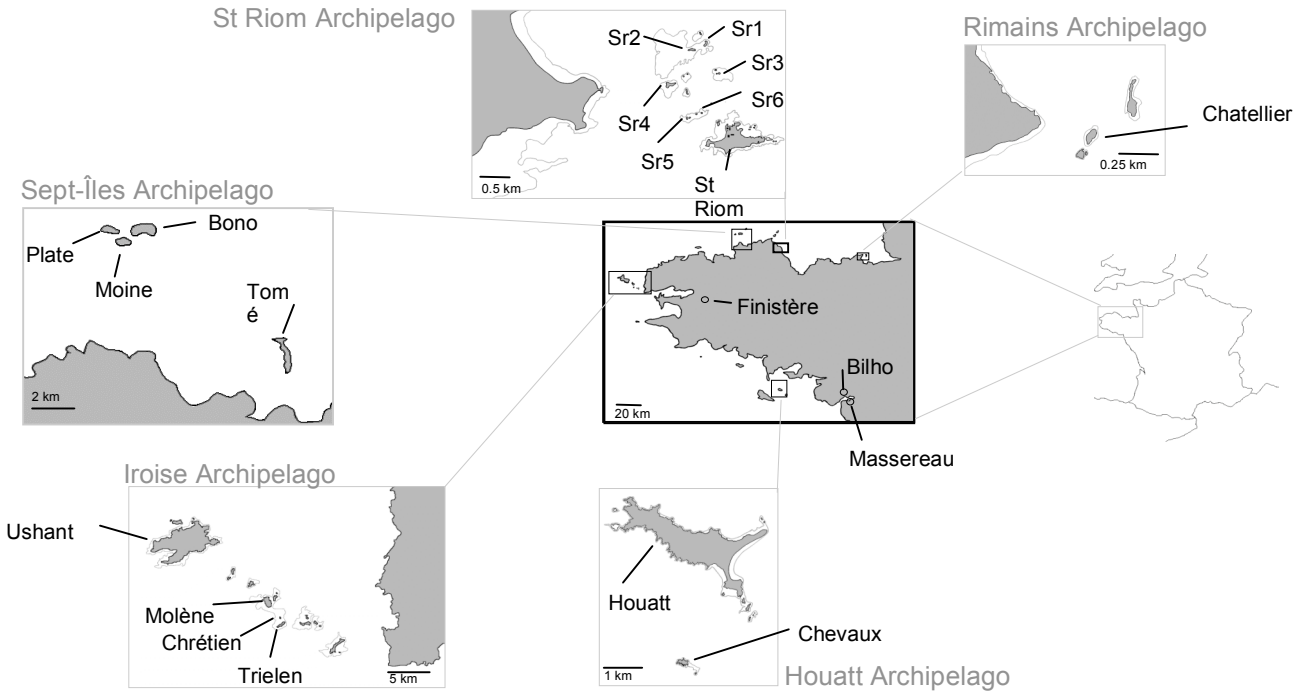
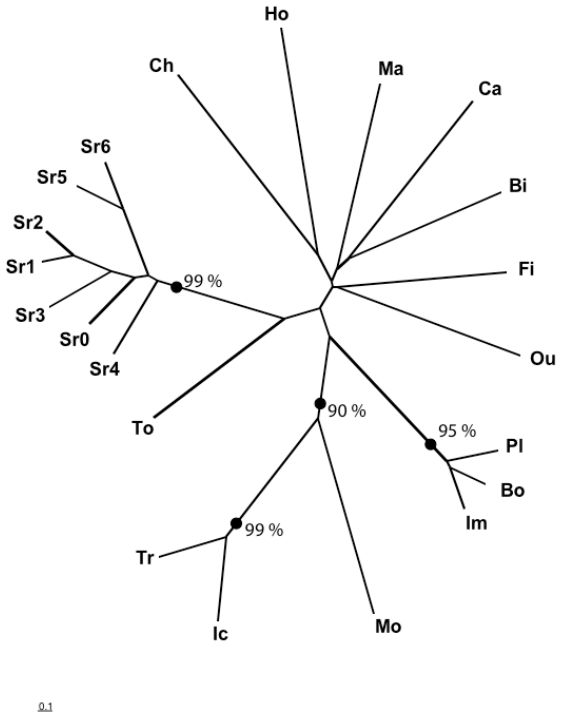

St Riom Archipelago
Sr1
Sr2
Sr3
Sr4
Sr5
Sr6
St Riom
0.5 km
Rimains Archipelago
Chatellier
0.25 km
Sept-Îles Archipelago
Bono
Plate
Moine
Tom é
2 km
Finistère
Bilho
20 km
Massereau
Iroise Archipelago
Ushant
Molène
Chrétien
Trielen
5 km
Houatt
Chevaux
1 km
Houatt Archipelago

Figure 2


Ho
Ch
Ma
Ca
Sr6
Sr5
Bi
Sr2
Sr1
Fi
99 %
Sr3
Sr0
Ou
Sr4
90 %
To
95 %
Pl
Bo
Im
99 %
Tr
Ic
Mo
0.1

III.

Colonisations anciennes, invasions récentes et échecs d'éradication : différentes échelles temporelles de « fondations insulaires »

III.A. Evaluation génétique des causes d'un échec d'éradication

Ce nouveau développement ne se situe plus en amont de l'opération d'éradication mais en aval. Il intervient dans la phase de « monitoring » du diagramme décisionnel de *Courchamp et al.* (2003) (Figure 3), dans l'éventualité où l'espèce invasive est à nouveau détectée après une tentative d'éradication.

Dans une telle situation, il est important pour les gestionnaires de savoir si l'échec est dû à des individus ayant survécu à la tentative d'éradication, ou s'il s'agit d'individus ayant recolonisé l'île. Dans le premier cas, cela implique que le protocole technique utilisé n'était pas adapté alors que dans le second, c'est la délimitation de l'unité d'éradication qui était inappropriée. La capacité de trancher entre ces deux explications permettra au gestionnaire d'identifier les points méthodologiques à adapter afin d'assurer la réussite des opérations futures.

L'outil génétique permet de faire un choix entre ces deux hypothèses en comparant la composition génétique de la population nouvellement capturée à celle de la population présente sur l'île lors de l'opération d'éradication, ainsi qu'à toutes les autres populations éventuellement typées lors de la phase de définition de l'unité d'éradication. Les marqueurs microsatellites permettent d'obtenir une signature génétique propre à chaque population. La métaphore « signature génétique » indique que chaque population peut être caractérisée par une combinaison propre de fréquences alléliques à plusieurs loci. Le génotype d'un individu donné pour l'ensemble de ces loci (« empreinte génétique ») permettra de l'assigner de façon probabiliste à une des populations sources qui auront été caractérisées avec ces marqueurs. La figure 4 illustre comment une « signature génétique » des populations permet de trancher entre les deux explications possibles de l'échec d'une éradication.

Pour simplifier, cette représentation illustre une signature génétique obtenue avec un seul locus comportant plusieurs allèles. Chaque cercle représente une copie du gène correspondant à ce locus. Chaque couleur représente un allèle pour ce locus. La composition allélique de la population d'intérêt est illustrée en 1. Dans notre exemple, cette population possède deux allèles fortement représentés (rouge et bleu) et deux allèles rares (représentés par les couleurs rose et jaune). Afin d'opter pour l'une ou l'autre des hypothèses, il est également nécessaire d'avoir caractérisé à ce même locus les populations qui peuvent être des

sources potentielles de réinvasion (populations continentales et insulaires voisines indiquées par 2 et 3 dans la figure 4).

En cas d'échec dû à la survie de quelques individus, la population initiale aura subi une forte réduction d'effectif suivie d'une reprise démographique. Cette succession est assimilable à un événement de fondation. On s'attend donc à une réduction de la diversité génétique par rapport à la population avant l'éradication. Les allèles les plus rares ont une probabilité plus forte d'être perdus rapidement. La population échantillonnée après la tentative d'éradication (A) sera dans ce cas un sous-échantillon de la population avant l'éradication (1). Sa composition génétique sera donc également un sous-échantillon de celle de la population avant éradication.

Dans le cas d'une recolonisation depuis une source extérieure, un faible nombre de migrants depuis une source connue (cas b et c, correspondant aux populations 2 et 3) ou inconnue (cas d) fondent une nouvelle population. On attend donc une forte différenciation génétique entre la population nouvellement analysée (B, C ou D), et la population précédemment éradiquée (1).

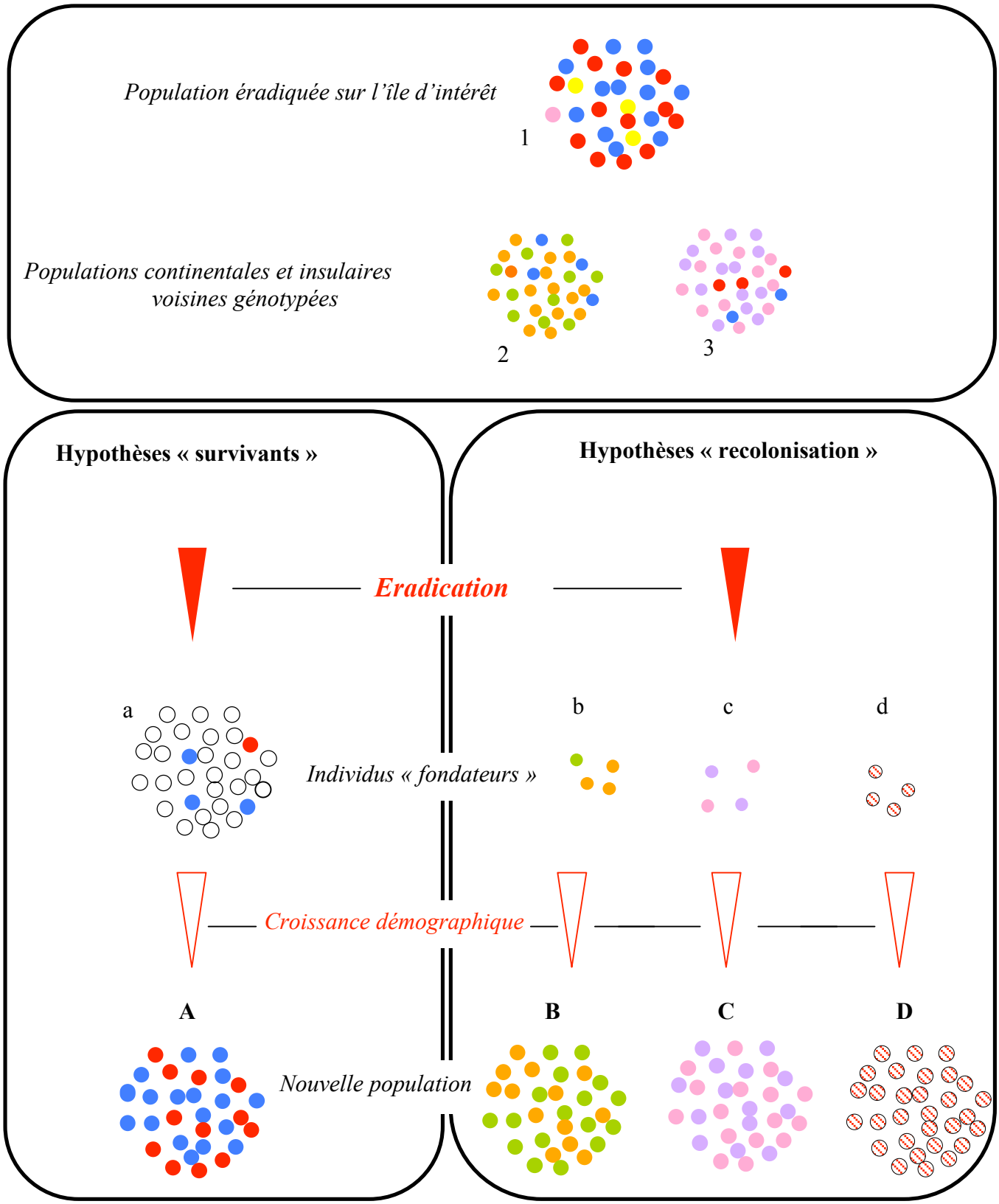


Figure 4 Représentation schématique des attendus dans le cas d'un échec d'éradication de l'île d'intérêt (1) dans le cas le cas de survivants (A) ou d'une recolonisation depuis une source connue (B) et (C) ou inconnue (D). Le détail est exposé dans le texte.

Une population partageant avec la population éradiquée une partie de sa composition allélique, telle que la population 3 de notre exemple, pourrait, avec une faible probabilité, être à l'origine d'une fondation nouvelle qui conduirait à une signature génétique correspondant à la survie d'un certain nombre d'individus à l'opération d'éradication. En effet, les populations 1 et 3 partagent des allèles, mais diffèrent par les fréquences de ceux-ci. Cependant, ce schéma illustre une caractérisation génétique simplifiée puisque seul un locus est pris en compte. En multipliant le nombre de loci non liés génétiquement, on diminue le risque d'inférences incorrectes.

Cette application théorique nécessite cependant une confrontation à une situation réelle afin de voir si un échantillonnage limité et un nombre raisonnable de marqueurs permettent réellement de tirer des conclusions claires et utilisables par les gestionnaires.

III.B. Premier exemple : échec d'éradication du rat noir en Martinique

La première application concerne la tentative d'éradication du rat noir sur les quatre îlets de Sainte-Anne, appartenant au Parc Naturel Régional de la Martinique. Sa présence sur l'île ne date que de 1995 et pourtant, suite à cette invasion, de fortes perturbations ont été observées parmi les populations de cinq espèces d'oiseaux marins (Pascal *et al.*, 2004a). Une première opération d'éradication a donc été menée en 1999 simultanément sur les quatre îlets, durant laquelle 269 rats ont été capturés (Figure 5).

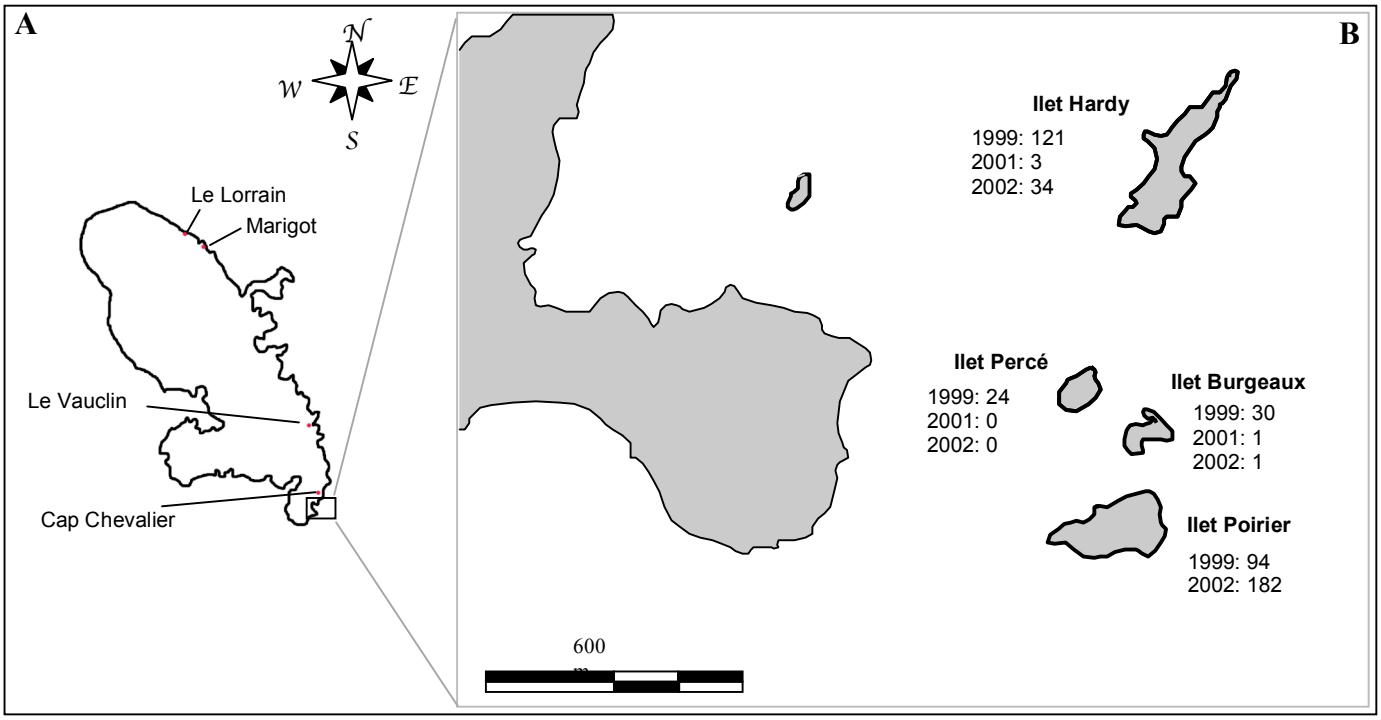


Figure 5 Localisation des échantillons de *R. rattus* sur **A** l'île principale de la Martinique et **B** sur les quatre îlets de Sainte-Anne. Les effectifs capturés lors des deux opérations d'éradication de 1999 et 2002, ainsi que pendant la mission de contrôle en 2001.

Cependant, lors d'une mission de contrôle en 2001, trois rats sont à nouveaux capturés sur l'îlet Hardy, tandis qu'un unique rat est capturé sur l'îlet Burgeaux. En revanche, aucun rat n'est capturé sur l'îlet Percé. L'opération de contrôle est annulée sur l'îlet Poirier, en raison de la présence de 12000 couples de Sternes fuligineuses, *Sterna fuscata* (Linné, 1766) qui en empêche l'accès. Enfin, lors de la seconde opération d'éradication, menée en 2002, 34 rats sont capturés sur l'îlet Hardy, 182 sur l'îlet Poirier. Un unique rat est encore capturé sur l'îlet Burgeaux tandis que l'absence de rat est confirmée sur l'îlet Percé.

En l'absence de marqueurs microsatellites spécifiques de *R. rattus*, le transfert des marqueurs précédemment utilisés sur *R. norvegicus* a été testé. Ce transfert avait déjà été tenté sur des populations de rats noirs de Corse (Paquier, 1999). La combinaison de ces deux tentatives nous a permis de sélectionner un jeu de sept marqueurs polymorphes, dont les profils chromatographiques sont clairement interprétables. Le mauvais état de conservation des tissus prélevés sur les quatre individus capturés lors de l'opération de contrôle en 2001, et sur l'unique individu capturé sur l'Ilet Burgeaux en 2002, n'a pas permis de réaliser leur typage génétique. Le détail de l'aspect méthodologique et des résultats est exposé dans le rapport rédigé à l'attention du Conservatoire du Littoral et du Parc Naturel Régional de la

Martinique et de l'INRA qui fait l'objet de la publication #2. Nous ne présenterons donc ici que les résultats principaux.

La comparaison du polymorphisme génétique des populations présentes lors de la première et de la seconde mission d'éradication révèle des résultats contrastés suivant l'île considérée. Les individus des quatre îlets sont faiblement différenciés génétiquement en 1999. De même, les individus présents sur l'îlet Poirier en 2002 sont très proches génétiquement de ce de 1999 sur la même île. En revanche, à l'exception d'un individu de l'îlet Hardy en 2002 qui porte exclusivement les allèles présents en 1999 sur cette même île, tous les autres individus sont génétiquement très distincts de la population éradiquée.

La comparaison de la composition allélique de ces populations complète le résultat basé sur les distances génétiques entre individus. Sept allèles présents sur l'îlet Hardy en 1999 ne sont plus observables en 2002. Sur l'îlet Poirier, un seul allèle nouveau est présent en 2002 par rapport à 1999. Celui-ci n'est présent qu'en une seule copie dans l'échantillon. A l'inverse, trois allèles présents en faible fréquence en 1999 ne sont plus observables en 2002 sur le même îlet. Au contraire, sur l'îlet Hardy, neuf nouveaux allèles, représentant cinq loci sur sept, sont observables dans l'échantillon de 2002, lorsque l'individu clairement identifiable comme issu de la population présente en 1999 est exclu.

Ainsi, il est fort probable que cette situation illustre les deux explications possibles d'un échec d'éradication. D'une part, la population présente sur l'îlet Poirier en 2002 est de manière très claire un sous-échantillon de celle présente en 1999, comme attendu dans le cas d'un échec dû à des survivants ayant relancé la démographie de la population. d'autre part, dans le cas de l'îlet Hardy, l'échantillon correspondant à la population présente en 1999 est extrêmement différenciée génétiquement de celle présente en 1999. Cependant, un individu est clairement assigné à la population présente en 1999. Il semble donc que l'échec soit à la fois dû à une recolonisation rapide de l'île après éradication mais également à la survie de quelques individus.

III.C. Second exemple : échec d'éradication du rat noir en Guadeloupe

Ce second exemple concerne l'îlet Fajou, situé à quelques kilomètres de la côte de l'île principale de la Guadeloupe (Figure 6). Cette île de 115 hectares est située au centre de la Réserve Naturelle du Grand Cul-de-sac Marin créée en 1987 et gérée par le Parc National de la Guadeloupe depuis 1991.

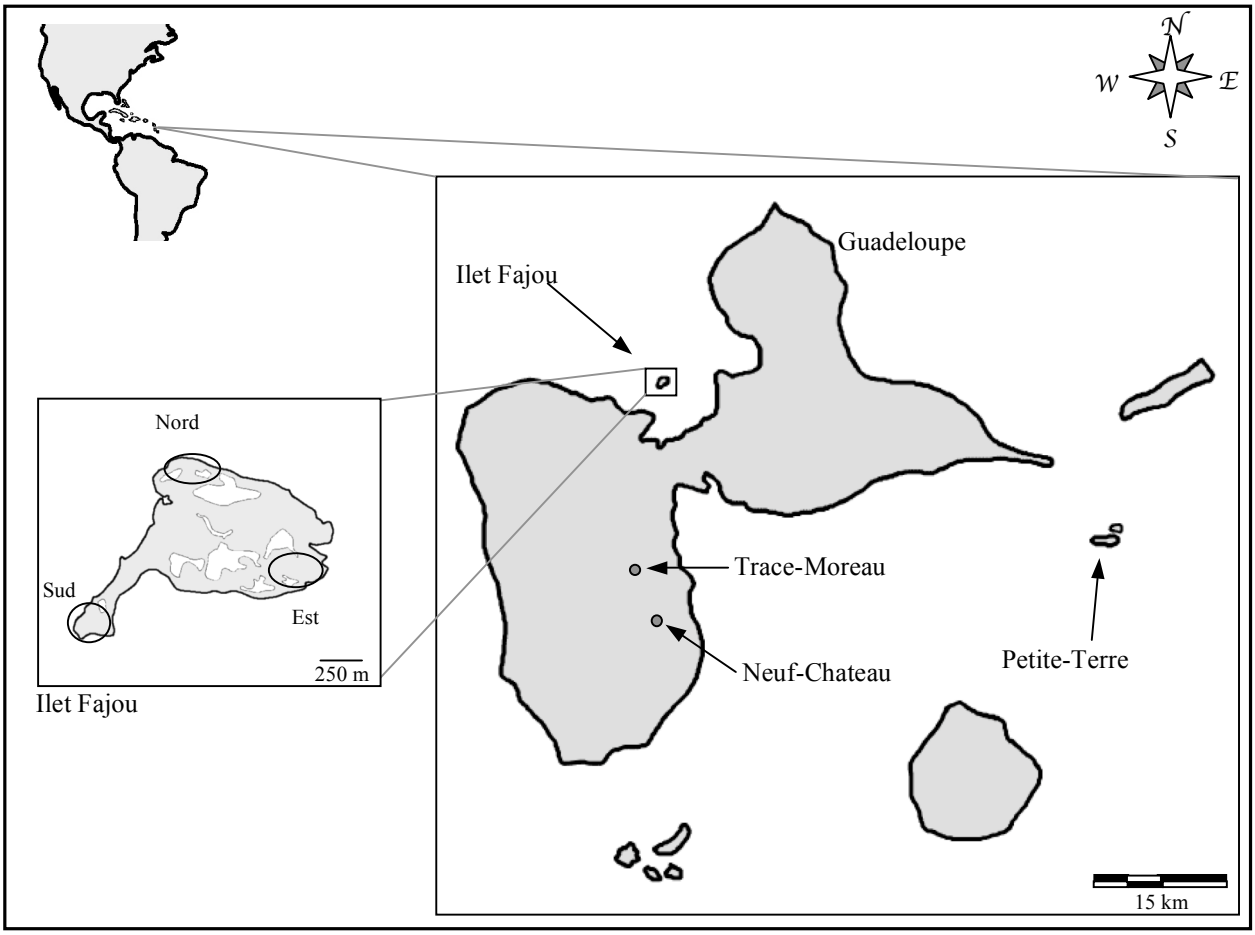


Figure 6 Localisation des échantillons de rats noirs réalisés sur l'île principale de la Guadeloupe ainsi que sur l'îlet Fajou.

Au début de l'année 2001, l'îlet hébergeait deux rongeurs, la souris domestique et le rat noir, introduits fortuitement à une date indéterminée, et un carnivore, la Mangouste de Java, introduite volontairement dans les années 1930. Suite à l'observation, entre 1991 et 1995, d'un fort taux de destruction des pontes de la tortue imbriquée, *Eretmochelys imbricata* (Linné, 1766) et d'une forte prédation sur les pontes et les couvées du râle gris, *Rallus*

longirostris (Boddaert, 1783), deux espèces protégées par la législation française, un plan de gestion de la réserve naturelle est réalisé (Mège, Anselme, 1997). Celui-ci comprend notamment l'éradication simultanée de la population de Rats noirs et de la population de mangouste de l'île. Celle-ci est tentée en 2001 et 728 rats sont capturés durant l'opération. Néanmoins, un an plus tard, si la mangouste a disparu, la présence du rat est détectée à nouveau lors d'une mission de contrôle. En 2002 est donc engagée une seconde tentative d'éradication menant à la capture de 230 individus.

Comme pour les populations Martiniquaises, des échantillons provenant de ces différentes opérations, ainsi que de deux localités de l'île principale et d'une autre île voisine (île de Petite-Terre) ont été analysés à l'aide de huit marqueurs microsatellites. Les résultats de cette analyse font l'objet de la publication #2.

Globalement, la situation est semblable à celle de l'îlet Poirier en Martinique : la population de 2002 est clairement un sous-échantillon de celle présente en 2001. Tandis qu'un seul allèle nouveau (présent en une seule copie) est observé en 2002 par rapport à la population de 2001, trois allèles sont perdus. Ces trois allèles étaient présents à faible fréquence dans la population de 1999. Tous les allèles présents à forte fréquence en 1999 sont retrouvés en 2002. Il est donc fort probable que la population de 2002 résulte d'une reprise démographique à partir de quelques survivants à la tentative d'éradication de 2001.

III.D. Implications en termes de gestion

Ces deux exemples, l'un en Guadeloupe et l'autre en Martinique, montrent que les causes d'un échec d'éradication peuvent être déterminées à l'aide des marqueurs génétiques hyper variables que sont les microsatellites. Les deux causes d'échec possibles identifiées précédemment ont été rencontrées au cours de ces deux études : l'échec de l'éradication a été expliqué par (i) la survie de quelques individus dans le cas de l'îlet Fajou en Guadeloupe et de l'îlet Poirier en Martinique, et par (ii) une recolonisation rapide depuis une source extérieure dans le cas de l'îlet Hardy en Martinique. Un échec d'éradication n'est donc pas toujours dû à la méthode d'éradication elle-même mais peut-être dû, en amont de l'éradication, à une interprétation erronée de l'isolement des populations sur les îles.

Par ailleurs, cette étude a montré, dans le cas de l'îlet Hardy que la vitesse de recolonisation après éradication peut être extrêmement rapide et que les échanges d'individus entre la côte et les îlets doivent être supérieurs à ce qui est imaginé. Il n'est cependant pas possible de savoir si cette recolonisation est le fruit de migrations spontanées de rongeurs ou s'il s'agit d'individus introduits par le biais des déplacements humains. Cette capacité de recolonisation insulaire rapide du rat noir a déjà été soulignée dans différentes régions biogéographiques. Cheylan *et al.* (1998), par exemple, indiquent que cette recolonisation après l'éradication prend de quelques mois pour des îles de Méditerranée faiblement isolées de la côte (<100m), à un an pour des îles plus distantes. De même, Russell *et al.* (2005) soulignent les qualités de nage de ce rongeur et insistent sur la rapidité avec laquelle certaines îles de Nouvelle-Zélande sont envahies par le rat noir après éradication (Clout, Russell, in press).

Cependant, ces observations ne permettent pas de vérifier s'il s'agit de réelles recolonisations ou de reprises démographiques par des survivants à l'opération d'éradication. Notre étude apporte, grâce à l'utilisation de marqueurs génétiques, une preuve de la vitesse de recolonisation possible. A la lumière de ces résultats, il paraît important pour les acteurs de terrains, d'affiner et d'adapter le protocole d'éradication, qui, s'il a été largement validé en région Atlantique, semble présenter quelques limites en zone tropicales. Il est également nécessaire de renforcer le dispositif visant à empêcher une réinstallation du rongeur, en contrôlant l'accès à l'île et en augmentant le dispositif préventif de piégeage installé de manière permanente.

III.E. Tests des méthodes génétiques de détection de bottleneck et scénarios de colonisation

La colonisation de l'archipel de la Guadeloupe par le Rat noir remonterait au 17ème siècle (Lorvelec *et al.*, 2001; Pinchon, 1967; Pregill *et al.*, 1994). Il est aujourd'hui présent dans la quasi-totalité des îles de l'archipel. L'îlet Fajou est susceptible d'avoir été colonisé très tôt après l'introduction du rat sur l'île principale dont il est très proche. En revanche, l'île de Petite-Terre n'a connu d'influence humaine forte qu'à partir du 19ème siècle. Ces colonisations correspondent donc a des événements chronologiquement distants et

probablement accompagnés d'effets fondateurs. Enfin, l'échec d'éradication sur l'îlet Fajou offre un exemple clairement identifié de goulet d'étranglement extrêmement récent. L'étude de l'échec de l'éradication dans cet îlet guadeloupéen nous a donc offert une occasion quasi-expérimentale de tester les méthodes de détection de goulets d'étranglement à l'aide de données de polymorphisme génétique neutre. Ce travail fait l'objet de la publication #3.

Trois méthodes de détections de goulets d'étranglement ont été testées, afin de déterminer les capacités de chacune à détecter ces événements qui n'ont a priori pas la même ancienneté. En effet, bien que le support théorique de ces prédictions soit faiblement développé (Garza, Williamson, 2001), les différentes méthodes proposées semblent capables de détecter des événements plus ou moins anciens. Ces méthodes sont détaillées dans la publication #2 mais nous rappellerons brièvement leurs principes.

La première d'entre elles (Figure 6-A) est fondée sur la détection d'un excès transitoire de l'hétérozygotie totale dans une population qui vient de subir un goulet d'étranglement (Cornuet, Luikart, 1996). En effet, les allèles perdus prioritairement lors du goulet d'étranglement sont les allèles rares. Or ces allèles ne participent que faiblement à l'hétérozygotie totale. Au vue du nombre d'allèles dans la population ayant subit une réduction d'effectif et sous l'hypothèse de l'équilibre mutation/dérive, on estime une hétérozygotie totale supérieure à celle observée après la réduction. Cependant, le retour à l'équilibre mutation / dérive est en général court ; il dépend de la sévérité du goulet, du taux de mutation des loci et de la taille efficace des populations. Cette méthode permet donc de détecter seulement les événements les plus récents.

La seconde méthode est la méthode graphique dite du « mode-shift » (Luikart *et al.*, 1998) également supposée détecter des événements récents. A l'équilibre mutation/dérive, une population est supposée présenter une distribution des classes de fréquence allélique dite « en L », c'est-à-dire que la classe la mieux représentée est celle des allèles les plus rares. Comme nous l'avons dit pour la méthode précédente, ce sont les allèles les plus rares qui sont perdus le plus vite lors d'une forte réduction de l'effectif efficace. En conséquence, dans une population qui a subi une réduction d'effectif, ce sont les classes des allèles « plus fréquents » qui sont les plus communs. Après un goulet d'étranglement, on attend donc que le mode de cette distribution se déplace vers une classe de fréquence intermédiaire (Figure 6-B).

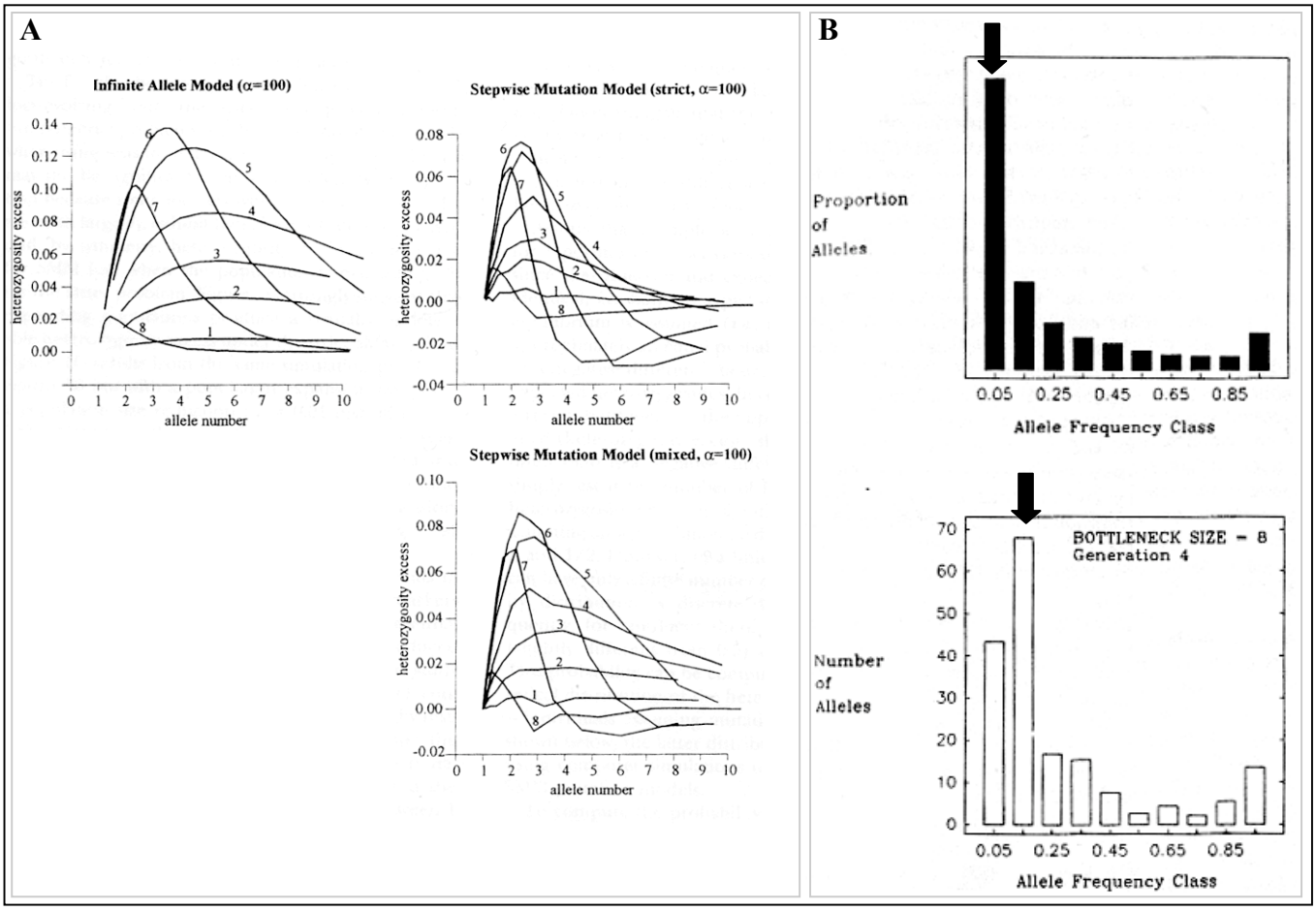


Figure 6 Après un goulet d'étranglement peuvent être observés, **A** un excès transitoire d'hétérozygotie est attendu pour un modèle mutationnel à nombre infini d'allèles, mais aussi pour un modèle par pas, strict ou mixte, (d'après Cornuet *et al.* (1996) **B** un changement de mode de la distribution des classes de fréquences alléliques (d'après Luikart *et al.* (1998)).

Enfin, la dernière méthode dite du « M ratio » est fondée sur l'analyse du rapport (M) entre le nombre d'allèles observés et le nombre d'états alléliques possibles étant donné la gamme maximale de taille observée (Figure 7). Il est attendu que, suite à une réduction drastique de l'effectif efficace, le nombre d'allèles total diminue plus vite que la gamme de taille maximale, entraînant une baisse de ce rapport.

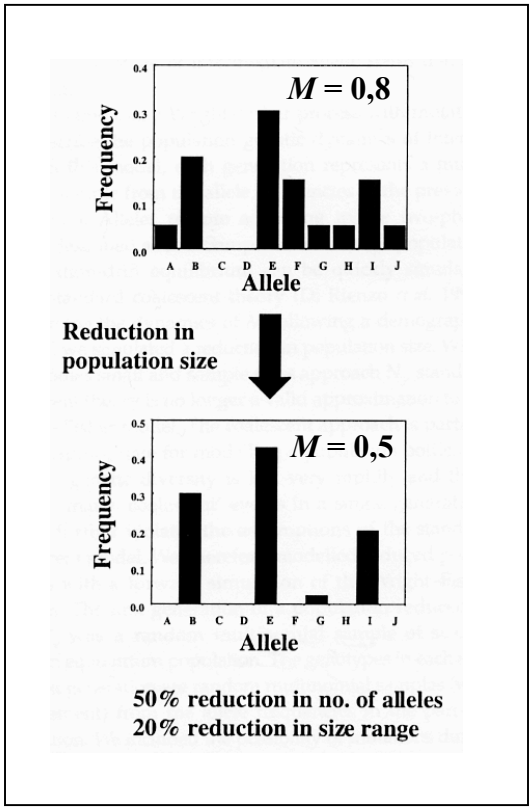


Figure 7 Suite à un goulet d'étranglement, le rapport M du nombre d'allèles observés sur la gamme de taille maximale diminue. Dans cet exemple, d'après Garza *et al.* (2001), ce rapport passe de 0,8 à 0,5.

Les résultats obtenus à partir de ces différentes méthodes ont été confrontés à l'histoire établie à partir des observations faites par l'Homme. Les résultats sont présentés en détail dans la publication #3. En résumé, la méthode du M ratio a détecté un signal de réduction d'effectif dans tous les échantillons analysés (Ile principale, îlet Fajou et Petite-Terre). En revanche, la méthode d'estimation de l'excès d'hétérozygotie ainsi que celle fondée sur le déplacement modal de la distribution des classes de fréquences alléliques ne permettent d'inférer un effectif récemment réduit que dans le cas de l'île de Petite-Terre et de l'îlet Fajou après la tentative d'éradication. Ces résultats, combinés à l'analyse de la répartition du polymorphisme génétique ont permis de proposer, le scénario de colonisation exposé dans la figure 8.

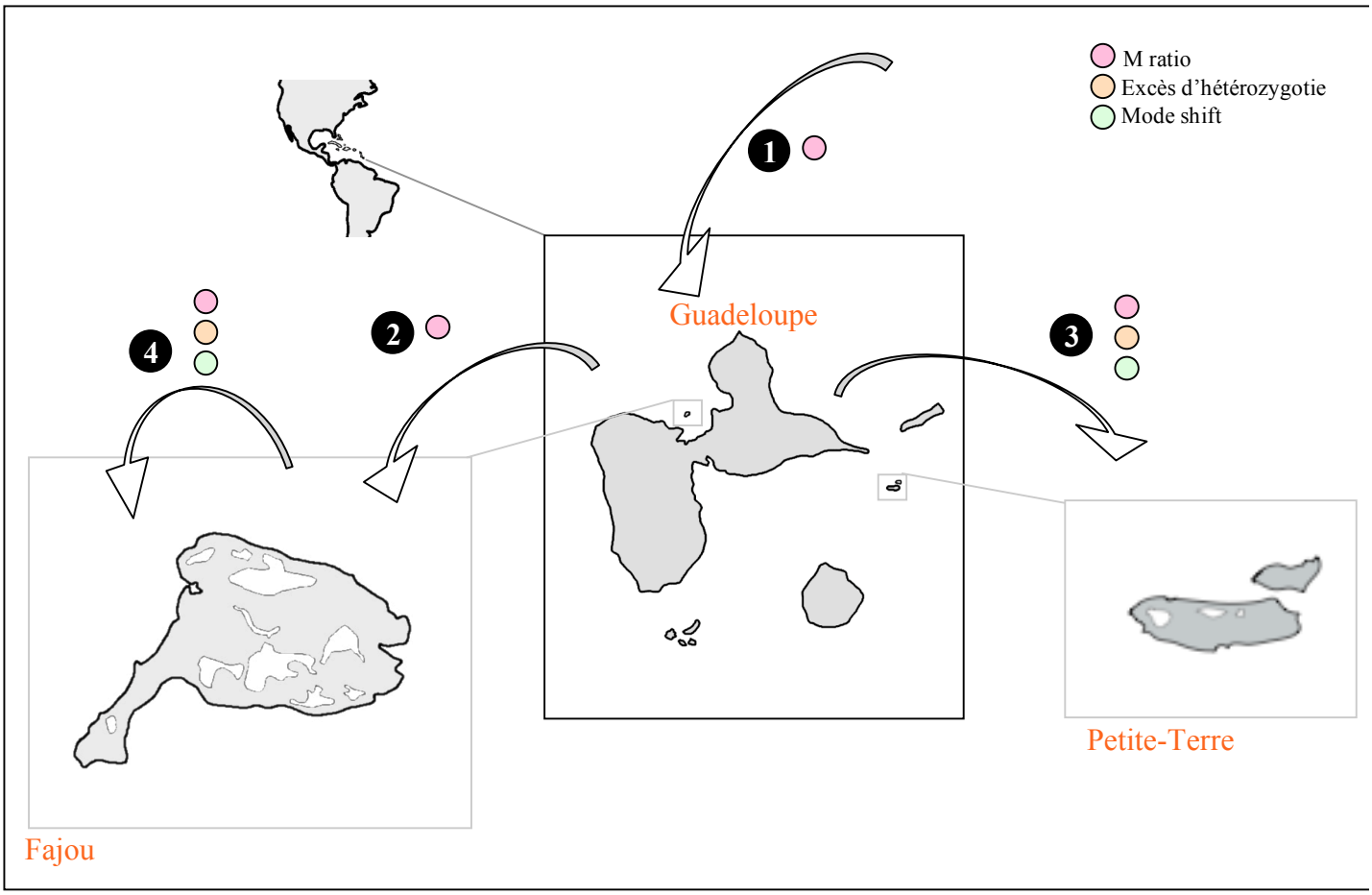


Figure 8 Goulets d'étranglement détectés au cours des différentes phases du scénario de colonisation, à savoir, **1** colonisation ancienne de l'île principale , **2** colonisation de l'îlet Fajou, **3** colonisation de l'île de Petite-Terre et **4** tentative d'éradication sur l'îlet Fajou. Les ronds colorés indiquent les méthodes signalant la détection d'une réduction d'effectif efficace.

En résumé, une réduction d'effectif efficace passée est détectée pour les populations de l'île principale, par la méthode du M ratio seulement. Ce résultat est interprété comme étant la signature de l'effet fondateur correspondant à l'introduction ancienne du rat noir sur l'île principale. Cette signature est retrouvée dans toutes les populations fondées par la suite dans les îlets voisins. Nos résultats sont en accord avec une colonisation ancienne de l'îlet Fajou puisque seule la méthode du M ratio détecte un goulet d'étranglement sur la population échantillonnée avant éradication. L'hypothèse de la colonisation plus récente de l'île de Petite-Terre est confortée par les résultats obtenus avec les méthodes de détection utilisées, puisque même les méthodes de détection fondées sur des paramètres dont le retour à

l'équilibre est rapide après l'événement de réduction permettent la détection d'un signal de goulet d'étranglement.

Pour ces deux îlets, la colonisation semble avoir eu lieu depuis l'île principale puisque les populations de ces îlets sont un sous-échantillon génétique de l'île principale. Enfin, la réduction drastique d'effectif liée à la tentative d'éradication sur l'îlet Fajou est bien détectée à l'aide des méthodes fondées respectivement sur l'excès d'hétérozygotie et du changement modal.

Ainsi, les résultats des méthodes de détection de goulets d'étranglement sont en accord avec les hypothèses formulées à partir des connaissances historiques de la colonisation de l'archipel par le rat. Ces résultats, combinés avec une analyse de la répartition du polymorphisme génétique, ont permis de préciser le scénario de colonisation, qui consisterait en une introduction initiale sur l'île principale, depuis laquelle un nombre réduit d'individus aurait colonisé les îles voisines.

PUBLICATION #2

Structuration génétique de populations insulaires allochtones de *Rattus rattus* des îlets de Sainte Anne. Aide à la gestion d'espèces introduites en milieu insulaire.

Jawad Abdelkrim, Michel Pascal, & Sarah Samadi

Rapport destiné à l'INRA, au Conservatoire du Littoral
et au Parc Naturel Régional de la Martinique

Structuration génétique des populations insulaires allochtones de *Rattus rattus* des îlets de Sainte Anne. Aide à la gestion d'espèces introduites en milieu insulaire.

Jawad Abdelkrim[1,2], Sarah Samadi[1] et Michel Pascal[2]

[1] UMR CNRS 7138 - Systématique, Adaptation, Evolution
Département de Systématique et Evolution du MNHN

[2] INRA de Rennes, Station SCRIBE – Equipe « Gestion des Espèces Invasives »

Travail réalisé au Service de Systématique Moléculaire (Muséum National d'Histoire Naturelle)

I - Objet de l'étude

A – Contexte

Depuis cinq siècles et plus particulièrement au cours des cinquante dernières années, le taux d'invasions biologiques a connu une accélération très significative à l'échelle du globe, accélération mise en rapport avec l'augmentation des échanges commerciaux et la mobilité des personnes (Di Castri, 1989; Mack *et al.*, 2000; Pascal *et al.*, 2003). Par ailleurs, les introductions d'espèces sont élevées au second rang des causes de perte de biodiversité à l'échelle du globe après la destruction des habitats (Alonso *et al.*, 2001) et la principale cause d'extinction d'espèces autochtones et endémiques dans les îles. C'est pourquoi l'étude des processus de colonisation et le contrôle des populations introduites sont actuellement des sujets centraux en biologie de la conservation ainsi qu'une des priorités pour les gestionnaires d'espaces naturels (D'antonio, Kark, 2002).

L'éradication de populations allochtones est devenu après une trentaine d'années de développement une mesure de gestion à la fois réaliste et efficace en réponse à ce problème. De nombreuses opérations sont menées avec succès à travers le monde. La majorité d'entre elles ont été entreprises en milieu insulaire (Clout, Veitch, 2002), à la fois en raison de l'effet particulièrement pervers des espèces allochtones sur ces écosystèmes, et parce que leur isolement géographique et leur faible superficie, les désignent comme des sites expérimentaux de choix pour tester et valider les méthodes d'éradication d'une part, et quantifier l'effet des espèces allochtones sur la flore et la faune autochtone d'autre part (Courchamp *et al.*, 2003; Simberloff, 2002). Plusieurs conventions internationales (Convention on Biological Diversity, Convention de Bern) soutiennent et encouragent ces mesures de gestion (Genovesi, 2005).

Le trio de rats commensaux (*Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus exulans*) est connu pour avoir été introduit par l'Homme dans plus de 80% des systèmes insulaires du globe (Atkinson, 1985). De plus, ces espèces sont réputées à l'origine de nombreux déclins d'espèces, voire d'extinctions, dans les écosystèmes envahis.

Sur les îlets de Sainte-Anne, l'introduction du Rat noir (*Rattus rattus*) est extrêmement récente puisqu'elle ne date que de 1995 (Pascal *et al.*, 2004). Malgré cela, les importantes perturbations engendrées aux populations de cinq espèces d'oiseaux marins ont conduit le

Parc Naturel Régional de la Martinique, gestionnaire de la Réserve Naturelle, à tenter l'éradication de ce rongeur (Pascal *et al.*, 2004).

B – Questions abordées

La tentative d'éradication qui s'est déroulée en 1999 n'a pas été couronnée de succès puisqu'en 2002, trois des quatre îlets (Ilet Burgeaux, Ilet Hardy et Ilet Poirier) hébergeaient toujours des rats noirs. Quelle est l'origine des sujets capturés sur les îlets en 2001 et 2002 ? Survivants et/ou descendants de survivants de la tentative d'éradication, nouveaux arrivants en provenance de l'île de la Martinique ou les deux? Dans la première alternative, la survie de l'espèce s'est-elle réalisée sur chacun des îlets ou sur l'un ou plusieurs d'entre eux qui servirent de source aux autres ? L'analyse de la structure génétique des échantillons collectés lors des opérations successives de gestion est susceptible d'apporter des éléments de réponses à ces questions.

En effet, nous avons montré précédemment qu'il était possible d'inférer le niveau de flux de gènes entre des populations insulaires de *R. norvegicus* à partir de l'étude de la structuration génétique de ces populations (Abdelkrim *et al.*, in press-a; Calmet *et al.*, 2001). Sous réserve de réaliser avec succès le transfert de cette méthode au Rat noir, l'éventuelle mise en évidence de l'absence d'une structure génétique significative au sein de l'ensemble des populations des îlets, et la mise en évidence d'une différence génétique entre les populations insulaires et celle de la côte Martiniquaise permettra de **tester *a posteriori* si l'unité d'éradication (Robertson, Gemmell, 2004) retenue *a priori* pour planifier la tentative d'éradication de 1999 était pertinente**. Le choix de l'unité d'éradication retenue, l'ensemble des quatre îlets, a été motivé par la recherche de réduire dans toute la mesure du possible la probabilité de les voir recolonisées en cas de succès de l'éradication. Ce choix a été fondé sur deux hypothèses, la première, que la faible distance inter-îlets autorisait le passage d'individus de l'un à l'autre, la seconde, que le bras de mer séparant les îlets de l'île de la Martinique constituait une barrière suffisante pour prévenir la réinfestation depuis celle-ci.

Par ailleurs, l'éventuelle mise en évidence d'une structure génétique significative au sein de l'ensemble des populations des îlets devrait permettre la comparaison de la signature génétique des populations capturées en 2002 à celles de 1999, et de déterminer si **la réinstallation du rat noir sur certains îlets est due à un échec de l'opération**

d'éradication ou à une recolonisation post-éradication qui indiquerait une forte vulnérabilité des l'îlets à l'invasion**.** En termes de gestion, pouvoir trancher entre ces deux explications est en effet essentiel puisque, dans le premier cas, il s'agira de reconsidérer la méthode d'éradication employée alors que dans le second, il s'agira de mettre en place une méthode de prévention de la réinstallation de l'espèce cible.

L'objet de ce travail est donc :

- D'établir si la méthode d'analyse de la structure génétique de populations insulaires de rats surmulots est transférable au rat noir,
- En cas de succès, d'apprécier le niveau de structuration des populations de rats noirs insulaires dans l'espace (îlets de Sainte Anne, île de la Martinique) et dans le temps (1999, 2001, 2002),
- Afin de statuer sur la ou les causes d'échec de la tentative d'éradication de 1999.

II - Matériel et méthodes

A - Matériel biologique

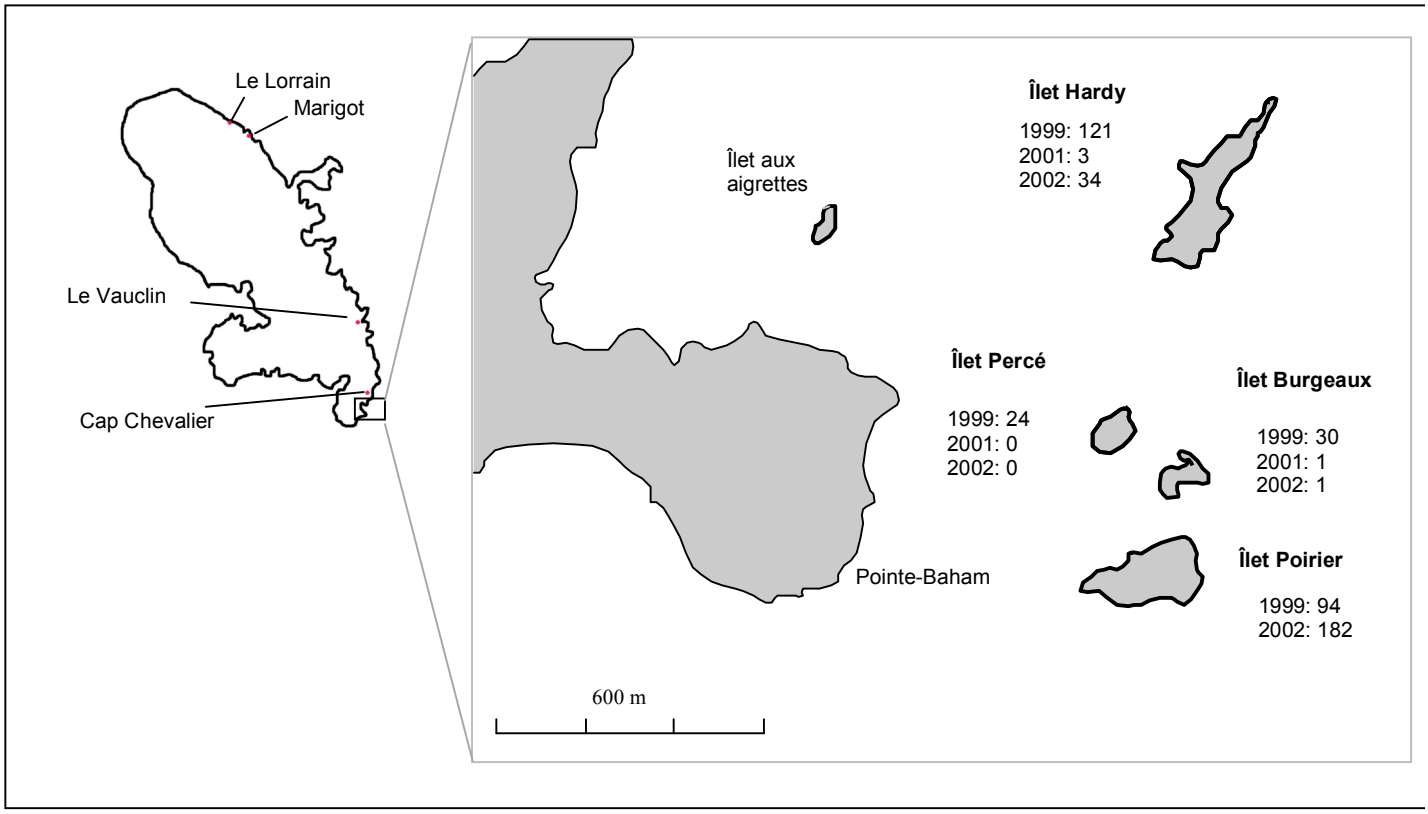


Figure 1 – Echantillonnage de *R. rattus* en Martinique et sur les îlets de Sainte-Anne. Les sites échantillonnés sur la côte Martiniquaise en 1999 sont indiqués ainsi que les effectifs capturés sur les îlets en 1999, 2001 et 2002.

En 1999, lors de la première tentative d'éradication, 269 rats noirs ont été capturés sur l'ensemble des quatre îlets de Sainte Anne (Fig. 1). Lors de la mission de contrôle de 2001, des rats ont cependant été à nouveau capturés sur les îlets Burgeaux (1) et Hardy (3), l'îlet Percé en étant dépourvu et l'îlet Poirier n'étant pas accessible à cette époque en raison de la présence de 12000 couples de Sternes fuligineuses (*Sterna fuscata*). Une seconde tentative d'éradication a eut lieu sur les deux premiers îlets au terme de ce contrôle. En 2002, lors du second contrôle, l'absence de rats sur l'îlet Percé a été confirmée tandis qu'un unique individu fut à nouveau capturé sur l'îlet Burgeaux. En revanche, 34 captures ont eu lieu sur l'îlet Hardy et 182 sur l'îlet Poirier. La troisième tentative d'éradication qui s'est déroulée à l'issue de ce

second contrôle a été couronnée de succès. C'est donc un total de 490 rats noirs qui a été collecté sur l'ensemble des quatre îlets entre 1999 et 2002.

La mauvaise conservation des tissus prélevés sur les quatre spécimens collectés en 2001 et sur l'unique spécimen capturé en 2002 sur l'îlet Burgeaux, a conduit à les exclure de la présente analyse (Tableau 1). Par ailleurs, comme les méthodes statistiques permettent de travailler avec une puissance satisfaisante avec des échantillons de 25 individus, seul un sous échantillon d'une trentaine d'individus a été pris en considération quand l'effectif capturé a dépassé cette valeur. Enfin, 20 individus échantillonnés sur la côte proche ont été inclus dans l'analyse, ce dernier échantillon permettant d'évaluer le niveau de variabilité génétique de *R. rattus* en Martinique et de le comparer à celui établi pour les îlets. Il faut cependant noter que cet échantillon est composé d'individus venant de plusieurs localités de la côte Martiniquaise et non d'une population bien définie.

île/commune	Année	N	n
Burgeaux	1999	30	30
	2001	1	0
	2002	1	0
Hardy	1999	121	28
	2001	3	0
	2002	34	28
Percé	1999	24	24
Poirier	1999	94	28
	2002	180	29
Cap chevalier	1999	4	4
Marigot	1999	6	6
Le Lorrain	1999	9	9
Le Vauclin	1999	1	1

Tableau 1 – Nombre d'individus capturés (N) et nombre d'individus utilisés pour l'analyse génétique (n) au sein de chaque localité

B - Marqueurs génétiques

Un grand nombre de marqueurs moléculaires de type microsatellite sont disponibles pour le Rat surmulot, *R. norvegicus* (Jacob *et al.*, 1995). En conséquence, nous n'avons pas cherché à développer des marqueurs microsatellites spécifiques de *R. rattus*. Nous avons choisi de transférer les marqueurs utilisés pour *R. norvegicus* à *R. rattus*. Ce transfert a été

réalisé avec succès pour 7 des 8 marqueurs utilisés dans Abdelkrim *et a*l (in press-b), le locus D18Rat75 n'ayant pas donné de résultat satisfaisant.

C - Analyses statistiques

Afin d'estimer le niveau de variabilité des populations, le nombre moyen d'allèles par locus ainsi que l'hétérozygotie a été calculé pour chacune d'entre-elles. L'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE) a été estimé à l'aide du logiciel GENEPOP 3.3 (Raymond, Rousset, 1995). Un écart à cet équilibre peut être interprété de plusieurs façons. Il peut résulter par exemple d'un système de reproduction s'écartant de la panmixie (i.e. les individus ne se reproduisent pas au hasard entre eux) ou de l'existence insoupçonnée d'une sous-structuration d'un échantillon (i.e. un échantillon a pu être considéré comme issu d'une seule population alors qu'il était constitué d'individus provenant de plusieurs populations).

Différentes méthodes ont été employées afin d'évaluer le niveau de structuration génétique entre les différents échantillons. Tout d'abord, des arbres de distance génétique entre populations ainsi qu'entre individus ont été réalisés. A cette fin, la valeur de la distance génétique fondée sur la proportion d'allèles partagés (Bowcock *et al.*, 1994) a été calculée à l'aide du logiciel MicroSatellite Analyzer 3.00 (Dieringer, Schlötterer, 2002) et un arbre de neighbor-joining (Saitou, Nei, 1987) a été réalisé à l'aide du logiciel PHYLIP 3.5 (Felsenstein, 1989). Cette représentation graphique permet d'obtenir une vision générale des relations entre les populations et entre les individus. Afin de comparer la situation obtenue en Martinique à un référent extérieur, des échantillons précédement analysés (Abdelkrim *et al.*, in press-b) provenant de l'île principale de la Guadeloupe ainsi que de deux îles voisines (Ilet Fajou et Ile de Petite-Terre) ont été ajoutés dans l'arbre de distance entre populations. L'îlet Fajou est représenté par deux échantillons correspondant à la population présente avant et après une tentative d'éradication (en 2000 et 2002 respectivement).

Par ailleurs, le niveau de différentiation entre chaque paire de populations a été estimé par la mesure de F_{st} (variant de zéro pour des populations identiques à un pour des populations totalement différenciées) et par un test de différentiation génique qui permet d'apprécier si la différence de composition génétique observée au sein de chaque paire de populations est significative ou non. En supposant que les populations étudiées sont en accord avec les hypothèses qui sous-tendent le modèle en île de Wright, le nombre de migrants efficaces échangés par génération peut être estimé par la méthode des allèles rares (Slatkin,

1985). Nous avons estimé le nombre de migrants selon cette hypothèse dans deux sous-ensembles : (1) l'ensemble des populations des quatre îlets et (2) l'ensemble des populations des quatre îlets ainsi que de l'échantillon de la côte.

Afin de vérifier si la différentiation génétique des populations insulaires peut s'expliquer par la distance géographique qui les sépare, un test de Mantel a été réalisé entre une matrice de distance géographique et une matrice de distance génétique (distance des allèles partagés) pour les populations capturées en 1999 à l'aide du logiciel IBD (Bohonak, 2002). Les distances génétiques (brutes et log-tranformées) ont été comparées aux distances géographiques.

Enfin, le niveau de différentiation génétique a également été évalué à l'aide de deux méthodes d'assignation. La première est la méthode mise en oeuvre dans le logiciel GENECLASS 2.0 (Piry *et al.*, 2004) qui vise à déterminer quelle est l'origine géographique la plus probable de chaque individu en fonction de son génotype. L'assignation d'individus capturés sur une île donnée à l'échantillon d'une autre île conduit à conclure à l'existence de flux de gènes, et donc d'individus, entre ces deux îles. A l'inverse, l'assignation de 100% des individus à leur île d'origine d'origine conduit à l'inverse à conclure à l'isolement génétique des populations et à l'absence de flux d'individus entre ces îles. La seconde méthode est une méthode de regroupement (clustering) des individus en populations. Elle est fondée sur les probabilités Bayesiennes et est mise en oeuvre dans le logiciel STRUCTURE version 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000). Elle consiste à tester la vraisemblance du découpage du jeu de données en un nombre croissant de populations K. La valeur de K pour laquelle la vraisemblance est la plus forte indique le nombre le plus vraisemblable de populations présentes dans le jeu de données. La composition des populations correspond alors aux regroupements des individus obtenus pour cette valeur optimale de K.

III Résultats

A – Diversité génétique

localité	surface (ha)	Année	n	A	Hexp	Hobs	HWE
Burgeaux	0,5	1999	30	2.43	0.359	0.305	0.23
Hardy	2,6	1999	28	2.57	0.442	0.450	0.87
		2002	28	3.57	0.507	0.491	<0.001
Percé	0,5	1999	24	2.71	0.437	0.439	0.66
Poirier	2,1	1999	28	2.29	0.417	0.464	0.039
		2002	29	2.00	0.321	0.350	0.72
Martinique	-	1999	20	8.43	0.727	0.578	<0.001

Tableau 2 - Diversité génétique dans les différentes populations analysées.
(n : nombre d'individus analysés ; A : nombre moyen d'allèles par locus ; Hexp et Hobs : Hétérozygotie calculée et observée ; HWE : p value du test global par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg)

Les marqueurs microsatellites de *R. norvegicus* se sont révélés polymorphes pour l'ensemble des populations Martiniquaises de *R. rattus* prises en considération ici. Le nombre moyen d'allèles par locus et par population varie de 2 à 3,57 sur les îlets tandis qu'il s'élève à 8,43 dans l'échantillon provenant de l'île de la Martinique (Tab. 2). Alors que le nombre moyen d'allèles diminue de 2,29 à 2,00 sur l'îlet Poirier entre 1999 et 2002, celui-ci augmente de 2,57 à 3,57 pour l'îlet Hardy. Aucun écart aux proportions attendues à l'équilibre d'Hardy-Weinberg n'est observé en 1999 sur les îlets, mis à part l'îlet Poirier où cet écart est cependant faible et n'est observé que pour un seul locus sur les 7 analysés. En 2002, alors que l'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg établi pour l'échantillon provenant de l'îlet Poirier n'est pas significatif, il l'est pour l'échantillon provenant de l'îlet Hardy. Enfin, un écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg est observé pour l'échantillon provenant de l'île de la Martinique.

B – Structuration génétique

Les valeurs de F_{st} sont toutes significativement différentes de 0 (Tab. 3). La valeur du F_{st} par paire d'îles observée sur les échantillons collectés en 1999 varie entre 0,07 (Percé vs Poirier) et 0,20 (Percé vs Hardy). Les valeurs de F_{st} calculée entre l'échantillon de l'île de la Martinique et les échantillons insulaires de 1999 sont du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues entre paires d'îles en 1999. Les comparaisons de l'échantillon martiniquais avec ceux de l'îlet Poirier et de l'îlet Hardy collectés en 2002 conduisent en revanche à des valeurs du F_{st} légèrement plus élevées que celles obtenues lors de la comparaison de l'échantillon martiniquais à ceux collectés en 1999 sur ces deux îlets. La comparaison des échantillons collectés sur les îlets en 1999 avec les deux échantillons des îlets Poirier et Hardy collectés en 2002 indique des valeurs de F_{st} comprises entre 0,15 et 0,47. Il est à noter que la valeur de F_{st} la plus basse (0,15) est obtenue lors de la comparaison des échantillons collectés sur un même îlet (l'îlet Poirier) à deux dates différentes (1999 et 2002) alors que la valeur de F_{st} obtenue lors de la comparaison des échantillons provenant de l'îlet Hardy à ces deux dates fournit une des plus forte valeur observées (0,39). Enfin, la valeur la plus élevée de F_{st} est obtenue lorsque sont comparés les échantillons prélevés en 2002 sur les îlets Hardy et Poirier (0,44). Les valeurs de F_{st} obtenues sur les différents échantillons témoignent donc d'une différenciation significative des populations occupant les différents îlets et l'île de Martinique. Cependant, en 1999, les populations des îlets apparaissent moins différenciées entre elles qu'elles ne le sont en 2002. Seule la population de l'îlet Poirier conserve entre 1999 et 2002 le niveau de différenciation observé entre les îlets en 1999.

	Bu-99	Pe-99	Po-99	Ha-99	Po-02	Ha-02
Pe-99	0,13	-				
Po-99	0,13	0,07	-			
Ha-99	0,15	0,20	0,17	-		
Po-02	0,31	0,24	0,15	0,32	-	
Ha-02	0,47	0,37	0,37	0,39	0,44	-
Martinique-99	0,19	0,13	0,15	0,18	0,28	0,23

Tableau 3 – Valeurs de Fst calculées entre chaque paire de population. Toutes ces valeurs sont significativement différentes de zéro. (Po : Poirier, Pe : Percé; Bu : Burgeaux; Ha : Hardy)

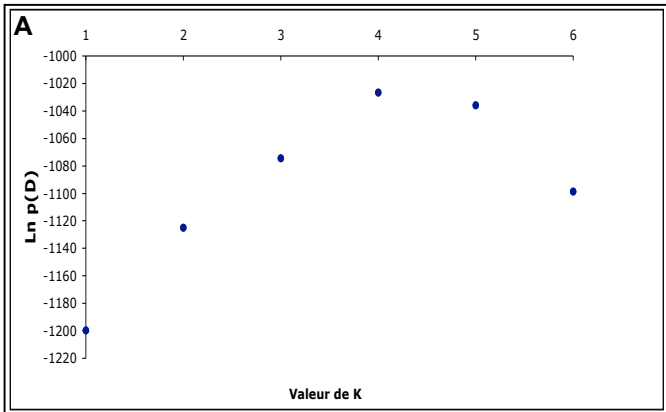
Les tests d'assignations fondés sur la probabilité d'appartenance des individus aux différents échantillons collectés indiquent également une forte structuration génétique. En effet, 146 individus sur 167 (87 %) sont assignés à l'échantillon correspondant à l'île et à l'année de leur capture (Tab. 4). En outre, aucun individu provenant de la Martinique n'est assigné à l'un des îlets et réciproquement, aucun individu collecté sur les îlets n'est assigné à la Martinique. Enfin, 21 individus ne sont pas assignés à leur échantillon d'origine. Parmi eux, 5 individus sont correctement assignés à leur îlet d'origine mais pas à l'année de leur capture. 90 % des individus sont donc assignés à leur localité d'origine.

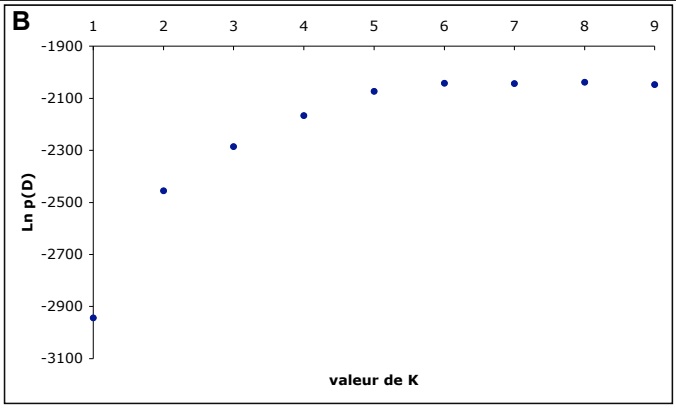
	Bu-99-	Ha-99-	Ha-02-	Pe-99-	Po-99-	Po-02-	Marti
Bu-99-	27			1	2		
Ha-99-		26			1	1	
Ha-02-			27		1		
Pe-99-	1			19	4		
Po-99-	2	1		2	21	2	
Po-02-					3	26	
Marti							20

Tableau 4 – Résultats du test d'assignation. Indique le nombre d'individus provenant de l'échantillon indiqué en ligne, assigné à chaque échantillon indiqué en colonne (Po : Poirier, Pe : Percé; Bu : Burgeaux; Ha : Hardy)

De même, l'analyse de regroupement opérée sur les seuls échantillons collectés en 1999 sur les îlets conduit à conclure à l'existence de quatre groupes différenciés d'individus

(Fig. 2-A). Cependant, si chacun de ces groupes est composé majoritairement d'individus provenant d'un seul des quatre îlets (Fig. 2-B), une proportion non négligeable d'individus originaires d'un îlet se trouve regroupée avec des individus d'autres îlets. Lorsque tous les échantillons sont considérés simultanément, la courbe de vraisemblance atteint un plateau, pour une valeur de K égale à six (Fig. 2-C). La valeur au plateau est alors significativement supérieure à toute valeur obtenue pour des valeurs de K inférieures. Pour cette valeur, les individus issus d'un même échantillon sont intégrés majoritairement dans un groupe donné, mis à part les spécimens échantillonnés sur l'îlet Poirier en 1999 et en 2002 qui sont rassemblés dans le même groupe (Fig. 2-D). Pour des valeurs de K supérieures à 6, ce dernier regroupement est conservé. Les nouveaux groupes consistent alors en un dédoublement des groupes existants pour K égal à six.





C

	Cluster 1	2	3	4
Bu-99	**0.635**	0.113	0.222	0.030
Ha-99	0.034	0.131	0.046	**0.789**
Pe-99	0.067	0.319	**0.589**	0.024
Po-99	0.084	**0.688**	0.170	0.058

D

	Cluster 1	2	3	4	5	6
Bu-99	0.028	0.045	0.233	0.007	0.004	**0.683**
Ha-02	0.006	0.038	0.005	0.005	**0.942**	0.004
Ha-99	**0.817**	0.095	0.038	0.009	0.008	0.033
Pe-99	0.022	0.219	**0.660**	0.010	0.007	0.081
Po-02	0.012	**0.893**	0.032	0.005	0.004	0.054
Po-99	0.049	**0.580**	0.233	0.011	0.006	0.119
Marti-99	0.013	0.013	0.029	**0.908**	0.018	0.019

Figure 2 – Résultat de la méthode d'assignation par clustering. La vraisemblance optimale du découpage en K populations est obtenue pour **A** K=4 lorsque seules les populations insulaires de 1999 sont considérées et **B** K=6 (correspondant au début du plateau) lorsque les 7 populations sont considérées (Poirier 1999 et 2002, Hardy 1999 et 2002, Percé 1999, Burgeaux 1999 et Martinique).
En **C** et **D** sont indiqués les pourcentages de gènes de chaque échantillon assignés à chaque cluster pour les valeurs optimales obtenue en A et B respectivement.

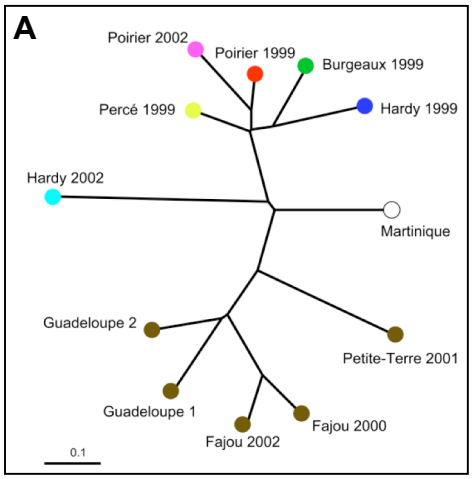
Les distances génétiques dont le calcul est fondé sur les proportions d'allèles partagés (Bowcock *et al.*, 1994) entre populations ainsi qu'entre individus sont représentées en figure 3-A et 3-B respectivement. La figure 3-A indique tout d'abord que les deux archipels comparés (Martinique et Guadeloupe) constituent deux groupes bien différenciés au sein desquels la structure est similaire. La figure 3-B indique que les individus collectés en 1999 sur les îlets Martiniquais sont proches génétiquement. En outre, ils partagent une partie importante de leur diversité allélique (Fig. 4). C'est le cas en particulier des îlets Burgeaux, Percé et Poirier qui partagent 70 à 80% de leur diversité allélique alors que la population de l'îlet Hardy ne partage avec chacun d'entre eux que 40 à 55% de sa diversité allélique. Il en va de même pour l'échantillon collecté sur l'îlet Poirier en 2002 qui se place à proximité de celui collecté sur ce même îlet en 1999 (Fig. 3-A). Près de 90% des allèles présents dans la population de l'îlet Poirier capturée en 2002 étaient déjà présents dans la population capturée

sur ce même îlet en 1999 (Fig. 5-A). Un seul allèle présent en 2002 n'était pas présent en 1999 (Fig. 5-B).

Au contraire, l'échantillon Martiniquais ainsi que celui de l'îlet Hardy collecté en 2002 sont éloignés de toutes les autres populations (Fig. 3-A et 3-B). Des allèles nouveaux apparaissent pour 5 des 7 loci entre 1999 et 2002 sur l'îlet Hardy (Fig. 5-C) et ces deux populations ne partagent que 40% de leur diversité allélique (Fig. 5-A).

Le calcul du nombre de migrants efficaces par la méthode des allèles rares indique un taux de migration d'un individu toutes les trois générations lorsque seuls les îlets sont considérés. Ce taux passe à un individu par génération lorsque l'échantillon de la côte de l'île principale est intégré.

Enfin, les tests de Mantel de corrélation entre distances géographiques et distances génétiques (brutes et log-tranformées) n'indiquent pas d'isolement par la distance qui soit significatif.



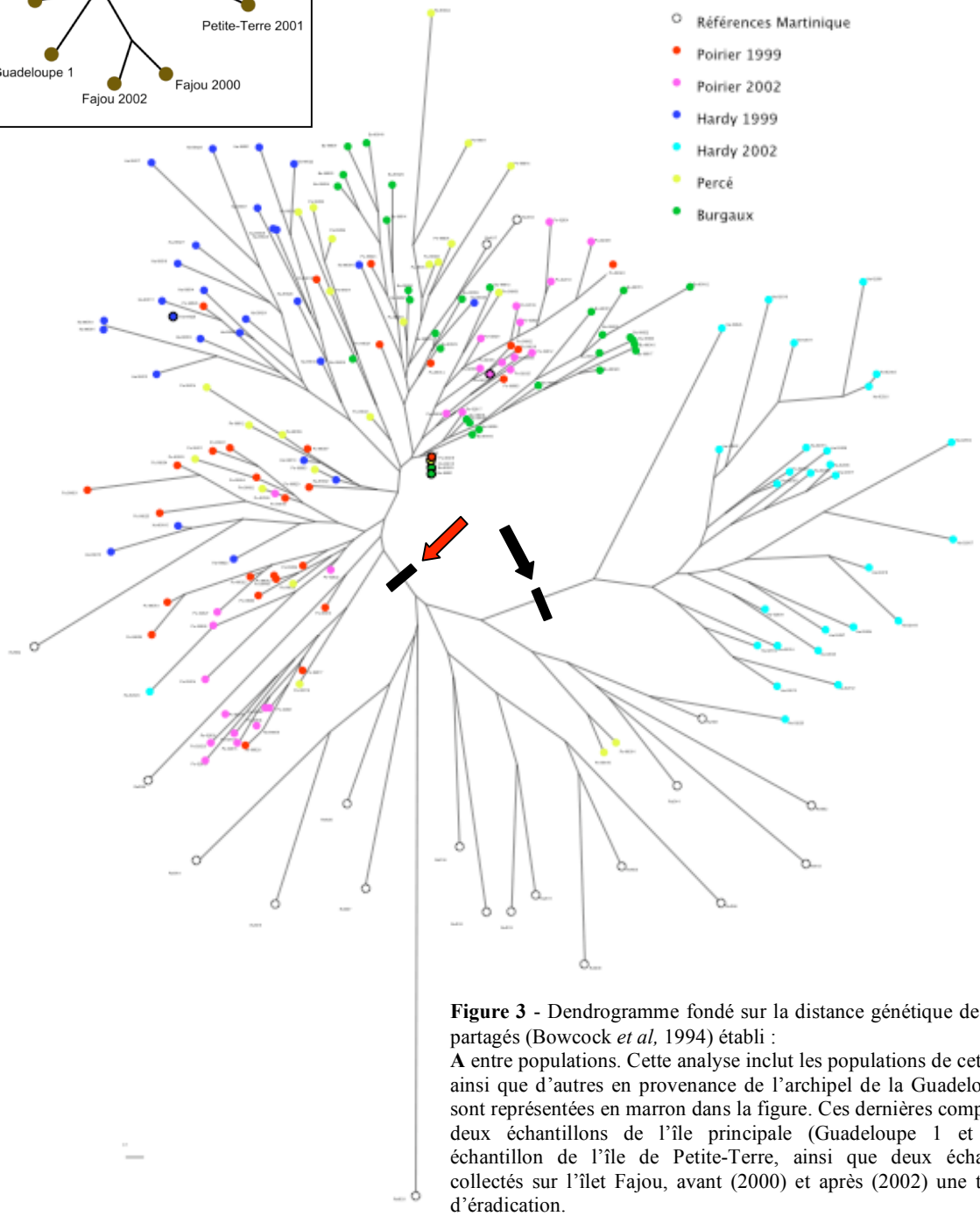


Figure 3 - Dendrogramme fondé sur la distance génétique des allèles partagés (Bowcock *et al,* 1994) établi :
A entre populations. Cette analyse inclut les populations de cette étude ainsi que d'autres en provenance de l'archipel de la Guadeloupe qui sont représentées en marron dans la figure. Ces dernières comprennent deux échantillons de l'île principale (Guadeloupe 1 et 2), un échantillon de l'île de Petite-Terre, ainsi que deux échantillons collectés sur l'îlet Fajou, avant (2000) et après (2002) une tentative d'éradication.
B entre individus. La flèche rouge indique la branche séparant les individus capturés en 1999 ainsi que les individus de l'îlet Poirier en 2002, des individus de la Martinique et de l'îlet Hardy en 2002. La flèche noire indique le groupement des individus de l'îlet Hardy en 2002).

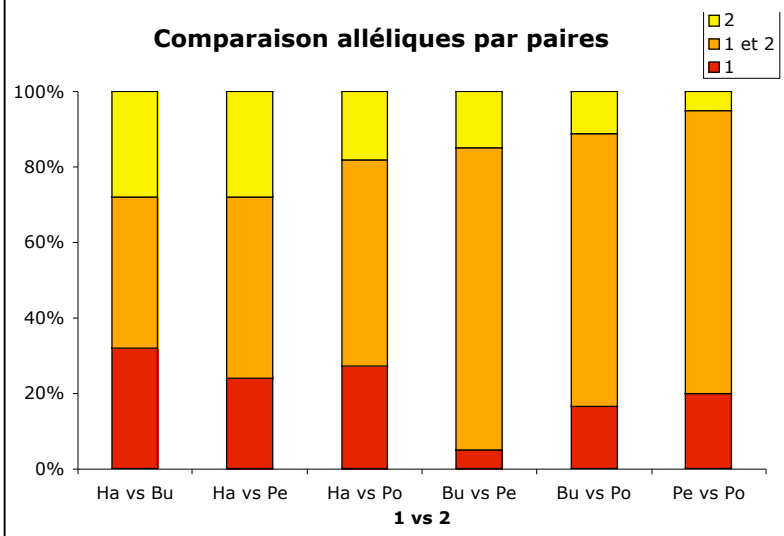
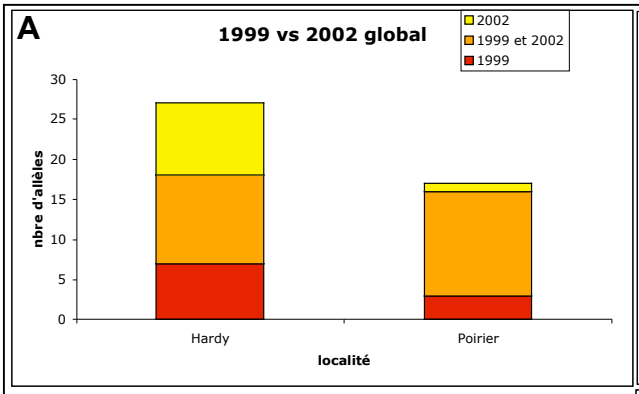


Figure 4 – Proportions d'allèles partagés et d'allèles propres à chaque îlet en 1999.

En rouge est représentée la proportion d'allèles qui ne sont présents que dans le premier terme de la comparaison, en jaune dans le second terme et en orange est représentée la proportion d'allèles communs aux deux îles comparées.

(Ha : Hardy, Pe : Percé, Bu : Burgeaux, Po : Poirier).



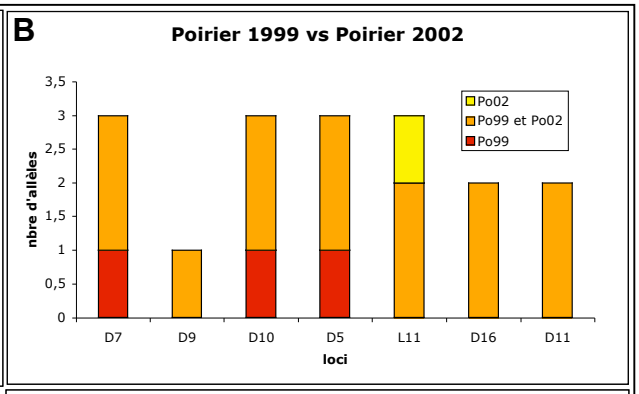
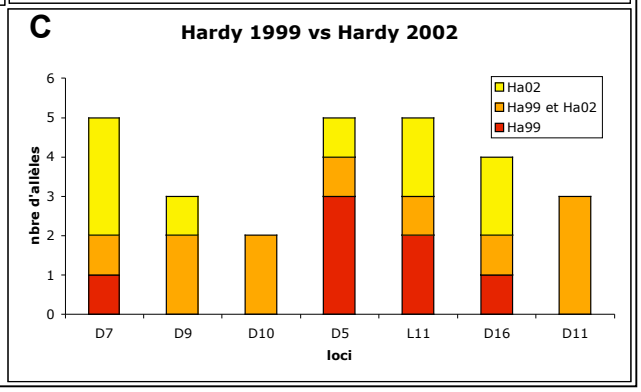


Figure 5 – Partage des allèles entre les populations de 1999 et 2002 **A** sur l'ensemble des locus pour les deux îlets, **B** pour chaque locus sur l'îlet Poirier et **C** pour chaque locus sur l'ïlet Hardy.



IV Discussion

A – Structuration génétique et connectivité des populations

Alors que l'introduction de *R. rattus* aux Antilles pourrait dater de plusieurs siècles, sa présence sur les îlets de Sainte-Anne n'est attestée que depuis 1996 ou 1997 (Pascal *et al.*, 2004). L'objectif de cette étude était d'étudier les modalités de colonisation sur ces derniers et d'estimer leur niveau d'isolement entre eux ainsi qu'avec la côte. Pour cela, nous avons utilisé les outils génétiques disponibles pour *R. norvegicus* transféré précédemment par Paquier *et al* (1999). Tous les marqueurs génétiques utilisés se sont révélés informatifs pour les populations insulaires Antillaises, aussi bien Martiniquaises (île principale et îlets de Sainte-Anne), que Guadeloupéennes (île principale, îlet Fajou et Petite-Terre). Les niveaux de diversité génétique observés sur les îlets de petite superficie de ces deux archipels sont au demeurant d'un niveau comparable.

L'émergence d'une structuration génétique au sein d'un ensemble d'îles est le résultat de l'action de trois types de facteurs principaux. Il s'agit d'un ensemble de facteurs régissant la fondation des différentes populations (sources et nombre de fondateurs), de la dérive génétique subséquente, et de la migration qui peut générer des échanges entre populations. L'utilisation de marqueur *a priori* neutre nous permet d'écarter l'action d'un quatrième facteur, la sélection. Tandis que les deux premiers facteurs (fondation et dérive) vont avoir tendance à provoquer une baisse de la diversité génétique par rapport à celle de la population source et une augmentation de la différenciation entre populations, la migration va, à l'inverse, apporter de la diversité génétique et homogénéiser les populations entre elles.

Dans le cas de mammifères indésirables comme le rat noir, la fondation d'une population insulaire est due vraisemblablement à un nombre réduit d'individus, voir à une unique femelle gestante. En effet, il semble peu vraisemblable qu'un grand nombre d'individus parviennent à coloniser une île dans un laps de temps court, que ce soit par leurs propres moyens ou profitant du transport par l'Homme. Ainsi, une forte différenciation génétique est attendue entre plusieurs populations, même fondées depuis la même source, par simple effet d'échantillonnage des fondateurs. On s'attend à une différenciation d'autant plus forte que la population source est génétiquement diversifiée et que le nombre de fondateurs est réduit. C'est pourquoi, une forte différenciation génétique inter-île est attendue, même si les îles sont colonisées par des individus provenant de la même source, et ceci par simple effet

d'échantillonnage des fondateurs. Par ailleurs, on s'attend à une différenciation d'autant plus forte que la population source est génétiquement diversifiée et que le nombre de fondateurs est réduit.

À cet effet fondateur vient s'ajouter une dérive génétique forte puisque, en dépit d'une forte croissance démographique, les premières générations suivant la fondation mettent en jeu un nombre réduit d'individus. Ces faibles effectifs entraînent des variations de fréquences alléliques aléatoires qui, de génération en génération, favorisent la perte de diversité génétique. Ce phénomène agissant de manière indépendante dans les différentes populations, la perte aléatoire d'allèles par dérive génétique va donc elle aussi augmenter la différentiation génétique entre populations insulaires.

En conséquence, en l'absence de flux migratoires entre des populations insulaires, même si leurs fondateurs proviennent de la même source, l'action conjuguée de l'effet fondateur et de la dérive génétique doit entraîner une différenciation génétique forte en seulement quelques générations.

Les résultats de l'analyse génétique des populations capturées en 1999 sur les Ilets des Sainte-Anne ainsi que sur la côte Martiniquaise nous permettent de formuler plusieurs hypothèses quant aux modalités de colonisation et à l'isolement de ces populations. Tout d'abord, il apparaît que les populations Martiniquaises forment un ensemble génétique structuré mais possédant tout de même une certaine homogénéité puisque toutes les populations de cette provenance sont plus proches entre-elles qu'elles ne le sont des populations Guadeloupéennes. Ce partage d'une partie de leur identité génétique peut être le résultat d'une histoire de colonisation commune et/ou d'une homogénéisation par migration.

La côte de l'île principale de la Martinique est la source de colonisation des îlets de Sainte-Anne la plus probable puisque la plus proche géographiquement. D'autre part, c'est de là que proviennent la plupart des embarcations visitant les îlets. Les résultats des analyses génétiques soutiennent cette hypothèse puisque la quasi-totalité des allèles présents dans les populations insulaires sont également présents sur la côte, qui montre par ailleurs un niveau de variabilité génétique beaucoup plus fort. Cette différence de niveau de variabilité entre île principale et îlot périphérique est d'ailleurs également observable l'ensemble des échantillons Guadeloupéens. La différenciation génétique entre les rats des différents îlets de Sainte-Anne devrait donc atteindre à des niveaux élevés si l'isolement entre eux est total. Or, ces populations montrent un niveau de différenciation modéré et partagent une forte proportion de leur diversité allélique. Le taux de migration efficace, estimée par la méthode des allèles rares, est égal à un individu, se reproduisant après avoir migré d'une île à une autre, toutes les trois

générations. Ce taux augmente à un individu par génération lorsque l'échantillon de la côte de l'île principale est pris en considération. Cependant, ce dernier échantillon ne représente pas une population clairement définie mais plutôt un mélange d'individus provenant de plusieurs populations, comme le suggère l'écart important à l'équilibre d'Hardy Weinberg observé en son sein. Il est donc possible que cet écart au modèle sous-jacent à la méthode employée entraîne une surestimation du taux de migration. Ce résultat suggère néanmoins un taux de migration non nul entre la côte et les îlets d'une part et entre les îlets eux-même d'autre part. Il est d'ailleurs intéressant de noter que la population insulaire la plus différenciée génétiquement des autres se trouve sur l'îlet Hardy, qui est également l'îlet le plus distant géographiquement des autres. Cependant, la distance géographique seule ne permet pas d'expliquer les distances génétiques observées entre les îlets ni entre les îlets et la côte. Il est possible que l'existence de courants maritimes forts et orientés du Nord vers le Sud explique l'écart observé à un modèle simple de corrélation entre la distance génétique et la distance géographique.

En conclusion, même si une structure génétique est observée entre les échantillons Martiniquais, il semble nécessaire d'envisager une migration non négligeable entre les îlets et la côte d'une part, et entre les îlets d'autre part, pour expliquer les distances génétiques et le partage de diversité allélique observés.

B – Analyse de l'échec d'éradication sur les îlets Hardy et Poirier

La situation observée après la tentative d'éradication sur les îlets de Sainte-Anne est particulièrement intéressante pour deux raisons. Tout d'abord, elle présente deux cas, contrastés dans leurs résultats alors que géographiquement très proches. D'autre part, elle illustre directement les hypothèses de migrations développées précédemment.

En effet, il apparaît clairement que la population de l'îlet Poirier en 2002 est issue de survivants de la tentative d'éradication de 1999. En effet, mis à part un nouvel allèle dans la population de 2002 (qui n'est représenté que par une seule copie dans l'échantillon), la diversité génétique de cette population est un strict sous échantillon de celle présente en 1999 sur l'îlet. Plusieurs allèles qui étaient présents à des fréquences faibles en 1999 ne sont plus

présents en 2002. Comme attendu lors d'un goulet d'étranglement (bottleneck) important, c'est-à-dire une réduction drastique des effectifs d'une population, les allèles les plus rares sont perdus plus facilement, par simple effet d'échantillonnage aléatoire.

Au contraire, dans le cas de l'îlet Hardy, près de la moitié des allèles observés en 2002 n'étaient pas présents en 1999 sur cette île. La diversité allélique augmente de 2,57 à 3,57 allèles par locus en moyenne. Ce résultat va donc à l'opposé des attendus d'un cas d'échec de la mission d'éradication évoqués plus haut. Il faut donc envisager l'arrivée d'individus depuis une source extérieure aux îlets pour expliquer ce résultat. Comme la quasi-totalité des nouveaux allèles était présente dans l'échantillon côtier de 1999, il est probable que des individus aient migré depuis la proche côte vers l'îlet Hardy entre 1999 et 2001. Le nombre maximal d'allèles nouveaux observés en 2002 par rapport à 1999 pour un même locus est de trois, pour le locus D7. Comme un individu porte au plus deux allèles d'un locus donné, il est nécessaire d'envisager l'introduction d'un minimum de deux individus après la tentative d'éradication pour expliquer la nouveauté génétique observée sur l'îlet Hardy en 2002.

Une telle rapidité de recolonisation peut apparaître surprenante. En effet, si des échanges réguliers ont lieu entre la côte et les îlets, pourquoi ne pas retrouver une diversité allélique plus importante sur les îlets ? Deux phénomènes peuvent expliquer cela. Tout d'abord, le premier phénomène est lié à la faible taille des populations des îlets, en comparaison avec les populations côtières. Les allèles nouveaux vont d'une part avoir tendance à disparaître avant de se disséminer dans la population, sous l'effet d'une dérive génétique importante. D'autre part, l'effectif efficace d'une population conditionne son niveau de diversité génétique à l'équilibre. Ainsi, à conditions égales par ailleurs, il est attendu qu'une population de taille importante présente en moyenne une diversité allélique plus importante qu'une population de taille inférieure. Le premier phénomène est en rapport avec le faible effectif des populations des îlets au regard de celui des populations côtières. Sous l'effet d'une forte dérive génétique, les allèles nouveaux vont avoir tendance à disparaître avant de se fixer dans la population des îlets. Par ailleurs, l'effectif efficace d'une population conditionne son niveau de diversité génétique à l'équilibre. C'est pourquoi, à conditions égales par ailleurs, il est attendu qu'une population d'effectif important présente en moyenne une diversité allélique plus importante qu'une population d'effectif inférieur. Le second phénomène pouvant expliquer la différence de diversité génétique entre les îlets et la côte, même en présence d'un taux de migration non négligeable, serait en rapport avec un comportement particulier du rat noir. En effet, Granjon *et al* (1989) ont montré l'existence de phénomènes d'élimination de nouveaux arrivants par des populations déjà établies. Il est donc

possible que les taux de migration réels entre la côte et les îlets soient plus importants que ne le laisse supposer l'analyse de la diversité génétique, nombre de migrants ne participant pas à la reproduction. Cependant, en réduisant de façon drastique l'effectif de la population insulaire, la tentative d'éradication aurait éliminé ou, pour le moins, aurait réduit ce comportement d'élimination, et aurait autorisé l'établissement de migrants.

V - Conclusion

Ainsi, le transfert à *R. rattus* des outils génétiques développés sur *R. norvegicus* a permis, et ce malgré un faible niveau de diversité génétique, de répondre à plusieurs questions d'intérêt concernant la gestion d'une réserve insulaire.

Tout d'abord, l'existence de flux d'individus entre les îlets et entre les îlets et la côte proche a été montrée. Fortement suggérée par l'étude de la structure génétique des populations avant la tentative d'éradication, la réalité de ce phénomène se trouve confirmée par le cas concret de la colonisation rapide de l'îlet Hardy à partir de sujets provenant de la côte proche suite à la tentative d'éradication. Par ailleurs, il a été démontré que c'est à la survie de quelques individus qu'est dû l'échec d'éradication sur l'îlet Poirier.

Deux causes indépendantes sont donc à l'origine de la présence du rat noir sur les îlets de Sainte Anne à l'issue de la tentative d'éradication de 1999 : échec de l'opération d'éradication, d'une part, et recolonisation par des sujets provenant de la côte proche, d'autre part. Si la tentative d'éradication conduite en 2002 a enfin été couronnée de succès, le risque de recolonisation des îlets perdure. Limiter ce risque implique une surveillance soutenue des postes d'appâtage permanents destinés à prévenir l'installation d'éventuels débarquant, d'une part, et une recherche active et fréquente de la présence du rongeur d'autre part. En effet, la détection précoce de toute réinfestation sera seule garante d'une bonne efficacité de l'élimination de l'allochtone à moindre coût. L'absence de recolonisation des îlets entre 2002 et 2005 témoigne du fait que l'effort consenti par l'équipe qui a la responsabilité de gérer la Réserve de Sainte Anne a porté ses fruits jusqu'à ce jour.

Bibliographie

Abdelkrim J, Pascal M, Calmet C, Samadi S (in press-a) The importance of assessing population genetic structure prior to eradication of invasive species: Examples from insular Rattus norvegicus populations. Conservation Biology.

Abdelkrim J, Pascal M, Samadi S (in press-b) Island colonization and founder effects: The invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (Rattus rattus). Molecular Ecology.

Alonso A, Dal lmeier F, Granek E, Raven P (2001) Biodiversity: Connecting with the Tapestry of Life Smithsonian Institution. Monitoring and Assessment of Biodiversity., Washington, D.C.

Atkinson IAE (1985) The spread of commensal species of *Rattus* to oceanic islands and their effects on island avifaunas. ICBP Technical Publication 3, 35-79.

Bohonak AJ (2002) IBD (Isolation by Distance): a program for analyses of isolation by distance. J Hered 93, 153-154.

Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL (1994) High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. Nature 368, 455-457.

Calmet C, Pascal M, Samadi S (2001) Is it worth eradicating the invasive pest *Rattus norvegicus* from Molène archipelago? genetic structure as a decision-making tool. Biodiversity and Conservation 10, 911-928.

Clout MN, Veitch CR (2002) Turning the tide of biological invasion: the potential for eradicating invasive species. In: Turning the tide: the eradication of invasive species (eds. Veitch CR, Clout MN), pp. 1-3. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Courchamp F, Chapuis J-L, Pascal M (2003) Mammal invaders on islands: Impact, control and control impact. Biological Review 78, 347-383.

D'antonio CM, Kark S (2002) Impacts and extent of biotic invasions in terrestrial ecosystems. TREE 17, 202-204.

Di Castri F (1989) History of biological invasions with special emphasis on the old world. In: Biological invasions: a global perspective (ed. Drake JA), p. 30. John Wiley & sons Ltd.

Dieringer D, Schlötterer C (2002) Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large data set. Molecular Ecology Notes 3, 167-169.

Felsenstein J (1989) Phylogeny Inference Package (Version 3.2). Cladistics 5, 164-166.

Genovesi P (2005) Eradications of invasive alien species in Europe: a review. Biological Invasions 7, 127-133.

Granjon L, Cheylan G (1989) Le sort de rats noirs (*Rattus rattus*) introduits sur une île, révélé par radio-tracking. C. R. Acad. Sci. Paris, 571-575.

Jacob HJ, Brown DM, Bunker RK, Daly MJ, Dzau VJ, Goodman A, Koike G, Kren V, Kurtz T, Lernmark A, et al. (1995) A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. Nat Genet 9, 63-69.

Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz F (2000) Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. Ecological Applications 10, 689-710.

Paquier F (1999) Structuration génétique et comportements sociaux d'une population insulaire de rats noirs (Rattus rattus) DEA.

Pascal M, Brithmer R, Lorvelec O, Vénumière N (2004) Conséquences sur l'avifaune nicheuse de la réserve naturelle des îlets de Sainte-Anne (Martinique) de la récente invasion du rat noir (Rattus rattus), établies à l'issue d'une tentative d'éradication. Revue d'Écologie (Terre & Vie) 59, 309-318.

Pascal M, Lorvelec O, Vignes JD, Keith P, Clergeau P (2003) Évolution holocène de la faune de Vertébrés de France: invasions et disparitions, p. 381. INRA, CNRS, MNHN. Rapport au Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, Paris.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrants detection. Journal of Heredity 95, 536-539.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945-959.

Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact test and ecumenicism. Journal of Heredity 86, 248-249.

Robertson BC, Gemmell NJ (2004) Defining eradication units in pest control programmes. Journal of Applied Ecology 41, 1032-1041.

Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4, 406-425.

Simberloff D (2002) Today Tiritiri Matangi, tomorrow the world! Are we aiming too low in invasives controle? In: Turning the tide of biological invasion: the potential for eradicating invasive species (eds. Veitch CR, Clout MN), pp. 4-12. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Slatkin M (1985) Rare alleles as indicators of gene flow. Evolution 39, 53-65.

PUBLICATION #3

Island colonization and founder effects: The invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (*Rattus rattus*)

Jawad Abdelkrim, Michel Pascal, & Sarah Samadi

Molecular Ecology

(sous presse)

Island colonization and founder effects:

The invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (*Rattus rattus*)

Abdelkrim, J.*[§], Pascal, M.[§] & Samadi, S.*

*UMR 7138: CNRS, IRD, Muséum National d'Histoire Naturelle, Université de Paris 6 « Systématique, Adaptation, Evolution », Département Systématique et Evolution, MNHN, 43 rue Cuvier, F-75005 Paris, France

[§]Equipe "Gestion des Populations Invasives", Institut National de Recherche Agronomique, Station SCRIBE, Campus de Beaulieu, F-35042 Rennes, France

Keywords: *Rattus rattus*, founder effect, bottleneck, biological invasion, islands, eradication management

Corresponding author:

Jawad ABDELKRIM, CNRS UMR7138/IRD UR 148 « Systématique, Adaptation, Evolution », Service de Systématique Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier, 75005, Paris, France.

Fax: 33 1 40 79 38 44

Email: jawad@mnhn.fr

Running title: Insular colonization and founder effects

Abstract

The stepwise colonization of islands within an archipelago is typically punctuated by successive founder effects, with each newly founded population being a sub-sample of the gene pool of the source island. Thus, the genetic signature of successive bottlenecks should be detected when analyzing the genetic structure between islands of an archipelago. To test this prediction, we investigated introduced ship rat populations, *Rattus rattus (*Linnaeus, 1758) populations in the Guadeloupe Archipelago. Three different methods, commonly named the heterozygosity excess, the mode-shift indicator and the *M* ratio method were used to detect bottlenecks from genetic data obtained with eight microsatellite markers on Guadeloupe and two neighboring islands, Petite-Terre and Fajou. Moreover, a recent eradication failure on Fajou allowed us to test the accuracy of the methods in an 'experimental-like' situation. The results indicate that rats were introduced on Guadeloupe first, which then became the source population for independent secondary colonization of Fajou and Petite-Terre. Moreover, the heterozygosity excess and the mode-shift indicator only detected bottlenecks for the recent colonization of Petite-Terre and the eradication failure on Fajou. However, bottlenecks were detected for all the populations using the *M* ratio method. This could be interpreted as the remaining signature of the early introduction of the ship rat in the archipelago.

Introduction

From Darwin on, evolutionary biologists paid much attention on evolution of insular populations (Grant, 1998). Indeed, islands have often been considered as natural laboratories for evolution (Mayr, 1963). In islands, populations are often small and isolated one from another allowing a rapid evolution through genetic drift and selection (Barton, 1998). However, the presence and the evolution of a species on a given islands results from a complex combination of geographical and historical features (Berry, 1998). Island populations may derive from ancestral populations that occupied insular areas before islands became isolated from mainland. An alternative possibility is secondary island colonization through migration. The endemism associated with islands may result from speciation events following the differentiation of populations either after island isolation or after founding by secondary colonization (Berry, 1986).

As insular colonization generally involves very few individuals (Whittaker, 1998), a new population on an island typically experienced a genetic bottleneck (Avise, 1994). During the founding of a population, the sub-sampling of individuals in the source population may lead to reduced genetic variation within the founded population and increased genetic divergence between populations (Chakraborty, Nei, 1977; Leberg, 1992; Nei *et al.*, 1975). Such founder effects can result in a cascade of genetic changes leading to evolutionary differentiation as first developed by Mayr (1954). Other founder effect models have since been developed, leading to much controversy surrounding its role in population differentiation (Templeton, 1980).

Effects resulting from variations of demographic parameters (e.g. number of founders) are determinant in the understanding of current genetic structure of insular populations. However, these demographic parameters are generally unknown. Recently, indirect methods

using genetic data have been developed to detect demographic events such as population bottlenecks. For example, following a bottleneck, the observed heterozygosity may exceed the heterozygosity expected from the observed number of alleles because of a faster reduction of allelic diversity than of heterozygosity (Cornuet, Luikart, 1996). Moreover, a modal shift in the distribution of alleles once pooled in frequency classes may also be observed, with a relative deficit of rarer alleles (Luikart *et al.*, 1998). In addition, the number of alleles in bottlenecked populations is expected to decline faster than the overall allele size range (Garza, Williamson, 2001). Previous studies have shown that the time needed to recover equilibrium is not the same for all these parameters. For example, tests based on the differential reduction of the number of alleles compared to the overall allele size range are expected to detect older bottleneck events than those detected by methods based on heterozygosity excess (Garza, Williamson, 2001).

Because many biological invasions mediated by humans are recent and some are well-documented, they constitute 'natural experiments' (Lee, 2002; Sakai *et al.*, 2001) that offer an opportunity to study evolutionary processes in general and particularly the role of founder effects. Few genetic studies have taken advantage of species introductions to understand population genetic structure and history (Clegg *et al.*, 2002; Estoup *et al.*, 2001). Moreover, understanding colonization and spread of introduced species is a priority for biological conservation, because the impact of invasive species on the native fauna and flora has been recognized for decades (Elton, 1958; Simberloff, 1996) and is now seen as a key component of global change (Mooney, Hobbs, 2000; Vitousek *et al.*, 1996).

The colonization of the Guadeloupe archipelago (French West Indies) by the ship rat, *Rattus rattus,* which probably occurred during the 17th century (Pinchon, 1967; Pregill, 1994; Lorvelec, 2001), provide an opportunity for studying colonization and associated founder effects. In order to study the insular genetic structure of *Rattus rattus* and the demographic

events linked to colonization of the archipelago, we sampled rats from the Guadeloupe and two neighboring islands, Petite-Terre and Fajou. The detrimental impact of rats on native species motivated eradication of rats on Fajou. However, one year after the eradication attempt, rats were still caught on the island (Lorvelec *et al.*, 2004; Lorvelec, Pascal, in press). The reappearance of rats could have resulted either from survivors of the eradication attempt or a new invasion event, presumably from Guadeloupe.

The aim of this study is to answer three questions by analyzing population genetic structure. First, do the rat population genetic structures from the different islands correspond to independent colonization events or do they accord with a scenario of a unique colonization of the main island, which became a source for invasion of the neighboring ones? Second, does the genetic analysis of rats sampled before and after the eradication attempt on Fajou suggest a failure of the eradication attempt or a new invasion? In both cases, Fajou samples offer the possibility of studying a very recent bottleneck. Third, the different potential chronologies of the invasion allow us to test the accuracy and sensitivity of different methods of detecting bottlenecks.

Materials and Methods

Sample collection

Rats were sampled in two locations on Guadeloupe (Trace-Moreau and Neuf-Chateau) and on two neighbouring islands, Fajou and Petite Terre. Fajou is located 4 km and Petite Terre 12 km from Guadeloupe (Figure 1, Table 1). Samples from Fajou stem from two different eradication attempts performed in 2001 and 2002. The eradication attempts included an extensive live-trapping phase followed by a brief poisoning step and provided 728 and 230 rats, respectively. Rats were present on the whole island. In order to test for genetic population structure on Fajou before and after the first eradication, three sub-samples were arbitrarily defined, corresponding to the extreme northern, southern and eastern part of the island respectively.

DNA extraction, amplification and typing

Rat tissues were preserved in 80% alcohol and stored at 4°C before extraction of genomic DNA using the DNeasy 96 tissue kit (Qiagen). We used eight microsatellite markers, characterized for *R. norvegicus* genome mapping (Jacob *et al.*, 1995): D5Rat83, D7Rat13, D9Rat13, D10Rat20, D11Rat56, D16Rat81, D18Rat75 and D11Mgh5. Each forward locus primer was labeled with a fluorescent dye before amplification by polymerase chain reaction (PCR). PCR was performed in 10 µL volumes, containing 1µg DNA, 0.1µM of forward primer labeled with one out of four fluorescent dyes (VIC, NED, 6-FAM and PET, Applied Biosystems) and 0.2µM of the reverse primer, 0.2µM dNTP, 1 unit Taq polymerase, and 1X reaction buffer with 1.5 mM $MgCl_2$. An annealing temperature of 55°C and 35 cycles were used for all loci. All PCR products were pooled together in a single run, since fluorescent dyes were chosen in order to avoid overlapping of the different loci, on an ABI prism 310

capillary electrophoresis system (Applied Biosystems). Amplification size was scored using GeneScan Analysis® software v. 3.1.2.

Genetic diversity and population structure

Standard genetic parameters were calculated to estimate genetic diversity within the two samples from Guadeloupe, Trace-Moreau (Tm) and Neuf-Chateau (Nc), the sample from Petite-Terre (Pt) and the samples corresponding to the first and the second eradication attempts (Fa01 and Fa02 respectively). Allelic richness, which corrects the observed number of alleles for differences in sample sizes, was computed using FSTAT software (Goudet, 2001). Allelic frequencies, observed heterozygosity and expected heterozygosity were computed using GENEPOP software version 3.3 (Raymond, Rousset, 1995). For loci with fewer than five alleles, an exact test of Hardy-Weinberg proportions was performed. For loci with five or more alleles, an unbiased estimate of the exact probability was obtained using the Markov chain method of Guo & Thompson (1992) for each combination of locus and population. The sequential Bonferroni test was used to calculate the critical significance levels for simultaneous statistical tests (Rice, 1989). Genotypic differentiation between all pairs of loci was tested for each sample using Fisher's test on RxC contingency tables using GENEPOP 3.3.

F_{st} parameter was estimated according to Weir & Cockerham (1984) and its significance level for each population pair was tested by making 10 000 permutations of genotypes among samples using MSA 3.00 (Dieringer, Schlötterer, 2002).

Population structure was also investigated using the assignment methods implemented in GENECLASS software version 2.0 (Piry *et al.*, 2004). The assignment test allows the

determination of the most probable origin of each individual by comparing the likelihood of the multi-locus genotype of a given individual in a set of pre-determined populations. The Bayesian method, first proposed by Rannala & Mountain (1997), was chosen and the "leave one out" option was used to compute the allelic frequencies in each population.

F_{st} calculation and assignment tests were conducted at two different geographical scales. First, population structure among islands was investigated by analyzing the whole sample (i.e. the two locations on Guadeloupe, Petite-Terre and the three sub-locations pooled within each year on Fajou). Second, fine scale population structure between the three sub-locations corresponding to the northern, southern and eastern part of Fajou was analyzed before and after the first eradication attempt.

Founder effects and bottleneck detection

Three different methods were used to detect population bottlenecks. The first method is based on the detection of 'heterozygosity excess'. In a recently bottlenecked population, the observed heterozygosity is higher than the heterozygosity expected from the observed number of alleles under the assumption of a population at mutation-drift equilibrium (Cornuet, Luikart, 1996). This prediction has been strictly demonstrated only for loci evolving under the Infinite Allele Model (IAM) by Maruyama and Fuerst (1985). However, for markers that follow a strict stepwise mutation model (SMM) there are situations in which this heterozygosity excess is not observed. Cornuet and Luikart (1996) suggested that for slight deviation of the SMM toward the IAM or a Two Phase Model (TPM), heterozygosity excess is still expected in a bottlenecked population. The results obtained separately for each locus were combined using the Wilcoxon test (Cornuet, Luikart, 1996; Piry *et al.*, 1999). Secondly, we used a qualitative descriptor of allele frequency distribution (the mode-shift indicator), which discriminates between bottlenecked and stable populations. For a stable population, it

is assumed that the rare allele are the most common, whereas in a recently bottlenecked population, intermediate classes are better represented (Luikart *et al.*, 1998; Luikart, Cornuet, 1998). A shift in the mode of the distribution of allelic frequency classes is thus expected. For these two methods, analyses were performed using BOTTLENECK v1.2.02 (Piry *et al.*, 1999). The third method (Garza, Williamson, 2001) uses the ratio *M* of the number of alleles to the allele size range. The observed value is compared to a distribution obtained by simulating 10 000 times a population at equilibrium. The test is significant if more than 95% of the simulated values are superior to the observed value. The value of *M* and its significance level were computed using the software M_P_Val (Garza, Williamson, 2001).

The heterozygote excess and the *M* ratio methods depend on the specified mutation model. Thus, following the authors' suggestions (Garza, Williamson, 2001; Piry *et al.*, 1999), a two phase model (TPM) was assumed with 90% of single-step mutations (mutations that increase or decrease the size of the allele by one repeat) and 10% of multi-step mutations, with an exponential distribution of step numbers having an average of 3.5 steps. Testing *M* also implies specification of $\theta = 4Ne\mu$ for the population simulated in order to compute the critical value of *M* under the null hypothesis of no bottleneck (*Ne* and μ are the effective population size and the mutation rate, respectively). For several mammalian species, microsatellite mutation rates have been estimated on the order of 10^{-3}-10^{-5} (Dallas, 1992; Ellegren, 1995; Weber, Wong, 1993). Assuming the range of values [10; 1000] for Ne, we performed the test of the *M* ratio for two values of θ, 10^{-4} and 4 respectively.

Results

Genetic variation

There was no evidence of linkage disequilibrium between any pair of loci in any population. The mean number of alleles per locus, corrected for differences in sample size, ranged from 2.42 for Fajou after eradication to 5.90 in Trace-Moreau on Guadeloupe (Table 2). Observed heterozygosity ranged from 0.43 to 0.68 (Table 2). Genotype frequencies are in accordance with Hardy-Weinberg expectations in all the populations except for locus D10Rat20 on Petite-Terre.

Inter-island differentiation

All F_{st} values are significantly different from zero (Table 3) and indicate a high level of inter-island differentiation, ranging from 0.161 between Guadeloupe and Fajou before the first eradication attempt to 0.422 between Petite-Terre and Fajou after the eradication attempt. In the assignment tests, all the individuals are assigned to the islands they were trapped on (Table 4).

Almost all alleles detected on Fajou and on Petite-Terre are also present on the main island (Fig. 2). By contrast, half of the alleles (32 over 56) observed on Guadeloupe are detected nowhere else. Finally, Fajou and Petite-Terre share almost one third of their alleles, whereas half of the remaining alleles are present only on one or the other island.

Analysis of eradication failure on Fajou

There is little differentiation between the subsamples from the two eradication attempts on Fajou. The pairwise F_{st} estimate is only 0.037 but still significantly different from zero (Table 3). In the assignment tests, most individuals are assigned to the sample from

which they originated (Table 4). Nevertheless, 19 individuals (22%) of the first eradication sample from Fajou are assigned to the second eradication sample. A symmetric result is observed: 17 individuals (19%) collected during the second eradication campaign are assigned to the first eradication sample. All individuals are assigned with probabilities of belonging superior to 90%.

Only one new allele is detected on Fajou after the first eradication attempt (Figure 2). Conversely, three alleles detected before the first eradication attempt are not observed in the subsequent population. Finally, 20 alleles are shared between the two samples and total number of alleles decreases from 23 to 21. While the number of frequent alleles (i.e., frequencies >10%) does not change, rare alleles (i.e. frequencies <10%) decrease from 7 to 5 (three are lost while one is new).

Population genetic structure on Fajou

The fine scale analyses of genetic diversity on Fajou (i.e. north, south and east parts of the island) indicate that there is no population structure prior to the first eradication. Indeed, pairwise F_{st} estimates between these samples do not differ significantly from zero, and 72% of the individuals are not assigned to their sample of origin (Table 5). Moreover, individuals cannot be excluded from the different locations, since their probabilities of belonging to each sub-sample are high (data not shown). However, a weak genetic structure appears in the population that stem from the second eradication attempt. Actually, individuals are mainly assigned to the sub-locations they come from (Table 5). Moreover, the significance level of the Hardy-Weinberg equilibrium test at the island level decreases from 0.12 to 0.05 (Table 2). This result could be explained as a Wahlund effect, when individuals from sub-structured populations are treated as a single sample (Wahlund, 1928).

Genetic signatures of population bottlenecks

Heterozygosity excesses were detected, with the chosen mutational model, for Petite-Terre and Fajou (after the first eradication attempt) with p-values of 0.007 and 0.039 respectively (Table 6).. A shifted mode in the distribution of allelic frequency classes is also detected for the same two samples using the mode-shift indicator. However, no bottleneck signature is detected for the two samples from Guadeloupe and for Fajou before the first eradication using these two methods.

The *M* ratio ranges from 0.512 for Fajou after the first eradication to 0.625 for Petite-Terre. The *M* values for Guadeloupe samples were 0.533 and 0.580 for the localities Trace-Moreau and Neuf-Chateau, respectively. Thus, in contrast to the two previous methods, the *M*-ratio method detects a bottleneck for all analyzed populations, since all *M* values are highly significant for both insular and Guadeloupe samples. These results are similar for both tested values of θ, 10^{-4} and 4.

Discussion

Genetic diversity and colonization patterns

Despite the large distribution and the detrimental impact on invaded ecosystems, very few genetic studies have focused on natural populations of ship rats. Because of the low level of polymorphism, allozyme markers are of limited value for studying fine population structure or demographic history, particularly on islands. For example, Patton *et al* (1975) relates that 30 over 37 loci were found monomorphic with the same allele fixed in ship rats populations from Galapagos Archipelago. The same result was found by Granjon *et al* (1993) on French Mediterranean islands where only six loci over the 26 screened were polymorphic. More recently, the use of microsatellite markers allowed (Robertson, Gemmell, 2004) to show a significant differentiation and, thus, limited gene flow between two populations of the related *Rattus norvegicus*, separated by a Fjord in South Georgia (South Atlantic).

Since the microsatellite markers used in the present study were first characterized for *Rattus norvegicus*, a loss of variability could be expected. Nevertheless, all the loci appeared polymorphic despite cross-amplification. The analysis of genetic diversity between rat populations in the Guadeloupe archipelago indicates a high level of inter-island population structure and a hierarchical distribution of genetic diversity. The main island, Guadeloupe, exhibits twice the genetic diversity level of the two other islands. Moreover, the allelic compositions of the rat populations of Fajou and Petite-Terre appear as two independent samples from Guadeloupe. Because of associated sampling effects, it seems unlikely that independent invasion events to each of these islands, even from the same external source, lead to such a pattern in the distribution of genetic diversity. Thus, a scenario involving a first introduction on Guadeloupe, followed by independent colonization from this island to the neighboring ones seems the most parsimonious conclusion.

Eradication failure vs. new colonization

Evaluating the cause of the presence of rats on Fajou after the eradication attempt is relevant for both applied and theoretical purposes. From the manager's point of view, the survival of some individuals would implicate a reevaluation of the fieldwork and the eradication protocol, whereas a new invasion would indicate that the unit to eradicate (Abdelkrim *et al.*, in press; Robertson, Gemmell, 2004) has been inadequately defined (i.e. migration occurs with neighboring islands). It would thus implicate to redefine the eradication unit and/or to reinforce survey of boat landing on the island. Potentially, the detection of a new invasion would give an indication of high invasion speed.

The rat populations on Fajou before and after the first eradication attempt are significantly differentiated (F_{ST}=0.037, $p<0.001$). Nevertheless, more than 83 % of the alleles present in the population after the first eradication attempt were also present in the population before. Only one allele is exclusively present in the population after the eradication attempt whereas three alleles are present only before the eradication attempt. These alleles were all present at low frequencies. The population after the eradication attempt thus appears to be a sub-sample of the population present on the island before the eradication attempt. Therefore, the results support the hypothesis that some individuals survived the eradication and founded a new population. Given the high inter-island level of divergence, one would expect the appearance of many new allelic states in the case of a new colonization subsequent to the eradication mission of 2001, even with a low number of founders. The genetic differentiation observed between the population prior to and after the eradication campaign can be explained by the sampling effect leading to a genetic bottleneck and resulting in significant changes in allelic frequencies.

Moreover, following the first eradication attempt and the resulting reduction in population size, a weak but significant genetic structure appeared at the island scale on Fajou.

This genetic structure observed between different locations on the same island may be attributed to local reproduction of isolated cores of survivors and subsequent local founder effects during population recovery. On the contrary, the absence of population structure between the different parts of the island before eradication may be explained by the high population density and substantial gene flow throughout the island.

The eradication failure on Fajou: an experimental bottleneck

Methods of bottleneck detection have recently been widely investigated theoretically (Cornuet, Luikart, 1996; Garza, Williamson, 2001; Luikart *et al.*, 1998; Luikart, Cornuet, 1998; Luikart *et al.*, 1999). Nevertheless, few studies have offered the opportunity to test their accuracy with a natural population that has experienced a very recent and well-documented bottleneck (Le Page *et al.*, 2000). The unexpected eradication failure on Fajou does however accidentally provide such an opportunity.

All three methods allowed us to detect a bottleneck but in the case of the *M* ratio method, the population was already showing a significant departure from the demographic equilibrium before the eradication attempt. Thus, in our case, the *M* ratio is not relevant since the remaining signature of an earlier event is masking the recent reduction of population size.

On the contrary, the heterozygote excess and the mode shift indicator indicate a significant reduction of population size after the eradication campaign, whereas genetic frequencies do not differ from equilibrium values before. This result is obtained for a wide range of mutation parameters (data not shown). Thus, with only eight loci and a mean number of alleles per locus less than three, the recent bottleneck experienced by the rat population on Fajou is efficiently detected.

Temporal sensitivity of bottleneck detection

It has been suggested that the different methods classically used to detect bottlenecks, relying on different statistics, exhibit different timescales for the detection. The *M* ratio method is expected detect older events than the others because of the longer time needed for the *M* statistics (i.e. the ratio of the number of alleles to allele size range) to reach equilibrium (Garza, Williamson, 2001). Our results are in accordance with this expectation since this method detected a significant reduction in population size for all the population studied, even from Guadeloupe. Ranging from 0.517 to 0.625, these values are in the range of the values observed for the datasets known to have experienced a reduction in population size analyzed by Garza & Williamson (2001). On the contrary, the other methods used (i.e. the heterozygosity excess and the mode-shift indicator) do not detect bottleneck events for the populations of Guadeloupe. This could thus correspond to the signature of an old founder effect, probably corresponding to the initial introduction of the rat in the Guadeloupe archipelago.

No bottleneck is detected on Fajou before the first eradication attempt using the heterozygosity excess and the mode-shift methods. Fajou is very close to Guadeloupe and has probably been visited by humans for a long time. Thus, the genetic signature of an initial bottleneck could have disappeared because of time and/or subsequent introductions. On the contrary, all the methods successfully detect a bottlenecked population on Petite-Terre. This island is geographically distant from Guadeloupe and has been less exposed to human activities, with permanent settlements only from the 19th century. The detection of a bottleneck on this island is thus in accordance with a very recent introduction of rats.

Our results suggest that even when genetic diversity and numbers of loci are low, one could reasonably expect to detect and to distinguish between potentially old and more recent reduction in population size and founder effects. Thus, the combination of the spatial distribution of genetic diversity with such methods of detection of historical variation of

population size allows a better understanding of the colonization process. Finally, if this knowledge is directly relevant to evolutionary biology, such molecular monitoring during an eradication campaign is also an appreciable tool for the management of invasive species, for example by allowing the distinction between an eradication failure and a recolonisation.

References

Abdelkrim J, Pascal M, Calmet C, Samadi S (in press) The importance of assessing population genetic structure prior to eradication of invasive species: Examples from insular Rattus norvegicus populations. *Conservation Biology*.

Avise JC (1994) *Molecular Markers, Natural History and Evolution* Chapman & Hall, New York.

Barton NH (1998) Natural selection and random genetic drift as causes of evolution on islands. In: *Evolution on islands* (ed. R. GP), pp. 102-123. Oxford University Press, Oxford.

Berry RJ (1986) Genetics of insular populations of mammals, with particular reference to differentiation and founder effects in british small mammals. *Biological Journal of the Linnean Society* **28**, 205-230.

Berry RJ (1998) Evolution of small mammals. In: *Evolution on islands* (ed. Grant PR), pp. 35-50. Oxford University Press, Oxford.

Chakraborty R, Nei M (1977) Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. *Evolution* **31**, 347-356.

Clegg SM, Degnan SM, Kikkawa J*, et al.* (2002) Genetic consequences of sequential founder events by an island-colonizing bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**, 8127-8132.

Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**, 2001-2014.

Dallas JF (1992) Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse. *Mammalian Genome* **3**, 452-456.

Dieringer D, Schlötterer C (2002) Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large data set. *Molecular Ecology Notes* **3**, 167-169.

Ellegren H (1995) Mutation rates at porcine microsatellite loci. *Mammalian Genome* **6**, 376-377.

Elton CS (1958) *The ecology of invasions by animals and plants* Methuen, London.

Estoup A, Wilson IJ, Sullivan C, Cornuet JM, Moritz C (2001) Inferring population history from microsatellite and enzyme data in serially introduced cane toads, Bufo marinus. *Genetics* **159**, 1671-1687.

Garza JC, Williamson EG (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* **10**, 305-318.

Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).

Granjon L, Cheylan G (1993) Différenciation génétique, morphologique et comportementale des populations de rats noirs *Rattus rattus* (L.) des îles d'Hyères (Var, France). *Rapport Scientifique du Parc National de Port-Cros* **15**, 153-170.

Grant PR (1998) *Evolution on islands* Oxford University Press, Oxford.

Guo SW, Thompson EA (1992) Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* **48**, 361-372.

Jacob HJ, Brown DM, Bunker RK*, et al.* (1995) A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. *Nature Genetics* **9**, 63-69.

Le Page SL, Livermore RA, Cooper DW, Taylor AC (2000) Genetic analysis of a documented population bottleneck: introduced Bennett's wallabies (Macropus rufogriseus rufogriseus) in New Zealand. *Molecular Ecology* **9**, 753-763.

Leberg PL (1992) Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution* **46**, 477-494.

Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Genetics and Evolution* **17**, 386-391.

Lorvelec O, Delloue X, Pascal M, Mège S (2004) Impacts des mammifères allochtones sur quelques espèces autochtones de l'Îlet Fajou (Réserve Naturelle du Grand Cul-de-Sac Marin, Guadeloupe), établis à l'issue d'une tentative d'éradication. *Revue d'Écologie (Terre & Vie)* **59**, 293-307.

Lorvelec O, Pascal M (in press) French alien mammal eradication attempts and their consequences on the native fauna and flora. *Biological Invasion* **6**.

Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* **89**, 238-247.

Luikart G, Cornuet JM (1998) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* **12**, 228-237.

Luikart G, Cornuet JM, W. AF (1999) Temporal changes in allele frequencies provide estimates of population bottleneck size. *Conservation Biology* **13**.

Maruyama T, Fuerst PA (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics* **111**, 675-689.

Mayr E (1954) Changes of genetic environment and evolution. In: *Evolution as a process* (eds. Huxley J, Hardy AC, Ford EB), pp. 157-180. Allen & Unwin, London.

Mayr E (1963) *Animal species and evolution* Harvard University press, Cambridge.

Mooney HA, Hobbs RJ (2000) Global Change and Invasive Species: Where Do We Go from Here? In: *Invasive species in a changing world* (eds. Mooney HA, J. HR), pp. 425-434. Island Press, Washington D.C.

Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**, 1-10.

Patton JL, Yang SY, Myers P (1975) Genetic and morphologic divergence among introduced rat populations (*Rattus rattus*) of the Galapagos archipelago, Ecuador. *Systematic Zoology* **24**, 296-310.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM*, et al.* (2004) GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrants detection. *Journal of Heredity* **95**, 536-539.

Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999) BOTTLENECK: a computer progam for detecting recent reduction in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* **90**, 502-503.

Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**, 248-249.

Rice WR (1989) Analizing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223-225.

Robertson BC, Gemmell NJ (2004) Defining eradication units in pest control programmes. *Journal of Applied Ecology* **41**, 1032-1041.

Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS*, et al.* (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**, 305-332.

Simberloff D (1996) Impacts of introduced species in the United-States. *Consequences* **2**, 13-22.

Templeton AR (1980) The theory of speciation via the founder principle. *Genetics* **94**, 1011-1038.

Vitousek PM, D'antonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* **84**, 468-478.

Wahlund S (1928) The combination of populations and the appearance of correlation examined from the standpoint of the study of heredity. *Hereditas* **11**, 65-106.

Weber JL, Wong C (1993) Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics* **2**, 1123-1128.

Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.

Whittaker RJ (1998) *Island biogeography* Oxford University Press.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Fabien Paquier, Jean-François Cosson and Jacques Cassaing for providing information about microsatellite loci for *Rattus rattus* and Marie-Catherine Boisselier, James Russell, Daniel Simberloff and particularly Carl-Gustaf Thulin for helpful comments on the manuscript. We also acknowledge two anonymous reviewers for their suggestions. The genetic work was performed thanks to a PhD grant attributed to J. Abdelkrim by the Conservatoire du Littoral et des Rivages Lacustres (CEL) and the financial support of the Parc National de la Guadeloupe. It was conducted at the "Service de Systématique Moléculaire" (IFR 101 - CNRS) of the Natural History Museum of Paris.

Figure legends

Figure 1 Map of Guadeloupe archipelago, showing the two locations (Trace-Moreau and Neuf-Chateau) on Guadeloupe, the main island, as well as Fajou and Petite-Terre Islands. Refer to Table 1 for population and sample numbers. Three sub-samples were defined on Fajou Island in the North, South and East extreme parts of the island.

Figure 2 Pairwise comparisons of the allelic compositions of the populations of *Rattus rattus* on three islands of Guadeloupe. Each histogram indicates the number of alleles only present in one of the two compared populations and the number of shared alleles.

Tables and figures

Table 1 Samples of *Rattus rattus* from Guadeloupe archipelago analyzed in this study.

Samples location	Abb	date	Mission type	n trap	n genot
Fajou Island	Fa-01	March 2001	1st eradication	728	87
	Fa-02	March 2002	2nd eradication	230	90
Petite-Terre Island	Pt	May 2001	Sampling	42	30
Guadeloupe main island					
Trace-Moreau	Tm	Jan 2000	Sampling	25	25
Neuf-Chateau	Nc	Jan 2000	Sampling	55	34

Abb: short name of the sample; n trap: number of individuals trapped; n genot: number of individuals genotyped

Table 2 Summary statistics for *Rattus rattus* populations from Guadeloupe archipelago.

SAMPLES		*n*	*Rs*	*He*	*Ho*	*HWE*
	Fa-01	87	2.54 ± 0.81	0.47 ± 0.23	0.46 ± 0.26	0.12
	Fa-02	90	2.42 ± 0.69	0.42 ± 0.22	0.43 ± 0.26	0.05
PT		30	2.74 ± 1.27	0.50 ± 0.27	0.52 ± 0.27	0.01*
	Tm	25	5.90 ± 2.51	0.69 ± 0.18	0.68 ± 0.22	0.66
	Nc	34	4.83 ± 1.59	0.59 ± 0.27	0.58 ± 0.28	0.69

* only one locus over 8
n = sample size (number of individuals); *Rs* = mean allelic richness per locus; *He* = expected heterozygosity; *Ho* = observed heterozygosity; *HWE* = p-value of the multilocus test of Hardy-Weinberg equilibrium.

Table 3 F_{st} values between *Rattus rattus* samples from Guadeloupe archipelago. All values are highly significantly different from zero ($p < 0.001$).

	Fa-01	**Fa-02**	**Pt**	**Tm**
a-01	-			
Fa-02	0.037	-		
Pt	0.415	0.422	-	
Tm	0.161	0.200	0.242	-
Nc	0.164	0.196	0.263	0.040

Table 4 Results of the assignment tests using Geneclass 2.
Number of individuals sampled in the population row assigned to each population indicated in column. In grey are the individuals assigned to the correct sample. Individuals are assigned to the population where their multi-locus genotype is the more likely given the allelic frequencies in each population.

		Fa-01	**Fa-02**	**Pt**	**Tm**	**Nc**
Fa-01	*87*	**68**	**19**			
Fa-02	*90*	**17**	**73**			
Pt	*30*			**30**		
Tm	*25*				**23**	**2**
Nc	*34*				**3**	**31**

Table 5 Results of Assignment tests (in bold) and pairwise F_{st} values (in italics) between north, east and south sub-samples on Fajou before (Fa-01) and after (Fa-02) the first eradication attempt. Number of individuals correctly assigned to the sub-sample they come from and F_{st} values between sub-samples in the same year increase after the eradication. F_{st} values significantly different from zero are indicated with an asterisk.

	n	Fa-01-e	Fa-01-n	Fa-01-s	Fa-02-e	Fa-02-n	Fa-02-s
Fa-01-e	*30*	**5**	**8**	**8**	**2**	**5**	**2**
Fa-01-n	*30*	**7** *-0.007*	**10**	**6**		**6**	**1**
Fa-01-s	*27*	**6** *0.001*	**4** *0.005*	**9**	**1**	**4**	**3**
Fa-02-e	*30*	**3** *0.084**	**1** *0.084**	**1** *0.078**	**20**	**3**	**2**
Fa-02-n	*30*	**5** *0.017*	**3** *0.017*	**2** *0.010*	**9** *0.046**	**8**	**3**
Fa-02-s	*30*	*0.100**	**2** *0.066**	**3** *0.078**	**6** *0.107**	**1** *0.068**	**18**

Table 6 The results of three methods for the identification of bottlenecks in *Rattus rattus* populations on the Guadeloupe Islands.

Sample	*n*	Mode-shift§	Het†	*M*ratio‡		
				M	p-value $\theta = 4.10^{-4}$	p-value $\theta = 4$
Fajou 2001	*90*	normal	0.140	0.517	0.0000*	0.0000*
Fajou 2002	*90*	shifted	0.039*	0.512	0.0000*	0.0000*
Petite-Terre	*30*	shifted	0.007*	0.625	0.0000*	0.0090*
Trace-Moreau	*25*	normal	0.840	0.533	0.0000*	0.0001*
Neuf-Château	*34*	normal	0.870	0.580	0.0000*	0.0005*

*: significant values
n: sample size.
† The p-value of the heterozygosity excess test is indicated. A two-phase model with 10% of multi-step mutations and an exponential distribution of step numbers having an average of 3.5 was assumed.
‡ *M*: mean of the *M* ratio over the 8 loci. The statistical significance of the results is calculated assuming a two phase model with 10% of multi-step mutations and an exponential distribution of step numbers having an average of 3.5. Two values, $\theta = 4.10^{-4}$ and $\theta = 4$ were tested, corresponding to the combination of the assumed extreme values for Ne and the mutation rate such as: $10<Ne<1000$ and $10^{-5}<\mu<10^{-3}$.
§ A shift in the distribution of allelic frequency classes is expected in bottlenecked population.

Figure 1

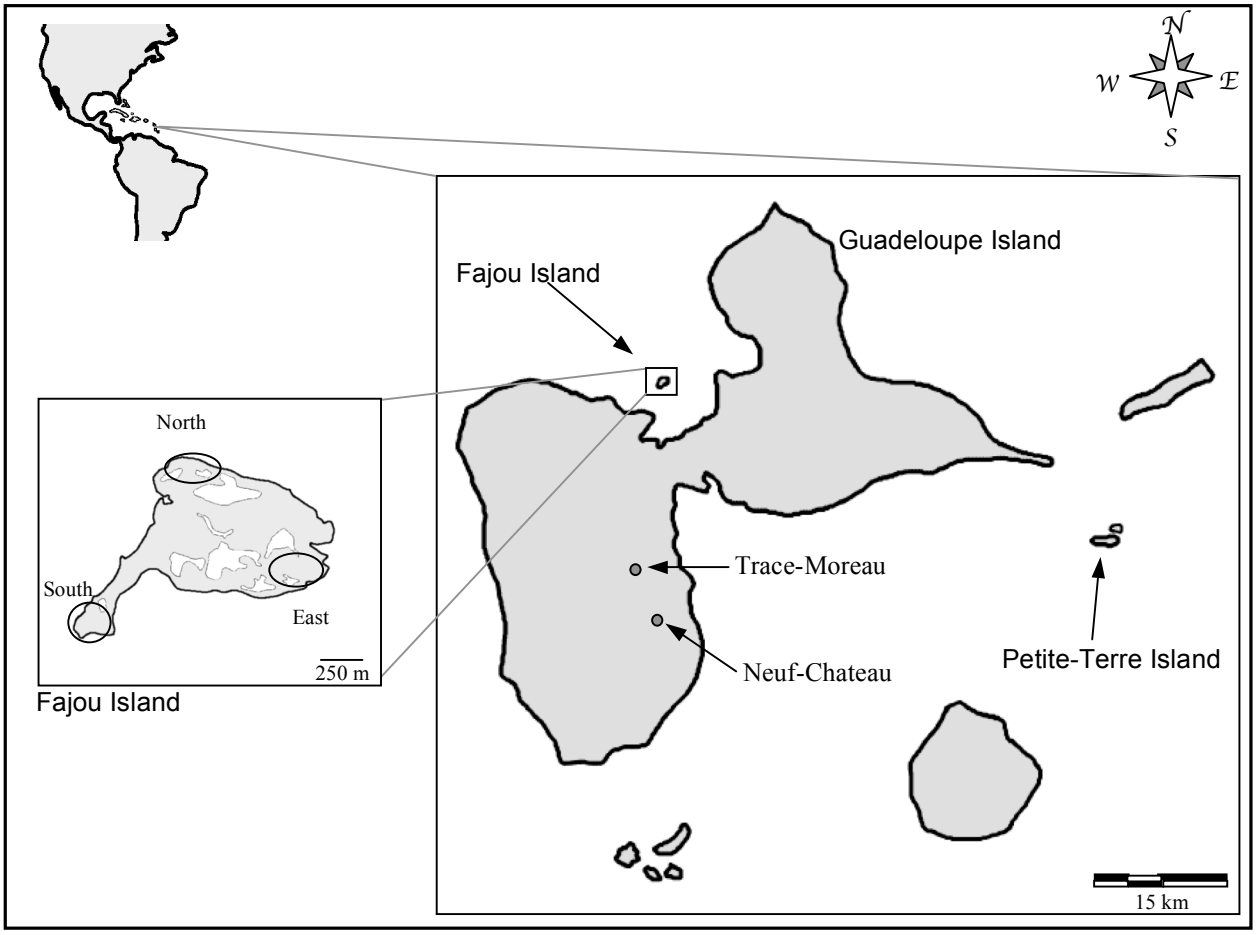
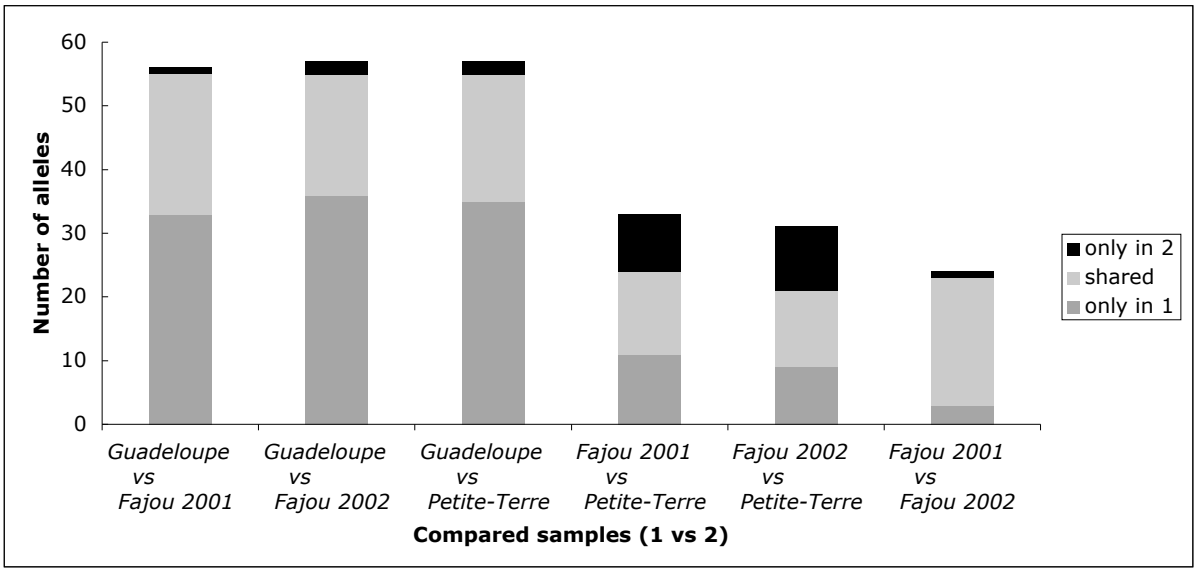

N
W
E
S
Guadeloupe Island
Fajou Island
North
South
East
250 m
Fajou Island
Trace-Moreau
Neuf-Chateau
Petite-Terre Island
15 km

Figure 2


60
50
40
30
20
10
0
Number of alleles
only in 2
shared
only in 1
Guadeloupe vs Fajou 2001
Guadeloupe vs Fajou 2002
Guadeloupe vs Petite-Terre
Fajou 2001 vs Petite-Terre
Fajou 2002 vs Petite-Terre
Fajou 2001 vs Fajou 2002
Compared samples (1 vs 2)

IV.

Structure génétique et fonctionnement démographique d'une population introduite en milieu insulaire : le cas de R. rattus sur les îles Lavezzi (Corse)

IV.A. Introduction

Les témoignages archéologiques les plus anciens de la présence du rat noir en Corse sont datés des 4^{éme} - 2ème siècle avant J.-C.. (Vigne, H., 1996). Cette espèce a aujourd'hui colonisé la majorité des îles Méditerranéennes. S'adaptant à une très grande gamme de milieux, elle est présente et abondante dans tous les milieux insulaires correspondant à l'étage bioclimatique méditerranéen (<500 m d'altitude) et ne se raréfie qu'avec l'altitude (Cheylan, 1988).

Sa présence dans l'archipel des Lavezzi est avérée au XIVème siècle, mais son introduction pourrait être bien antérieure (Vigne *et al.*, 1994). Cet archipel, localisé dans le périmètre du Parc International Marin des Bouches de Bonifacio, est situé entre la Corse et la Sardaigne renferme la Réserve Naturelle des Lavezzi composée d'une île principale, l'île Lavezzu, et d'une trentaine d'îlots périphériques (Figure 9), dont certains ne représentent que des masses rocheuses de faibles superficies. La mise en évidence de l'impact du rat noir sur les colonies d'oiseaux marins nichant dans la Réserve (Thibault, 1995) a conduit à intégrer au plan de gestion de la Réserve un projet d'éradication de l'espèce sur l'ensemble de ses îles. Durant cette opération, réalisée en 2000, 1335 rats noirs ont été capturés. Ces captures représentent plus de 90% de l'effectif total des individus de l'espèce présents sur les îles (Lorvelec, Pascal, 2005; Pascal *et al.*, 1996a).

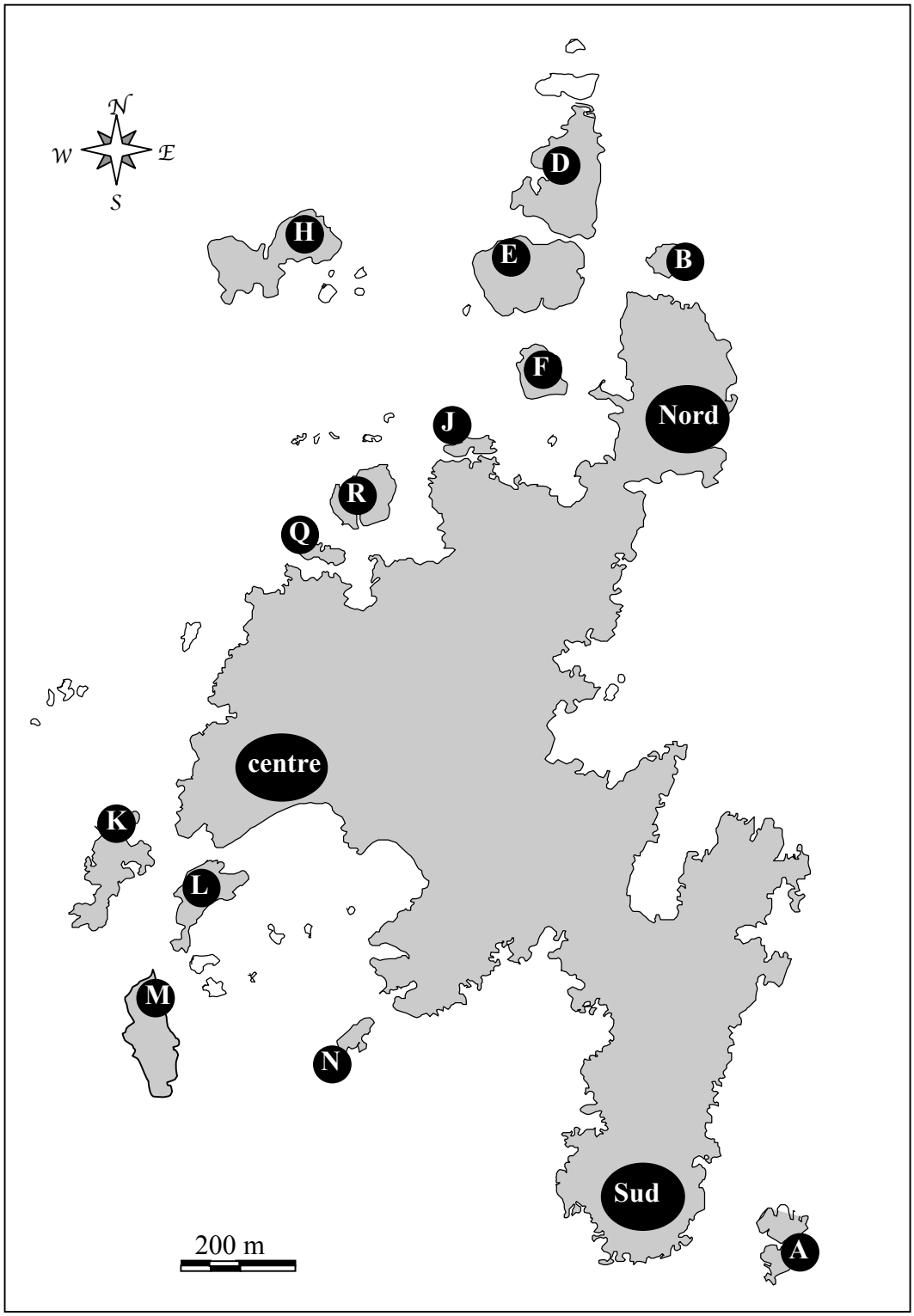


Figure 9 Carte de l'île Lavezzu et de ses îlots périphériques. En gris sont indiquées les îles sur lesquelles des rats noirs ont été capturés. Les trois zones échantillonnées sur l'île principale (Nord, Centre et Sud) en vue de l'analyse génétique sont également indiquées.

Trois observations principales ont été faites lors de cette campagne d'éradication. Premièrement, la population de rats noirs éradiquée sur l'île Lavezzu avait une densité importante (plus de 20 rats par hectare). Deuxièmement, un comportement particulier de prédation du rat noir sur les oiseaux a été observé, mais, uniquement dans la péninsule au nord de l'île Lavezzu. Dans cette zone, les oiseaux accidentellement piégés lors de la campagne d'éradication ont été systématiquement retrouvés consommés par les rats, alors que ceux piégés de la même façon dans le reste de l'île ont toujours été retrouvés vivants. Cette observation est à mettre en relation avec l'observation faite avant l'opération d'éradication, de taux d'envols des puffins cendrés, *Calonectris diomedea* (Scopoli, 1769) plus bas dans cette péninsule (en réalité quasi-nuls) que dans le reste de l'île. Troisièmement, bien que la majorité des captures ait été réalisées sur l'île Lavezzu, 74 rats (soit 5% de l'effectif total) ont été capturés sur les îlets périphériques, de surface souvent inférieure à un hectare. Ces îlets, parfois distants de plusieurs centaines de mètres de l'île principale abritent entre 1 et 17 individus (Figure 10). La forte densité des rats, la modification du comportement suivant les zones géographiques et l'utilisation par les rats de l'espace extrêmement pauvre en ressources des îlets conduisent à s'interroger sur la façon dont les individus utilisent l'espace à l'échelle de l'archipel.

Les gestionnaires du Parc qui ont pour objectif d'assurer la pérennité de l'éradication se sont interrogés sur le fonctionnement démographique de la population installée et ont donc demandé une étude pour mieux comprendre la dynamique des populations. Afin de répondre à cette demande, la structure génétique des populations a été étudiée à l'échelle de l'archipel. Cette étude vise plus précisément à apporter des éléments de réponses aux questions suivantes :

(i) La population installée sur l'île, maintenant éradiquée, résultait-elle d'introductions récurrentes d'individus ou bien d'un unique événement d'introduction ?

(ii) Existe-t-il plusieurs populations différenciées sur l'île Lavezzu, comme le suggèrent les différences de comportement observées entre différentes zones de l'île ?

(iii) Les rats observés sur les îlets constituent-ils des populations autonomes ou ne sont-ils que des rats « de passage » ?

(iv) Comment un archipel qui semble pauvre en ressources, peut-il accueillir des rats avec de telles densités de populations ?

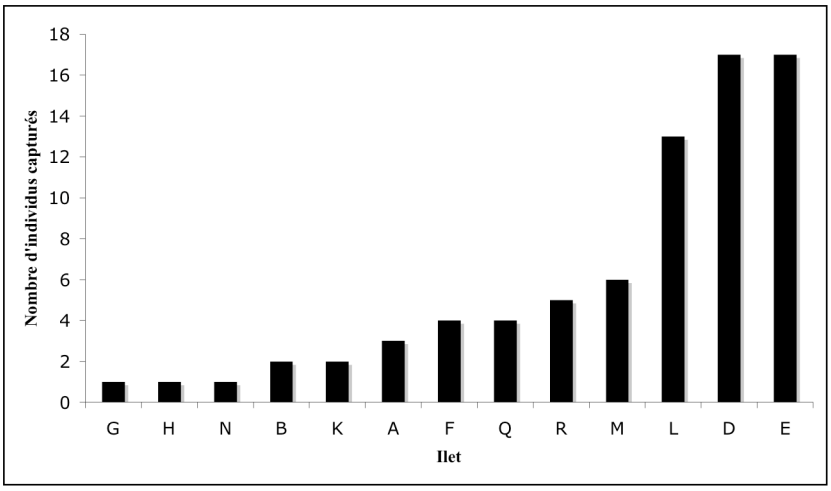


Figure 10 Nombre d'individus capturés sur les îlets périphériques.

IV.B. Matériel et méthode

IV.B.1. Matériel biologique et marqueurs génétiques

Un total de 1335 rats noirs, représentant entre 90 et 100% de la population ont été capturés lors de la campagne d'éradication sur l'ensemble de l'archipel. Les pièges étant spatialement localisés, l'origine de capture de chaque individu est connue précisément. Afin d'étudier la structure génétique de la population à l'échelle de l'archipel, les 74 rats capturés sur les îlets ainsi que 76 rats provenant des zones Nord, Centre et Sud de l'île (Figure 9) ont été analysés à l'aide de huit marqueurs microsatellites. Les techniques de biologie moléculaire employées sont identiques à celles décrites dans la publication #2.

IV.B.2. Analyses statistiques

Afin d'estimer le niveau de variabilité des populations, le nombre moyen d'allèles par locus ainsi que l'hétérozygotie ont été calculés pour chacune d'entre-elles. Dans le cas des îlets, ces statistiques n'ont pas été corrigées en fonction du nombre d'individus puisqu'il ne s'agit pas d'estimations réalisées à partir d'échantillons mais bien des valeurs réelles obtenues à partir de l'effectif total présent. L'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE) a été estimé à l'aide du logiciel GENEPOP 3.3 (Raymond, Rousset, 1995) dans les trois zones de l'île Lavezzu.

Plusieurs méthodes d'analyse ont été employées afin de déterminer la structure génétique de la population à l'échelle de l'île Lavezzu. Tout d'abord, un test exact de différenciation génique (Raymond, Rousset, 1995) a été conduit afin de déterminer si la différence de composition génétique observée au sein de chaque paire de localités (nord, centre et sud) est significative ou non. La différenciation génétique a également été estimée à partir du calcul des Fst entre chaque paire d'échantillons (Weir, Cockerham, 1984). Le niveau de significativité de chacune de ces estimations a été obtenu par permutation des génotypes entre échantillons (Dieringer, Schlötterer, 2002).

Deux méthodes d'assignations ont également été utilisées afin d'affiner l'analyse de la structure génétique entre ces trois zones. Il s'agit de la méthode d'assignation-exclusion de Cornuet *et al.*(1999), ainsi que de la méthode de *clustering* de Pritchard *et al.*(2000). L'utilisation de ces deux méthodes est détaillée dans les publications #1 et #2. Par ailleurs, afin de tester si les individus présents sur les îlets périphériques sont, ou non, des individus en provenance de la (ou des) populations de l'île Lavezzu, la probabilité d'assignation des premiers à chacune des trois zones de l'île principale a été évaluée à l'aide de la première de ces deux méthodes.

Trois méthodes de détection de goulets d'étranglement ont été utilisées afin de déterminer si une signature de tels événements démographiques est encore détectable. Nous avons précédemment montré que, conformément aux simulations faites par les auteurs de ces méthodes, l'utilisation de l'ensemble des méthodes permettait de détecter des événements récents et des événements plus anciens (Publication #3). Ces tests ont été réalisés séparément sur chacun des sous-échantillons correspondant à chacune des trois zones définies sur l'île Lavezzu, ainsi qu'après avoir regroupé ces trois sous-échantillons. Ces tests ont été également menés pour les îlets d'effectifs les plus importants (îlets D, E et L). Ces tests ont été menés de la façon détaillée dans la publication #3. Une hypothèse couramment avancée pour expliquer le maintien à un haut niveau de densité dans les populations insulaires est la limitation de la distance de dispersion (Gliwicz, 1980), définie comme la distance parcourue par individu entre son lieu de naissance et son lieu de reproduction (Murray, 1967) et l'apparition de structures familiales qui permettraient une diminution du niveau d'agressivité entre individus (Granjon, Cheylan, 1990). L'existence de « familles », localisées chacune sur un territoire délimité de l'île, devrait conduire à augmenter l'apparentement moyen des individus des sous-échantillons par rapport à l'échantillon total. De plus, si ces structures familiales conduisent à augmenter la consanguinité des croisements, la distribution de coefficients mesurant

l'apparentement entre les individus à l'échelle de l'île doit dévier de celle qui est attendue sous l'hypothèse de panmixie à l'échelle de l'île.

Pour apporter des arguments soutenant ou non cette hypothèse, l'apparentement entre les individus a été estimé pour différentes partitions du jeu de données : chaque zone de l'île Lavezzu séparément ou regroupées, ainsi que dans les îlets présentant les effectifs les plus forts (D, E et L). L'apparentement est estimé par le coefficient d'identité génétique I proposé par Mathieu *et al.* (1990). En effet, il a été montré par Belkhir *et al.*(2002), à l'aide de données simulées obtenues en faisant varier le nombre de loci, le nombre d'allèles par locus ainsi que le type de distribution des fréquences alléliques, que cette statistique possède une variance plus faible que d'autres mesures classiquement utilisées tels que les coefficients de parentés de Queller & Goodnight (1989) ou de Lynch & Ritland (1999). Le coefficient d'identité a donc été calculé pour chaque paire d'individus. Pour chaque sous-échantillon défini, la moyenne ainsi que la variance du coefficient estimé entre toutes les paires d'individus du sous-échantillon, ont été calculés. Le niveau de significativité de ces valeurs a été évalué par comparaison de la valeur observée à une distribution obtenue par simulation sous l'hypothèse de panmixie (Belkhir *et al.*, 2002).

IV.C. Résultats

IV.C.1. Diversité génétique

La diversité génétique (Tableau 3) des trois échantillons de l'île principale est d'un niveau comparable : le nombre moyen d'allèles par locus est compris entre 3,88 et 4,13 et l'hétérozygotie entre 0,57 et 0,61. La diversité observée sur chacun des îlets est plus faible que sur l'île Lavezzu, mais le nombre moyen d'allèles par locus atteint plus de trois. En revanche, le nombre moyen d'allèles par locus observé sur l'ensemble de l'île Lavezzu (4,5) est quasiment identique à celui observé sur l'ensemble des îlets (4,25).

L'hypothèse d'équilibre d'Hardy-Weinberg ne peut être rejetée pour aucun des trois sous-échantillons de l'île principale traités indépendamment, alors qu'elle est rejetée lorsque ces trois échantillons sont réunis. Cependant, les tests spécifiques d'excès ou de déficit ne sont pas significatifs. Les tests effectués sur chaque îlet séparément ne sont pas significatifs non plus, mais la puissance du test peut être mise en cause en raison du faible nombre d'individus permettant de faire le test. Les tests effectués sur l'ensemble des îlets ainsi que sur l'ensemble des individus de l'archipel sont significatifs et permettent de détecter un déficit en hétérozygotes. Ces deux derniers résultats suggèrent un effet Wahlund et donc une structuration des populations à l'échelle de l'archipel.

Localité	*N*	*A*	Hexp	Hobs
nord	**24**	4,00	0,53	0,57
centre	**24**	3,88	0,54	0,58
sud	**28**	4,13	0,58	0,61
Lavezzu total	***76***	*4,5*	*0,59*	*0,58*
IA	**3**	2,50	0,59	0,50
IB	**2**	2,25	0,65	0,56
ID	**17**	3,00	0,46	0,50
IE	**17**	3,13	0,44	0,46
IF	**4**	1,88	0,39	0,41
IG	**1**	1,50	0,50	0,50
IH	**1**	1,71	0,71	0,71
IK	**2**	1,88	0,44	0,31
IL	**13**	3,13	0,55	0,53
IM	**6**	3,00	0,63	0,63
IN	**1**	1,63	0,63	0,63
IQ	**4**	2,13	0,41	0,44
IR	**5**	2,38	0,49	0,53
Ilets total	***76***	*4,25*	*0,56*	*0,49**
Lavezzi total	***152***	*4,625*	*0,59*	*0,54**

Tableau 3 Diversité génétique des échantillons de rats noirs de l'archipel des Lavezzi. (N) nombre d'individus, (*A*) nombre moyen d'allèles par locus, (Hexp) et (Hobs) hétérozygotie attendue et observée ; * indique qu'un déficit en hétérozygote significatif a été détecté.

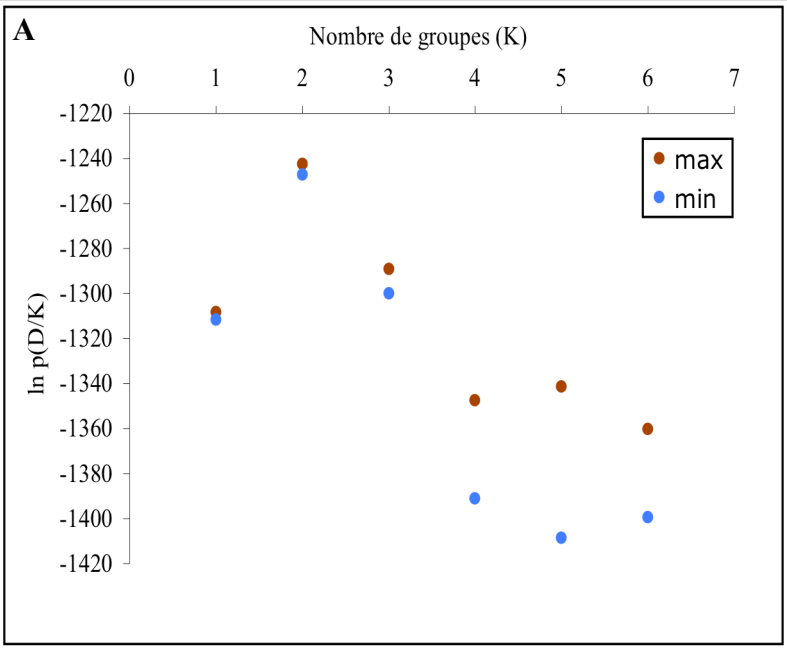
IV.C.2. Structuration génétique à l'échelle de l'île Lavezzu

Les tests d'assignation-exclusion (Tableau 4) indiquent que les individus sont préférentiellement assignés à leur localité d'échantillonnage. En ce qui concerne l'échantillon Nord, seul trois individus ne peuvent être exclus des deux autres localités. En revanche, de nombreux individus provenant des zones Centre et Sud ne peuvent être exclus de l'une ou l'autre alors qu'ils sont tous exclus de la zone Nord. Cette analyse indique donc que la zone nord est différenciée des deux autres zones et que les zones centre et sud ne le sont pas (ou peu) entre elles. Le Fst estimé entre la zone centre et la zone sud est faible (0,05), alors que les Fst estimés entre la zone nord et chacune de ces deux zones est fort (0,17 et 0,12 respectivement).

	Nord	**Centre**	**Sud**
Nord	**22** (12)	**1** (0)	**1** (3)
Centre	**1** (0)	**22** (17)	**1** (15)
Sud	**1** (0)	**3** (4)	**24** (18)

Tableau 4 Résultats des tests d'assignation-exclusion (Piry *et al.*, 2004). Le nombre d'individus, provenant de l'échantillon indiqué en début de ligne, assignés préférentiellement à, ou ne pouvant être exclus des échantillons indiqués en colonne, sont indiqués respectivement en gras et entre parenthèse. Le seuil d'exclusion retenu est de 80%.

Cette hypothèse de différenciation génétique de la zone Nord par rapport au reste de l'île est également soutenue par l'analyse de regroupement, ou *clustering* faite avec le logiciel STRUCTURE (Figure 9). Le nombre de populations inférées à partir de cette méthode est de deux (Figure 9-A). Pour un nombre de cluster K=2, l'un des groupes génétiques obtenus dans l'analyse est composé par les individus de l'échantillon de la zone Nord tandis que le second regroupe les individus des deux autres localités (Figure 9-B). Pour des valeurs supérieures de K, le processus de regroupement ne consiste qu'en la division aléatoire de ce dernier groupe (Figure 9, C et D).



B

localité	n	cluster 1	cluster 2
nord	*24*	**0,90**	0,10
centre	*24*	0,12	**0,88**
sud	*28*	0,22	**0,78**

C

localité	n	cluster 1	cluster 2	cluster 3
nord	*24*	**0.844**	0.076	0.080
centre	*24*	0.075	**0.466**	**0.459**
sud	*28*	0.114	**0.443**	**0.443**

D

localité	n	cluster 1	cluster 2	cluster 3	cluster 4
nord	*24*	0.066	**0.770**	0.078	0.086
centre	*24*	**0.360**	0.059	**0.297**	**0.284**
sud	*28*	**0.299**	0.085	**0.311**	**0.305**

Figure 9 Résultats des tests de regroupement.
A Vraissemblance minimale et maximale des données en fonction du nombre de populations K obtenu sur cinq réplicats. La proportion de gènes provenant de chaque localité dans chaque groupe (*cluster*) est indiqué pour **B** K=2, **C** K=3 et **D** K=4.

IV.C.3. Comparaison de la composition génétique de l'île Lavezzu et des îlots périphériques

Une première information sur la relation entre les individus capturés sur l'île Lavezzu et ceux capturés sur les îlots périphériques est donnée par la comparaison des allèles présents dans ces deux ensembles. Seul un allèle, représenté par une seule copie, est uniquement présent dans les îlets. De la même façon, seuls trois allèles, également en faibles fréquences, sont uniquement présents sur l'île Lavezzu. Au total, 33 allèles (soit 89% du nombre total d'allèles) sont partagés par l'île principale et les îlpts périphériques.

Par ailleurs, s'il n'apparaît pas de schéma clair lorsque l'on tente d'assigner les individus des îlets aux trois zones de l'île Lavezzu, la probabilité moyenne d'assignation de ceux-ci est néanmoins supérieure à 90%.

IV.C.4. Détection de goulets d'étranglement

Aucune signature de goulet d'étranglement n'est détectée par l'utilisation des méthodes basées sur les excès d'hétérozygotie, que ce soit sur l'île principale ou sur les îlots périphériques (Tableau 5), pour des modèles de mutation réalistes pour des marqueurs microsatellites. Seule une signature est détectée pour l'ensemble des localités par la méthode du M ratio.

	Het Exc			**mode**	***M* ratio**		
Localité	*IAM*	*SMM*	*TPM (90%/10)*	**shift**	*M*	*0.05*	*5*
nord	0,19	0,62	0,57	Normal	0,582	*0*	*0,0019*
centre	*0,027*	0,80	0,47	Normal	0,520	*0*	*0,0001*
sud	*0,001*	0,80	0,57	Normal	0,617	*0*	*0,004*
ID	0,19	0,76	0,67	Normal	0,619	*0*	*0,0143*
IE	*0,02*	0,94	0,85	Normal	0,569	*0*	*0,0042*
IL	*0,005*	0,09	0,09	*Shifted*	0,644	*0*	*0,0462*

Tableau 5 Résultats des méthodes de détection de bottleneck pour les trois échantillons de l'île principale et des îlots possédant des effectifs raisonnables (Ilots D, E et L). Les résultats allant dans le sens de l'existence d'un goulet d'étranglement passé sont indiqués en italique. La méthode basée sur la détection d'excès d'hétérozygotie (Het Exc) ne rejette l'hypothèse de population à l'équilibre que dans le cas de modèles de mutation peu réaliste (IAM c'est-à-dire Infinite Allele Model) alors que pour des modèles plus réalistes (SMM, *i.e.* Stepwise Mutation Model ainsi que TPM ou Two Phase Model), aucune signature de goulet d'étranglement n'est détectée. La méthode basée sur la distribution des classes de fréquences alléliques ne détecte de changement modal que dans le cas de l'îlot L. Seule la méthode du *M* ratio (la valeur de M ainsi que son niveau de significativité pour deux valeurs de thêta, 0,05 et 5, sont indiqués) indique une réduction d'effectif efficace passée pour, cette fois, chacune des localités. Des résultats comparables sont obtenus lorsque les trois échantillons de l'île Lavezzu sont réunis.

IV.C.5. Apparentement entre individus

Lorsque l'ensemble des sous échantillons de l'île Lavezzu est considéré comme une seule population, on obtient une estimation de la moyenne du coefficient d'identité génétique I plus faible que celles obtenues pour chacun des sous échantillons pris indépendamment (Tableau 6). La moyenne n'est cependant pas significativement différente de celle attendue sous l'hypothèse de panmixie ni à l'échelle de l'île, ni à celle des zones géographiques définies pour l'échantillonnage. Si l'on s'intéresse à la variance de l'estimation de ce coefficient d'apparentement, seule la distribution obtenue pour la zone nord est compatible avec l'hypothèse de panmixie.

Ces résultats suggèrent que la zone nord constitue une zone où l'apparentement entre les individus serait plus fort que dans le reste de l'île et qu'au sein de ce groupe, les croisements seraient panmictiques. Inversement à l'échelle de l'île, ainsi que des deux autres zones de notre échantillon, l'apparentement est plus faible et les croisements ne sont pas panmictiques. Ces résultats confirment donc qu'il existe à l'échelle de l'île une structuration en au moins deux sous-populations et suggèrent qu'au sein de chaque sous-population l'apparentement entre les individus est fort.

	Moyenne	***p***	**Variance**	***p***
Nord	**0,590**	0,467	**0,019**	0,081
Centre	**0,589**	0,940	**0,023**	*
Sud	**0,566**	0,784	**0,022**	*
Centre+Sud	**0,567**	0,946	**0,022**	**
Lavezzi total	**0,524**	0,750	**0,024**	***

Tableau 6 Résultats de l'analyse d'apparentement réalisée pour les échantillons correspondant aux zones Nord, Centre et Sud de l'île, ainsi que pour les zones Centre et Sud réunies et enfin lorsque les trois échantillons sont réunis. Le niveau de significativité (p) est indiqué pour chaque valeur de la moyenne ou de la variance du coefficient d'identité génétique I obtenu. (* p<0,05 ; ** p<0,01 ; *** p<0,001).

IV.D. Discussion

IV.D.1. Structuration génétique sur l'île Lavezzu

L'analyse de la structure génétique à l'échelle de l'île Lavezzu à l'aide de différentes méthodes a permis de détecter une différenciation génétique. L'ensemble des méthodes utilisées indiquent, sur le sous échantillon étudié, au moins deux ensembles. En effet, le sous-échantillon de rats en provenance de la zone Nord dans laquelle des comportements de prédation d'oiseaux avaient été observés se distingue génétiquement des sous-échantillons du reste de l'île. Néanmoins, aucun allèle diagnostique n'est observé dans les différentes zones de l'île. Ce résultat est obtenu par l'estimation des Fst par paire de populations, ainsi que par les tests d'assignation. De plus, la méthode de *clustering* identifie clairement cette zone comme un ensemble reproductif autonome. Enfin, le niveau d'apparentement est élevé. La moyenne et la variance de ce coefficient dans cette zone ne sont pas significativement différentes de celles attendues sous l'hypothèse de panmixie.

La méthode de clustering rassemble les deux sous échantillons correspondant aux zones centre et sud de l'île dans un seul ensemble. De plus, la valeur de Fst estimée entre ces deux échantillons est faible et les erreurs d'assignation entre ces deux zones sont importantes. Le niveau d'apparentement moyen des individus de chacune des deux zones, ou des deux zones réunies, est plus faible que celui de la zone nord mais plus fort que celui de l'échantillon total. Bien que l'apparentement moyen des individus soit en accord avec l'hypothèse de panmixie, l'estimation de sa variance rejette cette hypothèse que ce soit sur chaque zone prise séparément ou sur les deux zones réunies. Ce résultat suggère une structuration non détectée par les autres méthodes dans le reste de l'île. L'augmentation de l'apparentement moyen calculé sur des sous-échantillons par rapport à l'échantillon total pourrait être dûe à l'existence de structures familiales dans l'île, ainsi que le suggère l'hypothèse expliquant l'augmentation de la densité en milieu insulaire par la diminution des comportements agressifs entre apparentés ((Granjon, Cheylan, 1990)).

IV.D.2. Relation entre l'île Lavezzu et les îlots périphériques

Plusieurs résultats de l'analyse génétique indiquent que les individus capturés sur les îlets ne représentent pas d'ensembles génétiques distinct des populations de l'île Lavezzu.

D'une part, le niveau de diversité génétique observé sur les îlots dans leur ensemble est tout à fait comparable à celui qui est observé sur l'île Lavezzu. D'autre part, la quasi-totalité des allèles présents sur les îlots sont également présents sur l'île Lavezzu. Ces résultats rendent improbable l'existence de populations isolées sur les îlots. En effet, s'il s'agissait de populations autonomes fondées lors d'événements rares de migration depuis l'île Lavezzu, une forte perte de diversité serait attendue (1) lors de la fondation par un nombre réduit d'individus, et (2) par dérive génétique, qui devrait être d'autant plus importante que les effectifs sont faibles.

Il semble donc que les individus présents sur les îlets sont issus de l'île Lavezzu. S'il l'on ne peut complètement rejeter que de la reproduction a lieu sur place, il faut néanmoins supposer des flux de gènes importants depuis l'île Lavezzu pour contrebalancer les effets de la dérive et maintenir un niveau de diversité génétique élevé. Cependant, il n'est pas possible de déterminer de *pattern* clair d'assignation des individus des îlots à l'une ou l'autre des zones de l'île. Ceci est sans doute lié à la faible différenciation génétique existant entre ces dernières. L'assignation des individus des îlots à l'île Lavezzu dans son ensemble est néanmoins réalisée avec une probabilité moyenne supérieure à 90%. Tous ces résultats convergent donc pour soutenir l'hypothèse d'une connectivité forte entre l'île Lavezzu et les îlots périphériques.

IV.D.3. Histoire, fonctionnement de population et implications en termes de gestion

Comme détaillé précédemment, le partage du polymorphisme génétique à l'échelle de l'archipel semble indiquer que cette population s'est installée à la suite d'un unique événement de colonisation. Aucun élément n'indique qu'une zone de l'île Lavezzu ou un îlot périphérique abrite une population d'origine différente de celles du reste de l'archipel. La recherche de trace d'un goulet d'étranglement ne permet pas de détecter d'événement récent de colonisation résultant en un effet fondateur. De plus, le niveau de diversité génétique observé dans l'ensemble de l'archipel est important.

Si l'on suppose qu'un nombre restreint d'individus est à l'origine de la fondation de la population (comme c'est souvent le cas pour des archipels éloignés géographiquement de toute source potentielle de colonisation), et que le niveau d'immigration est depuis limité (comme indiqué par l'homogénéité génétique de l'archipel, et le niveau modéré des échanges maritimes), ce niveau de diversité laisse supposer une colonisation suffisamment ancienne

pour observer une augmentation du polymorphisme génétique par mutation et le retour à l'équilibre mutation dérive.

Ainsi, ces résultats semblent aller dans le sens de la rareté des événements de colonisation sur l'archipel des Lavezzi, ce qui serait favorable à la pérennité de l'opération d'éradication. En effet, une recolonisation rapide de l'archipel ne semble pas à craindre, du moment que les mesures de protection vis-à-vis des introductions accidentelles liées au trafic maritime et à la plaisance sont respectées.

Cependant, il est nécessaire de modérer cette conclusion puisqu'une absence de détection de flux génétiques n'est pas nécessairement synonyme d'absence de migration. En effet, il est nécessaire que les migrants survivent et se reproduisent sur place pour pouvoir être détectés. Or, un comportement de rejet des migrants est suggéré par une expérience de Granjon *et al.* (Granjon, Cheylan, 1989), durant laquelle cinq rats noirs (quatre mâles et une femelle) provenant de Corse ont été introduits et suivis par radio-tracking sur une île proche abritant déjà une population de rats noirs. Trois des quatre mâles ont été retrouvés morts quelques heures après leur introduction sur l'île et portaient des traces de morsures. La trace de l'ensemble des individus a été perdue en moins de deux jours. Il est donc possible que la libération de l'espace sur les Lavezzi suite à l'éradication ait augmenté les probabilités d'établissement de migrants. Cependant, ces comportements de rejet ne reposent que sur une seule expérimentation ne mettant en jeu qu'un nombre limité d'individus. Une expérimentation plus approfondie semble donc nécessaire avant de valider ces résultats.

IV.D.4. Hypothèses évolutives sur le fonctionnement de la population

Les outils génétiques utilisés montrent que les individus présents dans l'archipel des Lavezzi semblent correspondre à une population résultant d'un événement de fondation ancien et unique. Cependant, une structuration génétique est observable à l'échelle de l'île Lavezzu. Si celle-ci reste faible entre la zone centrale et le Sud de l'île, la zone correspondant à la presqu'île Nord apparaît fortement différenciée génétiquement du reste de l'île. Cette inférence à partir de données de polymorphisme génétique renforce les observations comportementales réalisées exclusivement dans cette zone. C'est en effet dans cette péninsule que les taux d'envols des puffins cendrés, *Calonectris diomedea* (Scopoli, 1769) étaient les plus bas. De plus, les traces de prédation d'oiseaux piégés lors de la campagne d'éradication par le rat noir ont été systématiques dans cette zone alors qu'inexistantes dans le reste de l'île. Il est donc possible que la structuration génétique observée corresponde à l'existence d'une population relativement isolée du reste de l'île, ayant développé des comportements propres de prédation. Ce comportement pourrait être une adaptation aux ressources locales dans cette zone de l'île.

Cependant, le maintien d'une adaptation locale nécessite des barrières au flux de gènes qui seul permet de limiter sa dilution par l'intégration de génotypes maladaptés. Une limitation importante de la dispersion, favorisant une reproduction locale et limitant les flux des gènes pourrait éventuellement permettre ce type d'adaptation. La question qui s'en suit est donc de comprendre pourquoi la dispersion serait limitée ? Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction de cette partie, une hypothèse proposée pour expliquer les fortes densités de mammifères en milieux insulaires pauvres en ressources est la limitation des comportements agressifs entre individus par la constitution de structures locales d'individus fortement apparentés. Une telle structure en groupes familiaux a été précédemment recherchée sur la population de rats noirs (6000 individus estimés par capture-marquage-recapture) de l'île de Riou (91 hectares) située au large des côtes Marseillaises (Paquier, 1999). Cependant, aucune structuration génétique n'a été mise en évidence sur cette île de deux kilomètres de long et au relief important (arrête montagneuse culminant à 191 mètres). Cette absence de structuration est mise en relation avec une dispersion plus importante qu'elle ne l'était envisagée, possiblement liée à une réponse adaptative face à une forte pression due au parasitisme. En effet, le but de la dispersion serait de réduire la consanguinité (Dieckman *et al.*, 1999; Dobson, Jones, 1985), limitant ainsi la réduction des potentialités des défenses immunitaires. Au contraire dans le cas de la population des Lavezzi, la présente étude indique que non seulement une structuration génétique est observée à l'échelle de l'île, mais suggère

également une organisation de la population en groupes à fort niveau d'apparentement. Dans cette logique, une limitation de la dispersion aurait pu être sélectionnée, permettant ainsi le maintien de la population à une forte densité. Cette limitation de la dispersion favorisant la formation de structures familiales pourrait avoir permis l'émergence d'adaptations locales. Le comportement de prédation des oiseaux par les rats du nord de l'île pourrait être un exemple d'une telle adaptation locale.

La migration d'individus vers les îlots périphériques où leur probabilité de survie est réduite et donc leur valeur sélective faible, pose également problème. Une explication possible serait que les individus n'arrivant pas à s'établir sur l'île principale où se trouvent l'essentiel des ressources sont contraints à émigrer vers ces zones pauvres. Il est en effet possible que les îlets périphériques représentent des zones de type *dispersal sink* (Lidicker, 1975), c'est-à-dire que les individus y migrent, éventuellement s'y reproduisent, puis meurent. De tels mécanismes sont observables chez d'autres espèces et peuvent expliquer la façon dont est régulée la densité d'une population. Il a été montré par exemple, dans les populations de souris domestique de Great Gull Island, qu'une dispersion vers la partie centrale de l'île, offrant des conditions peu favorables à la survie et à la reproduction, était un des facteurs permettant de réguler la densité de la population (Anderson, 1970). Il est d'ailleurs intéressant de noter que si le sex-ratio est relativement équilibré sur l'île Lavezzu (50,8% de femelles), celui-ci semble biaisé sur les îlets, sur lesquels sont observés 63,5% de femelles. Le nombre de femelles détermine le nombre de naissances et donc la densité des populations. On peut supposer que dans une population à forte densité, la capacité d'accueil de femelles soit plus faible que celle des mâles, conduisant les premières à une dispersion plus importante. Bien entendu, ces hypothèses restent entièrement spéculatives et nécessiteraient d'être testées par des analyses et des expérimentations adéquates.

V.

Conclusion générale et perspectives

V.A. Une valorisation scientifique des invasions biologiques et des opérations d'éradication

La motivation première de ce travail de thèse a été de montrer que les invasions biologiques en général, et les opérations d'éradications conduites à l'égard des espèces allochtones en milieux insulaires en particulier peuvent être considérées comme des expériences à part entière. Elles offrent un cadre original et unique pour étudier les mécanismes d'invasions et la biologie des populations insulaires. En retour, l'intégration des techniques moléculaires et du cadre théorique de la génétique des populations permet d'améliorer les stratégies d'éradication.

Il est surprenant que jusque-là, cette source de matériel biologique considérable soit restée aussi peu exploité. Une perception particulière peut expliquer cette situation, à savoir, considérer comme illogique, voire absurde, l'étude de la biologie d'une population dont la disparition est programmée. Cette vision réductrice de la situation doit cependant évoluer, en même temps que l'éradication d'espèces nuisibles prend une place légitime dans le panel d'actions menées dans une perspective de préservation et de restauration de la biodiversité. Plusieurs conventions internationales (Convention on Biological Diversity, Convention de Berne) soutiennent et encouragent ces mesures de gestion (Genovesi, 2005).

Cette légitimité est cependant encore parfois contestée par l'opinion publique. Par exemple, en Italie, des groupes de pression ont engagé une procédure juridique pour empêcher l'éradication de l'écureuil gris, *Sciurus carolinensis* (Gmelin, 1788), originaire du continent américain, en dépit de la mise en évidence de son impact néfaste sur les populations locales de l'écureuil roux, *Sciurus vulgaris* (Linné, 1758), et certaines espèces végétales. Trois ans plus tard, la procédure juridique a finalement autorisé cette éradication, mais la dispersion de l'animal a entre temps rendu celle-ci irréalisable (Bertolino, Genovesi, 2003).

Il apparaît donc important de changer l'image et la perception actuelle des éradications. Ce changement peut être amené par une meilleure valorisation de ces opérations permettant la mise en évidence de leur bien-fondé. Pour cela, il est nécessaire de les conduire selon une démarche expérimentale rigoureuse et non comme la simple application d'un outil technique simplement destiné à faire disparaître une population.

V.B. Originalité par rapport au domaine appliqué

Le travail de cette thèse s'inscrit donc dans une nouvelle orientation des recherches sur l'étude des invasions biologiques en milieu insulaire à partir de données de polymorphisme moléculaire. Dans le cadre des opérations d'éradication, force est de constater que l'outil génétique a été sous-utilisé à ce jour, en comparaison des possibilités qu'il offre. c'est dans la perspective de pallier à cette lacune que ce travail de thèse à tout d'abord tenté d'élaborer des applications simples permettant d'optimiser les stratégies de gestion de ces phénomènes. Un souci particulier a été apporté à assurer une intégration réaliste aux diagrammes décisionnels et aux pratiques existantes.

Deux nouveaux outils destinés aux gestionnaires ont ainsi été développés et testés avec succès en situations réelles dans le cadre d'opérations d'éradication du rat noir et du rat surmulot. Les cas étudiés dans cette thèse montrent que les marqueurs génétiques choisis ainsi que les méthodes d'analyse disponibles permettent de trancher entre les différentes hypothèses initiales. Ces résultats encourageants plaident pour un développement de l'utilisation des méthodes de la génétique des populations dans ce domaine de la biologie de la conservation.

Dans le cas de la délimitation des unités d'éradication, il a été montré que la séparation physique de deux îles n'assure pas systématiquement l'isolement génétique des populations de rongeurs qu'elles abritent, notamment lorsque les distances géographiques qui les séparent sont faibles. Ainsi, il a été possible d'évaluer le degré de connectivité entre les populations de différentes îles proches afin d'orienter la décision des gestionnaires quant au choix de l'ensemble géographique à considérer lors des éradications. Dans l'éventualité d'un échec d'éradication, la seconde application montre que l'on est en mesure de déterminer les causes de l'échec de l'opération. Il devient ainsi possible de rectifier rationnellement les stratégies de gestion en connaissance de cause. Ces deux applications intègrent les avancées de la génétique des populations au domaine technique des éradications, qui s'est en grande partie développé sur la base de principes empiriques. Notre démarche offre donc un cadre permettant d'évaluer rigoureusement les hypothèses alternatives auxquelles sont confrontées les gestionnaires aux différentes étapes des opérations d'éradication.

V.C. Originalité par rapport à l'étude des populations insulaires

Ce travail a également ouvert un champ d'investigation jusque-là peu exploré en montrant que les invasions biologiques en général et les éradications en particulier constituent des expériences de choix pour l'étude des processus de colonisation et celle du fonctionnement des populations en milieu insulaire.

Les échecs d'éradications offrent un cadre expérimental pour l'étude de l'impact des variations démographiques sur la diversité génétique des populations. En effet, que l'échec soit lié à la survie de quelques individus ou à une nouvelle colonisation, il permet le suivi des étapes précoces de l'installation d'une population et l'analyse des effets fondateurs associés. Dans le premier cas, il est même possible de comparer la population nouvellement fondée (la reprise démographique depuis un faible nombre de survivants étant assimilable à une fondation), à la population lui ayant donné naissance. En général, la comparaison de populations introduites par rapport à leurs populations d'origines pose plusieurs problèmes méthodologiques, pour trois raisons principales. Tout d'abord, la population source exacte est souvent difficilement identifiable. En outre, si l'introduction est ancienne, la comparaison ne peut être faite qu'avec la population ayant dérivé de la population source passée. Enfin, les effectifs d'une population source continentale sont souvent extrêmement importants et il est délicat d'y estimer avec précision les fréquences alléliques des marqueurs utilisés. Dans le cas d'un échec d'éradication lié à la survie de quelques individus, tous ces problèmes disparaissent puisque la quasi-totalité des individus de la population source exacte sont disponibles. Il est alors possible de suivre avec précision le devenir de chaque allèle tout au long du goulet d'étranglement.

L'utilisation des outils de la biologie moléculaire et des modèles de la génétique des populations permet donc une meilleure compréhension des événements de fondation. Nous avons également montré qu'une valorisation possible de ces situations d'échecs d'éradication est, en retour, l'opportunité de tester les outils statistiques en développement de détection de variations démographiques à partir de données de polymorphisme génétique, dans des situations expérimentales pour lesquelles les paramètres démographiques et temporels sont connus avec précision.

Enfin, nous avons débuté une exploration des possibilités offertes par la nature même des données issues d'une opération d'éradication dans l'étude fine de la structure et le

fonctionnement des populations insulaires. En effet, les techniques d'éradication utilisées par l'équipe « Gestion des Populations Invasives » de l'INRA de Rennes (Pascal *et al.*, 1996b), permettent non seulement de capturer plus de 90% des effectifs totaux, mais également la localisation précise de la capture de chacun d'eux. Ce recensement quasi-exhaustif et géoréférencé de la population pourrait être la base du développement d'outils spécifiques d'étude de la structure génétique spatiale, en permettant de s'affranchir des problèmes de représentativité des échantillons. Ces développements, qui n'ont pu être réalisés lors de cette thèse, pourrait représenter une nouveauté d'un point de vue technique et permettre d'améliorer la compréhension de la biologie des populations insulaires.

V.D. Etude de populations en interaction : une perspective

Enfin, les invasions biologiques et les éradications offrent l'opportunité d'étudier de manière expérimentale les interactions entre espèces autochtones et espèces allochtones. Il est en effet possible de comparer les paramètres démographiques et génétiques de la population supposée affectée par la présence de l'espèce nuisible avant et après élimination de cette dernière. Pour cela, un travail a été initié visant à déterminer les interactions démographiques existant entre le rat surmulot, *R. norvegicus* et la musaraigne des jardins, *Crocidura suaveolens*.

En effet, l'arrivée du rat surmulot en Europe de l'Ouest à partir du XVIIIème siècle a fortement influé sur la dynamique des populations insulaires de musaraignes. . Dans les îles bretonnes, suite à l'éradication du rongeur, l'indice d'abondance de *C. suaveolens* a augmenté d'un facteur compris entre 7 et 25 selon l'île et le temps séparant la date d'éradication de la mesure de cet indice, alors que pendant sept ans, cet indice d'abondance n'a varié au plus que d'un facteur 2,5 sur l'île de Béniguet qui est réputée n'avoir jamais accueilli de *Rattus*. Par ailleurs, la distribution de la musaraigne réduite à deux zones de l'île Bono faiblement occupée par le rat s'est étendue à l'ensemble de l'île quelques années après l'éradication du rongeur (Pascal *et al.*, in press). Ces données démographiques et spatiales suggèrent une interaction forte entre une espèce allochtone (le rat surmulot) et une espèce autochtone ou présente depuis plus de 4 000 ans sur ces îles (la musaraigne des jardins).

Dans le cas où deux populations sont supposées en interaction forte, il est attendu de manière schématique (Figure 10), que soit détectés de manière concomitante à l'introduction (I) une explosion démographique de l'espèce introduite et un goulet d'étranglement de l'espèce autochtone. Au contraire, une reprise démographique de la population de l'espèce autochtone est attendue après éradication (E) de l'espèce introduite.

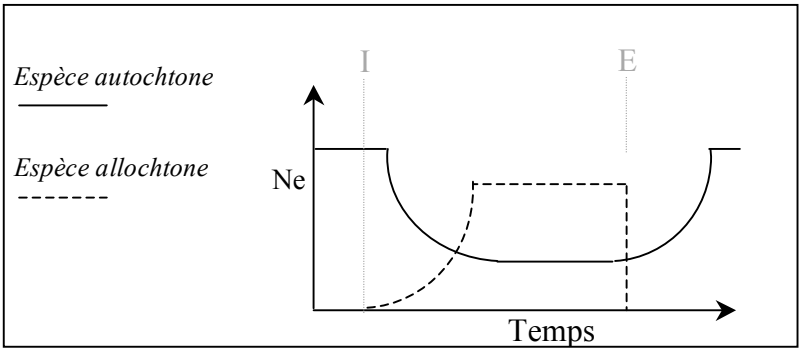


Figure 10 Représentation schématique des variations démographiques au cours du temps de populations d'une espèce autochtone et d'une espèce allochtone suite à l'introduction (I) et à l'éradication (E) de cette dernière.

Cette situation permettra donc de tester si la présence et l'impact de *R. norvegicus* a entraîné une réduction de la taille efficace et de la diversité génétique significative dans les populations de *C. suaveolens*. De plus, les méthodes de détection d'événements démographiques majeurs comme les goulets d'étranglement (Cornuet, Luikart, 1996; Garza, Williamson, 2001; Luikart *et al.*, 1998) et les expansions de populations (Beaumont, 1999; Kimmel *et al.*, 1998) pourront être utilisées afin de déterminer si la séquence démographique attendue dans le cas d'un modèle simple concernant deux espèces en compétition (Figure 10) est détectable à partir de données génétiques.

Pour cela, des marqueurs microsatellites spécifiques de *C. suaveolens* ont été développés. Le développement de ces marqueurs fait l'objet de la publication présentée en annexe #1. En complément des huit marqueurs que nous avons développés à partir de *C. suaveolens* le polymorphisme de marqueurs développés pour la musaraigne musette, *C. russula* (Favre, Balloux, 1997) a été testé et deux marqueurs supplémentaires ont été retenus. Les premiers résultats, obtenus dans le cadre du travail de DEA de Magali Thierry, bien qu'encore trop préliminaires pour être présentés ici, sont encourageants puisque les marqueurs développés montrent des niveaux de polymorphisme élevés. Ces premiers résultats soutiennent l'intérêt de ces jeux de données originaux pour la compréhension des interactions démographiques ainsi que pour le développement des outils d'analyse associés.

Bibliographie

Abdelkrim J, Pascal M, Calmet C, Samadi S (in press) The importance of assessing population genetic structure prior to eradication of invasive species: Examples from insular Rattus norvegicus populations. *Conservation Biology*.

Alonso A, Dal lmeier F, Granek E, Raven P (2001) *Biodiversity: Connecting with the Tapestry of Life* Smithsonian Institution. Monitoring and Assessment of Biodiversity., Washington, D.C.

Anderson PK (1970) Ecological structure and gene flow in small mammals. *Symposiun of Zoological Society of London* 26, 283-295.

Atkinson IAE (1985) The spread of commensal species of *Rattus* to oceanic islands and their effects on island avifaunas. *ICBP Technical Publication* 3, 35-79.

Atkinson IAE (1989) Introduced animals and extinctions. In: *Conservation for the twenty-first century* (eds. Western D, Pearl M), pp. 54-69, Oxford, New York.

Atkinson IAE (2001) Introduced mammals and models for restoration. *Biological Conservation* 99, 81-96.

Barbier EB (2004) A Note on the Economics of Biological Invasions. *Ecological Economics* 39, 197-202.

Beaumont MA (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153, 2013-2029.

Belkhir K, Castric V, Bonhomme F (2002) IDENTIX, a software for relatedness in a population using permutation methods. *Molecular Ecology Notes* 2, 611-614.

Bertolino S, Genovesi P (2003) Spread and attempted eradication of the grey squirrel (Sciurus carolensis) in Italy, and consequences for the red squirrel (Sciurus vulgaris) in Eurasia. *Biological Conservation* 109, 351-358.

Blondel J (1995) *Biogéographie: approche écologique et évolutive* Masson.

Bomford M, O'Brien P (1995) Eradication or control for vertebrate pests. *Wildlife Society Bulletin* 23, 249-255.

Broders HG, Mahoney SP, Montevecchi WA, Davidson WS (1999) Population genetic structure and the effect of founder events on the genetic variability of moose, Alces alces, in Canada. *Molecular Ecology* 8, 1309-1315.

Bruford MW, Wayne RK (1993) Microsatellites and their application to population genetic studies. *Curr Opin Genet Dev* 3, 939-943.

Burger JG, M. (1994) Predation and effects of humans on islands-nesting seabirds. In: *Seabirds on islands: threats, case studies and action plans* (eds. Nettleship N, Burger J, Gochfeld M), pp. 36-67. BirdLife Int, Cambridge.

Calmet C, Pascal M, Samadi S (2001) Is it worth eradicating the invasive pest *Rattus norvegicus* from Molène archipelago? genetic structure as a decision-making tool. *Biodiversity and Conservation* 10, 911-928.

Chakraborty R, Nei M (1977) Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. *Evolution* 31, 347-356.

Cheylan G (1984) Le rat surmulot, Rattus norvegicus. In: *Atlas des mammifères sauvages.* (ed. SFEPM). MNHN, Paris.

Cheylan G (1988) Les adaptations écologiques de *Rattus rattus* à la survie dans les îlots méditerranéens (Provence et Corse). *Bulletin d'Ecologie* 19, 417-426.

Cheylan G, Granjon L, Britton-Davidian J (1998) Distribution of genetic diversity within and between Western Mediterranean island populations of the black rat *Rattus rattus* (L. 1758). *Biological Journal of the Linnean Society* 63, 393-408.

Clegg SM, Degnan SM, Kikkawa J*, et al.* (2002) Genetic consequences of sequential founder events by an island-colonizing bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 8127-8132.

Clout MN, Russell JC (in press) The eradication of introduced mammals from New Zealand islands.

Clout MN, Veitch CR (2002) Turning the tide of biological invasion: the potential for eradicating invasive species. In: *Turning the tide: the eradication of invasive species* (eds. Veitch CR, Clout MN), pp. 1-3. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144, 2001-2014.

Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153, 1989-2000.

Courchamp F, Chapuis J-L, Pascal M (2003) Mammal invaders on islands: Impact, control and control impact. *Biological Review* 78, 347-383.

Crnokrak P, Roff DA (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* 83, 260-270.

Di Castri F (1989) History of biological invasions with special emphasis on the old world. In: *Biological invasions: a global perspective* (ed. Drake JA), p. 30. John Wiley & sons Ltd.

Diamond J (1989) Overview of recent extinctions. In: *Conservation for the twenty-first century* (eds. Western D, Pearl MC), pp. 37-41. Oxford University Press, Oxford.

Diamond JM (1984) "Normal" extinctions of isolated populations. In: *Extinctions* (ed. Nitecki MH), pp. 191-246. University of Chicago Press, Chicago.

Dieckman U, O'Hara B, Weisser W (1999) The evolutionary ecology of dispersal. *Trends in Ecology and Evolution* 14, 88-90.

Dieringer D, Schlötterer C (2002) Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large data set. *Molecular Ecology Notes* 3, 167-169.

Dobson FS, Jones WT (1985) Multiple causes of dispersal. *American Naturalist* 126, 855-858.

Eason CT, Milne L, Potts M*, et al.* (1999) Secondary and tertiary poisoning risks associated with brodifacoum. *New Zealand Journal of Ecology* 23, 219-224.

Ebenhard T (1988) Introduced birds and mammals and their ecological effects. *Swedish Wildlife Research* 13, 1-107.

Estoup A, Angers B (1998) Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. In: *Advances in molecular ecology*, pp. 55-85. Carvalho, G. R.

Favre L, Balloux F (1997) Characterization of microsatellite loci in the greater white-toothed shrew *Crocidura russula*. *Molecular Ecology* 6, 595-5596.

Flux JEC (1994) World distribution. In: *The European Rabbit. The history and biology of a successful colonizer* (eds. Thomson HV, King CM), pp. 8-21. Oxford University Press, Oxford.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) *Introduction to conservation genetics* Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Garza JC, Williamson EG (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* 10, 305-318.

Genovesi P (2005) Eradications of invasive alien species in Europe: a review. *Biological Invasions* 7, 127-133.

Gillies CA, Pierce RJ (1999) Secondary poisoning of mammalian predators during possum and rodent control operations at Trounson Kauri Park, Northland, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology* 23, 183-192.

Gliwicz J (1980) Island populations of rodents: their organization and functioning. *biological review* 55, 109-138.

Gorman ML (1979) *Island ecology* Chapman and hall, London, UK.

Granjon L, Cheylan G (1989) Le sort de rats noirs (*Rattus rattus*) introduits sur une île, révélé par radio-tracking. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 571-575.

Granjon L, Cheylan G (1990) Adaptations comportementales des rats noirs *Rattus rattus* des îles ouest-méditerranéennes. *Vie Milieu* 40, 189-195.

Grant PR (1998) *Evolution on islands* Oxford University Press, Oxford.

Grant PR (2001) Reconstructing the evolution of birds on islands: 100 years of research. *Oikos*, 385-403.

Honegger RE (1981) List of amphibians and reptiles either known or thought to have become extinct since 1600. *Biological Conservation* 19, 141-158.

Innes J, Barker G (1999) Ecological consequences of toxin use for mammalian pest control in New Zealand - An overview. *New Zealand Journal of Ecology* 23, 111-127.

Innes J, Hay R, Flux I*, et al.* (1999) Successfull recovery of North Islnad kokako Callaeas cinerea wilsoni populations, by adaptative management. *Biological Conservation* 87, 201-214.

Jacob HJ, Brown DM, Bunker RK*, et al.* (1995) A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. *Nature Genetics* 9, 63-69.

Jarne P, Lagoda PJL (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Genetics and Evolution* 11, 424-429.

Kerbiriou C, Pascal M, Le Viol I, Garoche J (2004) Conséquence sur l'avifaune terrestre de l'île de Trielen (réserve naturelle d'Iroise; Bretagne) de l'éradication du surmulot (*Rattus norvegicus*). *Revue d'Écologie (Terre & Vie)* 59, 319-329.

Kimmel M, Chakraborty R, King JP*, et al.* (1998) Signatures of population expansion in microsatellite repeat data. *Genetics* 148, 1921-1930.

King JA (1973) The ecology of agressive behaviour. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4, 117-138.

King WB (1985) Island birds: Will the futur repeat the past? In: *Conservation of island birds* (ed. Moors PJ), pp. 3-15. ICPB Technical Publication, Gland, Switzerland.

Lack D (1947) *Darwin's finches* Cambridge University Press.

Lambin X, Yoccoz NG (1998) The effect of population kin structure on juvenile survival in Townsend's voles (Microtus townsendii). *Journal of Animal Ecology* 67, 1-16.

Leberg PL (1992) Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution* 46, 477-494.

Lever C (1994) *Naturalized Animals: the Ecology of Successfully Introduced Species* Poyser Natural History, London.

Lidicker WZ (1975) The role of dispersal in the demography of small mammals. In: *Small mammals: their productivity and population dynamics* (eds. Golley FB, Petrusewicz K, Ryszkowski L), pp. 103-134. Cambridge University Press.

Lorvelec O, Pascal M (2005) French alien mammal eradication attempts and their consequences on the native fauna and flora. *Biological Invasion* 7, 135-140.

Lorvelec O, Pascal M, Pavis C (2001) Inventaire et statut des Mammifères des Antilles françaises (hors Chiroptères et Cétacés), pp. 1-21. Association pour l'Etude et la protection des Vertébrés et végétaux des petites Antilles (AEVA), Petit-Bourg, Guadeloupe.

Lowe S, Browne M, Boudjelas S (2000) 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database., p. 11. Invasive Species Specialist Group, Auckland.

Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89, 238-247.

Lynch M, Ritland K (1999) Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics* 152, 1753-1766.

MacArthur RH, Wilson EO (1963) An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution* 17, 373-387.

Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM*, et al.* (2000) Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications* 10, 689-710.

Mathieu E, Autem M, Roux M, Bonhomme F (1990) Epreuves de validation dans l'analyse de structures génétiques multivariées: comment tester l'équilibre panmictique? *Revue de Statistique Appliquée* 38, 47-66.

May RM (1975) Patterns of species abundance and diversity. In: *Ecology and Evolution of Communities* (eds. Cody LM, Diamond JM), pp. 8-120. Belknap, Cambridge, Massachussetts, USA.

Mayr E (1954) Changes of genetic environment and evolution. In: *Evolution as a process* (eds. Huxley J, Hardy AC, Ford EB), pp. 157-180. Allen & Unwin, London.

Michel V (2001) *Épidémiologie de la leptospirose zoonose: étude comparée du rôle de différentes espèces de la faune sauvage et de leur environnement*, Thèse de l'Université Claude Bernard Lyon I.

Mooney HA, Cleland EE (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 5446-5451.

Moors PJ (1985) Norway rats (Rattus norvegicus) on the Noises and Motukawao islands, Hauraki gulf, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology* 8, 37-54.

Moors PJ, Atkinson IAE (1984) Predation on seabirds by introduced animals, and factors affecting its severity. In: *Status and conservation of the world's seabirds* (eds. Croxall JP, Evans PGH, Schreiber RW), pp. 667-690. ICBP Technical Publication.

Morin N (1995) Vascular plants ofthe United States. In: *Our living resources: a report to the Nation on the distribution, abundance,and health of US plants, animals, and ecosystems* (eds. LaRoe ET, Farris GS, Puckett CE, Doran PD, Mac MJ), p. 200–205. US Department of the Interior, National Biological Service., Washington DC.

Morse LE, Kartesz JT, Kutner LS (1995) Native vascular plants. In: *Our living resources: a report to the Nation on the distribution, abundance,and health of US plants, animals, and ecosystems* (eds. LaRoe ET, Farris GS, Puckett CE, Doran PD, Mac MJ), p. 205–209. US Department of the Interior, National Biological Service., Washington DC.

Murray BG (1967) Dispersal in vertebrates. *Ecology* 48, 975-979.

Mège S, Anselme M (1997) *Plan de gestion de la Réserve Naturelle du Grand Cul-de-Sac Marin*, p. 222. Parc National de la Guadeloupe, Saint Claude, guadeloupe.

Paquier F (1999) *Structuration génétique et comportements sociaux d'une population insulaire de rats noirs (Rattus rattus)* DEA.

Pascal M, Brithmer R, Lorvelec O, Vénumière N (2004a) Conséquences sur l'avifaune nicheuse de la réserve naturelle des îlets de Sainte-Anne (Martinique) de la récente invasion du rat noir (Rattus rattus), établies à l'issue d'une tentative d'éradication. *Revue d'Écologie (Terre & Vie)* 59, 309-318.

Pascal M, Cosson JF, Bioret F, Yésou P, F. S (1996a) Réflexion sur le bien-fondé de restaurer une certaine biodiversité de milieux insulaires par l'éradication d'espèces exogènes. Cas de certains mammifères d'îles de Bretagne (France). *Vie et milieu* 46, 345-354.

Pascal M, Lorvelec O (in press) French alien mammal eradication attempts in protected areas. Their major consequences on the native fauna and flora. In: *ALIENS, Newsletter 18*.

Pascal M, Lorvelec O, Borel G, Rosine A (2004b) Structures spécifiques des peuplements de rongeurs d'agro-écosystèmes et d'écosystèmes "naturels" de la Guadeloupe et de la Martinique. *Revue d'Écologie (Terre & Vie)* 59, 283-292.

Pascal M, Siorat F, Bernard F (1998) Intercations between norway rats and shrews in Brittany Islands. *Aliens Newsletter,* 8, 7.

Pascal M, Siorat F, Cosson JF, Burin des rosiers H (1996b) L'éradication de populations insulaires de Surmulots (*Rattus norvegicus*) (Archipel des Sept îles - Archipel de Cancale: Bretagne - France). *Vie et milieu* 46, 267-283.

Pascal M, Siorat F, Lorvelec O, Yésou P, Simberloff D (in press) A pleasing Norway rat eradication consequence: two shrew species recover. *Diversity and Distribution*.

Petren K, Grant BR, Grant PR (1999) A phylogeny of Darwin's finches based on microsatellite DNA length variation. *Proceedings of the Royal Society of London* 266, 321-329.

Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D (2000) Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United-States. *BioScience* 50, 53-65.

Pinchon R (1967) Quelques aspects de la Nature aux Antilles, Fort-de-France, Martinique.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM*, et al.* (2004) GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrants detection. *Journal of Heredity* 95, 536-539.

Pisanu B (1999) Diversité, variabilité morphologique et rôle des Helminthes chez des Mammifères introduits en milieu insulaire. Thèse de l'Université Rennes I.

Pregill GK, Steadman DW, Watters DR (1994) Late quaternary vertebrate faunas of the Lesser Antilles: Historical components of Caribbean biogeography. *Bulletin of Carnegie Museum of Natural History* 37, 1-51.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.

Queller DC, Goodnight KF (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* 2, 611-614.

Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86, 248-249.

Ruiz GM, Carlton JT, Grosholz ED, Hines AH (1997) Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: Mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist* 37.

Russell JC, Clout MN (2005) Rodent Incursions on New Zealand islands, 324-330.

Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS*, et al.* (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32, 305-332.

Sato A, O'huigin C, Figueroa F*, et al.* (1999) Phylogeny of Darwin's finches a revealed by mtDNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 5101-5106.

Simberloff D (2002) Today Tiritiri Matangi, tomorrow the world! Are we aiming too low in invasives controle? In: *Turning the tide of biological invasion: the potential for*

eradicating invasive species (eds. Veitch CR, Clout MN), pp. 4-12. IUCN SSC Invasive Species Specialist Group, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Simberloff D (2003) How Much Information on Population Biology Is Needed to Manage Introduced Species? *Conservation Biology* 17, 83-92.

Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cosson JF (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7, 453-464.

Tarr CL, Conant S, Fleischer RC (1998) Founder events and variation at microsatellite loci in an insular passerine bird, the Laysan finch (*Telespiza cantans*). *Molecular Ecology* 7, 719-731.

Templeton AR (1980) The theory of speciation via the founder principle. *Genetics* 94, 1011-1038.

Thibault JC (1995) Effect of predation by the Black rat *Rattus rattus* on the breeding success of Cory's shearwater *Calonectris diomedea* in Corsica. *Marine Ornithology* 23, 1-10.

Thorsen M, Shorten R, Lucking P, Lucking V (2000) Norway rats (*Rattus norvegicus*) on Fregate Island, Seychelles: the invasion; subsequent eradication attempts and implications for the island's fauna. *Biological Conservation* 96, 133-138.

Towns DR, Broome KG (2003) From small Maria to massive Campbell: forty years of rat eradications from New Zealand islands. *New Zealand Journal of Zoology* 30, 377-398.

Vigne JD, Granjon L, Auffray JC, Cheylan G (1994) Les micromammifères. In: *L'ile Lavezzi, Hommes, animaux, archéologie et marginalité (Bonifacio, Corse, XIIeme-XIX siècles)*, pp. 133-154.

Vigne JD, H. V (1996) Small Mammal Fossil Assemblages as Indicators of Environmental Change in Northern Corsica during the Last 2500 Years. *Journal of Archeological Sciences* 23, 199-215.

Vigne JD, Villié P (1995) Une preuve archéologique du transport d'animaux par bateau: le crâne de *Rattus norvegicus* de l'épave du ça ira (Saint Florent, Haute-Corse, fin du 18ème siècle). In: *L'homme méditerrannéen.*, pp. 411-416. Publication Université de Provence, Aix-en-Provence.

Vitousek PM, D'antonio CM, Loope LL, Rejmanek M, Westbrooks R (1997) Introduced species and global change. 21, 1-16.

Wallace AR (1902) *Island life (3rd edn)* Macmillan, London.

Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.

Whittaker RJ (1998) *Island biogeography* Oxford University Press.

Williamson M (1996) *Biological invasions* Kluwer Academic Publishers.

Williamson MH, Fitter A (1996) The characters of succesfull invaders. *Biological Conservation* 78, 163-170.

Ylönen H, Mappes T, Viitala J (1990) Different demography of friends and strangers: an experiment on impact of kinship and familiarity in Clethrionomys glareolus. *Oecologia* 83, 333-337.

ANNEXE #1

Characterization of eight polymorphic microsatellites in the shrew *Crocidura suaveolens* and its application to the study of insular populations of the French Atlantic coast

Claire Calmet, Josie Lambourdière, Jawad Abdelkrim, Michel Pascal, & Sarah Samadi

Molecular Ecology Notes

(2004) **4** 426-428

Molecular Ecology Notes (2004) **4**, 426–428 doi: 10.1111/j.1471-8286.2004.00672.x

PRIMER NOTE

Characterization of eight polymorphic microsatellites in the shrew *Crocidura suaveolens* and its application to the study of insular populations of the French Atlantic coast

CLAIR. E. CALMET,* JOSIE LAMBOURDIÈRE,* JAWAD ABDELKRIM,*† MICHEL PASCAL† and SARAH SAMADI*

**UMR 7138 P6-IRD-MNHN-CNRS (UR IRD 148), Département Systématique et Evolution, Service de systématique moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier, 75005 Paris, France, †Equipe 'Gestion des populations invasives', Station SCRIBE, Centre INRA de Rennes, Campus de Beaulieu, F. 35 042 Rennes cedex, France*

Abstract

We developed eight polymorphic microsatellite loci to study the natural populations of *Crocidura suaveolens*, the lesser white-toothed shrew. These loci are used in the study of insular populations of the French Atlantic coast where these shrews exhibit gigantism features that suggest an insular syndrome. These populations were threatened by the invasion of the rat *Rattus norvegicus* and the eradication of this alien pest in some islands was followed by a demographic expansion of the shrew populations. These first genetic results suggest that the shrew populations in the three studied islands are very differentiated.

Keywords: *Crocidura suaveolens*, insularity, invasion, microsatellites

Received 4 February 2004; revision received 22 March 2004; accepted 22 March 2004

Crocidura suaveolens, the lesser white-toothed shrew, has a large distribution that encompasses the area between Spain and Korea and includes Japan (Wilson & Reeder 1993; Libois *et al*. 1999). This shrew invaded the northern two-thirds of France during the Holocene. It was suggested that in the western part of France, *C. russula* replaced *C. suaveolens* in most places (Cosson 1998). At present, *C. suaveolens* is scarce on the French Atlantic coast, except on islands, and its distribution is patchy. Moreover, insular populations, either from Corsica (Fons 1984) or from the Atlantic and Channel Islands (Cosson *et al*. 1996), exhibit gigantism features that suggest an insular syndrome. However, the scarcity of its remains prevents the determination of whether *C. suaveolens* reached the Atlantic and Channel coasts before or after the islands of this area were split from the continent. The brown rat, *Rattus norvegicus*, invaded France, and many other western European countries, during the 18th century. Its introduction on French Atlantic and Channel Islands threatened the shrew populations. Attempts at eradication of the alien rat populations on different islands were followed by a demographic explosion of shrew populations (Pascal *et al*. 1998). Molecular markers are available for *R. norvegicus*, which is the common laboratory rat (Jacob 1995), and have already been used to analyse the rat invasion of French islands off Brittany (Calmet *et al*. 2001). To infer the past and present demography of *C. suaveolens* and its relations with the invasion history of *R. norvegicus* we developed new microsatellites markers.

Microsatellite isolation and characterization followed a protocol developed by Estoup and Turgeon (1996) (see http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.htm). Briefly, a genomic library for *C. suaveolens* was constructed using *Bsp*143I-digested genomic DNA; 400–900 base pair fragments were selected and ligated to *Bam*HI-digested *pUC* 18 vector (Amersham) and cloned in *Escherichia coli* Solopack Gold super-competent cells (Stratagene). Synthetic oligonucleotides $(TC)_{10}$, $(TG)_{10}$, $CT(ATCT)_6$, and $(TGTA)_6TG$, labelled with [γ-^{33}P]-dATP were used to screen ~1400 recombinant colonies. About 105 positive clones were obtained and 26 were sequenced on a CEQ2000XL sequencer (Beckman/Coulter) using dye-terminator chemistry. Eight primer pairs were designed using PRIMER3 (Rozen & Skaletsky 1998). Polymerase chain reaction (PCR) mixtures (10 µL final volume) contained approximately 2 ng template DNA, 0.2 mM dNTP, 0.25 µM R-Primer, 0.25 µM L-Primer fluorescently labelled with one of 6-FAM, VIC, NED, PET (Applied Biosystems), 10 mM Tris–HCl (pH 9), 50 mM KCl,

Correspondence: Sarah Samadi. Fax: number: 33 140 79 38 44; E-mail: sarah@mnhn.fr

© 2004 Blackwell Publishing Ltd

Table 1 Characterization of *Crocidura suaveolens* microsatellites

Locus	Primer sequence (5′–3′)	Repeat motif	PCR conditions*	GenBank accession no.
CS25	F: TGGGTCCAGGGAGATTATTG R: GAGCAGCAGGTAGGGTATTTG	$(GT)_{16}$	55/30	AY531118
CS38-2	F: CAAACACTTTCACAAAGCAGAG R: GAGATAGCAGCCTAAATGCAAG	$(CT)_{36}TT(CT)_5$	55/30	AY531119
CS40	F: TCCTTATCAGAGAGACCATGTAGG R: GCCATTTTATATCAGGTCAGTGG	$(GT)_{11}$	53/35	AY531120
CS43	F: AGGCAGAGGCTGTGTTAAGG R: TGTGACAGAATAAACCCCAGAC	$(GT)_7GATT(GA)_{20}$	57/30	AY531121
CS50	F: TCCTGAAATGCCAAAAGGAC R: TGAATGTCCCTCGTTTTCTTC	$(GA)_{26}$	55/30	AY531122
CS57	F: GAGGTTCGCGTATGTGCTG R: CTGCTGTGTTGGTCTTGCTG	$(TG)_{14}CA(TG)_5$	55/30	AY531123
CS71	F: TCTCCCAATTTCCAAGTACCC R: TCAGGGGCAACTTCTCTGAC	$(GT)_{22}$	55/30	AY531124
CS73	F: GTCACAGGACATGGGATGG R: CTGCAATTCCCCACATCAG	$(GT)_{21}$	55/30	AY531125

*Annealing temperature (°C)/number of cycles.

Table 2 Microsatellite polymorphism detected for three populations of *Crocidura suaveolens* on islands off Brittany

			Locus							
Island	Year		25	38–2	40	43	50	57	71	73
Beniguet	2000	Size (bp)	212	178–182	249–251	309–311	181–187	162	300–318	190–194
		n	20	20	20	19	20	20	19	20
		A	1	3	2	2	4	1	4	3
		H_E	—	0.22	0.18	0.05	0.70	—	0.61	0.59
		H_O	—	0.25	0.20	0.05	0.50	—	0.42	0.70
Bono	1999	Size (bp)	218–228	176–180	233	311–321	189–191	161	292	174–178
		n	20	20	20	17	20	20	18	20
		A	3	2	1	3	2	1	1	2
		H_E	0.48	0.32	—	0.37	0.37	—	—	0.40
		H_O	0.50	0.30	—	0.47	0.40	—	—	0.35
Rouzic	1999	Size (bp)	220	206–210	233	321–323	189–191	164–166	294	178–180
		n	10	20	20	18	20	20	14	20
		A	1	3	1	2	2	2	1	2
		H_E	—	0.55	—	0.05	0.32	0.32	—	0.22
		H_O	—	0.60	—	0.06	0.40	0.40	—	0.25
Total		Size (bp)	212–228	176–210	233–251	309–323	181–191	162–166	292–318	174–194
		A	4	7	3	5	6	3	6	6
		Mean H_E	0.16	0.36	0.06	0.16	0.46	0.11	0.20	0.40
		Mean H_O	0.17	0.38	0.07	0.19	0.43	0.13	0.14	0.43

n, number of individuals genotyped; *A*, number of alleles: H_O, observed heterozygosity: H_E, expected heterozygosity.

0.1% Triton®X–100, 1 U *Taq* DNA polymerase (Qbiogene), and 1.5 mM $MgCl_2$. Cycling was performed in an MWG AG thermal cycler (Biotech) under the following conditions: an initial denaturation step at 95 °C for 5 min followed by five cycles of 1 min at 95 °C, 30 s at the annealing temperature and 1 min at 72 °C, then 25–30 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at the annealing temperature and 30 s at 72 °C and the final elongation step of 20 min at 72 °C; annealing temperature and cycle number depend on loci (Table 1). PCR products were resolved on a 310 DNA sequencer and analysed using GENESCAN software (Applied Biosystems).

Eight microsatellite loci gave repeatable and scorable polymorphic patterns. Allelic variation was assayed in 60 individuals collected on three French islands off Brittany (20 from each population). The total number of alleles per locus varied from three to seven. Allele frequencies at each locus and for each population and heterozygosities (Table 2) were estimated using GENETIX (Belkhir *et al.* 2000). Deviations

from Hardy–Weinberg expectations were computed using GENEPOP software version 3.3 (Raymond & Rousset 1995) Mean observed heterozygosities at each microsatellite locus ranged from 0.07 to 0.43.

These first polymorphism results on three islands revealed that islands are differentiated from one another at least at two loci. The islands of Bono and Rouzic, which are in the Sept-Iles archipelago, present more alleles in common than each with Beniguet (in the Iroise sea). None of these loci showed significant departure from Hardy–Weinberg expectations in any of the populations studied. Given their level of polymorphism, these microsatellites will be useful in the study and comparison of the genetic structure of populations on the islands off Brittany and in inferring past and present demography of populations.

Acknowledgements

This work was supported financially by the Musée National d'Histoire Naturelle and the Institut National de la Recherche Agronomique. Jawad Abdelkrim received a PhD fellowship from the Conservatoire National du Littoral et des Espaces Lacustres.

References

Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2000) GENETIX *4 02, Logiciel Sous Windows TM Pour la Génétique Des Populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

Calmet C, Pascal M, Samadi S (2001) Is it worth eradicating the invasive pest *Rattus norvegicus* from Molène archipelago? Genetic structure as a decision-making tool. *Biodiversity and Conservation*, **10**, 911–928.

Cosson JF (1998) Historical biogeography of two competing shrews of the genus *Crocidura* inferred from mt DNA variation. In: *Euro-American Mammal Congress*.

Cosson JF, Pascal M, Bioret F (1996) Origine et répartition des musaraignes du genre *Crocidura* dans les îles bretonnes. *Vie et Milieu — Life and Environment*, **46**, 233–244.

Estoup A, Turgeon J (1996) Microsatellite markers: isolation with non-radioactive probes and amplification available at http://www.inapg.inra.fr/dsa/microsat/microsat.html.

Fons R (1984) La Crocidure des Jardins *Crocidura suaveolens*. In: *Atlas Des Mammifères de France* (ed. Société Française Pour l'Étude et la Protection Des Mammifères, Paris), pp. 46–47. Société Française Pour l'Étude et la Protection Des Mammifères, Paris.

Jacob HJ (1995) A genetic linkage map of the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. *Nature Genetics*, **9**, 63–69.

Libois R, Ramalhinho MG, Fons R (1999) *Crocidura suaveolens* (Pallas, 1811). In: *The Atlas of European Mammals* (eds Mitchell-Jones A J *et al.*), pp. 72–73. Academic Press, London San Diego.

Pascal M, Siorat F, Bernard F (1998) Interactions between Norway rats and shrews in Brittany Islands. *Aliens*, **8**, 7.

Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP Version 1.2.: population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248–249.

Rozen S, Skaletsky HJ (1998) Primer3, Code available at http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.

Wilson DE, Reeder DM (1993) *Mammal Species of the World*. Smithsonian Institut Press, Washington and London.

Résumé. Les invasions biologiques en milieux insulaires sont de plus en plus nombreuses et constituent une cause majeure de perte de biodiversité dans ces écosystèmes. L'objectif de cette thèse est de comprendre le fonctionnement de ces populations introduites afin d'en améliorer la gestion, à travers l'exemple de deux espèces de rongeurs, *Rattus rattus* et *R. norvegicus*. Pour cela, une étude génétique de la structure de populations a été menée dans différentes provinces biogéographiques (Atlantique, Méditerranée, Antilles) à partir d'individus issus principalement d'opérations d'éradication.

Deux applications intervenant à deux étapes différentes du processus décisionnel lors d'opérations d'éradication ont été mises en oeuvre. La première application consiste à déterminer les flux de gènes existant entre des populations occupant des îles proches afin de proposer une définition objective de l'unité d'éradication. La seconde application intervient en aval de l'opération d'éradication, dans les cas où l'espèce nuisible est à nouveau observée. Dans ce cas, l'utilisation d'outils moléculaires permet de déterminer s'il s'agit d'individus ayant survécu à la tentative d'éradication ou s'ils correspondent à une nouvelle invasion. Par ailleurs, ces jeux de données originaux ont également permis d'étudier les effets fondateurs et de tester plusieurs méthodes de détection de goulets d'étranglement dans une situation quasi-expérimentale causée par un échec d'éradication. Enfin, la dynamique d'une population de *R. rattus* à l'échelle d'un archipel a été étudiée et a permis d'aborder la question des processus évolutifs agissant sur le fonctionnement des populations ayant subit un fort effet fondateur dans le contexte de l'évolution en milieu insulaire.

Abstract. Rates of biological invasions on islands are increasing rapidly and constitute a major cause of biodiversity loss in these ecosystems. The objective of this thesis is to understand the functioning of introduced populations in order to improve their management through the example of two rodent species, *Rattus rattus* and *R. norvegicus*. A genetic study of population structure was realized in various biogeographic areas (Atlantic coast, Mediterranean sea, and Caribbean islands), using the sampling that results primarily from eradication operations.

Two applications integrated to the decision-making process of eradications were developed. The first application consists in evaluating gene flows existing between populations occupying neighbouring islands in order to propose an objective delimitation of eradication units. The second application is used if the pest is observed again after the eradication attempt. In this case, molecular tools allow to determine whether the cause of the failure is the survival of some individuals to the eradication attempt, or a new invasion. In addition, these original datasets also made possible the study of founder effects and the test of several methods of bottlenecks detection in the experiment-like situation following failure of eradication. Finally, the study of the fine-grained population structure of *R. rattus* in a Mediterranean archipelago allows the discussion of evolutionary processes that explain the functioning of such insular populations issued from a founder event.