

# UNIVERSITÉ D'ORLÉANS

**ÉCOLE DOCTORALE SANTE SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANT**

UNITE DE RECHERCHE DE ZOOLOGIE FORESTIERE – INRAE VAL DE LOIRE

CENTRE DE BIOLOGIE POUR LA GESTION DES POPULATIONS – INRAE MONTPELLIER OCCITANIE

## THÈSE présentée par :

**Teddy URVOIS**

soutenue le : **24 Février 2022**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé. Biologie de l'invasion

**Structure génétique et modélisation de la  
distribution des populations de deux  
espèces invasives de *Xylosandrus*  
(Scolytinae: Xyleborini) : deux espèces  
proches aux histoires d'invasion différentes**

THÈSE dirigée par :

Dr AUGER-ROZENBERG Marie-Anne  
Dr KERDELHUÉ Carole

Directrice de recherche, INRAE Centre-Val de Loire, France  
Directrice de recherche, INRAE Montpellier Occitanie, France

RAPPORTEURS :

Dr LUQUE Sandra  
Dr PETIT Éric

Directrice de recherche, INRAE Montpellier, France  
Directeur de recherche, Université de Rennes 1, France

JURY :

Pr BRANCO Manuela  
Dr BANKHEAD Stéphanie  
Pr FACCOLI Massimo

Professeure, Université de Lisbonne, Portugal, Présidente du jury  
Maître de Conférences, Université d'Orléans, France  
Professeur, Université de Padoue, Italie



# REMERCIEMENTS

Tout d'abord je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse : Sandra Luque et Eric Petit en tant que rapporteurs, et Stéphanie Bankhead, Manuela Branco et Massimo Faccoli en tant qu'examineurs.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers mes directrices de thèse Marie-Anne Auger-Rozenberg et Carole Kerdelhué. Merci de m'avoir permis de réaliser cette thèse et de découvrir le merveilleux monde des ambrosia beetles. Merci aussi d'avoir été présentes tout au long de ces 3 années, que ce soit pour discuter de la thèse ou gérer les galères administratives, malgré les nombreuses autres choses que vous aviez à gérer, et la distance parfois !

Je tiens aussi à remercier Jean-Pierre Rossi et Charles Perrier pour leur précieuse aide et le temps passé à m'expliquer le fonctionnement des SDM pour l'un, et de l'analyse des données de RAD pour l'autre. Merci aussi pour votre aide avec R qui m'a fait gagner un temps dont j'avais visiblement besoin vu le peu de temps restant avant de rendre ce manuscrit à l'heure où j'écris ces lignes.

Merci à Alain Roques pour son aide tout au long de cette thèse. Merci d'avoir géré toute la partie terrain de SAMFIX, pour ton aide sur les identifications et l'échantillonnage des *Xylosandrus*.

Un grand merci à Claudine Courtin pour s'être occupée d'une grande partie du travail de labo, d'une partie de l'encadrement d'Edwige et d'avoir enlevé les mycangium à ma place quand j'avais le coude cassé. Merci aussi pour nos échanges au quotidien quand j'étais encore sur Orléans. Merci à Laure Sauné pour son aide au labo, j'ai beaucoup apprécié les quelques jours passés à préparer les librairies, y compris la sonication finalement ! Merci également à Anne Loiseau d'avoir remplacé Laure au pied levé quand on en avait besoin.

Merci à toutes les personnes qui nous ont envoyé des individus, sans qui nous n'aurions pas pu concrétiser cette thèse, notamment Richard Bellanger, Jared Bernard, Ben Boyd, Jean-Baptiste Daubrée, Massimo Faccoli, Steve Frank, Diego Gallego, Lei Gao, Benjamin Gey, Federica Giarruzzo, Andreja Kavčič, Jhuniar Morillo, Fabrice Pinard, et Giovanna Tropea.

Je remercie tous mes collègues de l'URZF pour ces deux supers années passées ! Merci à Marie Miller-Ledoux d'avoir géré tous les tracas administratifs liés à SAMFIX, promis c'est bientôt la fin ! Merci à Alexis Bernard de m'avoir accompagné en Italie lors de mon unique sortie

terrain. J'en garde un très bon souvenir, même si je faisais moins le fier quand j'ai découvert que les filets insecticides étaient restés à l'URZF... Heureusement, cet oubli n'a causé aucun tort ! Merci à Edwige Sautier pour sa bonne humeur et son aide au labo et à la dissection de mycangia, je suis content d'avoir eu l'occasion de t'encadrer lors de ton stage. Merci aussi à Louis pour son aide avec la dissection de mycangia. Merci à tous mes collègues non-permanents du 1er étage pour la bonne ambiance qui y régnait, ainsi qu'à ceux qui nous rejoignaient pour les pauses café, pour des discussions plus ou moins longues et plus ou moins scientifiques.

Merci à mes collègues du CBGP, où j'ai eu le plaisir de passer ma dernière année de thèse, pour leur accueil ! Un merci tout particulier aux autres non-permanents pour ces super moments passés ! Evidemment, merci à mes co-bureaux : Serena, Emeline et Cécile pour la bonne ambiance au bureau.

Un grand merci à tous ceux que j'ai côtoyés en dehors du labo, à Orléans comme à Montpellier, notamment et dans le désordre : Dorian, Tai, Laura, Mathieu, ChengLong, Mathilde, Xueting, Audrey, Océane, Loïs, Jeff, Marie, Camille, Isis, Pauline, Timothée, Maxime, Cécile, Marjolaine, Emeline, Jules, Bérénice, Louise, Lou et Fanny. Merci aussi à Quentin et Vivi pour la bonne ambiance dans la colloc' ! Merci aussi à Kevin pour nos nombreuses soirées passées à geeker !

Evidemment, merci à ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre et que j'ai oublié de nommer ici, j'espère que vous ne m'en tiendrez pas rigueur !

Enfin, merci à ma famille d'avoir cru en moi et m'avoir poussé à continuer en thèse. Merci aussi à Sandy pour son humour et sa bonne humeur communicative au quotidien. Merci aussi d'avoir relu ce manuscrit et de m'avoir supporté lors de la rédaction de celui-ci !

# TABLE DES MATIERES

|                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>CHAPITRE 1 : INTRODUCTION .....</b>                                                                | <b>1</b>  |
| 1) INVASIONS BIOLOGIQUES .....                                                                        | 3         |
| A- Contexte et définitions .....                                                                      | 4         |
| B- Les étapes d'une invasion biologique .....                                                         | 9         |
| C- Une accélération des invasions .....                                                               | 13        |
| D- La gestion des espèces invasives .....                                                             | 15        |
| 2) MODELES D'ETUDE : XYLOSANDRUS COMPACTUS ET X. CRASSIUSCULUS, DEUX INVASIFS RECENTS EN EUROPE ..... | 20        |
| A- Généralités sur le genre <i>Xylosandrus</i> .....                                                  | 20        |
| B- <i>Xylosandrus compactus</i> et <i>X. crassiusculus</i> .....                                      | 27        |
| 3) CONTEXTE, HYPOTHESES ET OBJECTIFS DE LA THESE .....                                                | 30        |
| <b>CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE X. COMPACTUS.....</b>           | <b>33</b> |
| ABSTRACT .....                                                                                        | 36        |
| KEY MESSAGE .....                                                                                     | 37        |
| INTRODUCTION .....                                                                                    | 37        |
| MATERIAL AND METHODS .....                                                                            | 40        |
| RESULTS .....                                                                                         | 44        |
| DISCUSSION .....                                                                                      | 52        |
| DECLARATIONS .....                                                                                    | 57        |
| BIBLIOGRAPHY .....                                                                                    | 58        |
| <b>CHAPITRE 3 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PRESENTE ET FUTURE DE X. COMPACTUS .</b>  | <b>67</b> |
| ABSTRACT .....                                                                                        | 70        |
| INTRODUCTION .....                                                                                    | 71        |
| MATERIAL AND METHODS .....                                                                            | 73        |
| RESULTS .....                                                                                         | 78        |
| DISCUSSION .....                                                                                      | 80        |
| BIBLIOGRAPHY .....                                                                                    | 86        |
| <b>CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE X. CRASSIUSCULUS .....</b>      | <b>97</b> |
| INTRODUCTION .....                                                                                    | 100       |
| MATERIAL & METHODS.....                                                                               | 102       |
| RESULTS .....                                                                                         | 105       |
| DISCUSSION .....                                                                                      | 114       |
| CONCLUSION .....                                                                                      | 123       |
| BIBLIOGRAPHY .....                                                                                    | 124       |

|                                                                                                                                         |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE <i>X. CRASSIUSCULUS</i></b> | <b>131</b> |
| ABSTRACT .....                                                                                                                          | 134        |
| INTRODUCTION .....                                                                                                                      | 135        |
| METHODS .....                                                                                                                           | 137        |
| RESULTS .....                                                                                                                           | 144        |
| DISCUSSION .....                                                                                                                        | 152        |
| BIBLIOGRAPHY .....                                                                                                                      | 161        |
| <b>CHAPITRE 6 : DISCUSSION GENERALE</b>                                                                                                 | <b>169</b> |
| 1) DISCUSSION ET ANALYSE CRITIQUE DE LA THESE .....                                                                                     | 171        |
| A- <i>Des histoires d'invasions radicalement différentes pour chaque espèce</i> .....                                                   | 171        |
| B- <i>Identification des zones à risque d'invasion ou d'expansion, et rôle possible du changement climatique</i> .....                  | 175        |
| 2) PERSPECTIVES DE RECHERCHE ET QUESTIONS EN SUSPENS .....                                                                              | 181        |
| A- <i>Biologie et écologie des deux espèces</i> .....                                                                                   | 181        |
| B- <i>Révision du complexe d'espèces <i>Xylosandrus crassiusculus</i> et du genre <i>Xylosandrus</i></i> .....                          | 183        |
| C- <i>Champignons symbiotiques et associés</i> .....                                                                                    | 185        |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....                                                                                                              | <b>189</b> |
| <b>ANNEXES</b> .....                                                                                                                    | <b>209</b> |
| 1) LISTE DE PRODUCTIONS .....                                                                                                           | 211        |
| 2) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 2 .....                                                                                          | 213        |
| 3) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 3 .....                                                                                          | 217        |
| 4) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 4 .....                                                                                          | 220        |
| 5) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 5 .....                                                                                          | 232        |
| 6) ARTICLE SOUMIS À THE COLEOPTERISTS BULLETIN .....                                                                                    | 238        |

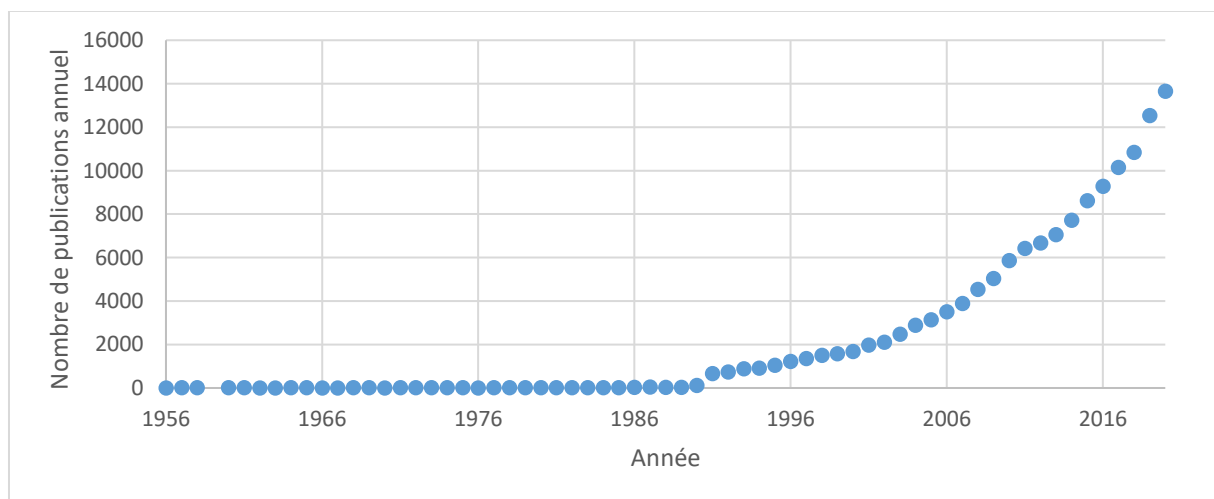
## CHAPITRE 1 : INTRODUCTION



## 1) INVASIONS BIOLOGIQUES

Les invasions biologiques sont souvent considérées comme une des principales menaces pesant sur la biodiversité (Genovesi et al. 2013, Mollot et al. 2017, Blackburn et al. 2019). Elles constituent un des défis majeurs de l'agriculture (Paini et al. 2016) et sont un enjeu de santé humaine et animale (Schindler et al. 2015, Jones 2017, Jones & McDermott 2017, Dueñas et al. 2021).

Si l'existence et les conséquences des invasions biologiques ont été reconnues par Charles Darwin dès 1859 dans son ouvrage *L'Origine des espèces* (Ludsin & Wolfe 2001), de nombreux auteurs attribuent la paternité de la biologie des invasions aux travaux de Charles Elton, et plus particulièrement à son livre *The ecology of invasions by animals and plants* (1958). Cependant, il a fallu attendre 1991 pour voir le nombre de publications scientifiques sur les invasions biologiques augmenter, avec 99% des publications sorties depuis 1991 et 90% depuis 2001 (Figure 1).



**Figure 1: Nombre de publications annuel sur la biologie des invasions sur la période 1956-2020.** Graphique basé sur les 140 128 résultats trouvés le 17/12/2021 sur Web of Science avec les filtres « biological invasion » OR « invasion biology » OR « invasion ecology » OR « introduced species » OR « invasive species » OR « non-native species ».

La biologie des invasions vise à étudier les espèces en dehors de leur distribution « naturelle », et s'intéresse aux mécanismes permettant l'arrivée, l'établissement et l'expansion de populations hors de leur aire d'origine, ainsi qu'à leur éventuel impact. Il existe de nombreux concepts et terminologies liés à l'invasion, et l'absence de définitions claires ou de consensus a été pointée comme un des facteurs pouvant ralentir l'avancée des connaissances (Colautti & MacIsaac 2004, Falk-Petersen et al. 2006). Ainsi, Falk-Petersen et al. (2006) ont recensé 145 définitions différentes liées à la biologie des invasions et aux organismes non-natifs, une partie

d'entre elles étant spécifiques à un groupe taxonomique ou une typologie d'organismes (p.ex. plantes, champignons, pathogènes, ravageurs etc). Cette profusion de concepts et de définitions est en partie due aux nombreux débats et controverses au sein de la communauté scientifique sur les concepts de base des invasions biologiques, leurs causes et leurs conséquences (Young et al. (2011), voir par exemple la réponse de Blondel et al. (2013) à Valéry et al. (2013)).

## A- CONTEXTE ET DEFINITIONS

### Espèce native ou exotique ?

Afin d'éviter toute confusion, il est important de définir les termes utilisés dans ce manuscrit (voir Encart 1).

Une espèce est qualifiée de **native** dans une zone donnée si elle y est arrivée sans intervention humaine. A l'inverse, une espèce est qualifiée d'**exotique** ou **non-native** dans un milieu si sa présence y est liée à une action humaine, volontaire ou non. Pourtant, il est parfois difficile, voire impossible, de déterminer le rôle de l'Homme dans la colonisation d'une espèce, particulièrement en ce qui concerne les colonisations anciennes. Certaines définitions incluent une composante temporelle, considérant les espèces présentes en Amérique avant 1492 et en Australie avant 1770 comme natives, malgré l'existence de preuves d'introductions par l'Homme avant ces dates (Chew & Hamilton 2010). D'autres définitions considèrent comme natives les espèces ayant été introduites par l'Homme avant le néolithique (Webb 1985), arguant que l'Homme pré-néolithique, faisant partie de la « Nature », exerçait une influence plus faible sur la dispersion des espèces. Cette dichotomie basée sur l'intervention humaine joue donc un rôle majeur dans la vision et le traitement réservés à ces espèces. En effet, si les espèces natives peuvent être protégées par la loi, les espèces exotiques sont souvent considérées comme causant des risques potentiels et peuvent faire l'objet de régulations, voire de procédures d'éradication (Myers et al. 2000, Gilroy et al. 2017).

Malgré l'existence de ces définitions, il peut s'avérer compliqué de juger du caractère natif ou non d'une espèce ou d'une population dans une région donnée. C'est le cas par exemple de la petite grenouille verte d'Europe *Pelophylax lessonae*, considérée au Royaume-Uni comme exotique et introduite depuis l'Europe du Sud et l'Europe Centrale et dont les travaux de Beebee et al. (2005) ont montré qu'il s'agissait en fait d'une espèce native dont les dernières populations se sont éteintes dans les années 1990. Depuis, des grenouilles provenant de Suède et appartenant

au même clade que les populations natives du Royaume-Uni y ont été introduites afin d'y ré-établir l'espèce, et sont désormais considérées comme natives, à l'inverse des autres populations introduites depuis d'autres régions Européennes.

Il existe de nombreux synonymes pour parler d'espèces exotiques, dont « introduite », « non-native », « non-indigène », « alien », « étrangère » ou « immigrante ». Parmi ces sept possibilités, Young et al. (2011) rapportent que les biologistes préfèrent les adjectifs « introduite » ou « non-native », « exotique » n'arrivant qu'en 3<sup>ème</sup> position, et « étrangère » et « immigrante » en dernière position. Ils expliquent que l'expression « espèce introduite » est décrite par certains comme plus explicite concernant l'action de l'Homme et non chargée politiquement, socialement ou éthiquement.

Certaines études ont entrepris de recenser les termes et définitions utilisés et de proposer leurs propres définitions (Colautti & MacIsaac 2004, Falk-Petersen et al. 2006) ou encore de créer une nouvelle classification (Crees & Turvey 2015). Crees & Turvey (2015) proposent par exemple un continuum permettant de décrire l'état d'une espèce allant de « native » à « non-native » (Figure 2). Ces 9 termes ont pour but de renseigner sur l'historique de l'espèce dans un milieu donné, « archéofaune » représente par exemple les espèces introduites avant l'an 1500, « native restaurée » indique une espèce native ayant disparu localement et ayant été réintroduite dans le milieu suite à une intervention humaine, tandis que « native récente » représente les espèces ayant récemment colonisé l'environnement sans intervention humaine. Si ces notions sont intéressantes, elles viennent toutefois s'ajouter aux nombreuses définitions déjà existantes, et risquent d'ajouter à la confusion (Colautti & MacIsaac 2004).

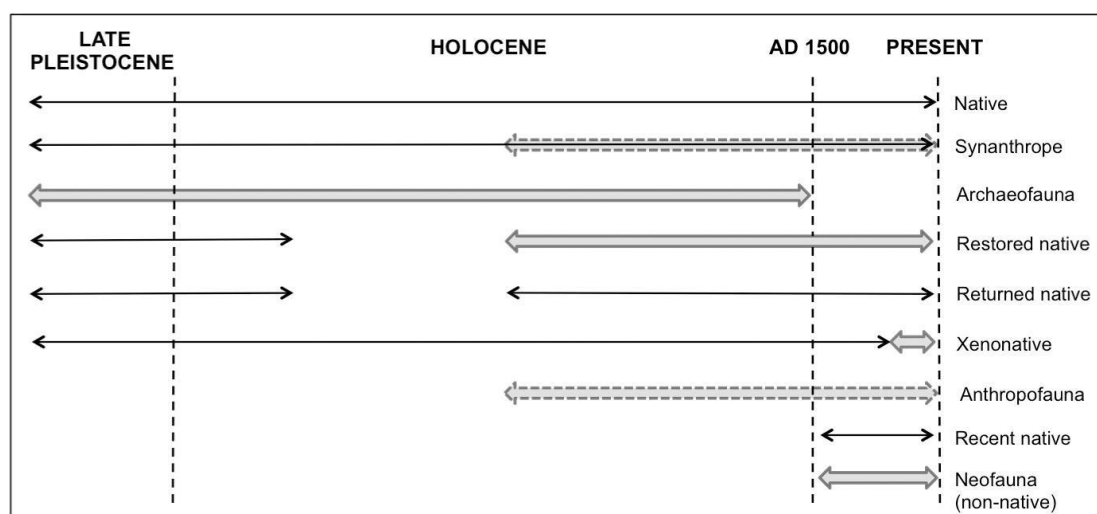


Figure 2 : Catégories proposées par Crees et al. 2015. Les flèches noires indiquent une colonisation naturelle, les flèches grises pleines indiquent une intervention directe de l'Homme, et les flèches grises pointillées indiquent une intervention indirecte de l'Homme.

## Qu'est-ce qu'une espèce exotique envahissante ?

La notion d'Espèce Exotique Envahissante (EEE, ou « invasive alien species » en anglais) fait aussi débat, avec deux définitions principales. La première qualifie d'EEE les espèces exotiques établies durablement dans un nouveau milieu, capables de produire des descendants, souvent en grand nombre, et de se disperser sur de longues distances (Richardson et al. 2010). Plus simplement, cette définition correspond aux espèces établies dont l'aire de répartition augmente dans la région envahie (Falk-Petersen et al. 2006). La seconde en revanche ajoute la notion de conséquences négatives. Par exemple, l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) définit une EEE comme une espèce exotique « dont l'implantation et la propagation menacent les écosystèmes, les habitats ou les espèces indigènes avec des conséquences sur les services écologiques et/ou socio-économiques et/ou sanitaires négatives » (UICN France 2015).

Le problème majeur des définitions basées sur les conséquences négatives des EEE tient dans la difficulté à quantifier les impacts de ces espèces, voire à les identifier. En effet, la notion d'impact négatif peut-être subjective, et certaines espèces peuvent causer des impacts à la fois positifs et négatifs selon le point de vue de l'observateur. C'est le cas par exemple du figuier de Barbarie en Afrique du Sud, qui fournit un revenu complémentaire aux foyers modestes mais qui avait envahi les écosystèmes naturels avant qu'un programme de lutte biologique soit mis en place (Shackleton et al. 2011). Toutefois, cette situation semble plutôt rare et les effets négatifs des EEE ont largement été démontrés (Kuebbing & Nunez 2016, Nunes et al. 2019).

Les espèces causant un impact socio-économique sont probablement les plus faciles à identifier car elles ont une incidence directe sur des activités humaines ou la santé publique. C'est le cas par exemple des moustiques du genre *Aedes*, vecteurs de maladies, ou des scolytes xylophages à l'origine de dégâts dans les forêts exploitées (Hulcr & Dunn 2011). Afin de donner des estimations concrètes de l'effet des espèces envahissantes, plusieurs études ont essayé de quantifier leurs impacts financiers (Pimentel et al. 2001, Bradshaw et al. 2016, Diagne et al. 2021, Zenni et al. 2021). Cependant, chaque étude a obtenu des résultats différents, ce qui montre que les méthodologies proposées ne permettent pas d'arriver à un consensus et que l'évaluation des impacts économiques n'est pas triviale. Pour remédier à cette difficulté, une base de donnée en Open Access (InvaCost – <http://invacost.fr/>) a récemment vu le jour et a pour objectif de documenter les coûts associés aux EEE en suivant des méthodes standardisées (Diagne et al. 2020). Cette initiative internationale devrait faciliter l'analyse et les comparaisons de diverses situations d'invasion, et aider à la priorisation des mesures de gestion.

Certaines EEE peuvent néanmoins avoir des conséquences négatives qui ne soient pas directement liées à leur impact sur des activités humaines. En effet certaines espèces peuvent engendrer des impacts écologiques difficiles à identifier et encore plus à quantifier C'est le cas par exemple de certaines plantes exotiques envahissantes qui modifient le sol des prairies, impactent négativement les espèces natives et favorisent de futures invasions (Jordan et al. 2007), ou des espèces comme les chats féraux en Nouvelle-Zélande, qui déciment des oiseaux natifs incapables de voler (Sanders & Maloney 2002).

De plus, les impacts des EEE peuvent varier dans le temps, ce qui complique la quantification de ces conséquences négatives. En effet, l'impact d'une espèce peut être limité à un moment donné mais devenir important avec le cumul des années ou du fait d'un changement environnemental. La présence de certaines EEE peut sembler sans effet pendant quelques années voire décennies avant que des conséquences négatives n'apparaissent ; il s'agit de la « dette d'invasion » (« invasion debt » (Essl et al. 2011)), et de la « dette d'extinction » (« extinction debt » (Kuussaari et al. 2009)) dans le cas où on observe l'extinction d'une ou plusieurs espèces natives. En effet, d'après Blackburn et al. (2019) les invasions seraient responsables de 25% des extinctions de plantes et 33% des extinctions d'espèces animales. Il est donc possible que des espèces exotiques envahissantes considérées comme n'ayant pas d'impact aujourd'hui en aient dans le futur.

La définition basée sur les conséquences négatives est utilisée par plusieurs institutions et agences gouvernementales (p.ex. le département de l'Agriculture des États-Unis, la Convention sur la Diversité Biologique, l'Union Européenne etc.) et semble particulièrement utilisée par les décideurs, pour qui les espèces à réguler sont principalement celles qui provoquent des dégâts, même si certains scientifiques l'utilisent aussi (Ricciardi & Cohen 2006). Young et al. (2011) ont adressé un questionnaire aux relecteurs du journal *Biological Invasions* et rapportent que les deux définitions ont à peu près le même succès, et que l'une ou l'autre pourraient convenir selon le contexte. Comme expliqué précédemment, il n'est pas souhaitable qu'un terme aussi important possède plusieurs définitions au sein d'une même discipline scientifique car cela peut non seulement ralentir l'avancée des connaissances mais aussi être source de confusions (Colautti & MacIsaac 2004).

**Encart 1 : Définitions utilisées dans ce manuscrit.**

**Aire d'origine/native :** Aire géographique où se trouvent les populations natives d'une espèce exotique.

**Aire d'introduction :** Aire géographique où les populations exotiques ont été introduites.

**Aire envahie :** Aire géographique où les populations exotiques se sont établies.

**Espèce exotique :** Espèce dont des populations sont présentes en dehors de son aire native suite à une intervention humaine, directe ou indirecte.

**Espèce exotique envahissante :** Espèce dont des populations exotiques se sont établies et peuvent produire de nouvelles populations viables et capables de se disperser.

**Populations sources :** Populations d'une espèce à l'origine d'une introduction donnée.

**Populations introduites :** Populations introduites dans un nouvel environnement.

**Populations établies :** Populations introduites capables de se reproduire et de se maintenir sur plusieurs générations.

## B- LES ETAPES D'UNE INVASION BIOLOGIQUE

Comme évoqué précédemment, une invasion biologique repose sur le fait que des populations d'une espèce sont introduites dans un nouvel environnement, réussissent à s'y établir et à s'étendre spatialement. A chacune de ces étapes, les populations doivent franchir différentes barrières biotiques ou abiotiques. Les populations concernées peuvent échouer à chacune de ces étapes, et seules les populations parvenant à franchir toutes les barrières deviendront envahissantes (Figure 3). Notons qu'une nouvelle région peut être envahie par une population provenant directement de l'aire native, ou depuis une autre région dans laquelle l'espèce est déjà envahissante. Dans ce second cas, on parle d'effet "tête de pont" (Lombaert et al. 2010).

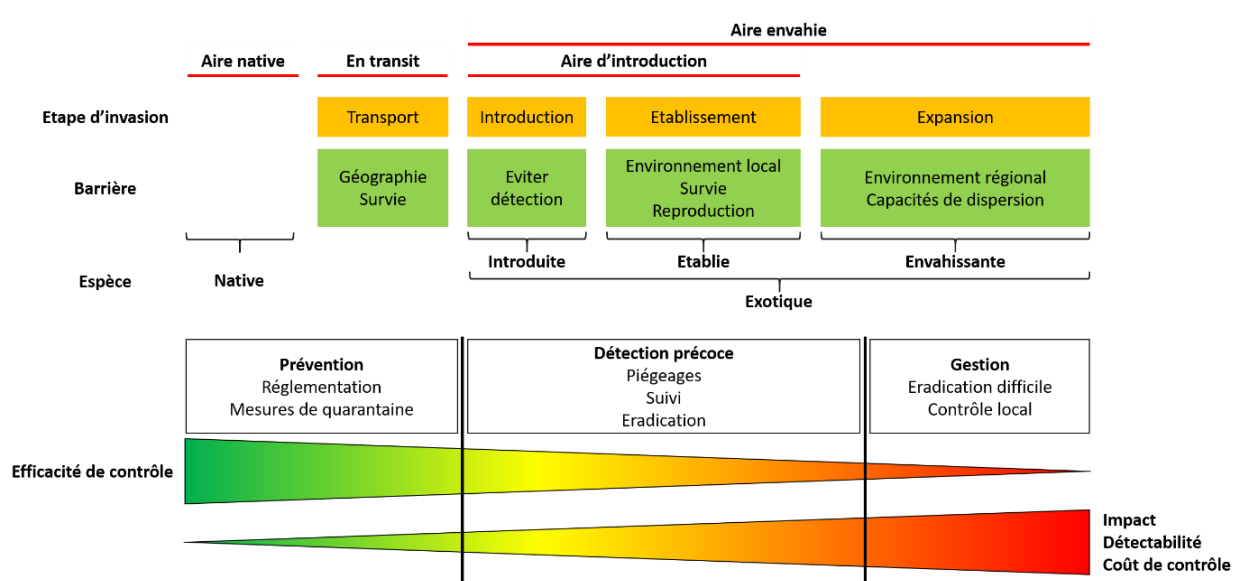


Figure 3: Schéma représentant les différentes étapes d'une invasion biologique, les barrières à l'invasion et la terminologie leur correspondant. Les moyens de contrôle privilégiés pour chaque étape sont aussi représentés. Adapté de Blackburn et al. (2011) et Simberloff et al. (2013).

## Introduction

Cette première étape consiste en plusieurs sous-étapes et inclut le prélèvement, le transport et l'introduction proprement dite des individus qui seront à l'origine de l'invasion.

De nombreuses espèces végétales et animales ont été introduites volontairement par l'Homme, que ce soit pour fournir de la nourriture, du bois de chauffage ou de construction, en tant que plante ornementale ou même agent de lutte biologique. Les individus introduits peuvent alors correspondre à des phénotypes ou génotypes particuliers, puisqu'ils sont choisis pour répondre à certains critères établis au préalable.

Cependant, la majorité des introductions sont involontaires et peuvent avoir lieu de différentes manières, regroupées en trois catégories appelées « espèces échappées, contaminantes et clandestines » par Hulme et al. (2008). Les *espèces échappées* dispersent d'elles-mêmes en utilisant des corridors artificiels servant à connecter deux endroits entre eux. C'est le cas par exemple de structures créées par l'Homme et dédiées au passage de la faune, comme les corridors écologiques, mais aussi d'infrastructures comme le Canal de Suez, dont la construction a permis à de nombreuses espèces de passer de la Mer Rouge vers la Mer Méditerranée au cours de la migration lessepsienne (Mavruk & Avsar 2007, Azzurro et al. 2021). Les *espèces contaminantes* regroupent les populations introduites avec des marchandises, et incluent par exemple les parasites d'espèces introduites volontairement (Prenter et al. 2004) ou les espèces présentes dans les palettes servant à transporter les marchandises (Wu et al. 2017). Enfin, les *espèces clandestines* voyagent sur ou à l'intérieur d'un moyen de transport, incluant entre autres les espèces introduites avec les eaux de ballast (Bailey 2015) ou s'attachant aux bateaux (Drake 2007). Dans le cas de toutes ces introductions involontaires, les individus sont prélevés au hasard dans la population source.

Malgré le caractère involontaire de la majorité des invasions biologiques, toutes les espèces n'ont pas la même probabilité d'être introduites dans un nouvel environnement. En effet, les espèces fortement associées aux activités humaines ont plus de chance d'être concernées. De même, les différents groupes taxonomiques ne sont pas introduits de la même manière. Les vertébrés et les plantes sont majoritairement introduits volontairement, les vertébrés pouvant être relâchés délibérément, tandis que les plantes parviennent à s'échapper. A l'inverse, les invertébrés et les organismes pathogènes sont majoritairement introduits involontairement, le plus souvent en tant que contaminants (Hulme et al. 2008).

Généralement, lors de la phase de prélèvement, le nombre d'individus échantillonné puis transporté est faible et constitue un sous-échantillonnage non représentatif de la population source, on parle alors d'effet fondateur. De plus, une forte mortalité est souvent observée lors du transport, les conditions de vie étant difficiles pendant cette phase. Ces caractéristiques peuvent imposer une sélection des individus les plus résistants à ces conditions particulières de transport (Renault et al. 2018). Les espèces ayant un stade résistant (œuf, spore, stade dormant...) peuvent également être avantagées, leur survie pendant le transport étant alors meilleure. Enfin, une fois arrivés dans leur aire d'introduction, ces individus doivent éviter les éventuelles mesures de détections mises en place (traitement des bagages et des marchandises par exemple).

### Etablissement

Une fois introduite, la population fait face aux barrières environnementales locales, incluant les filtres abiotiques (conditions climatiques, édaphiques etc) et biotiques (interactions interspécifiques). Si le nombre d'individus introduits est faible, la population correspondante subira des processus démogénétiques particuliers affectant les petites populations (notamment fort risque de dérive génétique, effet Allee, augmentation de l'homozygotie, dépression de consanguinité, voir Fauvergue et al. (2012)). Les populations parvenant à survivre à ces conditions doivent ensuite s'établir, c'est-à-dire se reproduire et créer une population persistante. Cette étape constitue une barrière importante, la majorité des populations s'éteignant après quelques générations (Simberloff 2009).

Les facteurs contrôlant l'établissement des populations ont longtemps fait l'objet de débats (Simberloff 2009). La composante décrite comme étant la plus importante est la pression de propagules (Lande 1988, Grevstad 1999), elle-même divisée en 2 parties : le nombre de propagules (i.e. le nombre d'événements d'introductions indépendants) et la taille des propagules (i.e. le nombre d'individus relâchés à chaque introduction) (Hopper et al. 1993, Simberloff 2009).

L'augmentation de la pression de propagules permet aux populations d'être moins vulnérables à la stochasticité démographique. Celle-ci consiste en une variation aléatoire de l'effectif des populations, due aux fluctuations de certains de leurs paramètres démographiques (taux de natalité et de mortalité, sex-ratio) (Simberloff 2009). L'intensité de ce processus est inversement corrélée avec l'effectif des populations (Lande 1988, 1993, Fauvergue et al. 2012). Si l'effectif de la population chute sous une valeur seuil, elle peut subir des effets démographiques déterministes tels que l'effet Allee. Celui-ci correspond à un effet densité dépendant positif sur le taux de croissance instantané de la population. En effet, dans une population de faible effectif, certaines composantes de l'aptitude phénotypique peuvent être réduites. Il a ainsi été montré chez certaines espèces une difficulté à trouver un partenaire sexuel lorsque le nombre de partenaires potentiels est faible (Fauvergue et al. 2012).

L'augmentation de la pression de propagules est souvent corrélée à une augmentation de la diversité génétique et peut ainsi être à l'origine d'une meilleure adaptabilité des populations (Crespi 2000). Une plus forte pression de propagules limite également l'impact de la dérive génétique. Celle-ci consiste en une modification aléatoire des fréquences alléliques au sein d'une population au cours du temps et peut entraîner la perte ou la fixation d'allèles sans lien

avec la sélection (Fauvergue et al. 2012). Par ailleurs, même en cas d'appariements au hasard, la diminution de la taille de la population entraîne une augmentation de l'homozygotie dans la population, et si celle-ci présente un fardeau génétique (proportionnel à la fréquence d'allèles délétères dans la population), cela peut causer de la dépression de consanguinité (Lande 1988). Ces effets délétères liés au manque de diversité génétique peuvent être contrés par l'augmentation du nombre de propagules, qui permet un « sauvetage génétique ». Toutefois, des événements d'immigration trop fréquents peuvent avoir un impact négatif en limitant l'adaptation locale (Peniston et al. 2019).

Enfin, il peut y avoir une interaction entre les facteurs démographiques et génétiques, comme dans le cas d'un vortex d'extinction, phénomène auto-entretenu dans lequel un premier facteur accentue l'effet du deuxième et vice-versa (Blomqvist et al. 2010, Nabutanyi & Wittmann 2021). Par exemple, si une population voit son effectif diminuer du fait de la stochasticité démographique, elle peut subir d'importants effets de dérive génétique ou de dépression de consanguinité. Cela peut amener à une perte d'adaptabilité de la population, une diminution de valeur sélective moyenne et donc avoir des répercussions démographiques en termes d'effectifs, etc. A l'inverse, on observe parfois une purge des allèles délétères après quelques générations à faible effectif efficace, ce qui peut permettre à la population introduite de finalement s'établir avec succès (Facon et al. 2011).

Certaines caractéristiques intrinsèques des espèces peuvent aussi faciliter leur établissement. Un mode de reproduction majoritairement entre apparentés peut notamment limiter l'impact des processus génétiques observés dans les petites populations, et ainsi augmenter la probabilité d'établissement.

## Expansion

Enfin, la dernière étape correspond à l'expansion de l'aire de répartition de l'espèce au sein de la région envahie. Pour cela, la population doit connaître une croissance démographique et géographique, des individus se propageant avec succès en dehors de la région initialement envahie. Cette étape peut avoir lieu avec ou sans intervention humaine, et est donc contrainte par les capacités de dispersion de l'espèce, mais aussi par les conditions environnementales dans les aires géographiques autour de l'aire d'introduction (par exemple climat favorable, présence d'une espèce hôte disponible etc.).

Avant de passer à la phase d'expansion, de nombreuses populations passent par une phase dite de "lag", et restent à de faibles densités de populations parfois pendant plusieurs années (Aikio

et al. 2010). Roques et al. (2016) ont étudié le taux de propagation des insectes envahissant l'Europe au cours des 200 dernières années, et ont observé un taux de propagation plus important chez les espèces introduites de manière non-intentionnelle par rapport à celles introduites de manière intentionnelle. Ils suggèrent toutefois que cette différence pourrait être liée au fait que la plupart des introductions volontaires concernent des auxiliaires de culture, qui sont introduits dans des environnements sélectionnés, et qui ont une expansion limitée en dehors de ceux-ci. Ils ont aussi mis en évidence un taux de propagation plus rapide des EEE détectées après 1990, et suggèrent que cette augmentation pourrait être due à l'ouverture des frontières en Europe.

### C- UNE ACCELERATION DES INVASIONS

Les invasions se sont accélérées au cours des dernières décennies, et ne montrent actuellement aucun signe de ralentissement (Seebens et al. 2017). Deux causes majeures à ces accélérations sont suggérées dans la littérature, à savoir (i) la mondialisation, liée à une augmentation des flux commerciaux entre continents, et (ii) le changement climatique, qui en rendant favorable des régions jusqu'alors défavorables à certaines espèces, augmenterait la probabilité d'établissement.

#### Mondialisation

Les invasions biologiques existaient déjà à la Préhistoire, en lien avec les migrations humaines (Anderson 2009). Toutefois, on constate une augmentation explosive du nombre d'espèces exotiques envahissantes au cours des deux derniers siècles (Hulme 2021). La mondialisation est une des principales causes de cette augmentation, en particulier via la multiplication des échanges internationaux et l'homogénéisation des milieux. Selon Bonnamour et al. (2021), cette accélération aurait suivi deux vagues. La première couvre la période de 1820 à 1914 et est liée à la révolution industrielle, qui a facilité le commerce international en diminuant les coûts et durées d'acheminement des marchandises. La seconde couvre 1960 à nos jours, avec une progression des échanges internationaux depuis la fin de la seconde guerre mondiale. En effet, durant les années 1960 l'efficacité du transport de marchandises s'est améliorée grâce à la généralisation de l'utilisation de containers (Hulme 2021). Cette croissance de la quantité de marchandises échangées et de la vitesse des échanges entraîne une augmentation de la pression de propagules, et une diminution de la mortalité au cours de l'étape de transport. Si le risque

d'invasion dans une région est souvent représenté par les volumes ou les valeurs des imports, Chapman et al. (2017) proposent d'utiliser des proxys plus précis de la pression de propagules pour caractériser le risque d'introduction, comme par exemple les imports de plantes vivantes pour les ravageurs.

Le tourisme aussi peut faciliter les invasions biologiques, les vols internationaux augmentant les introductions et les vols domestiques facilitant la dispersion intracontinentale (Roques 2010). Il existe en effet des cas d'invasions réussies pouvant être attribués au transport de végétaux par des particuliers de retour de voyage (Auger-Rozenberg et al. 2012).

La mondialisation est également à l'origine d'une homogénéisation des milieux, à travers l'utilisation de cultures similaires ou des mêmes plantes ornementales dans différents continents (Liebhold et al. 2018). Or, cette homogénéisation peut faciliter l'établissement d'espèces de ravageurs exotiques, qui peuvent trouver dans leur aire envahie des plantes hôtes existant dans leur aire native. C'est le cas de la pyrale du buis, dont la rapidité de l'invasion en Europe est due au commerce important de buis ornementaux entre son aire native et l'Europe et en intra-Europe (Bras et al. 2019).

### Changement climatique

Le changement climatique est souvent cité comme un des facteurs favorisant les invasions biologiques (Walther et al. 2009, Robinson et al. 2020) car la modification des conditions environnementales liée au changement climatique peut modifier la probabilité d'établissement d'une espèce introduite. Un des effets les plus connus est l'augmentation de l'aire de distribution des espèces vers le Nord avec l'adoucissement des températures hivernales, comme dans le cas du moustique tigre en Amérique du Nord (Rochlin et al. 2013). En effet, pour nombre d'espèces tempérées, la contrainte liée aux températures hivernales joue un rôle majeur dans la délimitation de leurs distributions au sein même de leur aire native (Parmesan et al. 1999). Dans le cas d'espèces envahissantes, on peut donc faire l'hypothèse que le changement climatique est en train de modifier les conditions environnementales et de diminuer les contraintes climatiques dans un certain nombre de régions receveuses ou potentiellement receveuses. Cela peut augmenter la probabilité d'établissement dans certaines régions autour de points d'entrées potentiels (ports, aéroports) situés dans les régions Nord des continents. Toutefois, il peut être complexe de démontrer le rôle exact du changement climatique dans une invasion biologique, et de déterminer s'il est réellement facilitateur (Walther et al. 2009). L'utilisation d'approches de modélisation de distributions d'espèces peut permettre d'explorer a posteriori les capacités

d'installation d'une espèce dans les conditions environnementales passées, grâce à la disponibilité de jeux de données représentant les conditions climatiques du XXème siècle. Les résultats d'une telle approche permettent d'estimer si les conditions passées étaient ou non déjà propices et donc de formaliser des hypothèses sur le rôle du changement climatique dans l'invasion étudiée. Cette approche a été utilisée au cours de cette thèse (voir Chapitre 5).

Le changement climatique peut aussi faciliter de façon indirecte l'établissement d'une espèce exotique ou en augmenter les effets négatifs (Hellmann et al. 2008). L'amplification des phénomènes météorologiques extrêmes comme les tempêtes ou les sécheresses, qui imposent un stress sur les arbres présents, peut ainsi faciliter l'établissement de certains ravageurs envahissants en forêt, comme les scolytes (Netherer et al. 2019). Le changement climatique peut aussi avoir un impact sur le cycle de vie des organismes, notamment chez les ectothermes, permettant à certaines espèces de faire une génération supplémentaire par an (Jakoby et al. 2019). L'augmentation du nombre de générations annuelles, y compris chez certaines espèces univoltines qui peuvent devenir bivoltines (Altermatt 2010), peut intensifier les impacts de l'espèce exotique envahissante, et mettre en échec les éventuelles méthodes de gestion développées à son encontre.

Enfin, le changement climatique peut aussi entraîner une modification des voies de transport de marchandises, comme par exemple l'augmentation du trafic maritime dans l'hémisphère Nord suite à la diminution de la banquise (Khon et al. 2009, Lin et al. 2020). Cette évolution des voies d'invasions modifiera la manière dont ces régions sont reliées entre elles, car en diminuant la durée des trajets, elle facilitera la survie des espèces exotiques pendant le transport.

### D- MIEUX COMPRENDRE POUR MIEUX GERER

Une meilleure compréhension du processus d'invasion peut permettre une amélioration de la gestion des EEE. Dans cette partie nous allons présenter les deux approches que j'ai utilisées au cours de mes travaux, qui permettent à la fois de tester des hypothèses scientifiques et d'aborder des questions appliquées : le traçage des voies d'invasions à l'aide des outils de la génétique des populations, et l'analyse des risques d'invasion et d'expansion à l'aide de la modélisation de distribution des espèces.

#### Etude des routes d'invasion

##### **Pourquoi reconstruire les routes d'invasion ?**

Le traçage des routes d'invasion vise à identifier les voies géographiques suivies par les individus entre leur aire native et leur(s) aire(s) envahie(s). L'étude des routes d'invasion peut donc fournir des résultats cruciaux pour la gestion des EEE en permettant d'améliorer les stratégies de détection précoces des espèces, par exemple en renseignant sur l'origine des marchandises à surveiller en priorité. Dans certains cas, ces études permettent également d'identifier une source majoritaire, et donc d'améliorer les plans de gestion du risque. Identifier l'aire native des EEE peut faciliter la recherche d'ennemis naturels dans le cas de la lutte biologique classique, et apporter des informations sur l'écologie de l'espèce dans la région d'origine. L'étude des routes d'invasions permet aussi d'estimer si l'invasion résulte d'une introduction unique ou de plusieurs introductions, et donc de comprendre s'il s'agit d'un événement rare ou au contraire s'il s'est répété dans le temps et risque de se reproduire.

### **Comment étudie-t-on les routes d'invasion ?**

Le traçage des routes d'invasions peut se faire via des observations directes avec les contrôles et piégeages aux ports d'entrée (Estoup & Guillemaud 2010). Toutefois cette approche utilisant des données historiques sur les interceptions est limitée car elle se base uniquement sur la détection d'individus au moment de leur introduction. Or rien ne prouve que ces individus auraient réussi à s'établir dans leur nouvel environnement. Elle ne concerne que la dernière étape de l'introduction, et ne renseigne donc pas sur l'origine géographique précise des individus, ni sur d'éventuels phénomènes « tête de pont » au sein de l'aire envahie. Aucune information n'est disponible sur les processus démographiques subis par les populations au cours des premières phases de l'invasion. Enfin, l'observation seule ne permet pas l'étude de populations déjà établies, et les premières interceptions ne correspondent que rarement aux dates réelles des premières introductions des EEE (Seebens et al. 2020).

Les autres méthodes de traçage sont indirectes et basées sur la comparaison de la structure génétique des populations à l'aide de marqueurs moléculaires. Analyser la diversité génétique au sein des populations natives et envahissantes est une première étape pour décrire les patrons géographiques, via des indices classiques tels que l'hétérozygotie, les indices de fixation ou la diversité nucléotidique. Les marqueurs génétiques permettent également de calculer des distances génétiques entre populations et de les visualiser sous forme d'arbres phylogénétiques ou de réseaux d'haplotypes. Ils illustrent la proximité entre les individus ou les populations, ce qui peut renseigner sur l'origine des populations de l'aire envahie et permettre de formuler des hypothèses concernant les scénarios d'invasion possibles (Estoup & Guillemaud 2010).

Certains outils, comme STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) ou Admixture (Alexander et al. 2009), utilisent des méthodes de clustering pour assigner les individus étudiés à des "populations", ou à des groupes dont le nombre est fixé par l'utilisateur. Un certain nombre de statistiques permettent ensuite de déterminer quel est le nombre de groupes le plus vraisemblable, et quelle est la probabilité d'assignation de chaque individu à chaque groupe. Dans le cas d'un jeu de données comprenant des populations des régions d'origine et des populations envahissantes, l'assignation d'individus échantillonnés en zone envahie dans un groupe comprenant des échantillons de la zone native peut être considéré comme un indice fiable de l'origine possible de l'invasion. Cette approche a cependant des limites car elle ne peut tenir compte de phénomènes complexes. Ainsi, si une région a été envahie à partir de plusieurs sources, ou que la région d'origine n'a pas été échantillonnée, les résultats seront ambigus et les individus mal assignés.

De nouvelles approches, comme l'Approximate Bayesian Computation (ABC, Beaumont et al. (2002)) ont vu le jour dans les années 2000 et permettent de faire des inférences quantitatives et de tester des scénarios explicites. Ces analyses se décomposent en 5 étapes : (i) définition des modèles et distributions des densités et des probabilités a priori des modèles, (ii) choix des statistiques résumées et simulation d'un grand nombre de jeux de données pour chaque scénario, (iii) comparaison des scénarios et sélection du plus probable basé sur les statistiques résumées, (iv) calcul des probabilités postérieures et (v) évaluation de la confiance dans le scénario choisi à l'aide des intervalles de confiance et de calculs d'erreurs de type I et II (Lombaert et al. 2010). Ces méthodes permettent de traiter des modèles complexes (admixture, populations non échantillonnées, changement de taille efficace...) en plus de fournir des moyens d'évaluation des modèles. Toutefois, ces méthodes nécessitent une bonne connaissance de la biologie de l'espèce étudiée, et peuvent s'avérer complexes à mettre en place pour des espèces avec une biologie atypique.

### Analyse du risque d'invasion

Plusieurs outils de modélisation ont été développés pour prédire l'entrée (du transport à l'introduction), l'établissement et la dispersion des EEE (Robinet et al. 2020). La modélisation de distribution d'espèces (SDM pour « Species Distribution Modelling » en anglais) ou modélisation des niches écologiques (ENM pour « Ecological Niche Modeling ») est un des principaux outils pour prédire les aires géographiques dans lesquelles les espèces peuvent s'établir en fonction des valeurs de certaines variables environnementales (Guisan et al. 2017).

Les SDM estiment la relation entre des données de distribution d'espèces (des **occurrences**) et des variables environnementales pour estimer la **niche écologique réalisée** par l'espèce étudiée (ensemble des conditions environnementales dans lesquelles l'espèce est établie) et prédire sa distribution potentielle (i.e. aires géographiques où l'espèce peut s'établir) (Araújo & Peterson 2012). Ils sont principalement utilisés sur des EEE pour décrire (i) les aires géographiques favorables en dehors de leur aire native et (ii) l'évolution de la distribution potentielle future avec le changement climatique (Guisan et al. 2017). Ils peuvent aussi être utilisés pour des projections dans le passé, afin de tester certaines hypothèses par des analyses rétrospectives (Nogués-Bravo 2009). Ce type d'approche (transfert du modèle dans le temps ou/et dans l'espace) repose sur l'hypothèse de conservatisme de niche qui suppose que la niche écologique reste stable à l'échelle de temps considérée (Wiens et al. 2009, Guisan et al. 2014).

Les approches de SDM reposent sur deux postulats majeurs : (i) l'espèce doit être à l'équilibre avec son environnement et (ii) les variables ayant un fort impact sur son établissement doivent être disponibles à une résolution adaptée à l'organisme modèle (Guisan et al. 2017). Les SDM sont principalement utilisés pour prédire la distribution d'EEE dont, par définition, l'aire de distribution évolue. La première hypothèse est donc rarement vérifiée. Le second postulat amène la question du choix des variables et de leur résolution. Un des enjeux de la sélection des variables environnementales est de trouver celles qui auront le meilleur pouvoir explicatif de la distribution de l'espèce. Bien que l'on puisse utiliser des variables climatiques (p.ex. température, précipitations), abiotiques (taux d'urbanisation) ou biotiques (présence d'un hôte, d'un compétiteur ou parasite), certaines variables seront plus difficiles à inclure dans le modèle si l'on souhaite effectuer des projections dans le futur (par exemple taux d'urbanisation et présence d'un hôte). Plusieurs études ont montré que les modèles contenant trop de variables étaient sur-ajustés aux données (« overfitted » en anglais), ce qui limite les performances du modèle s'il doit être utilisé pour effectuer des projections ailleurs ou à une autre époque (Beaumont et al. 2016).

Les SDM classiques n'incluent pas de données de dispersion, active ou passive (mais voir (Engler & Guisan 2009, Shipley et al. 2021)), aussi est-il possible que des aires favorables à une espèce ne soient jamais colonisées faute d'introductions à cet endroit ou par l'effet de barrières à la dispersion naturelle. De plus, si l'espèce est introduite dans un endroit favorable, il se peut qu'elle ne s'y établisse pas sans que cela ne remette en question la validité du modèle, par exemple à cause de stochasticité environnementale ou démographique ou encore d'effet Allee (voir le paragraphe "Etablissement" ci-dessus).

Il existe de nombreux algorithmes de SDM pouvant utiliser différents types de données (présences, pseudo-absences, background, absences, voire des données d'abondance ou de fréquence) (Guisan et al. 2017). Si le type de données disponibles peut contraindre le choix de l'algorithme, il n'est pas toujours facile de choisir a priori la meilleure méthode. Qiao et al. (2015) ont testé 8 algorithmes basés sur des données (i) de présence seulement (BIOCLIM, Marble), (ii) de présence et background (données servant à caractériser l'environnement de la zone d'étudié) (GARP, Maxent), et (iii) de présence et d'absence (GAM, GBM, GLM, et RF). Ils ont montré qu'aucun des algorithmes n'est meilleur que les autres en toutes circonstances, et suggèrent que les performances observées dépendent des caractéristiques de la niche écologique de l'espèce modèle et des données disponibles. Certains auteurs choisissent de combiner les résultats de plusieurs algorithmes (Crimmins et al. 2013). Toutefois si ces ensembles de modèles fonctionnent correctement, cette méthode produit forcément des résultats suboptimaux (Hao et al. 2020). Dans certains cas, les résultats des différents algorithmes sont pondérés en fonction de leurs performances avant d'être combinés. Qiao et al. (2015) suggèrent que les études devraient comporter une première étape d'exploration des différents algorithmes, et qu'il ne faudrait conserver que les algorithmes les plus performants.

Les SDM sont notamment utilisés dans le cadre d'analyse de risque d'invasion, afin d'estimer si l'espèce pourrait s'établir dans une nouvelle région (Devorshak 2012). Le cas échéant, ils peuvent aussi être utilisés pour définir les aires géographiques précises à surveiller, afin d'allouer au mieux les ressources financières et matérielles disponibles pour la détection précoce des EEE. Il est donc particulièrement important que les SDM mis en œuvre fournissent des résultats exploitables.

## 2) MODELES D'ETUDE : *XYLOSANDRUS COMPACTUS* ET *X. CRASSIUSCULUS*, DEUX INVASIFS RECENTS EN EUROPE

### A- GENERALITES SUR LE GENRE *XYLOSANDRUS*

#### Taxonomie

Le genre *Xylosandrus* (Coleoptera : Curculionidae : Scolytinae) a été décrit par Reitter en 1913 (Reitter 1913). Jusqu'en 1971, les nouvelles espèces ajoutées correspondaient uniquement à des transferts depuis le genre *Xyleborus*. Jusqu'en 2010, le genre *Xylosandrus* comprenait 54 espèces, et les données morphologiques (Dole & Cognato 2008) et génétiques (Jordal 2002) suggéraient que ce genre n'était pas monophylétique. En utilisant 4 marqueurs moléculaires, Dole et al. (2010) ont ensuite confirmé que le genre était effectivement polyphylétique et que le caractère morphologique permettant d'identifier le genre *Xylosandrus* (procoxae largement séparées) n'était pas synapomorphique (une synapomorphie est un caractère dérivé spécifique d'un nouveau clade). Une révision du genre *Xylosandrus* a été effectuée par Dole & Cognato (2010), transférant 18 espèces dans les genres *Amasa*, *Anisandrus* et *Cnestus* et en ajoutant de nouvelles, pour garder 40 espèces de *Xylosandrus*. Ils ont conclu que 4 espèces formaient *Xylosandrus* sensu stricto (*X. borneensis*, *X. compactus*, *X. germanus* et *X. morigerus*), et que pour les autres espèces la phylogénie n'était toujours pas résolue.

#### Biologie et écologie

Parmi les espèces du genre *Xylosandrus*, quatre sont mondialement invasives et responsables de conséquences négatives dans les cultures et les pépinières dans leurs aires envahies : *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus*, *X. germanus* et *X. morigerus*. Succès d'invasion et impact négatif peuvent s'expliquer par la biologie particulière de ces ravageurs.

#### Caractères facilitant l'invasion

Plusieurs caractéristiques liées à leur morphologie, leur écologie et leur comportement font des espèces de *Xylosandrus* des invasifs « efficaces ». Tout d'abord, ces espèces sont de très petite taille (< 2.5 mm). De plus, elles se développent et vivent dans des galeries creusées à l'intérieur de leur plante-hôte, ce qui les rend difficiles à détecter lors des inspections visuelles. Des individus peuvent donc être facilement prélevés avec leur plante-hôte, et transportés vers une nouvelle aire géographique en passant inaperçus lors des contrôles au moment de l'introduction. D'autre part, la survie de ces insectes au cours du transport est très élevée, puisqu'ils restent

dans les galeries au sein de leur plante-hôte vivante, et que ce mode de vie caché les rend difficilement accessibles aux traitements phytosanitaires. Ainsi, Hulcr & Dunn (2011) ont montré que les Scolytinae exotiques représentaient 58% des spécimens interceptés aux points d'entrée aux USA, alors qu'ils ne représentent que 0.2% des espèces d'insectes, ce qui souligne leur grande pression de propagules.

Une fois arrivés dans leur nouvel environnement, leur établissement est favorisé par leur mode de reproduction très particulier. En effet les *Xylosandrus* sont **haplodiploïdes** et leur reproduction est majoritairement consanguine. L'haplodiploïdie est un système de détermination du sexe où les mâles sont issus d'une parthénogénèse arrhénotoque et sont donc haploïdes, et les femelles sont issues d'œufs fécondés et donc diploïdes (Kawasaki et al. 2016). Les mutations délétères présentes chez les mâles s'expriment forcément du fait de leur haploïdie, et sont donc plus efficacement purgées par la sélection naturelle (Tien et al. 2015). Cette purge des mutations délétères rend ainsi les espèces haplodiploïdes moins sensibles à la dépression de consanguinité (Peer & Taborsky 2005), qui agit généralement négativement sur les probabilités d'établissement d'espèces nouvellement introduites ayant subi des goulots d'étranglement. De plus, l'haplodiploïdie, couplée au recouvrement de générations, permet théoriquement à une femelle isolée de fonder une population en pondant des œufs non fécondés (et donc mâles) et en se reproduisant avec ses descendants une fois adultes pour donner naissance à une nouvelle génération qui pourra donc inclure des mâles et des femelles (Jordal et al. 2001). Enfin, les individus se reproduisent majoritairement entre frères et sœurs au sein des galeries maternelles. Le sex-ratio est largement biaisé en faveur des femelles (11% de mâles chez *X. compactus* d'après Hara & Beardsley (1979) et 5-12% de mâles chez les Xyleborini en général (Biedermann 2010)), et les mâles, qui sont aptères et vivent moins longtemps, se reproduisent avec leurs sœurs au sein des galeries maternelles. Ces croisements entre apparentés sont à l'origine de forts taux de consanguinité, mais ceux-ci n'ont a priori pas de conséquence négative du fait de la purge naturelle des mutations délétères (Peer & Taborsky 2005). De plus, la reproduction entre apparentés au sein des galeries maternelles permet d'éviter l'effet Allee lié à la recherche de partenaire sexuel (Gascoigne et al. 2009). Ces caractéristiques font que les espèces du genre *Xylosandrus* sont aptes à fonder de nouvelles populations malgré un fort effet fondateur lié à l'invasion et une faible diversité génétique de la population exotique envahissante (Hulcr & Stelinski 2017).

Par ailleurs, les *Xylosandrus* ont un mode de nutrition qui peut favoriser leur adaptation à un nouvel environnement biotique. En effet, ils appartiennent au groupe dit des "**scolytes à ambrosia**" (ambrosia beetles en anglais) et sont **xylomycétophages**, c'est à dire qu'ils se nourrissent d'un champignon symbiotique qu'ils transportent et cultivent dans les galeries, et

non pas directement du bois de leur hôte, contrairement à la majorité des Scolytinae. La capacité à cultiver des champignons est apparue chez au moins 3 ordres d'insectes (Hyménoptères, Blattoptères et Coléoptères) (Mueller et al. 2005). Chez les fourmis, les termites et les Platypodinae (Coleoptera : Curculionidae), elle n'est apparue qu'une seule fois. En revanche, elle est apparue au moins 10 fois indépendamment chez les Scolytinae (Mueller & Gerardo 2002, Mueller et al. 2005), et serait présente dans 63 genres appartenant à 10 tribus (Kirkendall et al. 2015) (Figure 4). La xylomycétophagie consiste en une relation symbiotique dans laquelle l'insecte permet au champignon de se disperser tandis que celui-ci sert de nourriture à l'insecte et à ses descendants. Les champignons extrayant des nutriments d'un grand volume de tissus environnants, ils fournissent un régime plus riche que la consommation de bois (Hulcr et al. 2007). L'acquisition des champignons se fait de manière verticale, car les femelles récupèrent des spores de champignons au sein de leurs galeries maternelles dans un organe spécialisé appelé **mycangium**. Celui-ci peut prendre différentes formes (Li et al. 2018) (Figure 5) et joue un rôle primordial dans la croissance, la protection, la transmission et la prolifération du champignon (Kajimura & Hiji 1992, Li et al. 2019).

Certaines espèces du genre *Xylosandrus* sont ainsi très généralistes et peuvent attaquer plus de 200 espèces d'hôtes (Wood 1982). Cette caractéristique écologique augmente donc les chances pour les insectes colonisateurs de trouver des hôtes favorables dans les régions envahies et de pouvoir s'y établir. Une fois son hôte choisi, la femelle fondatrice creuse une galerie, y dépose les spores de champignons stockées dans son mycangium et pond ses œufs. Elle prodigue ensuite des soins parentaux à sa descendance et s'occupe de la culture des champignons et de l'entretien de la galerie. En effet, si la femelle fondatrice disparaît, la galerie se remplit de champignons et de bactéries contaminants, entraînant la mort de la descendance (Mueller et al. 2005). En plus de fournir une source de nourriture riche, la symbiose insecte-champignon permet à l'insecte de coloniser une plus grande gamme d'hôtes, celle-ci n'étant limitée que par les capacités de colonisation du champignon symbiotique (Greco & Wright 2015). Les scolytes à ambrosia peuvent toutefois présenter des préférences au sein de leur gamme d'hôtes (Galko et al. 2018) et produire une descendance plus nombreuse sur certaines espèces de plantes (Castrillo et al. 2012).

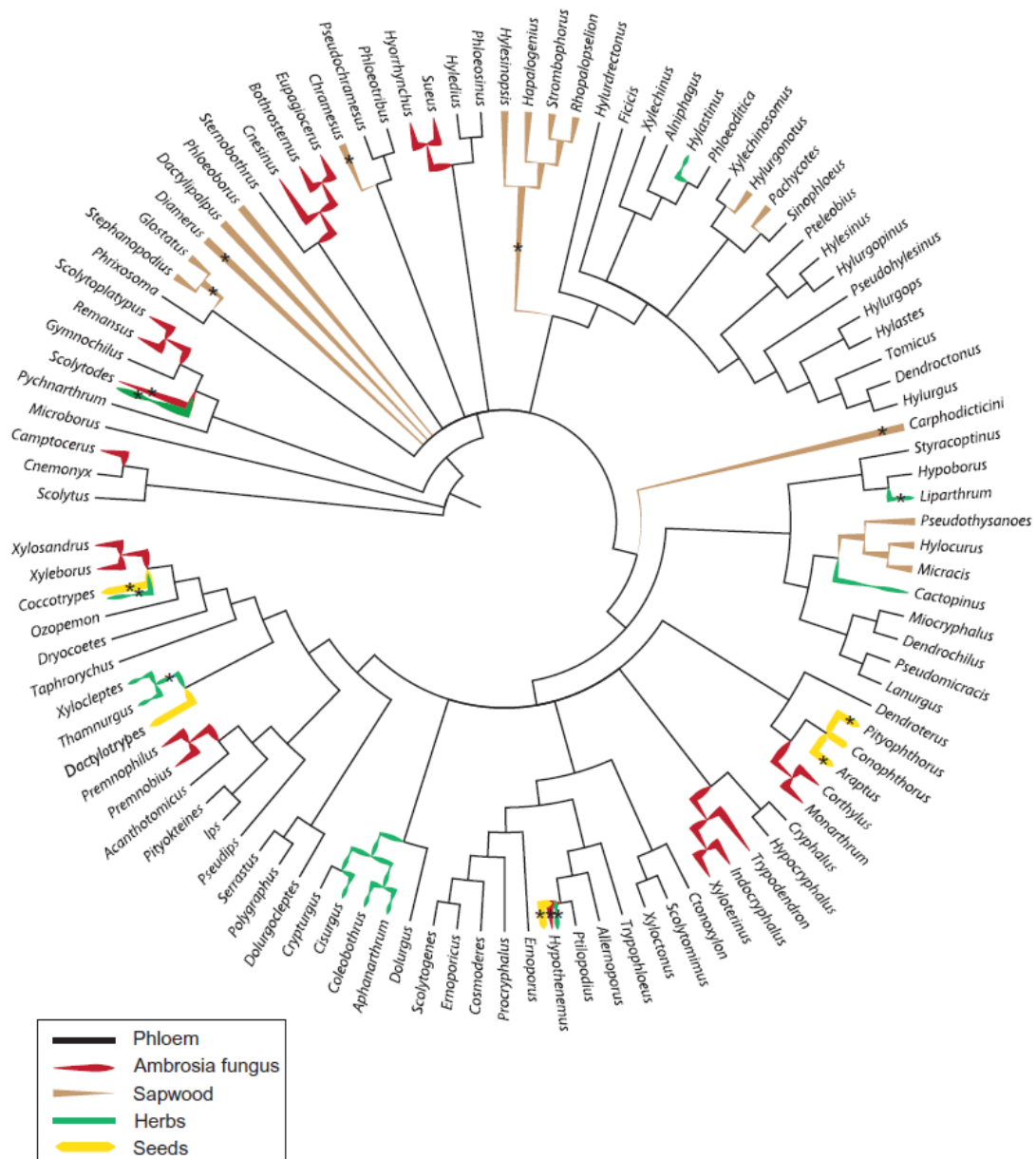
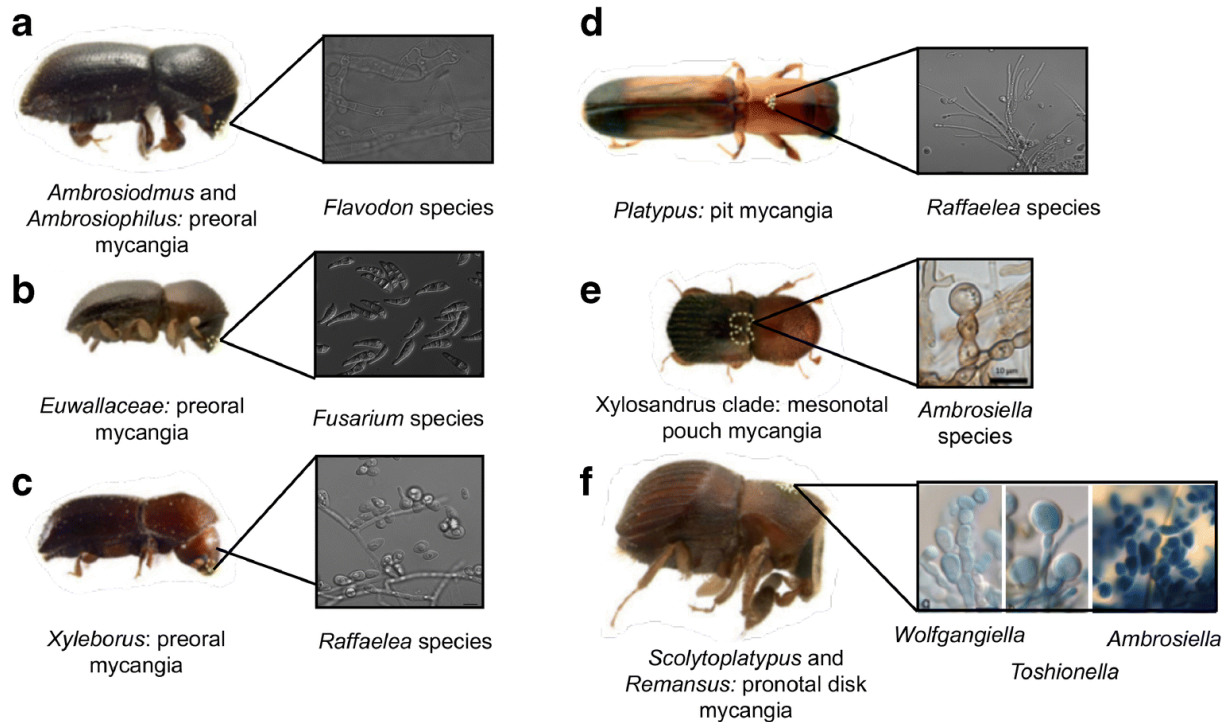


Figure 4 : Arbre phylogénétique des Scolytinae précisant leur régime alimentaire. Les étoiles indiquent les genres ou lignées dans lesquels le régime alimentaire est rare. D'après Kirkendall et al. (2015).

#### Autres particularités

Plusieurs études ont montré l'existence de comportements sociaux chez une espèce de Scolytinae xylomycétophage, *Xyleborus saxesenii*, et suggèrent que ces comportements pourraient exister chez d'autres Curculionidae xylomycétophages. En effet, Peer & Taborsky (2006) ont montré que les femelles peuvent retarder leur dispersion en fonction du nombre de larves et de pupes présentes dans les galeries maternelles. Plus récemment, Biedermann & Taborsky (2011) ont montré l'existence de polyéthisme (ou division du travail) chez *Xyleborus saxesenii* dont les larves agrandissent les galeries et regroupent les excréments, qui sont ensuite

sortis de la galerie par les descendantes adultes. Ces auteurs ont aussi montré que les descendantes adultes s'occupent de la fongiculture et peuvent bloquer l'entrée de la galerie pour limiter l'entrée d'éventuels prédateurs ou parasites. Enfin, toutes les classes d'âges participent aux soins à la descendance sous forme de toilette. Bien que cela ne soit, à ma connaissance, jamais mentionné dans les critères facilitant leurs invasions, il est possible que l'existence de soins parentaux améliore le potentiel invasif de certaines espèces de Scolytinae en augmentant la survie des descendants.



**Figure 5 : Exemples de différents types de mycangia (marqués par les lignes jaunes en pointillé) et champignons symbiotiques associés chez plusieurs espèces de scolytes à ambrosia. D'après Joseph et al. (2021).**

## Impacts négatifs et lutte

Selon Kirkendall et al. (2015), moins de 1% des Scolytinae tuent régulièrement des arbres sains, et environ 5 à 10% en tuent occasionnellement. En effet, la majorité des Scolytinae s'attaquent surtout à des plantes-hôtes mortes ou très affaiblies, présentant moins de défenses (Hulcr & Dunn 2011). Les scolytes à ambrosia étaient considérés jusqu'à la fin du XXème siècle comme inoffensifs, mais cette vision a changé avec l'augmentation du nombre d'espèces exotiques envahissantes. En effet, bien que la majorité d'entre eux continuent d'attaquer des plantes-hôtes mortes dans leur nouvel environnement, on observe un nombre croissant de cas dans lesquels ces scolytes attaquent des hôtes stressés ou affaiblis, et peuvent être à l'origine de dégâts écologiques et économiques majeurs (Kirkendall et al. 2015). Les dégâts causés par les scolytes

à ambrosia peuvent être regroupés selon 3 origines différentes d'après Hulcr & Stelinski (2017) : l'association avec un champignon pathogène, leur comportement d'agrégation massive sur des arbres stressés et les dégâts sur le bois d'œuvre. Ces trois catégories s'observent chez plusieurs espèces de *Xylosandrus* :

- Champignons pathogènes : En plus de leurs champignons symbiotiques, les espèces de scolytes à ambrosia sont étroitement associées à d'autres champignons transportés dans le mycangium ou sur d'autres parties de leurs corps (Bateman et al. 2016). Ce mycobiome peut se modifier au contact d'un nouvel environnement, suite à la perte de champignons liée aux nouvelles pressions biotiques ou abiotiques, ou par l'acquisition de nouveaux champignons présents dans le nouvel environnement (Rassati et al. 2019). Or, le mycobiome peut jouer un rôle dans les capacités d'établissement des scolytes dans leur aire d'introduction, mais aussi modifier leur impact. En effet, certains champignons associés peuvent être phytopathogènes, comme *Raffaelea lauricola*, transporté par *Xyleborus glabratus*, qui aurait tué des centaines de millions d'arbres depuis sa détection en 2003 dans le Sud-Est des Etats-Unis, et dont les dégâts sur l'industrie de l'avocat pourraient atteindre plusieurs centaines de millions de dollars en Floride (Evans et al. 2010). Les espèces du genre *Xylosandrus* sont quant à elles associées à certains champignons du genre *Fusarium* (Bateman et al. 2016), et notamment *Fusarium solani* retrouvé dans les galeries de *X. compactus* en Italie et responsable du dépérissement de branches et de feuilles chez le chêne vert en Italie (Bosso et al. 2012).

- Comportement d'agrégation : De nombreuses études ont montré que les scolytes à ambrosia s'attaquaient préférentiellement aux plantes stressées, qui émettent des composés chimiques liés au stress et reconnus par les insectes. Ces composés comprennent notamment l'acétaldéhyde, l'acétone, l'éthane, l'éthanol, l'éthylène, le méthanol et le quercivorol, et agissent comme des kairomones (Ranger et al. 2010, Wang et al. 2020). Ces émissions peuvent survenir après divers stress (p.ex. inondations, sécheresses, gel). Elles peuvent passer inaperçues en pépinière, mais entraîner une accumulation massive de scolytes sur les arbres stressés, ce qui peut aboutir à la mort des végétaux. Dans leur étude, Hulcr & Stelinski (2017) font précisément référence aux espèces du genre *Xylosandrus* pour illustrer ce phénomène.

- Dégâts sur le bois d'oeuvre : Enfin, les scolytes à ambrosia peuvent s'attaquer à du bois fraîchement coupé, causant des problèmes économiques. Hulcr & Stelinski (2017) ont ainsi montré que l'impact de *Xylosandrus crassiusculus* sur les stocks de bois de charpente a même entraîné des modifications dans la gestion des stocks de bois dans le Sud des USA.

Comme expliqué précédemment, les espèces du genre *Xylosandrus* possèdent une grande gamme d'hôtes. Toutefois, cette liste d'hôtes ne distingue pas les hôtes pouvant être colonisés vivants et morts de ceux qui ne peuvent l'être qu'après leur mort. En effet, à cause des mécanismes de défenses des hôtes, il est probable que la plupart des plantes-hôtes ne puissent être colonisées qu'une fois très affaiblies par d'autres facteurs, ou après leur mort (Gugliuzzo et al. 2021). Les *Xylosandrus* sont des ravageurs connus sur plusieurs plantes d'importance économique et sont ainsi responsables de millions d'euros de dégâts annuels sur des plantations de thé ou de cacao. Ils sont également considérés comme des ravageurs du maquis Méditerranéen et de nombreuses plantes ornementales (Vannini et al. 2017, Contarini et al. 2020). En plus des dégâts dans leur aire envahie, *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus* et *X. germanus* provoquent des dégâts dans leur aire native en Asie du Sud-Est (Gugliuzzo et al. 2021).

A ce jour, de nombreuses tentatives de lutte ont eu lieu contre les espèces du genre *Xylosandrus* (ou d'autres scolytes à ambrosia), sans grand succès. Des essais de lutte biologique ont été mis en place, utilisant des bactéries antagonistes, des champignons ou des nématodes entomopathogènes, des champignons mycoparasites, des prédateurs ou encore des parasitoïdes (Gugliuzzo et al. 2021). On peut citer l'exemple du champignon mycoparasite *Trichoderma harzianum* utilisé comme fongicide du champignon symbiotique de *Xylosandrus crassiusculus* et *X. germanus* en conditions contrôlées par Castrillo et al. (2016). Toutefois, si certaines de ces méthodes ont montré des résultats prometteurs en laboratoire, leur efficacité sur le terrain s'est révélée faible ou reste à démontrer. De même, des essais de lutte chimique ont été mis en place, notamment avec des insecticides ou des fongicides, certains montrant des résultats positifs en laboratoire (Mangold et al. 1977, Kagezi et al. 2015, Erper et al. 2018). Toutefois, ceux-ci peuvent avoir des effets non intentionnels en particulier sur des espèces non-cibles, dont des espèces protégées ou des populations d'auxiliaires de lutte (Desneux et al. 2007). Aujourd'hui, la lutte contre les *Xylosandrus* invasifs en Europe passe principalement par un effort de détection précoce des individus colonisateurs afin de prévenir leur établissement. Une fois les insectes présents dans l'environnement, la gestion dans les pépinières consiste principalement à limiter les conditions stressantes pour les arbres afin de limiter l'attraction vis-à-vis des *Xylosandrus* et à appliquer des insecticides sur les troncs pour empêcher les individus d'y creuser des galeries (Frank & Sadof 2011, Mageroy et al. 2019). L'éradication complète des populations établies est quasiment impossible, car en l'absence d'effet Allee chez les *Xylosandrus* (voir section Caractères facilitant l'invasion), elle requiert l'élimination de 100%

des individus. La littérature contient toutefois un exemple d'éradication réussie d'une population *Xylosandrus crassiusculus* établie aux Etats-Unis, mais celle-ci était encore très restreinte géographiquement (LaBonte 2010).

### B- *XYLOSANDRUS COMPACTUS* ET *X. CRASSIUSCULUS*

#### Histoires d'invasion

*Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* sont originaires d'Asie du Sud-Est et envahissants sur plusieurs continents (Figure 6). Toutefois, les limites de leurs aires natives ne sont pas bien documentées. Nous avons considéré que leur aire native occupait toute l'Asie, à laquelle s'ajoute la Papouasie Nouvelle-Guinée pour *X. crassiusculus*, même si le statut de ce pays est ambigu (Hulcr et al. 2008).

Ces deux espèces ont été détectées pour la première fois en dehors de leur aire native à Madagascar il y a plus d'un siècle, puis ont colonisé l'Afrique continentale et enfin le nouveau monde. *X. compactus* a d'abord été détecté en Amérique du Nord en Floride en 1941 (Ngoan et al. 1976), puis à Hawaï en 1964 (Hara & Beardsley Jr 1979) et enfin en Amérique du Sud au Brésil en 1979 (Wood 1980). *Xylosandrus crassiusculus* a d'abord été détecté à Hawaï en 1950 (Samuelson 1981), en Amérique du Nord en Caroline du Sud en 1974 (Anderson 1974), puis en Amérique du Sud en Argentine en 2001 (Kirkendall 2018). Depuis, les deux espèces ont colonisé plusieurs pays d'Amérique du Sud et Centrale, ainsi que plusieurs états des Etats-Unis, et *X. crassiusculus* s'est établi dans le Sud de l'Ontario au Canada (Douglas et al. 2013). Ces deux espèces n'ont été détectées en Europe que dans les années 2000, d'abord en Italie puis dans d'autres pays européens. Ainsi, *X. crassiusculus* et *X. compactus* ont été découverts respectivement pour la première fois en Italie en 2003 (Pennachio et al. 2003) et 2011 (Garonna et al. 2012), en France en 2014 et 2015 (Roques et al. 2019), et en Espagne en 2016 (Gallego et al. 2017) et 2020 (Gallego et al. 2020). En Europe, *X. compactus* a aussi été détecté en Grèce (Spanou et al. 2019) et dans les îles Méditerranéennes de Majorque en 2019 (Leza et al. 2020) et de Corse en 2020 (Département de Santé des Forêts 2020). En Europe, *X. crassiusculus* a aussi été détecté en Slovénie en 2017 (Kavčič 2018), à Malte en 2021 (EPPO 2021). Cette espèce a par ailleurs été interceptée plusieurs fois aux Pays-Bas au cours de la dernière décennie dans des palettes en provenance du Vietnam et de Chine (Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority 2018). En dehors de l'Europe, elle a aussi été détectée en Australie



dégâts moyens à lourds dans les pépinières (Horn & Horn 2006) et dans les stocks de bois d'œuvre (Hulcr & Stelinski 2017). *Xylosandrus crassiusculus* s'attaque à toutes les parties de l'arbre ayant un diamètre compris entre 2 et 30 cm.

### Etat des connaissances sur les structures génétiques des deux espèces

Lorsque j'ai commencé ce travail de thèse, très peu d'informations étaient disponibles sur la diversité génétique et la structure de *X. compactus*, tandis que plusieurs études avaient déjà été publiées sur *X. crassiusculus* mais chacune basée sur des marqueurs moléculaires différents. En effet, la seule étude dédiée à *X. compactus* et publiée avant la réalisation du travail de thèse présenté ici était centrée sur une petite région en Inde, et basée sur le seul marqueur "barcode" mitochondrial (i.e., la première partie du gène de la Cytochrome Oxydase 1 (COI), utilisée chez les insectes comme marqueur de référence (Folmer et al. 1994)). Ce travail n'a révélé qu'une très faible diversité génétique (seulement deux haplotypes identifiés, dont un chez un seul individu) malgré le séquençage de 200 individus (Kiran et al. 2019). Aucun travail précédent n'avait abordé la question de l'origine des populations invasives sur les différents continents.

En revanche, au moment du démarrage de ma thèse, plusieurs études existaient sur la structure génétique de *X. crassiusculus*. Toutefois, celles-ci n'utilisaient pas les mêmes marqueurs, se concentraient sur des régions différentes et n'incluaient pas l'Europe, ne permettant ni de concilier les différents résultats obtenus ni de conclure sur l'histoire de l'invasion mondiale de *X. crassiusculus*. Ito & Kajimura (2009) ont étudié sa structure génétique au Japon uniquement (donc dans une région importante de l'aire native) en utilisant non pas le fragment barcode mais la seconde moitié du gène COI. Ils ont identifié 3 lignées distinctes qu'ils ont appelées A, B et C; ils posent pour la première fois la question de l'existence de diversité cryptique chez cette espèce, qui pourrait en réalité inclure plusieurs espèces sœurs non différenciables morphologiquement. Plus tard, dans un travail sur la structure génétique de *X. crassiusculus* à l'échelle mondiale (mais n'incluant ni l'Europe ni l'Amérique du Sud), Storer et al. (2017) ont utilisé des marqueurs pangénomiques (ddRAD), et ont identifié deux clusters très différenciés. Le Cluster 1 est présent dans l'aire native en Chine, en Thaïlande et à Taiwan ainsi qu'en Papouasie Nouvelle Guinée, et invasif en Amérique Centrale, en Amérique du Nord et à Hawaii. Les auteurs suggèrent que la forte structuration observée en Amérique du Nord pourrait être la conséquence d'invasions répétées ou d'un grand nombre de fondateurs. Le Cluster 2 n'a été identifié dans l'aire native qu'au Japon et à Taiwan, tandis qu'il est invasif en Afrique, en Océanie et à Hawaii. Cependant, le travail de Storer et al. n'ayant pas inclus d'analyse

mitochondriale, aucun lien n'a pu être fait entre les Clusters identifiés dans cette publication et la diversité mitochondriale décrite dans les autres études. Plus ponctuellement, Landi et al. (2017) ont séquencé le fragment barcode d'individus en Argentine et obtenu une séquence correspondant à un haplotype également observé aux Etats-Unis d'après la phylogénie de Dole & Cognato (2010). Enfin, Ashfaq et al. (2016) ont montré que les 5 séquences présentes sur Barcode of Life Data Systems pouvaient être regroupées en 3 Barcode Index Numbers (BINs), pouvant être utilisés comme proxy d'espèces. L'ensemble de ces résultats dans différentes régions du monde suggère que *X. crassiusculus* est une espèce structurée en plusieurs lignées très divergentes, voire incluant plusieurs espèces cryptiques dont les limites et la distribution géographique restent mal définies.

### 3) CONTEXTE, HYPOTHESES ET OBJECTIFS DE LA THESE

Ma thèse s'est déroulée dans le cadre du projet Européen LIFE SAMFIX (Saving Mediterranean Forests from Invasions of *Xylosandrus* beetles and associated pathogenic fungi, LIFE17 NAT/IT/000609), qui a été construit suite à une pullulation de *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* dans le parc national italien du Circé en Septembre 2016. Ce projet a pour objectifs la mise en place de protocoles de prévention, d'alerte et d'éradication dans des zones d'intérêt en Italie, en France et en Espagne, ainsi que la diffusion des connaissances sur les routes d'invasions et les risques associés aux deux espèces. Mon travail s'est focalisé sur ces deux derniers points.

Pour rappel, *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* sont deux espèces proches, tant phylogénétiquement qu'écologiquement, originaires de la même région et avec des histoires d'invasion qui semblent comparables, commençant par l'Afrique, puis le nouveau monde, avant d'arriver en Europe. La colonisation de l'Europe a eu lieu quelques décennies après les autres continents et les deux espèces ont d'abord été détectées en Italie, avant d'être découvertes dans les pays voisins. Le processus d'invasion est encore en cours pour les deux espèces qui continuent d'agrandir leur aire de distribution dans plusieurs continents.

En lien avec les données déjà existantes dans la littérature, j'ai fait les hypothèses suivantes :

- **les deux espèces possèdent des histoires d'invasions semblables**
- **les deux espèces ont d'abord été introduites en Italie, et les populations italiennes ont servi de sources à l'invasion des autres pays européens**
- **il existe très certainement des aires géographiques favorables à leur établissement qui n'ont pas encore été envahies**
- **leur aire de répartition potentielle va évoluer avec le changement climatique futur, potentiellement avec une augmentation de la limite Nord et une rétractation des zones favorables au niveau de l'équateur pour les scénarios de changement climatique les plus extrêmes**
- **l'Europe a été colonisée récemment car elle est devenue favorable aux *Xylosandrus* au cours de la période contemporaine du fait du changement climatique**

Pour tester ces hypothèses, j'ai combiné pour chacune des deux espèces une approche de génétique des populations pour retracer l'histoire de l'invasion de chacune d'elles, et une approche de modélisation de distribution d'espèces pour identifier les régions à risque où les espèces pourraient s'installer selon les conditions climatiques actuelles ou futures. Pour *X. crassiusculus*, j'ai aussi réalisé une analyse rétrospective pour tester si certaines régions d'Europe étaient déjà favorables au XXème siècle.

L'approche de génétique consiste en l'utilisation de deux types de marqueurs complémentaires : un marqueur mitochondrial et des marqueurs pangénomiques (RADseq) dans le but de reconstruire le scénario d'invasion de *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* et d'identifier (i) le nombre d'événements de colonisation dans chaque continent, (ii) l'origine des différentes invasions, qu'elles proviennent de l'aire native ou de l'aire envahie par effet « tête de pont », et (iii) l'histoire de l'invasion au sein de chaque continent et particulièrement en Europe. Nous avons également pu tester l'existence de structures infra-spécifiques chez chacune des deux espèces étudiées. Ces approches sont centrales dans les chapitres 2 et 4.

L'approche de modélisation de distribution d'espèces a permis d'identifier quelles nouvelles aires géographiques pourraient être colonisées par les deux espèces, et dans quelles régions elles pourraient s'étendre à l'avenir. Nous avons d'abord utilisé l'algorithme corrélatif Maxent et les données climatiques issues de Worldclim (Chapitre 3), puis nous avons testé une nouvelle méthode basée sur le package R *MIAMaxent* et des données climatiques disponibles à une

résolution très fine (Chapitre 5). Cette approche a été employée pour prédire la distribution potentielle des deux espèces selon le climat actuel et le climat futur à partir des occurrences disponibles dans la littérature. Elle a aussi été utilisée pour estimer les aires favorables à l'établissement de *Xylosandrus crassiusculus* au cours du XXème siècle.

## CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE *X.* *COMPACTUS*

Ce chapitre est sous presse dans *Journal of Pest Science* sous la référence suivante :

**Urvois, T.**, C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2022. A first inference of the phylogeography of the worldwide invader *Xylosandrus compactus*. *Journal of Pest Science*, sous presse. doi: 10.1007/s10340-021-01443-7



**Résumé en français du contexte, des objectifs de l'étude et des méthodes utilisées**

*Xylosandrus compactus* est un scolyte originaire d'Asie du Sud-Est et envahissant en Afrique, en Amérique et dans les îles du Pacifique. Il a récemment colonisé l'Europe, où il a été détecté pour la première fois en Italie, avant de s'établir en France, en Grèce, sur l'île de Majorque et en Espagne continentale.

L'objectif de ce chapitre est d'identifier : (i) le nombre d'événements d'invasion qui s'est produit dans chaque continent, (ii) l'origine de ces invasions et (iii) l'histoire de l'invasion au sein de chaque continent après sa colonisation initiale. Nous avons fait l'hypothèse de départ que l'invasion de *X. compactus* en Europe résulte d'une introduction unique en Italie suivie de dispersion intracontinentale.

Pour y répondre, nous avons utilisé deux types de marqueurs génétiques complémentaires : un marqueur mitochondrial (le fragment barcode) et des marqueurs pangénomiques obtenus par RAD-sequencing (Restriction site Associated DNA sequencing).

Nous avons échantillonné des individus de *X. compactus* dans 29 localités, dont 4 dans son aire native en Chine et 25 dans son aire envahie, réparties sur 3 continents et 6 pays. Afin d'éviter les contaminations par des champignons, nous avons extrait l'ADN des individus après avoir retiré le mycangium et après les avoir nettoyés pour éliminer les éventuelles spores.

Nous avons séquencé l'ADN mitochondrial de 96 individus, et complété l'alignement final avec 14 séquences disponibles sur Genbank. Nous avons calculé les distances génétiques K2P entre les haplotypes, ainsi que les diversités haplotypiques et nucléotidiques. Les phylogénies entre haplotypes ont été reconstruites par la méthode du Maximum de Vraisemblance et par inférence Bayésienne, et un réseau d'haplotypes de type median-joining a été construit.

Pour l'approche RAD-seq, la quantité d'ADN obtenue pour chaque individu étant trop faible, nous avons amplifié le génome des 114 individus utilisés dans l'expérience avant de construire les bibliothèques. Des analyses préliminaires nous ont amenés à choisir l'enzyme de restriction *PstI* pour ce protocole. L'analyse des données a été effectuée avec les pipelines *RADIS* et *STACKS*, en testant plusieurs valeurs des paramètres M, n et r afin de vérifier la robustesse des résultats. Les séquences du champignon symbiotique, *Ambrosiella xylebori*, ont été filtrées. Nous avons utilisé *Admixture* pour assigner les individus à un nombre de populations fixé afin d'estimer le nombre de populations ancestrales et l'assignation des individus à celles-ci. De plus, outre la construction d'un arbre basé sur le Maximum de Vraisemblance et un arbre basé sur une méthode de clustering, nous avons calculé les *F<sub>st</sub>* et distances génétiques entre les groupes identifiés par les méthodes citées précédemment. Ces étapes ont également été réalisées sur les séquences du champignon symbiotique que nous avons filtrées.

# A first inference of the phylogeography of the worldwide invader

## *Xylosandrus compactus*

T. Urvois<sup>1,2\*</sup>, C. Perrier<sup>2</sup>, A. Roques<sup>1</sup>, L. Sauné<sup>2</sup>, C. Courtin<sup>1</sup>, Y. Li<sup>3,4</sup>, A. J. Johnson<sup>3</sup>, J. Hulcr<sup>3,5</sup>, M.-A. Auger-Rozenberg<sup>1</sup>, C. Kerdelhué<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INRAE, URZF, 45075 Orléans, France

<sup>2</sup>UMR CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Institut Agro, Université Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup>School of Forest, Fisheries, and Geomatics Sciences, University of Florida, Gainesville, FL, USA

<sup>4</sup>Vector-borne Virus Research Center, Fujian Province Key Laboratory of Plant Virology, College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China

<sup>5</sup>Department of Entomology and Nematology, University of Florida, Gainesville, FL, USA

email: teddy.urvois@inrae.fr

## ABSTRACT

Native to Southeastern Asia, the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* is invasive worldwide. Its invasion is favoured by its cryptic lifestyle, symbiosis with a fungus that facilitates a broad range of host plants, and predominant sib-mating reproduction. *X. compactus* invaded Africa more than a century ago and the Americas and Pacific Islands in the middle of the twentieth century. It was not detected in Europe before 2011, when it was first reported in Italy before quickly spreading to France, Greece and Spain. Despite the negative environmental, agricultural and economic consequences of the invasion of *X. compactus*, its invasion history and main pathways remain poorly documented. We used COI and RAD sequencing to i) characterise the worldwide genetic structure of the species, ii) disentangle the origin(s) of the non-native populations on the three invaded continents and (iii) analyse the genetic diversity and pathways within each invaded region. Three mitochondrial lineages were identified in the native range. Populations invading Europe and the American-Pacific region originated from the first lineage and were only slightly genetically differentiated at nuclear SNP markers, suggesting independent introductions from close sources in or near Shanghai, ca. 60 years apart. Populations invading Africa originated from the second lineage, likely from India or Vietnam.

## Keywords

Bioinvasion; Invasion route; Black twig borer; COI; RAD sequencing; Ambrosia beetle

## KEY MESSAGE

- *Xylosandrus compactus* is native to Asia and invasive in Africa, the Americas, and the Pacific Islands, and it recently invaded Europe.
- We used COI and RAD sequencing to identify its source populations and decipher its invasion history.
- Populations from Europe and the American-Pacific region are closely related, show almost no genetic diversity and presumably originated from independent introductions from Eastern China.
- The invasion in Africa likely originated from Southeastern Asia, potentially from India or Vietnam.
- Invasions probably happened through the international trade of living plants.

## INTRODUCTION

Biological invasions have been increasing dramatically in the last decades, with no sign of plateauing, and are now one of the main threats to biodiversity and ecosystems health and services (Pejchar & Mooney 2009, Seebens et al. 2017, Sardain et al. 2019, Seebens et al. 2020). Invasions are known to cause biodiversity loss (Dueñas et al. 2021), ecosystem disruption (Kenis et al. 2008, Simberloff et al. 2013, Morales et al. 2017), economic loss (Bradshaw et al. 2016) and human health problems (Schindler et al. 2015, Jones 2017, Jones & McDermott 2017). International trade plays a major role in insect biological invasions, dispersing pest species between geographically isolated ecosystems (Gippet et al. 2019). Invasion scenarios can however be diverse, for example resulting from single or multiple introductions from the species' native range, and may or may not involve strong bottlenecks depending on the number of dispersed propagules. One of the invaded regions can also serve as a source for further introductions, a phenomenon known as “bridgehead effect” (Lombaert et al. 2010). Understanding the routes of invasions and determining the source populations is thus critical in developing management strategies to prevent further introductions. The most effective way to retrace invasive species' invasion history is to study their worldwide genetic structure (Estoup & Guillemaud 2010).

Bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) are among the most successful invasive species groups. They represent 0.2% of insect species but more than 50% of insect interceptions in ports of entry (Hulcr & Dunn 2011). Ambrosia beetles take their name from their obligate association with symbiotic ambrosia fungi. The females dig galleries into the xylem of their host-plant, where they inoculate spores of their fungal symbiont, which will be used as the only food source by both larvae and adults. This symbiosis allows them to attack a broad range of host plant species and easily shift to new hosts in invaded ranges, which is a major reason for their success as invaders (Kirkendall et al. 2008). Because they are tiny insects living inside galleries most of their life, they can easily travel long distances unspotted, hidden in living plants or wood packaging material (Raffa et al. 2015). While most ambrosia beetles are harmless in their native range, attacking only dead or weakened trees, some species can attack healthy trees and economically important crops in the ecosystems they invade (Kühnholz et al. 2001, Ploetz et al. 2013, Hulcr et al. 2017). Ambrosia beetles can also spread pathogenic fungi and diseases in naive ecosystems (Hulcr & Dunn 2011). For instance, the laurel wilt disease caused by the pathogenic fungus *Raffaella* spread by the redbay ambrosia beetle (*Xyleborus glabratus*) has killed hundreds of millions of trees in the Lauraceae family since it was first detected in the USA in 2002, and is responsible for a \$356 million annual loss in the avocado industry (Evans et al. 2010).

*Xylosandrus* is a particularly successful genus of invading ambrosia beetles. Out of the 54 *Xylosandrus* species presently recognised, four are worldwide invaders causing major losses in plant nurseries and cultivations, namely *X. crassiusculus*, *X. germanus*, *X. morigerus* and *X. compactus* (Dole et al. 2010, Gugliuzzo et al. 2021). Like other ambrosia beetles, *Xylosandrus* species have biological and ecological characteristics favouring invasion (Kirkendall & Odegaard 2007). They are haplodiploid (i.e. non-fertilised eggs give haploid males while fertilised eggs give diploid females) and predominantly mate between siblings as females usually mate with their brothers in maternal galleries before dispersing. More, as adults are relatively long-lived, a single unmated *Xylosandrus* female is able to found a population by mating with its haploid male offsprings (Jordal et al. 2001). The combination of haplodiploidy and regular inbreeding allows to lower inbreeding depression by purging deleterious alleles (Peer & Taborsky 2005), which prevents detrimental effects of low population density typical for regularly outcrossing diploid species, such as the mate-finding Allee effect (Gascoigne et al. 2009). The invasive *Xylosandrus* species were reported on hundreds of hosts species belonging to dozens of plant families (Browne 1961, Weber & McPherson 1983). This could

be caused by generalist genotypes able to live in multiple host plants rather than complexes of multiple genotypes specialised on diverse plant families. Indeed, Andersen et al. (2012) showed that deeply diverging genotypes of *X. morigerus* shared broad and completely overlapping niches without any sign of host specialisation.

The genetic structures of populations of these four species have been studied in the last decade, but the worldwide patterns of invasions were only addressed for *X. germanus* (Dzurenko et al. 2020) and *X. crassiusculus* (Ito & Kajimura 2009, Landi et al. 2017, Storer et al. 2017). Despite similar ecological characteristics, these two species were proved to have drastically different invasion histories. In particular, all non-native populations of *X. germanus* proved to originate from a single region in Japan, and invasion in Europe and in North America occurred independently. Results based on a mitochondrial and a nuclear gene further suggested that only one introduction event occurred in Europe, while several introductions were suggested in North America. On the other hand, genetic structure and invasion history of *X. crassiusculus* seem more complex. Cryptic diversity was identified worldwide and divergent lineages were introduced in different regions of the world, with each invasive population potentially resulting from numerous introductions, or from a single genetically diverse introduction, or a mix of both.

Very little is known about *Xylosandrus compactus* genetic structure and invasion history. The only genetic study focusing on *X. compactus* so far was centred on India and based on a single mitochondrial marker, showing a very low genetic diversity in spite of a sampling including almost 200 specimens (Kiran et al. 2019). However, this work did not discuss *X. compactus* invasion history. Yet, *X. compactus* is a worldwide invader native to temperate and tropical regions of Asia. It is reported on more than 220 host species from more than 60 families (Ngoan et al. 1976, Beaver et al. 2014), including several plants of economic importance, such as cacao, mango, avocado and coffee (Oliveira et al. 2008). Solely in Uganda, *X. compactus* is responsible for \$40 million annual loss due to damages on coffee plantations (Egonyu et al. 2015). It is also known to spread potentially pathogenic fungi such as *Fusarium solani* (Bosso et al. 2012). *X. compactus* is still expanding worldwide and colonising new territories, notably in Europe where it spreads at an alarming rate. It has been present in Madagascar and Africa for more than a century, and it colonised North America in the 1940s, Hawaii in 1964 and South America in the late 1970s. Colonisation of Europe is much more recent, as it was first detected in Italy in 2011 (Garonna et al. 2012), in France in 2014 (Roques et al. 2019), in Greece (Spanou

et al. 2019) and Mallorca (Balearic Islands) (Leza et al. 2020) in 2019, continental Spain in 2020 (Gallego et al. 2020) and Corsica in 2021 (A.R., pers. obs.). Species distribution modelling suggests that *X. compactus* could spread to most Mediterranean regions and along the Atlantic coast from Portugal to the United Kingdom. It could also establish in new countries such as Australia, New Zealand or Mexico, where environmental conditions are predicted to be suitable (Urvois et al. 2021).

The aim of the present study was to characterise the global genetic structure and invasion history of *X. compactus* worldwide, with a focus on Europe where it was the most recently introduced. We used both mitochondrial and nuclear markers to test whether they bring consistent information, as these two types of markers can be differently affected by the species' demographic history and could show contrasting patterns (Toews & Brelsford 2012). Moreover, we used genome-wide nuclear data based on Restriction-site Associated DNA (RAD) sequencing (Davey & Blaxter 2010) to describe at high resolution the species' genetic structure. Our objectives were (i) to compare the worldwide genetic structure obtained with mitochondrial and nuclear markers, and to determine if the species consisted of differentiated lineages; (ii) to disentangle the origin(s) of the non-native populations on the three invaded continents (Africa, America and Europe), testing if they were colonised independently and if each continent was invaded once or several times; and (iii) to analyse the genetic diversity and pathways within each invaded region. Answering these questions is timely to develop management strategies and propose plans for efficient epidemiological surveillance and early detection for this highly invasive pest.

## MATERIAL AND METHODS

### INSECT SAMPLING

We collected *Xylosandrus compactus* females from 29 locations (Table 1). *X. compactus* is commonly described as native to Southeastern Asia. Still, the exact boundaries of its native range are unknown and it is not possible to know whether it should be considered invasive in the periphery of its Asian distribution, such as India. To simplify, we decided to consider all Asian localities as part of its native area. China was the only country sampled in the presumptive

native range of the species. Low sampling coverage in invasive species' native range is a common issue as they often cause less damage in their native area and are thus harder to find there. We collected specimens at 25 sites in the invaded range, in 6 countries distributed on three continents. The insects were obtained either directly from the host tree, from traps baited with ethanol or more specific attractants (Roques et al., in prep) or from collections. Whenever possible, insects from each location were caught from different trees and traps, and at different dates, to minimise within-location inter-individuals relatedness. Individuals were stored in 96% ethanol and at -18°C until DNA extraction.

### DNA EXTRACTION

*Mycangia* were removed, and each specimen was washed with 70% alcohol and cleaned with a paintbrush to limit potential fungal contamination. DNA was then extracted from the whole insect using the Macherey-Nagel NucleoSpin Tissue kit following the manufacturer's instructions, with two successive elutions in 50 µL elution buffer BE to increase DNA yield, and stored at -18°C.

### MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCING

We sequenced between 1 and 8 insects per location for a total of 96 specimens. We amplified the barcode COI fragment via PCR using the primers HCO2198 (5' – TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA – 3') and LCO1490 (5' – GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG – 3') (Folmer et al. 1994) (Table 1). The PCR was performed as follows: denaturation for 5 min at 94°C followed by 35 cycles of amplification of 45 sec at 94°C, 50 sec at 47°C and 90 sec at 72°C and finally 5 min at 72°C. PCR products were cleaned using the NucleoSpin Gel and PCR Cleanup kit (Machery-Nagel) and sequenced in both directions using the ABI Prism BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit on an ABI Prism 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific). We used CodonCode (CodonCode Corporation) to check electropherograms, create contigs and trim all sequences to 566 bp. DNA sequences were aligned using ClustalW in MEGA X (Kumar et al. 2018). We completed the alignment with all the barcode COI sequences publicly available from Genbank and for which location information was available. Thus, 14 sequences from 10 locations in 8 countries were added, including sequences from Mitchell and Maddox (2010) (KX818316, KX818319), Cognato et al. (2020) (MN620067, MN620068, MN620069), Dole et al. (2010)

(GU808707), Stouthamer et al. (2017) (KU727031.1) and Kiran et al. (2019) (KY172634.1, KY172635.1). The final alignment hence included 110 individuals (Table 1).

## MITOCHONDRIAL DATA STATISTICAL ANALYSIS

We calculated Kimura 2 Parameters (K2P) genetic distances between haplotypes using MEGA X (Kumar et al. 2018). Haplotype and nucleotide diversities were calculated using the pegas package (Paradis 2010) in the R Software (R Core Team 2018). We reconstructed a phylogeny between haplotypes using Maximum-Likelihood and Bayesian inference, with *X. germanus* and *X. crassiusculus* as outgroups (accession numbers NC036280.1 and MT230099.1, respectively). A Maximum-Likelihood phylogeny was performed with MEGA X (Kumar et al. 2018) with 1000 bootstraps using K2P distances. A Bayesian inference of the haplotype phylogeny was performed with MrBayes (Ronquist et al. 2012) with a GTR + I +  $\Gamma$  evolutionary model, and 4 chains run 4 times during 2,000,000 generations with a diagnostic every 100 generations. A median-joining network was realised with PopArt (Bandelt et al. 1999). Haplotype maps were performed using the R packages maps (Becker et al. 2018), ggplot2 (Wickham 2016) and scatterpie (Guangchuang 2020).

## RAD SEQUENCING

DNA quantity and quality were assessed using the Qubit dsDNA HS Assay Kit with a Qubit fluorometer. As the DNA amount obtained from each individual was too small for the construction of RAD libraries, we followed the protocol used by Cruaud et al. (2018) to perform a whole genome amplification of each individual DNA sample with the Genomiphi kit V3 following the manufacturer's procedure. Individual RAD libraries were then constructed following Baird et al. (2008) and Etter et al. (2011) with a few modifications listed hereafter. DNA was digested using 250 ng of DNA in 22  $\mu$ L per sample and 0.5  $\mu$ L of the PstI-HF enzyme for a total volume of 25  $\mu$ L. The digested fragments from each specimen were tagged with a unique 5- or 6- bp barcode and a P1 adapter using 1.5  $\mu$ L of P1 adapter (100 nM) and 0.5  $\mu$ L of T4 Ligase (2,000,000 U/ml) for a total volume of 30.5  $\mu$ L. Specimens were then pooled 19 by 19 to create seven libraries. Libraries were sonicated on a Covaris S220 (duty cycle 10%, intensity 5, 200 cycles/burst, duration 75 s) to obtain 300-600 bp fragments. Each library was then tagged with a 5- or 6- nucleotide barcode and a P2 adapter using 1  $\mu$ L of P2 adapter (10 nM) and 0.5  $\mu$ L of Quick Ligase (2,000,000 U/ml). The sizing and purification steps were realised using AMPure XP beads (Agencourt). We performed 5 PCR enrichment with 15 cycles

(30 ng DNA input, NEB Phusion High-Fidelity PCR Master Mix) for each library to increase fragment diversity. After quality control using the Agilent 2100 Bioanalyzer, the libraries were pooled altogether at an equimolar ratio and sent to MGX-Montpellier GenomiX for sequencing. The library was verified on a Fragment Analyser (Agilent, HS NGS fragment Kit), quantified by qPCR (Kapa Library quantification kit) and sequenced on a SP lane in paired-end 2x150 nt mode on a Novaseq6000 (Illumina) according to the manufacturer's instructions.

### RAD SEQUENCE DATA PROCESSING

We used the RADIS pipeline (Cruaud et al. 2016) to i) demultiplex individuals using `process_radtags` (Catchen et al. 2013), ii) homogenise read length and remove a few low-quality bases at the 3'-ends by trimming reads to 139 bp and iii) remove PCR duplicates using `clone_filter` (Catchen et al. 2013). The following steps were performed using STACKS (Catchen et al. 2013, Rochette et al. 2019) on the Genotoul Bioinformatics Platform (INRAE, Toulouse, France). We tested two values of the M parameter from *ustacks* (i.e. the maximum distance allowed between stacks) M = 6 and M = 8. We also tested two values of the n parameter from *cstacks* (i.e. the number of mismatches allowed between sample loci when building the catalogue) n = 4 and n = 6. In order to remove potential fungal contaminations, we aligned the obtained loci on the *Ambrosiella xylebori*'s (*X. compactus*' symbiotic fungus) reference genome (Vanderpool et al. 2018) (accession number: ASM277803v1) using the BWA-MEM algorithm (Li & Durbin 2009) to create a loci blacklist that we later used to filter the fungus' reads in STACKS' *populations* module. In STACKS' *populations* module, we used three filtering values for parameter r (the minimum percentage of individuals required to process a locus, here with one population) r = 0, 0.5 and 0.7. We compared the number of SNPs obtained for each of the M, n and r Stacks parameters combinations. We also performed Principal Component Analyses (PCAs) and clustering with SNPrelate (Zheng et al. 2012) for the four M and n combinations parameters for r = 0.7. We excluded loci with a mean read depth lower than 8 using VCFtools (Danecek et al. 2011). We did not apply filtering based on minor allele frequency (we kept all SNP with at least one allelic variation) in order to avoid biasing subsequent statistical analyses (Linck & Battey 2019).

Lastly, we also wanted to determine the genetic structure of the symbiotic fungus. We thus ran the STACKS' *population* module using the loci mapping on the *Ambrosiella xylebori* reference genome as a whitelist, using r = 0.3 and excluding loci with a mean depth lower than 4.

## RAD SNP STATISTICAL ANALYSIS

We estimated the specimens' relative ancestry using Admixture (Alexander et al. 2009), with a putative number of populations,  $K$ , ranging from 1 to 12 with a 100-fold cross-validation to assess the best  $K$ . We then used the pong 1.4.9 software (Behr et al. 2016) to estimate the major mode (using a greedy approach with 100 runs and a similarity threshold value of 0.90) and plotted the results using the package pophelper (Francis 2017) in the R Software (R Core Team 2018). A Maximum Likelihood tree was generated using RAxML 8.2.21 (Stamatakis 2014). We used the GTRCAT approximation and allowed the program to automatically halt bootstrapping using the bootstrap converge criterion (Pattengale et al. 2010) through the autoMRE option. The tree was visualised using FigTree V.1.4.4 (<https://github.com/rambaut/figtree/releases>). Besides, a hierarchical clustering tree was built using SNPRelate (Zheng et al. 2012) on an individual dissimilarity matrix (Zheng 2013). We also calculated the pairwise  $F_{st}$  (Wright 1951, Weir & Cockerham 1984) and Nei distances (Nei 1972) between the different groups obtained with the methods mentioned above using the StAMPP package (Pembleton et al. 2013). We also estimated the relative ancestry of the symbiotic fungi *Ambrosiella xylebori* and built a hierarchical clustering tree using the same procedure as for *X. compactus*.

## RESULTS

### MITOCHONDRIAL DIVERSITY AND DIFFERENTIATION

We obtained nine haplotypes worldwide (Figure 1a-1c, Table 1), with 70 variable sites out of 566 bp. Eight haplotypes were found in *X. compactus*' native area, including 5 in China (A1, A4, A5, A6 and C), 1 in Japan (A3), 1 common to India and Vietnam (B2) and 1 only in India (B1). Only three haplotypes were found in *X. compactus*' invaded range. The haplotype B2 was found in the two African countries studied, Uganda and Ghana. Only the haplotype A1 was observed in the invaded sites of southern Europe, this haplotype being also present in Shanghai but not in the site of the close Jiangsu province (Nanjing) nor the other sampled provinces. The haplotype A2 was found only in the invaded range and was present in every locality sampled in the Americas and the Pacific Islands. The K2P genetic distances suggested that the haplotypes could be divided into three groups with distances within groups lower than 0.045

(mean 0.018) and between groups higher than 0.056 (mean 0.0648) (Table 2). The first group (lineage A) comprised six haplotypes (A1 to A6) and was present in China, Japan, Europe, the Americas, Hawaii and French Polynesia. The haplotypes A1 and A2, the only haplotypes found in most of the invaded range, differed only by one substitution (Figure 1c). The second group (lineage B) comprised two haplotypes (B1 and B2) and was found in Vietnam, India, Uganda and Ghana. The third group (lineage C) consisted of only one haplotype found in Hong Kong, whose sequence was published in a recent study by Cognato et al. (2020).

We found only one haplotype in each locality; thus, haplotype and nucleotide diversities and their respective standard deviations at the locality level all equalled zero. The Maximum-Likelihood tree reached high support values for every node and set the groups A and C in the same clade. The Bayesian inference tree had a lower resolution but placed groups B and C in the same clade with a significant posterior probability (Supplementary Figure S1).

**Tab. 2 Genetic distances between COI haplotypes based on the Kimura 2-parameter model**

|           | <b>A1</b> | <b>A2</b> | <b>A3</b> | <b>A4</b> | <b>A5</b> | <b>A6</b> | <b>B1</b> | <b>B2</b> |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>A1</b> |           |           |           |           |           |           |           |           |
| <b>A2</b> | 0.002     |           |           |           |           |           |           |           |
| <b>A3</b> | 0.033     | 0.031     |           |           |           |           |           |           |
| <b>A4</b> | 0.044     | 0.042     | 0.027     |           |           |           |           |           |
| <b>A5</b> | 0.042     | 0.040     | 0.025     | 0.013     |           |           |           |           |
| <b>A6</b> | 0.040     | 0.038     | 0.023     | 0.011     | 0.002     |           |           |           |
| <b>B1</b> | 0.086     | 0.084     | 0.068     | 0.070     | 0.071     | 0.070     |           |           |
| <b>B2</b> | 0.082     | 0.080     | 0.064     | 0.066     | 0.067     | 0.066     | 0.007     |           |
| <b>C</b>  | 0.073     | 0.071     | 0.065     | 0.063     | 0.065     | 0.063     | 0.063     | 0.056     |

**Tab. 3 Pairwise Fst (lower part) and Nei distances (upper part) calculated on RAD sequencing data between the four groups identified by Admixture**

|                             | <b>Americas and Pacific</b> | <b>Africa</b> | <b>Europe and Shanghai</b> | <b>Asia</b> |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------|----------------------------|-------------|
| <b>Americas and Pacific</b> | 0                           | 1.315         | 0.028                      | 0.195       |
| <b>Africa</b>               | 0.994                       | 0             | 1.315                      | 1.109       |
| <b>Europe and Shanghai</b>  | 0.797                       | 0.994         | 0                          | 0.196       |
| <b>Asia</b>                 | 0.938                       | 0.975         | 0.954                      | 0           |

# CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE X. COMPACTUS

**Tab. 1 Summary of the localities sampled and specimens used in the COI and RAD sequencing analyses. UFFE is short for University of Florida's Forest Entomology Laboratory and uffeID represents the sample's unique identifier in the UFFE collection database. PACA is short for the French region Provence-Alpes-Côtes d'Azur**

| Range  | Sender (GenBank accession number/uffeID) | Country | State/Province/Region | Locality                  | Latitude  | Longitude  | No. in COI analysis (haplotype) | No. in RAD analysis (group) |
|--------|------------------------------------------|---------|-----------------------|---------------------------|-----------|------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Africa | GenBank (GU808707.1)                     | Ghana   | Western Region        | Ankasa                    | 5.454129  | -2.049559  | 1 (B2)                          | -                           |
| Africa | Fabrice Pinard                           | Uganda  | Central Region        | Bunjako Island            | 0.002465  | 32.133916  | 2 (B2)                          | 7 (group 3)                 |
| Asia   | UFFE (31708)                             | China   | Fujian                | Shuyang                   | 27.159615 | 119.685488 | 2 (A5)                          | 2 (group 4)                 |
| Asia   | UFFE (31704)                             | China   | Guizhou               | Zunyi                     | 27.702703 | 106.923687 | 2 (A4)                          | 2 (group 4)                 |
| Asia   | GenBank (MN620067.1)                     | China   | Hong Kong             | -                         | 22.351683 | 114.167294 | 1 (C)                           | -                           |
| Asia   | GenBank (MN620068.1)                     | China   | Jiangsu               | Nanjing                   | 32.073142 | 118.608523 | 1 (A5)                          | -                           |
| Asia   | UFFE (31864)                             | China   | Jiangxi               | Xiangshan                 | 27.554360 | 116.039123 | 1 (A6)                          | 1 (group 4)                 |
| Asia   | UFFE (33225, 33226)                      | China   | Shanghai              | Shanghai Botanical Garden | 31.148935 | 121.441839 | 5 (A1)                          | 10 (group 1)                |
| Asia   | GenBank (MT178811.1)                     | India   | Karnataka             | Cottabetta                | 13.729165 | 75.574106  | 1 (B1)                          | -                           |
| Asia   | GenBank (KY172634.1, KY172635.1)         | India   | Karnataka             | Mudigere                  | 13.08     | 75.63      | 2 (B2)                          | -                           |
| Asia   | GenBank (MN620069.1)                     | Japan   | Okinawa               | -                         | 26.344871 | 127.801188 | 1 (A3)                          | -                           |
| Asia   | GenBank (KU727031.1)                     | Vietnam | Phú Yên               | Tuy Hoa                   | 13.112984 | 109.277958 | 1 (B2)                          | -                           |
| Europe | INRAE team                               | France  | Corsica               | Cotti                     | 41.772022 | 8.773401   | 2 (A1)                          | -                           |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Cap d'Ail                 | 43.728410 | 7.402091   | 1 (A1)                          | 1 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Cap Ferrat                | 43.676092 | 7.329719   | 4 (A1)                          | 5 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Château-Léoube            | 43.122588 | 6.275151   | 6 (A1)                          | 7 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Garoupe                   | 43.563996 | 7.124504   | 2 (A1)                          | 5 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Le Lavandou               | 43.154    | 6.413      | 2 (A1)                          | -                           |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Nice                      | 43.695849 | 7.267888   | 4 (A1)                          | 4 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Sainte-Marguerite         | 43.519819 | 7.048594   | 2 (A1)                          | 2 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Saint-Tropez              | 43.261871 | 6.645200   | 1 (A1)                          | 1 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | France  | PACA                  | Villa Thuret              | 43.563996 | 7.124504   | 6 (A1)                          | 5 (group 1)                 |
| Europe | Massimo Faccoli                          | Greece  | Peloponnese           | -                         | 37.349380 | 22.352093  | 8 (A1)                          | 8 (group 1)                 |
| Europe | INRAE team                               | Italy   | Latina                | Circeo Park               | 41.297216 | 13.046848  | 4 (A1)                          | 11 (group 1)                |

|                       |                                    |        |                  |                        |            |             |        |             |
|-----------------------|------------------------------------|--------|------------------|------------------------|------------|-------------|--------|-------------|
| <b>Europe</b>         | Giovanna Tropea                    | Italy  | Sicily           | Donnafugata            | 36.881903  | 14.563506   | 2 (A1) | 5 (group 1) |
| <b>Europe</b>         | Giovanna Tropea                    | Italy  | Sicily           | Donnalucata            | 36.766307  | 14.636295   | 2 (A1) | 5 (group 1) |
| <b>Europe</b>         | Giovanna Tropea                    | Italy  | Sicily           | Marina di Ragusa       | 36.785731  | 14.548371   | 5 (A1) | 5 (group 1) |
| <b>Europe</b>         | Diego Gallego                      | Spain  | Tarragonès       | Vila-seca              | 41.11125   | 1.13381     | 4 (A1) | -           |
| <b>North America</b>  | UFFE (11379)                       | USA    | Florida          | Austin Cary Forest     | 29.749605  | -82.212870  | 5 (A2) | 5 (group 2) |
| <b>North America</b>  | UFFE (20588, 20595)                | USA    | Florida          | Highlands Hammock Park | 27.471267  | -81.531776  | 6 (A2) | 5 (group 2) |
| <b>Pacific Island</b> | GenBank (KX055191.1)               | France | French Polynesia | Tefarerii              | -16.79     | -150.962    | 1 (A2) | -           |
| <b>Pacific Island</b> | Jared Bernard                      | USA    | Hawaii           | Kaua'i Coffee Cie      | 21.31564   | -157.80398  | 5 (A2) | 3 (group 2) |
| <b>Pacific Island</b> | GenBank (KX818316.1 to KX818319.1) | USA    | Hawaii           | Kona Research Farm     | 22.198215  | -159.334457 | 4 (A2) | -           |
| <b>Pacific Island</b> | Jared Bernard                      | USA    | Hawaii           | Mānoa Valley           | 21.483681  | -158.022090 | 5 (A2) | 6 (group 2) |
| <b>Pacific Island</b> | Jared Bernard                      | USA    | Hawaii           | Moloka'i Coffee        | 19.6359    | -155.95     | 2 (A2) | -           |
| <b>Pacific Island</b> | UFFE (27780)                       | USA    | Hawaii           | O'ahu                  | 21.899523  | -159.560966 | 1 (A2) | 3 (group 2) |
| <b>South America</b>  | GenBank (GU808706.1)               | Brasil | Espirito Santo   | -                      | -19.179798 | -40.318079  | 1 (A2) | -           |
| <b>South America</b>  | UFFE (17769)                       | France | French Guiana    | Amazon Lodge           | 4.559321   | -52.207490  | 4 (A2) | 5 (group 2) |
| <b>South America</b>  | UFFE (31702)                       | France | French Guiana    | Carrefour de Gallion   | 4.824021   | -52.486669  | 1 (A2) | 1 (group 2) |

Tab. 1 (Continued)

## CHAPITRE 2 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE *X. COMPACTUS*

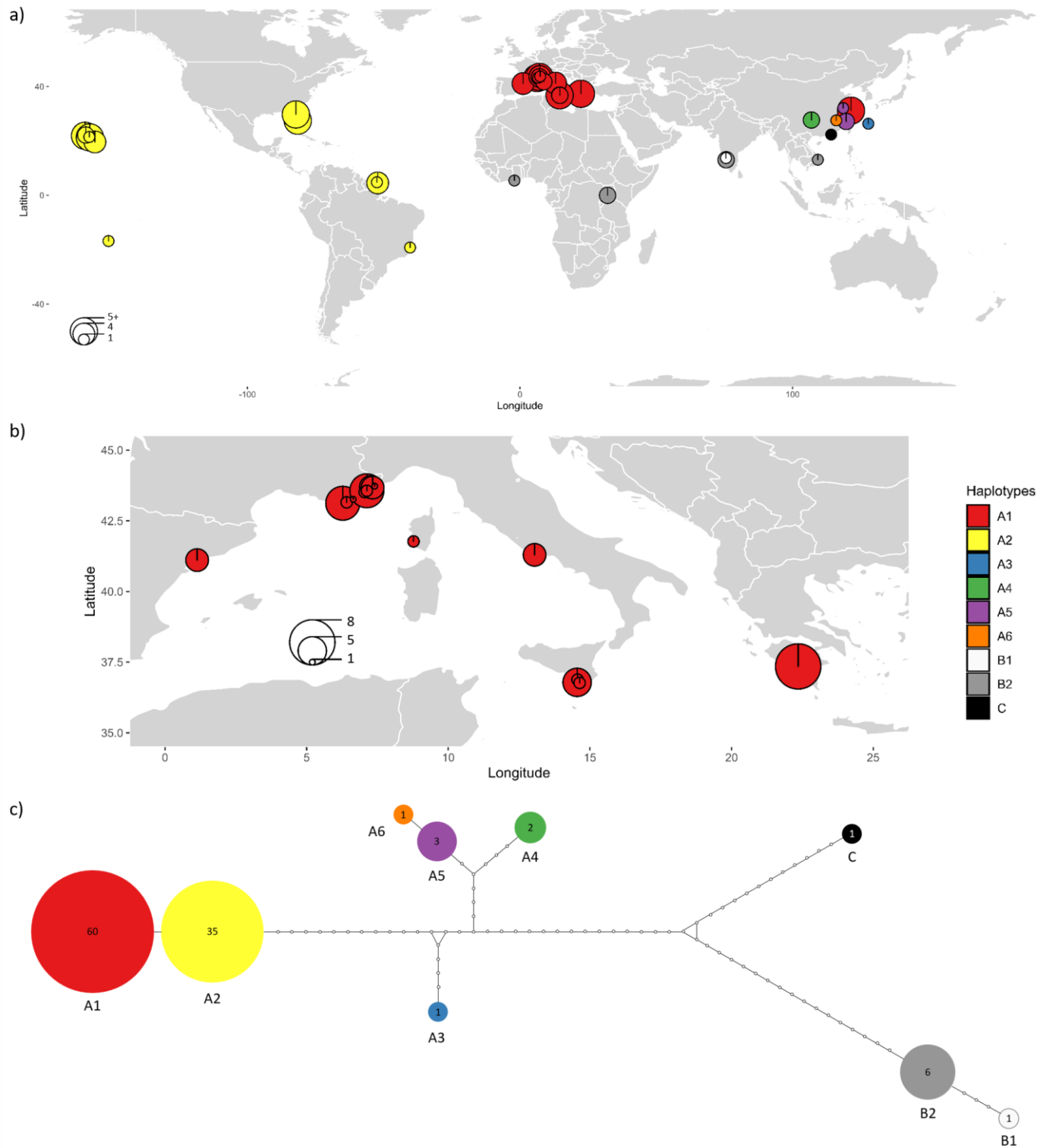


Fig. 1 *Xylosandrus compactus*' haplotype maps (a and b) and median-joining network (c) based on COI sequences. The diagrams represent the sampling size and the proportion of each haplotype in each locality sampled a) worldwide, and b) focusing on Europe

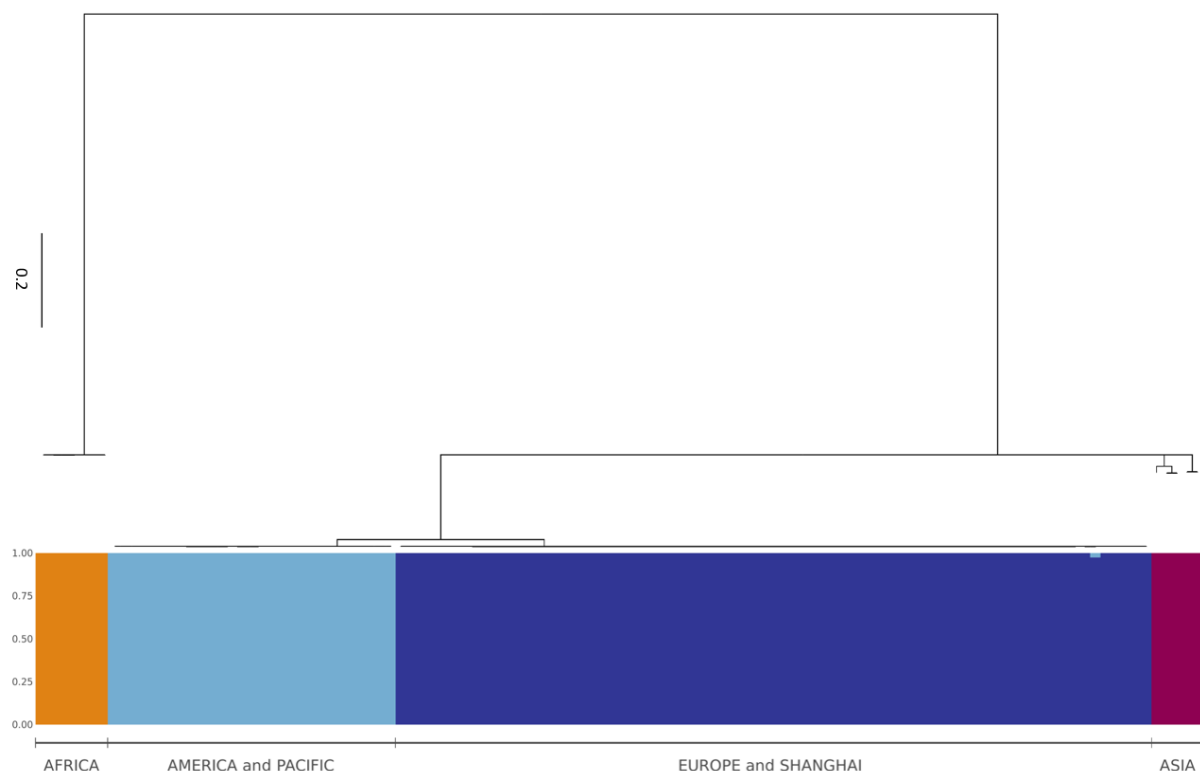
## GENETIC STRUCTURE AT NUCLEAR SNPS OBTAINED FROM RAD SEQUENCING

We obtained a total of 563,419,874 reads, with an average of 2,324,174 (445,028 SD) reads per specimen after demultiplexing, and of 1,382,550 (252,282 SD) after removing low quality reads and PCR duplicates. Depending on the combinations of the parameters  $M$  and  $n$ , 1.65 to 1.69% of the sequences mapped on the *Ambrosiella xylebori*'s genome and were blacklisted. The combination used of the parameters  $M$  and  $n$  had limited effects on our results. Indeed, each parameter combination of  $M$ ,  $n$  and  $r$  yielded very similar numbers of loci, variant sites, and observed homozygosity (Supplementary Table 1). This was expected given the relatively low heterozygosity of the genome of species with regular inbreeding (Kirkendall et al. 2015). The Principal Component Analyses and the clustering analyses also gave similar results for the different parameter combinations (Supplementary Figure S2, Supplementary Figure S3). We decided to focus exclusively on the results obtained with  $M = 6$  and  $n = 4$ , excluding loci with a mean depth lower than 8 or shared by less than 70% of the specimens ( $r = 0.7$ ). This  $M$  and  $n$  parameter set corresponds to the parameters used by Storer et al. (2017), adjusted for the read length. With these selected parameters values, we kept 27,583 SNPs.

The average homozygosity was 0.99 (0.002 SD) and the average inbreeding coefficient was 0.899 (0.02 SD). Using Admixture to explore the worldwide genetic structure of *X. compactus*, the cross-validation values reached a plateau for  $K = 4$  (Supplementary Figure S4). Increasing  $K$  above 4 increased the model's complexity at the cost of the geographical signal (Supplementary Figure S5); we thus selected  $K = 4$  as the most parsimonious number of genetic groups. With a similarity threshold of 0.90, the 100 Admixture runs yielded 24 different modes, the major mode representing 77 of them, with a pairwise similarity of 0.999. In all 233 runs of the major mode, all specimens were assigned to one of the 4 groups with a score higher than 0.95, and most of them scored more than 0.999 (Figure 2). All specimens from Shanghai and Europe were assigned to group 1. The specimens from the Americas and Hawaii clustered together in group 2. The two remaining groups corresponded to the individuals from Uganda, Africa (group 3) and the other Chinese localities (group 4). Groups 1 and 2 were the closest, with a genetic distance of 0.03 (Table 3), while the genetic distances between group 4 and groups 1 and 2 were seven times larger. Group 3 was the most distant, with a genetic distance over 1 when compared with any of the 3 other groups. Despite the small number of specimens in group 4, the third-best mode split it into two groups. The RAxML analysis stopped after 400 bootstraps with a best tree scoring a GAMMA-score of -91723.68 and depicting a genetic structure consistent with the Admixture results. Indeed, the Maximum-Likelihood tree clearly

divided the same four groups, respectively Uganda, Europe and Shanghai, the Americas and Hawaii and the remaining localities in China. This analysis also showed a higher genetic differentiation between individuals from the different locations in Asia compared to between individuals within each of the three other clusters. The hierarchical clustering tree on the individual dissimilarity matrix yielded a similar genetic structure between samples (Supplementary Figure 3).

Using the blacklisted reads as a whitelist to focus on the symbiotic fungus, we obtained only 95 SNPs after filtering with  $r = 0.3$  and excluding loci with a mean depth lower than 4. As for *X. compactus*, the cross-validation values reached a plateau for  $K = 4$  (Supplementary Material S6). With a similarity threshold of 0.90, the 300 Admixture runs yielded 83 different modes, the major mode representing 191 of them, with a pairwise similarity of 0.949. The analyses distinguished the same four groups as for the insect symbiont. However, in some runs, a few samples from group 1 were assigned to group 2 and reciprocally, most probably resulting from restricted power due to the limited number of loci (Supplementary Table S6).



**Fig. 2** Maximum likelihood tree performed with RAxML 8.2.1 and admixture plot for  $K=4$  calculated on RAD sequencing data. Specimens are divided according to their geographical origin

## DISCUSSION

### **Invasion history of *X. compactus* and plausible scenarios**

In spite of a limited sampling obtained in the native range, our results suggest the existence of genetic diversity and differentiation among *X. compactus* populations in Asia, with at least three mitochondrial lineages. The geographical distributions of these genetic groups within the native range will need to be characterised, as well as the putative existence of unsampled additional lineages. We showed that two of these genetic groups were the sources of all the invasive populations. Lineage A independently colonised the Americas and the Pacific Islands in the 1960s and Europe in the 2010s, and lineage B colonised Madagascar and Africa in the early twentieth century. The regions invaded by mitochondrial lineage A (Europe, the Americas and the Pacific islands) were characterised by very low genetic diversity despite the use of mitochondrial and pangenomic markers and extensive sampling coverage of their large geographic extent. Our results showed only one mitochondrial haplotype and almost no genomic diversity within each invasive group. This contrasts with other invasive ambrosia beetles, such as *X. crassiusculus*, whose populations in the invaded range were genetically diverse (Storer et al. 2017). However, it is similar to *X. germanus*, in which a single COI lineage was responsible for the European and the American invasions, although it showed higher haplotypic diversity in both continents than *X. compactus* (Dzurenko et al. 2020). According to the genetic invasion paradox (Sax & Brown 2000), we should expect invasive populations that experienced founder effects or bottlenecks to suffer from reduced fitness and evolutionary potential. *X. compactus*' populations, however, might not fulfil the conditions to be called paradoxical (Estoup et al. 2016) as they presumably do not experience inbreeding depression thanks to the purge of the genetic load through repeated inbreeding (Schrieber & Lachmuth 2017). Indeed, a previous experimental study using *X. germanus* showed signs of outcrossing depression but not of inbreeding depression in this species (Peer & Taborsky 2005). Andersen et al. (2012) showed that *X. morigerus* follows the general-purpose-genotype model (Baker 1965), with generalist rather than specialised lineages with different ecological niches. *X. compactus* invaded Europe, the Americas and the Pacific Islands with almost no genetic diversity, suggesting that it also follows the general-purpose-genotype model and comprises generalist lineages occurring in various environmental conditions.

The absence of mitochondrial and genomic diversity both in Europe and in America and the Pacific is striking and suggests a single introduction in each continent followed by stepping-stone extension and within-continent human-aided dispersion, possibly through national and international live plant trade or timber and wood-packaging material transportation. Indeed, further expansions involved long-distance dispersal that the insect's natural dispersal capacities cannot explain. Still, the absence of mitochondrial and genomic diversity could also result from repeated introductions from a single primary source in Europe and the American-Pacific region. As closely related but distinct mitochondrial haplotypes and RAD genetic groups occur in each region, we suppose that both continents were colonised independently from a very similar source. However, the very low genetic diversity found prevented us from inferring *X. compactus*' invasion history after its first entry, and we can only propose hypotheses based on historical data and dates of first detections. Concerning Europe, *X. compactus* was first detected in Italy in 2011 (Garonna et al. 2012), three years before France (Roques et al. 2019), which suggests that Italy might be the origin of the first step of the European invasion. However, we cannot infer the exact movements of the pest that caused the subsequent invasions in Greece, Mallorca, continental Spain and more recently Corsica. The same is true for the American-Pacific invasion, where a single colonisation event from the native range probably occurred. *X. compactus* was first detected in North America in 1941 (Ngoan et al. 1976), in Hawaii in 1964 (Hara & Beardsley Jr 1979) and South America in 1979 (Wood 1980). Thus, the populations from North America could have acted as a source for invasions in Pacific Islands or South America. *X. compactus* can disperse more than 8 km between two flying seasons (Gugliuzzo et al. 2019), which would be enough to disperse actively between close sites (e.g. between sampling sites in Hawaii, for example). Between remote places, however, its spread was probably human-mediated through international trade.

The analyses revealed a relatively low genetic differentiation at nuclear loci between populations in Europe versus in America and the Pacific, in addition to a single mutational step difference between their mitochondrial haplotypes. This suggests a recent divergence and potentially similar or geographically close origins but no recent gene flow between both. We did not find native specimens that would group with the specimens from the Americas and Pacific Islands, probably due to poor coverage of the *X. compactus*' native range. On the contrary, the analyses consistently grouped the specimens from Europe with those sampled in Shanghai. Shanghai is one of the most economically important cities in China and the busiest port globally, from which quantities of goods, including ornamental plants, are exported

worldwide (UNCTAD 2020). We thus hypothesise that Shanghai could be the donor area of the European and the American-Pacific invasions, presumably through international plant trade, but the origin may be larger since the samplings were limited in Eastern China. *X. compactus* is one of the most frequent pests in Shanghai's urban forests (Gao et al. 2017, Liu et al. 2021), and it is unknown whether it is native to Shanghai or not. Therefore, it cannot be excluded that the specimens we analyzed originated from other parts of China through the trade of ornamentals within the country. Indeed, Shanghai imported various tree species from other Chinese regions to increase its plant diversity (Wang et al. 2020). Thus, Shanghai could have simply acted as a bridgehead by exporting plants infested by *X. compactus* from Shanghai, or already infested plants produced elsewhere as it has been reported by Bras et al. (2019) for the invasive box tree moth, *Cydalima perspectalis*. Another hypothesis would be that Europe was invaded by specimens from the American-Pacific regions. However, this is less parsimonious as we did not find the haplotype A2 in Europe, nor the haplotype A1 in the American-Pacific. Plus, the haplotype A2 is the only one sequenced in a large region, suggesting that it was stable over the last decades during the invasion of the Americas and the Pacific Islands. Thus, it is unlikely that it mutated before reaching Europe and Shanghai, or that the only mutation between A1 and A2 appeared both in the American-Pacific and Shanghai.

Ghana and Uganda were invaded by the same mitochondrial haplotype belonging to the lineage B, presumably more than a century ago (Egonyu et al. 2015). The haplotype B2, which occurs in Africa, was observed within the native range in a locality in Vietnam and a locality in India, where Kiran et al. (2019) sequenced around 200 specimens and found the haplotype B2 exclusively. These two localities are more than 3500 km apart, and a more thorough sampling throughout Asia might have revealed the haplotype B2 in other localities, potentially along the Bay of Bengal. Unfortunately, Vietnam, India, and Ghana were not included in the RAD sequencing experiment (Table 1), which could have helped propose hypotheses about Africa's invasion history. Although not much is known about the first steps of *X. compactus* invasion in Africa, we hypothesise that *X. compactus* might have been introduced to Africa from Southeastern Asia, maybe from India or Vietnam. Extensive sampling and genetic characterisation of *X. compactus* are needed to assess the number of lineages present in Madagascar and Africa and test whether genetic diversity is also almost non-existent in this continent.

Despite a very limited sampling of the native range, we found that populations from the native range carried a higher genetic diversity than in the numerous populations sampled in the invasive range. We can hypothesise that, similarly to *X. crassiusculus* and *X. germanus*, genetic diversity in native populations of *X. compactus* is relatively high, and further genetic structure may be identified with a more extensive sampling there. A comprehensive study of *X. compactus* genetic structure in its native range is needed to better describe its genetic diversity, to map the distribution of the different mitochondrial lineages and increase our understanding of *X. compactus*' evolutionary history and colonisation pathways. This would also allow to formally test whether the genetic diversity is almost non-existent at the local scale. Specimens from Shanghai excluded, Admixture assigned all Asian specimens to the group 4, despite larger differences between them than between specimens from the groups 1 and 2 (Figure 2). This is most likely due to the difference of sample size between the larger groups 1 and 2, and group 4 (Table 1), and a study including more specimens from *X. compactus*' native range would presumably reach a higher number of clusters and notably split the group 3 in several groups, again arguing for a more extensive sampling of populations in the native range.

Our analysis revealed low individual's heterozygosity and high  $F_{st}$  between genetic groups. This must be interpreted with caution, as restricted dispersal and hence low gene flow between populations, sib-mating and haplodiploidy contribute to very low heterozygosity and to a predominant effect of drift on differentiation between lineages. Hence, these metrics are expected to show particularly extreme values compared to organisms having higher dispersal and reproductive strategies implicating more random mating between local individuals and to diploid organisms. Nevertheless, such low heterozygosity and high differentiation are observed among a wide diversity of organisms, including insects (e.g. Andreev et al. 1998, Eyer et al. 2018). In the context of assessing invasion routes and identifying source locations of the invading lineages, such high  $F_{st}$  between lineages have one major advantage and one major inconvenient. The advantage is that given the depleted diversity and genetic stability of sib-mating populations, the several invading lineages can be deciphered efficiently and traced along their way. The disadvantage is that, as the potential source populations are highly differentiated, one has to genotype virtually almost all the source populations to be able to assign invading lineages to their source. This task would be much easier if populations were less differentiated and with a smoother pattern of isolation by distance (e.g. Wasser et al. 2004). Less variable

DNA markers (i.e. mitochondrial or nuclear ultra-conserved elements) may be more suitable to attain such objective in the context of highly structured populations.

The analyses performed on the symbiotic fungus lacked power, probably because of the relatively small number of loci available (95 compared to 27,583 for *X. compactus*). Yet, they showed results consistent with those for *X. compactus*, with four different groups emerging from Admixture and the clustering tree, which suggests a parallel genetic structure, gene flow, and invasion history of the pest insect and its symbiotic fungus. As the genome of *Ambrosiella xylebori* is available, it would be interesting in future studies to extract DNA of both the insect and the symbiotic fungus separately, to obtain more markers from the fungus and confirm the parallel histories of both partners.

### **Management implications**

The objective of invasive pest management is to lower the damage resulting from the invasion. This can be accomplished by preventing the invasion, eradicating an incipient invasion, or adapting the management of nurseries, orchards, and forests to the new pest.

In terms of prevention of *X. compactus* invasion, it is no longer possible for the Americas, Europe and many islands. Once established, the eradication of *X. compactus* is likely impossible. Indeed, given in the absence of the Allee effect in the population dynamics of inbreeding ambrosia beetles, eradication would require the elimination of all individuals. Invasion eradication has succeeded in the case of *Xylosandrus crassiusculus* in Oregon, but only while its distribution was restricted to one small area (LaBonte 2010).

*X. compactus* is not yet established in the entirety of the suitable area and could presumably colonise new countries such as Australia or New Zealand and pursue its expansion in its invaded range, notably in the Mediterranean (Urvois et al. 2021). The results we presented here showed that both mitochondrial and nuclear markers revealed the same invasion history without discrepancy and could be used to monitor and screen for the pest invasion in regions where it did not occur yet. Although RAD sequencing could be helpful to understand the finer genetic structure in *X. compactus*' native range, its development is demanding, and it is not necessary for detection and monitoring tools given the low diversity in the invaded ranges. We advise to use mitochondrial DNA sequencing to survey *X. compactus* in the invasive range, as it is faster,

less expensive and requires less equipment. As our results point to a single source for both colonisations of Europe and the Americas, we suggest a more thorough screening of imports originating from the region of Shanghai, mainly live plants or wood packaging, as it may be the source of the invasion of *X. compactus* in most of the world. Rizzo et al. (2021) developed a protocol allowing the identification of *Xylosandrus compactus*, *X. germanus* and *X. crassiusculus* from a segment of gallery or frass. This could be of great help to identify the species after the specimens have dispersed from the galleries. We also advise border protection agencies to deploy traps with attractive lures (a combination of UHR Ethanol,  $\alpha$ -pinene,  $\alpha$ -copaene and quercivorol, Roques et al., in prep) in ports of entry and to routinely sequence the specimens' mitochondrial DNA to characterise their lineage and haplotype to identify their origin. In already invaded areas, this could help detect additional invasions from new sources, which is a valuable information as populations from different origins could display different behaviours or have different ecological preferences, ultimately affecting management success. Identifying the source of the invasion would also help target the best agent in the case of classical biological control.

In countries where the species is established, there are only limited options for direct control of the pests. Fortunately, as with other *Xylosandrus*, *X. compactus* also attacks stressed trees more than healthy trees (Ranger et al. 2015). Therefore, improving tree health and ecosystem health is an effective management approach, particularly in terms of irrigation (Gugliuzzo et al. 2021).

## DECLARATIONS

### **Funding**

This work was supported by the LIFE project SAMFIX (SAving Mediterranean Forests from Invasions of *Xylosandrus* beetles and associated pathogenic fungi, LIFE17 NAT/IT/000609, <https://www.lifesamfix.eu/>) which received funding from the European Union's LIFE Nature and Biodiversity programme. JH and AJJ were supported by the US Forest Service, the USDA APHIS, and the National Science Foundation.

### **Conflicts of interest**

The authors declare no conflict of interests. Specimens sampled did not involve endangered nor protected species.

## Availability of data and material

Individual RAD sequence files are available in a fq.gz format at the Sequence Read Archive (SRA) (Study Accession no. PRJNA771401). The VCF files *Xylosandruscompactus*.vcf and *Ambrosiellaxylebori*.vcf used for population genomic analyses, as well as the popmap used in STACK' population module and specimens' metadata (e.g., GPS coordinates) are available on Portail Data INRAE (<https://doi.org/10.15454/ETBWEP>). The Genbank accession numbers for the mitochondrial haplotypes reported in this paper are OK489329:OK489334.

## Authors contribution statement

C.K., A.R. and M.-A.A.R. designed the study. L.S., C.C. and T.U. completed the molecular biology work. T.U. and C.P. performed the bioinformatics, the statistical analyses and made the figures. Y. L., A.J.J. and J. H. organised the field work. T.U. wrote the original draft of the manuscript. All authors reviewed, edited and approved the final version of the manuscript.

## Acknowledgements

We would like to thank Richard Bellanger, Jared Bernard, Jean-Baptiste Daubrée, Jacques Deleuze, Massimo Faccoli, Steve Frank, Lei Gao (Shanghai Academy of Landscape Architecture Science and Planning), Benjamin Gey, Federica Giarruzzo, Fabrice Pinard, and Giovanna Tropea for sending specimens. We also would like to thank Anne Loiseau for the lab work. We are grateful to MGX-Montpellier GenomiX for sequencing the RAD libraries and to the Genotoul bioinformatics platform Toulouse Occitanie (Bioinfo Genotoul, doi: 10.15454/1.5572369328961167E12) for providing computing and storage resources. We are also grateful to the Sino-French Joint Laboratory for Invasive Forest Pests in Eurasia (IFOPE) for its support.

## BIBLIOGRAPHY

- Alexander, D. H., J. Novembre, & K. Lange. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* **19**:1655-1664.
- Andersen, H. F., B. H. Jordal, M. Kambestad, & L. R. Kirkendall. 2012. Improbable but true: the invasive inbreeding ambrosia beetle *Xylosandrus morigerus* has generalist genotypes. *Ecology and Evolution* **2**:247-257.
- Andreev, D., H. Breilid, L. Kirkendall, L. O. Brun, & R. H. French-Constant. 1998. Lack of nucleotide variability in a beetle pest with extreme inbreeding. *Insect Molecular Biology* **7**:197-200.

- Baird, N. A., P. D. Etter, T. S. Atwood, M. C. Currey, A. L. Shiver, Z. A. Lewis, E. U. Selker, W. A. Cresko, & E. A. Johnson. 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE* **3**:e3376.
- Baker, H. G. 1965. Characteristics and modes of origin in weeds. Pages 147-172 *dans* S. G. Baker HG, editors, editor. *The Genetics of Colonizing Species*. Academic Press, New York, NY, USA.
- Bandelt, H.-J., P. Forster, & A. Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **16**:37-48.
- Beaver, R. A., W. Sittichaya, & L. Y. Liu. 2014. A synopsis of the scolytine ambrosia beetles of Thailand (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Zootaxa* **3875**:1-82.
- Becker, R. A., A. R. Wilks, R. Brownrigg, T. P. Minka, & A. Deckmyn. 2018. maps: draw geographical maps. R package version 3.3.0.
- Behr, A. A., K. Z. Liu, G. Liu-Fang, P. Nakka, & S. Ramachandran. 2016. pong: fast analysis and visualization of latent clusters in population genetic data. *Bioinformatics* **32**:2817-2823.
- Bosso, L., M. Senatore, R. Varlese, M. Ruocco, A. P. Garonna, G. Bonanomi, S. Mazzoleni, & G. Cristinzio. 2012. Severe outbreak of *Fusarium solani* on *Quercus ilex* vectored by *Xylosandrus compactus*. *Journal of Plant Pathology* **94**:85-105.
- Bradshaw, C. J., B. Leroy, C. Bellard, D. Roiz, C. Albert, A. Fournier, M. Barbet-Massin, J. M. Salles, F. Simard, & F. Courchamp. 2016. Massive yet grossly underestimated global costs of invasive insects. *Nature Communications* **7**:12986.
- Bras, A., D. N. Avtzis, M. Kenis, H. Li, G. Véték, A. Bernard, C. Courtin, J. Rousselet, A. Roques, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. A complex invasion story underlies the fast spread of the invasive box tree moth (*Cydalima perspectalis*) across Europe. *Journal of Pest Science* **92**:1187-1202.
- Browne, F. G. 1961. The biology of Malayan Scolytidae and Platypodidae. *Malayan Forest Records* **22**:1-255.
- Catchen, J., P. A. Hohenlohe, S. Bassham, A. Amores, & W. A. Cresko. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* **22**:3124-3140.
- Cognato, A. I., G. Sari, S. M. Smith, R. A. Beaver, Y. Li, J. Hulcr, B. H. Jordal, H. Kajimura, C.-S. Lin, T. H. Pham, S. Singh, & W. Sittichaya. 2020. The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian ambrosia beetle species (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). *Frontiers in Ecology and Evolution* **8**.
- Cruaud, A., M. Gautier, J.-P. Rossi, J. Y. Rasplus, & J. Gouzy. 2016. RADIS: analysis of RAD-seq data for interspecific phylogeny. *Bioinformatics* **32**:3027-3028.
- Cruaud, A., G. Groussier, G. Genson, L. Saune, A. Polaszek, & J. Y. Rasplus. 2018. Pushing the limits of whole genome amplification: successful sequencing of RADseq library from a single microhymenopteran (Chalcidoidea, Trichogramma). *PeerJ* **6**:e5640.
- Danecek, P., A. Auton, G. Abecasis, C. A. Albers, E. Banks, M. A. DePristo, R. E. Handsaker, G. Lunter, G. T. Marth, S. T. Sherry, G. McVean, R. Durbin, & G. Genomes Project Analysis. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* **27**:2156-2158.
- Davey, J. W., & M. L. Blaxter. 2010. RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics* **9**:416-423.
- Dole, S. A., B. H. Jordal, & A. I. Cognato. 2010. Polyphyly of *Xylosandrus* Reitter inferred from nuclear and mitochondrial genes (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **54**:773-782.
- Dueñas, M.-A., D. J. Hemming, A. Roberts, & H. Diaz-Soltero. 2021. The threat of invasive species to IUCN-listed critically endangered species: A systematic review. *Global Ecology and Conservation* **26**.

- Dzurenko, M., C. M. Ranger, J. Hulcr, J. Galko, & P. Kaňuch. 2020. Origin of non-native *Xylosandrus germanus*, an invasive pest ambrosia beetle in Europe and North America. *Journal of Pest Science* **94**:553-562.
- Egonyu, J. P., J. Baguma, I. Ogari, G. Ahumuza, S. Kyamanywa, P. Kucel, G. H. Kagezi, M. Erbaugh, N. Phiri, B. J. Ritchie, & W. W. Wagoire. 2015. The formicid ant, *Plagiolepis* sp., as a predator of the coffee twig borer, *Xylosandrus compactus*. *Biological Control* **91**:42-46.
- Estoup, A., & T. Guillemaud. 2010. Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? *Molecular Ecology* **19**:4113-4130.
- Estoup, A., V. Ravigné, R. Hufbauer, R. Vitalis, M. Gautier, & B. Facon. 2016. Is there a genetic paradox of biological invasion? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **47**:51-72.
- Etter, P. D., S. Bassham, P. A. Hohenlohe, E. A. Johnson, & W. A. Cresko. 2011. SNP discovery and genotyping for evolutionary genetics using RAD sequencing. *Methods in Molecular Biology* **772**:157-178.
- Evans, E. A., J. Crane, A. Hodges, & J. L. Osborne. 2010. Potential economic impact of laurel wilt disease on the Florida avocado industry. *HortTechnology* **20**:234-238.
- Eyer, P. A., K. Matsuura, E. L. Vargo, K. Kobayashi, T. Yashiro, W. Suehiro, C. Himuro, T. Yokoi, B. Guenard, R. R. Dunn, & K. Tsuji. 2018. Inbreeding tolerance as a pre-adapted trait for invasion success in the invasive ant *Brachyponera chinensis*. *Molecular Ecology* **27**:4711-4724.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **3**:294-299.
- Francis, R. M. 2017. pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Molecular Ecology Resources* **17**:27-32.
- Gallego, D., J. María Riba, N. Molina, E. González, N. di Sora, L. Núñez, A. María Closa, C. Comparini, & M. Leza. 2020. Las invasiones silenciosas de escolítidos: el caso del género *Xylosandrus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae). *Foresta* **78**:78-83.
- Gao, L., S. Wu, G. Lu, X. Chi, G. Ji, & Y. Zhu. 2017. Morphological characteristics and damage survey of *Xylosandrus compactus*. *Forest Pest and Disease* **36**:31-34.
- Garonna, A. P., S. A. Dole, A. Saracino, S. Mazzoleni, & G. Cristinzio. 2012. First record of the black twig borer *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from Europe. *Zootaxa* **3251**:64-68.
- Gascoigne, J., L. Berec, S. Gregory, & F. Courchamp. 2009. Dangerously few liaisons: a review of mate-finding Allee effects. *Population Ecology* **51**:355-372.
- Gippet, J. M. W., A. M. Liebhold, G. Fenn-Moltu, & C. Bertelsmeier. 2019. Human-mediated dispersal in insects. *Current Opinion in Insect Science* **35**:96-102.
- Guangchuang, Y. 2020. scatterpie: Scatter Pie Plot. R package version 0.1.5.
- Gugliuzzo, A., P. H. W. Biedermann, D. Carrillo, L. A. Castrillo, J. P. Egonyu, D. Gallego, K. Haddi, J. Hulcr, H. Jactel, H. Kajimura, N. Kamata, N. Meurisse, Y. Li, J. B. Oliver, C. M. Ranger, D. Rassati, L. L. Stelinski, R. Sutherland, G. Tropea Garzia, M. G. Wright, & A. Biondi. 2021. Recent advances toward the sustainable management of invasive *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Journal of Pest Science* **94**:615-637.
- Gugliuzzo, A., G. Criscione, G. Siscaro, A. Russo, & G. Tropea Garzia. 2019. First data on the flight activity and distribution of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) on carob trees in Sicily. *EPPO Bulletin* **49**:340-351.
- Hara, A. H., & J. W. Beardsley Jr. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), in Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* **13**:55-70.

- Hulcr, J., A. Black, K. Prior, C.-Y. Chen, & H.-F. Li. 2017. Studies of ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae) in their native ranges help predict invasion impact. *Florida Entomologist* **100**:257-261.
- Hulcr, J., & R. R. Dunn. 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect-fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278**:2866-2873.
- Ito, M., & H. Kajimura. 2009. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **44**:549-559.
- Jones, B. A. 2017. Invasive species impacts on human well-being using the life satisfaction index. *Ecological Economics* **134**:250-257.
- Jones, B. A., & S. M. McDermott. 2017. Health impacts of invasive species through an altered natural environment: assessing air pollution sinks as a causal pathway. *Environmental and Resource Economics* **71**:23-43.
- Jordal, B. H., R. A. Beaver, & L. R. Kirkendall. 2001. Breaking taboos in the tropics: incest promotes colonization by wood-boring beetles. *Global Ecology and Biogeography* **10**:345-357.
- Kenis, M., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, L. Timms, C. Péré, M. J. W. Cock, J. Settele, S. Augustin, & C. Lopez-Vaamonde. 2008. Ecological effects of invasive alien insects. *Biological Invasions* **11**:21-45.
- Kiran, V. S., R. Asokan, R. Revannavar, M. S. Hanchipura Mallesh, & E. Ramasamy. 2019. Genetic characterization and DNA barcoding of coffee shot-hole borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Mitochondrial DNA Part A* **30**:779-785.
- Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann, & B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity of bark and ambrosia beetles. Pages 85-156 *Bark Beetles*.
- Kirkendall, L. R., M. Dal Cortivo, & E. Gatti. 2008. First record of the ambrosia beetle, *Monarthrum mali* (Curculionidae, Scolytinae) in Europe. *Journal of Pest Science* **81**:175-178.
- Kirkendall, L. R., & F. Odegaard. 2007. Ongoing invasions of old-growth tropical forests: establishment of three incestuous beetle species in southern Central America (Curculionidae : Scolytinae). *Zootaxa*:53-62.
- Kühnholz, S., J. H. Borden, & A. Uzunovic. 2001. Secondary ambrosia beetles in apparently healthy trees: adaptations, potential causes and suggested research. *Integrated Pest Management Reviews* **6**:209-219.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, & K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution* **35**:1547-1549.
- LaBonte, J. R. 2010. Eradication of an exotic ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), in Oregon. Pages 41-43 *dans* USDA Research Forum on Invasive Species.
- Landi, L., D. Gómez, C. L. Braccini, V. A. Pereyra, S. M. Smith, & A. E. Marvaldi. 2017. Morphological and molecular identification of the invasive *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and its South American range extending into Argentina and Uruguay. *Annals of the Entomological Society of America* **110**:344-349.
- Leza, M. A. R., L. Nuñez, J. M. Riba, C. Comparini, Á. Roca, & D. Gallego. 2020. First record of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in Spain. *Zootaxa* **4767**:345-350.
- Li, H., & R. Durbin. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* **25**:1754-1760.

- Linck, E., & C. J. Battey. 2019. Minor allele frequency thresholds strongly affect population structure inference with genomic data sets. *Molecular Ecology Resources* **19**:639-647.
- Liu, M., D. Zhang, U. Pietzarka, & A. Roloff. 2021. Assessing the adaptability of urban tree species to climate change impacts: a case study in Shanghai. *Urban Forestry & Urban Greening* **62**.
- Lombaert, E., T. Guillemaud, J. M. Cornuet, T. Malausa, B. Facon, & A. Estoup. 2010. Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS ONE* **5**:e9743.
- Mitchell, A., & C. Maddox. 2010. Bark beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) of importance to the Australian macadamia industry: an integrative taxonomic approach to species diagnostics. *Australian Journal of Entomology* **49**:104-113.
- Morales, C. L., A. Saez, L. A. Garibaldi, & M. A. Aizen. 2017. Disruption of pollination services by invasive pollinator species.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* **106**:283-292.
- Ngoan, N. D., R. C. Wilkinson, D. E. Short, C. S. Moses, & J. R. Mangold. 1976. Biology of an introduced ambrosia beetle, *Xylosandrus compactus*, in Florida. *Annals of the Entomological Society of America* **69**:872-876.
- Oliveira, C. M., C. A. H. Flechtman, & M. R. Frizzas. 2008. First record of *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) on soursop, *Annona muricata* L. (Annonaceae) in Brazil, with a list of host plants. *The Coleopterists Bulletin* **62**:45-48.
- Paradis, E. 2010. pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. R package version 0.14. *Bioinformatics* **26**:419-420.
- Pattengale, N. D., M. Alipour, O. R. Bininda-Emonds, B. M. Moret, & A. Stamatakis. 2010. How many bootstrap replicates are necessary? *Journal of Computational Biology* **17**:337-354.
- Peer, K., & M. Taborsky. 2005. Outbreeding depression, but no inbreeding depression in haplodiploid ambrosia beetles with regular sibling mating. *Evolution* **59**:317-323.
- Pejchar, L., & H. A. Mooney. 2009. Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends in Ecology and Evolution* **24**:497-504.
- Pembleton, L. W., N. O. Cogan, & J. W. Forster. 2013. StAMPP: an R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Molecular Ecology Resources* **13**:946-952.
- Ploetz, R. C., J. Hulcr, M. J. Wingfield, & Z. W. de Beer. 2013. Destructive tree diseases associated with ambrosia and bark beetles: black swan events in tree pathology? *Plant Disease Journal* **97**:856-872.
- R Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raffa, K. F., J.-C. Grégoire, & B. Staffan Lindgren. 2015. Natural history and ecology of bark beetles. Pages 585-614 *dans* F. E. Vega & R. W. Hofstetter, editors. *Bark Beetles. Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. Elsevier.
- Ranger, C. M., P. B. Schultz, S. D. Frank, J. H. Chong, & M. E. Reding. 2015. Non-native ambrosia beetles as opportunistic exploiters of living but weakened trees. *PLoS ONE* **10**:e0131496.
- Rizzo, D., D. Da Lio, L. Bartolini, C. Salemi, D. Del Nista, A. Aronadio, F. Pennacchio, F. Binazzi, V. Francardi, A. P. Garonna, & E. Rossi. 2021. TaqMan probe assays on different biological samples for the identification of three ambrosia beetle species, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), *X. crassiusculus* (Motschulsky) and *X. germanus* (Blandford) (Coleoptera Curculionidae Scolytinae). *3 Biotech* **11**:259.

- Rochette, N. C., A. G. Rivera-Colon, & J. M. Catchen. 2019. Stacks 2: analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology* **28**:4737-4754.
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Hohna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard, & J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**:539-542.
- Roques, A., R. Bellanger, J. B. Daubrée, C. Ducatillon, T. Urvois, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.
- Sardain, A., E. Sardain, & B. Leung. 2019. Global forecasts of shipping traffic and biological invasions to 2050. *Nature Sustainability* **2**:274-282.
- Sax, D. F., & J. H. Brown. 2000. The paradox of invasion. *Global Ecology and Biogeography* **9**:363-371.
- Schindler, S., B. Staska, M. Adam, W. Rabitsch, & F. Essl. 2015. Alien species and public health impacts in Europe: a literature review. *NeoBiota* **27**:1-23.
- Schrieber, K., & S. Lachmuth. 2017. The genetic paradox of invasions revisited: the potential role of inbreeding x environment interactions in invasion success. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **92**:939-952.
- Seebens, H., S. Bacher, T. M. Blackburn, C. Capinha, W. Dawson, S. Dullinger, P. Genovesi, P. E. Hulme, M. van Kleunen, I. Kuhn, J. M. Jeschke, B. Lenzner, A. M. Liebhold, Z. Pattison, J. Pergl, P. Pyšek, M. Winter, & F. Essl. 2020. Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Global Change Biology*.
- Seebens, H., T. M. Blackburn, E. E. Dyer, P. Genovesi, P. E. Hulme, J. M. Jeschke, S. Pagad, P. Pyšek, M. Winter, M. Arianoutsou, S. Bacher, B. Blasius, G. Brundu, C. Capinha, L. Celesti-Gradow, W. Dawson, S. Dullinger, N. Fuentes, H. Jager, J. Kartesz, M. Kenis, H. Kreft, I. Kuhn, B. Lenzner, A. Liebhold, A. Mosena, D. Moser, M. Nishino, D. Pearman, J. Pergl, W. Rabitsch, J. Rojas-Sandoval, A. Roques, S. Rorke, S. Rossinelli, H. E. Roy, R. Scalera, S. Schindler, K. Stajeroval, B. Tokarska-Guzik, M. van Kleunen, K. Walker, P. Weigelt, T. Yamanaka, & F. Essl. 2017. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications* **8**:14435.
- Simberloff, D., J. L. Martin, P. Genovesi, V. Maris, D. A. Wardle, J. Aronson, F. Courchamp, B. Galil, E. Garcia-Berthou, M. Pascal, P. Pyšek, R. Sousa, E. Tabacchi, & M. Vila. 2013. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology and Evolution* **28**:58-66.
- Spanou, K., M. Marathianou, M. Gouma, D. Dimou, L. Nikoletos, P. Milonas, & D. Papachristos. 2019. First record of black twig borer *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae) in Greece. 18th Panhellenic Entomological Congress, Komotini.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30**:1312-1313.
- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, & J. Hulcr. 2017. Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* **7**:10974-10986.
- Stouthamer, R., P. Rugman-Jones, P. Q. Thu, A. Eskalen, T. Thibault, J. Hulcr, L.-J. Wang, B. H. Jordal, C.-Y. Chen, M. Cooperband, C.-S. Lin, N. Kamata, S.-S. Lu, H. Masuya, Z. Mendel, R. Rabaglia, S. Sanguansub, H.-H. Shih, W. Sittichaya, & S. Zong. 2017. Tracing the origin of a cryptic invader: phylogeography of the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) species complex. *Agricultural and Forest Entomology* **19**:366-375.

- Toews, D. P. L., & A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology* **21**:3907-3930.
- UNCTAD. 2020. Review of maritime transport 2020. United Nations, Geneva.
- Urvois, T., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, & C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Scientific Reports* **11**:1339.
- Vanderpool, D., R. R. Bracewell, & J. P. McCutcheon. 2018. Know your farmer: ancient origins and multiple independent domestications of ambrosia beetle fungal cultivars. *Molecular Ecology* **27**:2077-2094.
- Wang, M., J. Li, S. Kuang, Y. He, G. Chen, Y. Huang, C. Song, P. Anderson, & D. Łowicki. 2020. Plant diversity along the urban-rural gradient and its relationship with urbanization degree in Shanghai, China. *Forests* **11**.
- Wasser, S. K., A. M. Shedlock, K. Comstock, E. A. Ostrander, B. Mutayoba, & M. Stephens. 2004. Assigning African elephant DNA to geographic region of origin: applications to the ivory trade. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **101**:14847-14852.
- Weber, B. C., & J. E. McPherson. 1983. World list of host plants of *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera: Scolytidae). *The Coleopterists Bulletin* **37**:114-134.
- Weir, B. S., & C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**:1358-1370.
- Wickham, H. 2016. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag New York.
- Wood, S. L. 1980. New American bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) with two recently introduced species. *Great Basin Naturalist* **40**:353-358.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**:323-354.
- Zheng, X. 2013. Statistical prediction of HLA alleles and relatedness analysis in genome-wide association studies. University of Washington, Washington.
- Zheng, X., D. Levine, J. Shen, S. M. Gogarten, C. Laurie, & B. S. Weir. 2012. A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. *Bioinformatics* **28**:3326-3328.

### Résumé en français des principaux résultats et conclusions

Nous avons obtenu des résultats très concordants entre le marqueur mitochondrial et les données RAD-seq. Nous avons identifié 9 haplotypes mitochondriaux appartenant à trois lignées (A, B et C). Seuls trois haplotypes ont été observés dans l'aire envahie de *X. compactus*. L'haplotype A1 a été retrouvé en Europe, et à Shanghai dans l'aire native, et l'haplotype A2 a été retrouvé en Amérique et dans les îles du Pacifique, mais pas dans l'aire native. La faible divergence entre les haplotypes A1 et A2 suggère qu'ils ont une origine proche géographiquement. L'haplotype B2 a été retrouvé en Afrique, et dans l'aire native en Inde et au Vietnam. La lignée C ne correspond qu'à un individu échantillonné à Hong-Kong dans le cadre d'une autre étude. Les résultats génomiques confirment l'existence de 3 groupes invasifs et la grande proximité des individus envahissants en Amérique et dans les îles Pacifiques avec ceux échantillonnés en l'Europe. Les données montrent une très faible diversité génétique à l'échelle de chaque continent et de très fortes valeurs d'homozgotie, ce qui était attendu du fait de la biologie particulière de *X. compactus*. D'autre part, les données correspondant au champignon symbiotique suggèrent que sa structure spatiale est très similaire à celle de son insecte hôte, même si le nombre de loci est trop faible pour conclure.

Conformément à notre hypothèse, nos résultats suggèrent que l'invasion en Europe est due à une introduction unique en Italie, suivie de dispersion vers les autres pays. Toutefois, la quasi absence de diversité génétique ne permet pas de faire d'hypothèses précises sur les mouvements de *X. compactus* à l'intérieur de l'Europe. Nos résultats suggèrent également un événement de colonisation unique dans la région Amérique-Pacifique, suivi d'une dispersion rapide à large échelle géographique. Là encore, l'absence de diversité génétique ne permet pas de faire d'hypothèses sur le déroulé de l'invasion dans cette région. Toutefois, en se basant sur les dates de premières détection il est possible de supposer que l'Amérique du Nord a été envahie en premier, et qu'elle a servi de source pour l'invasion dans les îles du Pacifique (probablement du fait d'échanges privilégiés entre les Etats-Unis et Hawaii) et l'Amérique du Sud.

La proximité entre les haplotypes A1 et A2, et la présence de A1 à Shanghai suggère que cette région côtière de la Chine est l'aire donneuse de deux invasions indépendantes dans la région Amérique-Pacifique au cours du XXème siècle et en Europe au XXIème siècle. Il est probable que les échanges commerciaux depuis le port de Shanghai, voie d'entrée très importante vers les deux autres continents, ont favorisé le transport de *X. compactus*.

L'haplotype B2 retrouvé en Afrique a aussi été identifié en Inde et au Vietnam. Toutefois, les données mitochondriales provenaient de GenBank. Nous n'avons pas pu obtenir d'échantillons en provenance de ces pays, qui n'ont donc pas été inclus dans l'expérience de RAD sequencing. Il serait intéressant d'améliorer l'échantillonnage en Afrique pour vérifier si d'autres haplotypes y sont présents, et confirmer la seule invasion de la lignée B sur ce continent. De plus, un échantillonnage approfondi de l'aire native permettrait de préciser la distribution de l'haplotype B2, et de vérifier celle de la lignée C.

Nous avons abordé dans le chapitre suivant la question des aires de distribution potentielle des deux espèces de *Xylosandrus*, sous climat actuel et selon plusieurs scénarios de changement climatique.



## CHAPITRE 3 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PRESENTE ET FUTURE DE *X. COMPACTUS*

Ce chapitre a été publié dans *Scientific Reports* sous la référence suivante :

**Urvois, T.**, M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, and C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus ambrosia* beetles. *Scientific Reports* **11**:1339. doi: 10.1038/s41598-020-80157-9



### Résumé en français du contexte, des objectifs de l'étude et des méthodes utilisées

*Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* sont deux scolytes originaires d'Asie du Sud-Est et envahissants sur plusieurs continents. Ils ont récemment envahi l'Europe, où ils ont colonisé plusieurs pays au cours de la dernière décennie, et continuent d'étendre leur aire de distribution dans les différents continents envahis.

L'objectif de ce chapitre est de modéliser les aires de distributions potentielles de *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* selon le climat actuel pour estimer dans quelles nouvelles régions géographiques les deux espèces pourraient s'établir et s'étendre. Nous avons également exploré comment ces aires potentielles pourraient évoluer dans le futur, selon plusieurs hypothèses de changement du climat. Nous avons fait deux hypothèses : (i) il existe des aires géographiques favorables aux deux espèces, dans lesquelles elles ne sont pas (encore) établies, notamment en Europe, et (ii) leurs aires de distributions potentielles vont évoluer avec le changement climatique, avec une modification de leurs limites Sud et Nord.

Pour ce faire, nous avons utilisé une approche de modélisation de distribution d'espèces, qui estime la relation entre les données de distributions de l'espèce étudiée et des variables environnementales pour prédire sa distribution potentielle. Nous avons utilisé dans ce chapitre l'algorithme Maxent, qui fonctionne uniquement avec des données de présence (occurrence) et ne nécessite donc pas de données de "vraies absences", qui sont délicates à définir dans le cas d'espèces envahissantes.

Nous avons compilé le jeu de données d'occurrence en utilisant les données de distribution disponibles dans la littérature scientifique, dans la base de données GBIF (Global Biodiversity Information Facility), et auprès de collaborateurs. Ainsi nous avons obtenu 781 occurrences pour *X. crassiusculus* et 323 pour *X. compactus*. Après filtration des données nous avons gardé respectivement 311 et 205 occurrences. Nous avons sélectionné a priori 11 variables environnementales issues de WorldClim pouvant influencer l'établissement des deux espèces, dont cinq décrivant la température et 6 décrivant les précipitations. En les combinant par groupes de 4 ou de 5, nous avons créé 126 jeux de données.

Après deux étapes de sélection des modèles nous n'avons gardé que ceux capables de prédire les occurrences en Europe, et dont les métriques de performance AUC et TSS dépassaient un certain seuil. Les résultats obtenus pour chaque modèle sélectionné ont été transformés en cartes binaires et celles-ci ont été moyennées pour produire une carte représentant la proportion de modèles prédisant chaque pixel comme favorable.

En ce qui concerne les prédictions futures, nous avons utilisé les modèles sélectionnés précédemment en remplaçant les variables environnementales utilisées par des projections de leurs valeurs pour 2050 et 2070. Pour chacune de ces deux périodes, nous avons utilisé les projections de 11 simulations numériques différentes (GCMs) pour quatre scénarios d'évolution des concentrations de gaz à effet de serre (RCPs). Comme pour les analyses décrites ci-dessus, nous avons créé des cartes binaires et moyenné les résultats des 11 GCMs pour chaque RCP et chaque année.

# Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus ambrosia* beetles

T. Urvois<sup>1\*</sup>, M.-A. Auger-Rozenberg<sup>1</sup>, A. Roques<sup>1</sup>, J.-P. Rossi<sup>2‡</sup>, C. Kerdelhué<sup>2‡</sup>

<sup>1</sup> INRAE, URZF, 45045 Orléans, France

<sup>2</sup> UMR CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Institut Agro, Université Montpellier, Montpellier, France

‡ These authors contributed equally to the work

email: teddy.urvois@inrae.fr

## ABSTRACT

*Xylosandrus compactus* and *X. crassiusculus* are two polyphagous ambrosia beetles originating from Asia and invasive in circumtropical regions worldwide. Both species were recently reported in Italy and further invaded several other European countries in the following years. We used the MaxEnt algorithm to estimate the suitable areas worldwide for both species under the current climate. We also made future projections for years 2050 and 2070 using 11 different General Circulation Models, for 4 Representative Concentration Pathways (2.6, 4.5, 6.0 and 8.5). Our analyses showed that *X. compactus* has not been reported in all potentially suitable areas yet. Its current distribution in Europe is localised, whereas our results predicted that most of the periphery of the Mediterranean Sea and most of the Atlantic coast of France could be suitable. Outside Europe, our results also predicted Central America, all islands in Southeast Asia and some Oceanian coasts as suitable. Even though our results when modelling its potential distribution under future climates were more variable, the models predicted an increase in suitability poleward and more uncertainty in the circumtropical regions. For *X. crassiusculus*, the same method only yielded poor results, and the models thus could not be used for predictions. We discuss here these results and propose advice about risk prevention and invasion management of both species.

## INTRODUCTION

Biological invasions are one of the main threats to biodiversity worldwide, and their magnitude has increased over the last decades with global change (Lenzner et al. 2019). Indeed, climate change alters environmental parameters such as temperature and precipitation patterns and tends to increase the frequency of extreme events (Sun et al. 2014). These alterations can decrease ecosystems' resistance and resilience to invasion (van der Geest et al. 2018, Sage 2020), increase species invasiveness (Nunez-Mir et al. 2019) and initiate range shifts (Zeng et al. 2020). Human transportation, whether intentional or unintentional, also plays a significant role in shifting species' range by increasing species passive dispersion (Gippet et al. 2019), including in normally out-of-reach areas. Moreover, it also increases the propagule pressure (i.e. the number of individuals introduced and the number of introduction events), known to affect establishment probability and ultimately the number of invasive species (Cassey et al. 2018). Two major challenges of trans-boundary species management are i) to detect target species at the earliest possible stage and ii) to quickly provide specific actions to regulate or eradicate them (Reaser et al. 2019). To do so, it is necessary to plan ahead and perform pest risk analyses, which aims at assessing species' invasion risk considering various biological and environmental characteristics in a given area.

Species distribution modelling (SDM) aims at predicting environment suitability, and thus the potential distribution of a given species in a determined range. SDM is an increasingly important tool for decision-makers when prioritising biodiversity conservation efforts or dealing with invasive species (Guisan et al. 2017). For the latter, the estimation of habitat suitability can be used to decide how and where to set up detection methods and thus improve early detection probability. SDM uses the relationship between environmental descriptors and the species' observed distribution to estimate its realised niche (Soberon & Townsend Peterson 2005), which is used to extrapolate habitat suitability outside of the current species' range. SDM is also an interesting tool to assess the potential effects of climate change on species distribution (Porfirio et al. 2014). To simulate future climate, scientists rely on Global Circulation Models (GCMs), which attempt to account for all the physical and chemical processes influencing climate, such as ocean, atmosphere, land and sea ice. To predict the effect of greenhouse gases concentration on future climate, each GCM can be run using different radiative forcing scenarios, represented by different Representative Concentration Pathways (RCPs). Four RCPs were used for the IPCC 5<sup>th</sup> Assessment Report (IPCC 2014), ranging from the most optimistic

one (RCP2.6) to the least optimistic (RCP8.5). Different GCMs are available that all represent a possible future, which we cannot discriminate from. Therefore, GCM selection can potentially affect the results of future distribution modelling (Beaumont et al. 2008), being the primary source of variability between models after the algorithm choice (Buisson et al. 2010). However, this step is often overlooked and the GCM choice made by default or not justified (Porfirio et al. 2014). When facing biological invasion, it is equally important to determine which areas are suitable and could be threatened, and which ones are consistently predicted as unsuitable. In this regard, using several GCMs allows to explore the uncertainty of SDM predictions and to gain confidence on suitability estimates.

Bark and ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) are considered as one of the most successful groups of invasive species (Faccoli et al. 2020) and represent an increasing concern worldwide (Kirkendall & Faccoli 2010). They are hard to detect as they are usually minute insects, and can travel long distances unnoticed, hidden in wood packaging or living plants (Raffa et al. 2015). Within this group, the species of the genus *Xylosandrus* are especially threatening. Two of them, *X. crassiusculus* and *X. compactus*, native of Southeast Asia, are known invaders worldwide and share similar invasion histories. Both have been detected outside of their native range more than one century ago in Madagascar before spreading to continental Africa and later in the New World. *X. compactus* was detected in North America in 1941 in Florida (Ngoan et al. 1976), in Hawaii in 1964 (Hara & Beardsley Jr 1979) and in South America in Brazil in 1979 (Wood 1980). *X. crassiusculus* was first detected in Hawaii in 1950 (Samuelson 1981), in North America in South Carolina in 1974 (Anderson 1974) and in South America in Argentina in 2001 (Kirkendall 2018). Both species were recently reported from Europe where they were first detected in Italy, *X. crassiusculus* in 2003 (Pennachio et al. 2003) and *X. compactus* 2011 (Garonna et al. 2012), before being detected in France in 2014 and 2015 (Roques et al. 2019), respectively. *X. crassiusculus* was then detected in 2016 in Spain (Gallego et al. 2017) and in 2017 in Slovenia (Kavčič 2018) whilst *X. compactus* was detected in 2019 in Greece (Spanou et al. 2019) and on the island of Majorca in Spain (Leza et al. 2020). As other ambrosia beetles, their ecological characteristics tend to favour invasion. They are xylomycetophagous and feed on symbiotic fungi carried in a specialised structure in their body called mycangium. This feature allows them to attack a broader range of host tree (Greco & Wright 2015), which is known to be a major reason for their success as invaders (Kirkendall et al. 2008). More, siblings mate directly in the maternal gallery, which could allow a single mated female to establish a population. Therefore, they presumably avoid classical detrimental effects

of deterministic processes such as mate-finding Allee effect or inbreeding as they are haplodiploid and evolved under inbred mating strategies (Jordal et al. 2001). Both species originate from subtropical areas and succeeded in invading tropical and subtropical regions in a first step. However, both are now established under temperate and Mediterranean climates, as *X. crassiusculus* is now established as far North as South Canada (Douglas et al. 2013) and was intercepted several times in the Netherlands during the last decade (EPPO 2020). We can thus assume that both species are quite plastic, although little is known about their precise ecological requirements.

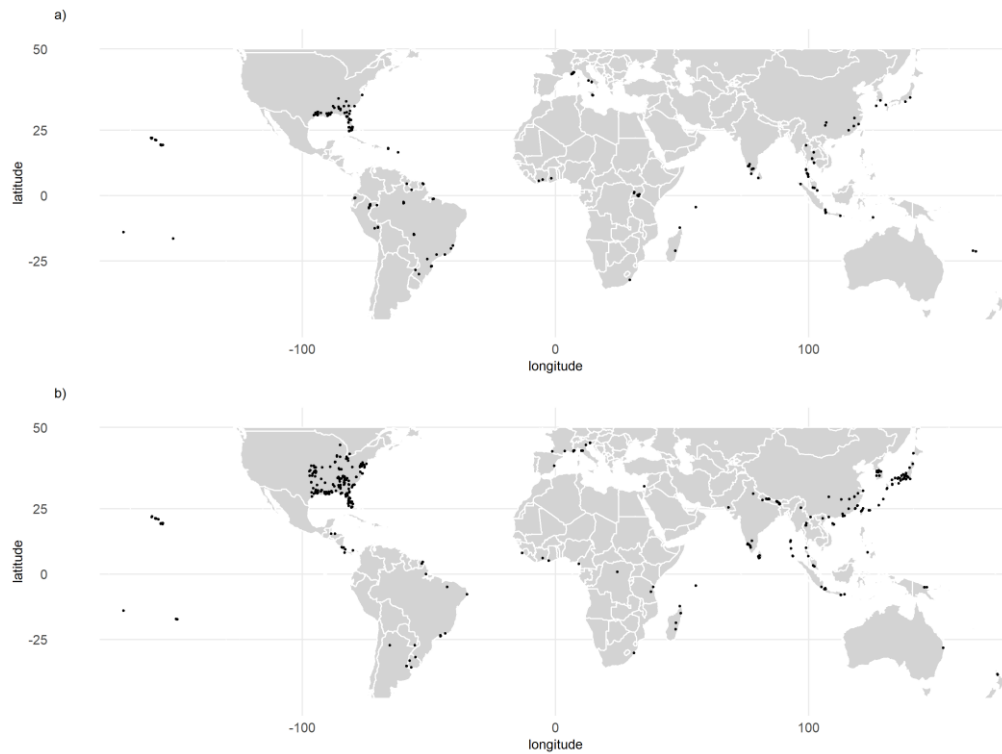
The first goal of this study was to estimate the potential distribution of both species, with a particular focus on Europe that was recently invaded and where the distribution range of both species is still fairly limited. It is thus now necessary to identify the regions where these invaders still do not occur but could be at risk, to anticipate their expansion and develop preventive management strategies. The second goal of this study is to make predictions about the effect of climate change on both species' potential distributions in the near future to assess whether some new areas could become suitable or conversely if some area could stay or become unsuitable. To answer both objectives, we performed SDM on *X. crassiusculus* and *X. compactus* using MaxEnt algorithm i) on current and ii) on future climate models for 2050 and 2070 using 11 GCMs and 4 RCPs. As both species have similar ecological characteristics and a parallel invasion history, we expect that they could threaten the same regions. As hypothesised by Kirkendall and Faccoli (Kirkendall & Faccoli 2010), the Mediterranean seems particularly favourable for invasive species with a rich biodiversity and milder winters than the rest of Europe. It corresponds to a biodiversity hotspot that is expected to be particularly susceptible to climate change (Guiot & Cramer 2016). Assessing the risk of further invasions in this area is thus of prime importance.

## MATERIAL AND METHODS

### *OCCURRENCE DATA AND ENVIRONMENTAL VARIABLES*

We collected worldwide occurrence records of *X. crassiusculus* and *X. compactus* from the scientific literature (Supplementary Tab. S1), the Global Biodiversity Information Facility (GBIF) and direct observations up until the 13<sup>th</sup> of September 2019. Once removed the localities

where the species was not proven to be established, we were left with respectively 781 and 323 records for *X. crassiusculus* and *X. compactus*. We then removed duplicated data, by withdrawing all but one occurrence record per pixel of the climate raster (see below), and ended with 311 occurrences for *X. crassiusculus* (33% in its native area) and 205 occurrences for *X. compactus* (30% in its native area) (Fig. 1).



**Figure 1: Occurrence data used in the present study of a) *Xylosandrus compactus* (n= 205) and b) *Xylosandrus crassiusculus* (n= 311) after duplicate removal. The maps were generated using R 4.0.0 (<https://cran.r-project.org/>).**

We used environmental variables available from the Worldclim database (version 2.0) (Fick & Hijmans 2017), corresponding to the average climate values for 1970-2000, with a resolution of 2.5 arc-min ( $\approx 4.5$  km at the equator). We selected *a priori* 11 variables assumed to be potential drivers of *X. crassiusculus* and *X. compactus* distributions. Five were descriptors of the temperature: the temperature seasonality (bio4) and the average temperatures of the wettest, driest, hottest and coldest quarters (respectively bio8, bio9, bio10 and bio11). The remaining 6 variables were the annual precipitations (bio12), the precipitation seasonality (bio15), and the average precipitations of the wettest, driest, hottest and coldest quarters (respectively bio16, bio17, bio18, bio19). Model overfitting is an issue (Radosavljevic et al. 2014) especially when one aims at using the model to assess future potential distribution (Beaumont et al. 2016). To

reduce this issue, we grouped the environmental descriptors by groups of 4 or 5 to produce 126 environmental datasets. Modelling was performed with small sets of variables, hence preventing overfitting.

## MODELLING

Because the *Xylosandrus* species under study are invaders in various regions of the world, their spatial range is in constant evolution. In such a non-equilibrium situation, it is very hard to identify locations where the species is absent because environmental conditions are unfavourable (i.e. true absence) rather than because of (transient) dispersal limitations. In such a situation, presence-only algorithms are recommended (Guisan et al. 2017). We thus used the MaxEnt algorithm (Phillips et al. 2006), which has been widely adopted in species modelling, notably in biological invasions surveys (Godefroid et al. 2019). To make predictions, MaxEnt relies on presence-only data and background points (i.e. locations where the species' presence is unknown used as a contrast against presence occurrences).

A first step of the modelling framework consisted in selecting the combinations of climate descriptors that led to the MaxEnt models that best predicted European occurrences when calibrated using occurrences from other regions of the world (see e.g. Godefroid et al. (Godefroid et al. 2019) for an example of such a strategy). To do so, we removed the European occurrences from the datasets of each species, and randomly sampled 80% of the remaining occurrence records to train the model. The remaining 20% of records were used to evaluate the model. To characterise the background environment, 10,000 background points were randomly generated in a wide area representative of the species' habitat. We did this for 10 replicates for each of the 126 environmental datasets used for each species. We retained a dataset when at least 5 replicates performed i) an Area Under Curve (AUC) > 0.8, ii) a True Skill Statistics (TSS) > 0.6 and iii) were able to predict 100% of the European occurrences. Such combinations of model × environmental dataset were considered successful and thus used in the next modelling step (Qiao et al. 2015).

Before running the second step, we searched for the optimal MaxEnt parameters to avoid overfitting (Radosavljevic et al. 2014) by fitting MaxEnt models with different rate multiplier values (from 0.5 to 4 with increments of 0.5) and six feature classes (1. Linear; 2. Linear + quadratic; 3. hinge; 4. linear + quadratic + hinge; 5. linear + quadratic + hinge + product; 6. linear + quadratic + hinge + product + threshold) using the R package ENMeval (Muscarella et

al. 2014). We selected the best combination of MaxEnt parameters based on AIC (see Muscarella et al. (Muscarella et al. 2014) for a full explanation of this method).

In a second step, we used the models and environmental datasets that were selected as explained above with all the occurrence data, thus including the European records. A model was finally kept if it scored an  $AUC > 0.7$ . Model outputs were transformed to binary maps using the threshold that optimised the TSS statistics on the testing data (Guisan et al. 2017). The resulting binary maps were averaged to create a consensus map showing the proportion of models predicting any pixel as suitable (Guisan et al. 2017).

To visualise the variability of habitat suitability estimates according to the environmental datasets used to calibrate the models, we calculated the standard deviation for each pixel of the consensus maps (Supplementary Fig. S1). We calculated the proportion of area unanimously predicted as respectively suitable and non-suitable, and the proportion of area for which at least 95% of the models agreed upon (i.e. which value is lower than 0.05 or higher than 0.95) which will thereafter be referred to as “high agreement areas”. All these results were computed considering the suitability of landmass (i) worldwide (Supplementary Tab. S2) and (ii) on a restricted focal area including most of Europe and the Mediterranean area, comprised between longitudes 20°W and 50°E and latitudes 27.5N and 70°N (see Supplementary Tab. S3).

### *POTENTIAL DISTRIBUTION UNDER FUTURE CLIMATE CONDITIONS*

To assess future distributions, we relied on projections of the environmental variable values based on several GCMs developed by climate institutes (Gettelman & Rood 2016). These numerical models can be run using different scenarios of greenhouse gases concentration changes called “Representative Concentration Pathways” (RCPs) and labelled after their radiative forcing value in 2100 (e.g. RCP2.6 or RCP8.5). To predict future distributions, we used future climate projections for 2050 (average for 2041 to 2060) and 2070 (average for 2061 to 2080). These estimates were obtained using 11 different GCMs obtained from the WorldClim database (version 1.4) (Table 1), for 4 different RCPs: RCP2.6, RCP4.5, RCP6.0 and RCP8.5. We used the models selected in the second step (see Results) to create a total of 12,320 models (combinations of 14 environmental datasets x 10 replicates x 4 RCP x 11 GCMs x 2 years). Models outputs were transformed into binary maps using the threshold that optimised the TSS statistics on the testing data. These binary maps were averaged to create a consensus map per RCP in both 2050 and 2070 that shows for each pixel the projected habitat suitability expressed

as a percentage of the models predicting suitable habitat (Supplementary Fig. S2). We also calculated the standard deviation for each pixel of each consensus map (Supplementary Fig. S3).

Since GCMs differ in some regions and/or for some climate features, they may lead to different model predictions. This variability was expressed as follows i) for each year we computed the average habitat suitability over the 11 GCMs for a given RCP (Supplementary Fig. S4), ii) this average was used to centre projections from each GCM. The resulting maps (one by GCM) (Supplementary Fig. S5) finally displayed a negative value when the GCM considered predicted a lower suitability than the average of all GCMs and a positive value otherwise.

We used the R software (R Core Team 2018) and the following R packages to perform modelling and render the maps: *dismo* (Hijmans et al. 2017), *biomod2* (Thuiller et al. 2019), *ENMeval* (Muscarella et al. 2014), *cowplot* (Wilke 2019), *ggplot2* (Wickham 2016), *rnatrualearth* (South 2017) and *raster* (Hijmans 2019).

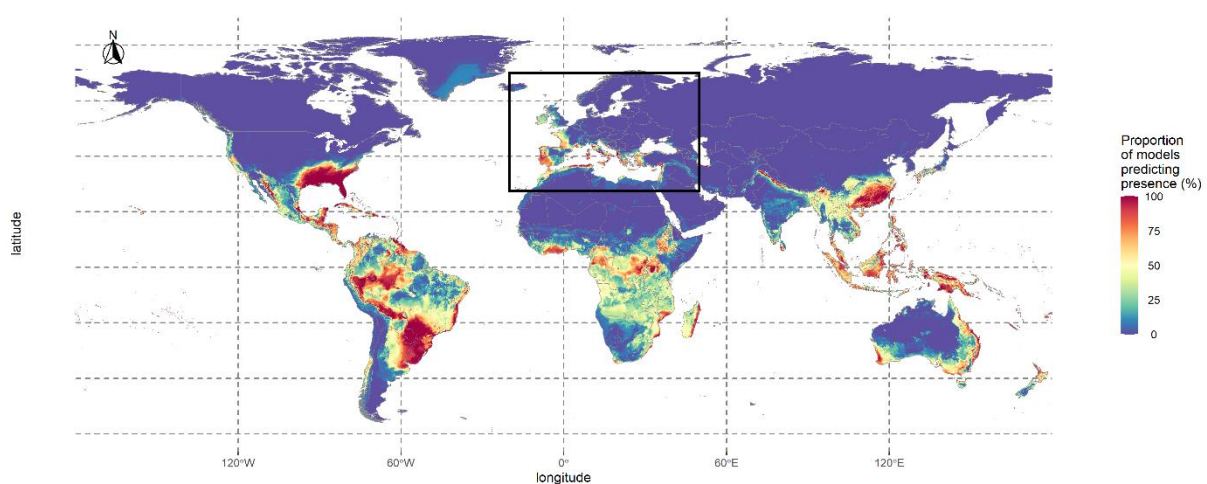
| <b>Code</b>      | <b>Global Circulation Model name</b>         |
|------------------|----------------------------------------------|
| <b><i>BC</i></b> | <i>BCC-CSM1-1 (Wu et al. 2013)</i>           |
| <b><i>CC</i></b> | <i>CCSM4 (Gent et al. 2011)</i>              |
| <b><i>GS</i></b> | <i>GISS-E2-R (Schmidt et al. 2014)</i>       |
| <b><i>HD</i></b> | <i>HadGEM2-AO (Collins et al. 2011)</i>      |
| <b><i>HE</i></b> | <i>HadGEM2-ES (Collins et al. 2011)</i>      |
| <b><i>IP</i></b> | <i>IPSL-CM5A-LR (Dufresne et al. 2013)</i>   |
| <b><i>MC</i></b> | <i>MIROC5 (Watanabe et al. 2010)</i>         |
| <b><i>MG</i></b> | <i>MRI-CGCM3 (Yukimoto et al. 2012)</i>      |
| <b><i>MI</i></b> | <i>MIROC-ESM-CHEM (Watanabe et al. 2011)</i> |
| <b><i>MR</i></b> | <i>MIROC-ESM (Watanabe et al. 2011)</i>      |
| <b><i>NO</i></b> | <i>NorESM1-M (Bentsen et al. 2013)</i>       |

Table 1: Names of the Global Circulation Models used to make future projections and their references

# RESULTS

## *SDM UNDER CURRENT CONDITIONS*

Out of the 126 environmental datasets tested in the first step of the analysis, none fulfilled the evaluation criteria for *Xylosandrus crassiusculus*, either due to lack of predictive power regarding European occurrences, low AUC ( $< 0.8$ ) or low TSS ( $< 0.6$ ) values. Consequently, we could not perform ecological niche modelling on this species, and the results presented hereafter only concern *X. compactus*. For this species, 14 datasets fulfilled the evaluation criteria of step 1 and were thus used in step 2. Supplementary Tab. S4 shows a summary of the evaluation metrics for the models retained to perform the consensus map (Fig. 2). Under the current climate, 55% of the world surface was unanimously predicted as non-suitable, whereas 1.13% was unanimously predicted as suitable. In the focal area, these predictions were respectively 66% and 0.23%. There was a high agreement for 65% of the world; this number reached 77% in the focal area, where at least 25% of the models predicted most Mediterranean coasts and islands as suitable, except for Tunisia, Libya, Egypt and Southeastern Spain. The models also predicted the Western coasts of Spain, France, up to the UK as suitable, although the values decreased northwards. In most places, the suitability decreased with distance from the coast. Outside of the focal area, a substantial part of the models predicted Central America, all islands in Southeast Asia, Nepal, and some Australian coasts as suitable.



**Figure 2: Consensus map showing habitat suitability for *Xylosandrus compactus* under current climate conditions. This consensus map was computed by averaging binary maps and represents**

the percentage of models predicting each pixel as suitable. The black square represents the limits of the focal area. The map was generated using R 4.0.0 (<https://cran.r-project.org/>).

### *MODELLING DISTRIBUTIONS UNDER FUTURE CLIMATE ESTIMATES*

In both 2050 and 2070 and for all RCPs, ca. 50% of the world was unanimously predicted as non-suitable (Supplementary Fig. S2). Conversely, less than 0.35% was consensually predicted as suitable, ranging from 0.19% for the RCP2.6 in 2050 to 0.31% for the RCP8.5 in 2070. In the focal area, 55% of the land territory was unanimously predicted as non-suitable and around 0.1% was consensually predicted as suitable (Fig. 3). Yet, the results for 2070 with RCP8.5 in Europe stood out with 45% of the world unanimously predicted as non-suitable and only 0.02% of the area unanimously predicted as suitable. Around 60% of the world and 70% of the focal area reached a high agreement. For the 4 RCPs, we observed a progression of the habitat suitability towards North and Northeast between the current climate and the projections for 2050 in the focal area, where the consensus map shows that the majority of Western Europe would become suitable. However, the suitability was predicted to decrease in Southwestern Spain, along the coasts of Morocco and Algeria, and in the easternmost parts of the Mediterranean (Israel, Turkey, Greece). We observed the same trends between 2050 and 2070 for the RCP4.5, 6.0 and 8.5. Over the same period, we observed the opposite trend for the RCP2.6, with a regression of the habitat suitability in the North and Northeastern areas and a progression in North Africa and East of the Mediterranean Sea. Outside the focal area, we observed an increase of the habitat suitability between 2050 and 2070 in Northern USA, around Uruguay, in central Africa, in Oceania and some regions of Asia. Conversely, we observed a regression around Venezuela, Central America and some areas in the USA.

The standard deviation of predicted habitat suitability is given in Fig. 4 and in Supplementary material, Fig. S3. These maps highlight the areas where models' projections diverge, showing low values near the coastline, where most models predict on high suitability, and in the North-east Europe, where most models agree predict low suitability.

We observed the same type of predictions when comparing the GCM maps between 2050 and 2070 for each RCP. This is also true for most comparisons between RCPs amongst each predicted year. However, this was not true when comparing the predictions between GCMs, which generated divergent results. Figure 4 highlights the variability of the model outputs

according to GCMs for a given scenario. While maps A and D both displayed under average suitability in Western Europe and the Balkans and over average values near Gibraltar, maps B and C displayed symmetrical results. On the same principle, we were able to group GCMs according to their predictions. For the year 2050 and RCP2.6, the maps for the GCMs HD and HE displayed above-average suitability over the focal area. Conversely, the GCMs CC, GS and MG predicted a lower than average suitability for most of the focal area but South-eastern Spain and Northern Africa. The other GCMs patterns were less structured (IP, MI and MR) or close to the average predictions (BC, NO, MC). At the worldwide scale, NO and MG predicted above-average suitability in Eastern China, South-eastern USA and Northern South America until Paraguay and North America. On the contrary, HE, MI and MR predicted below average suitability for these regions.

## DISCUSSION

Several pest risk analyses have been performed on species of the *Xylosandrus* genus in Europe in the last decade (UK (Department for Environment Food and Rural Affairs 2015), France (ANSES 2017), Slovenia (Kavčič & de Groot 2017)). However, while they assessed the species' ability to enter, establish and spread in the area of interest, the establishment part mostly focused on the presence of host species and lacked information about climate suitability. Our study provides the first attempt to model the potential distribution of *Xylosandrus compactus* and *X. crassiusculus*, two invasive species whose range has been increasing ceaselessly during the last century. Both species have similar ecology and invasion history, suggesting that their potential distribution could be quite similar and thus that their respective models would produce analogous outputs. However, surprisingly, no model created for *X. crassiusculus* matched our criteria.

### *Failure to model Xylosandrus crassiusculus' species distribution*

The failure in appropriately modelling *X. crassiusculus*' potential distribution could be explained by several factors, mutually compatible.

### CHAPITRE 3 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PRESENTE ET FUTURE DE *X. COMPACTUS*

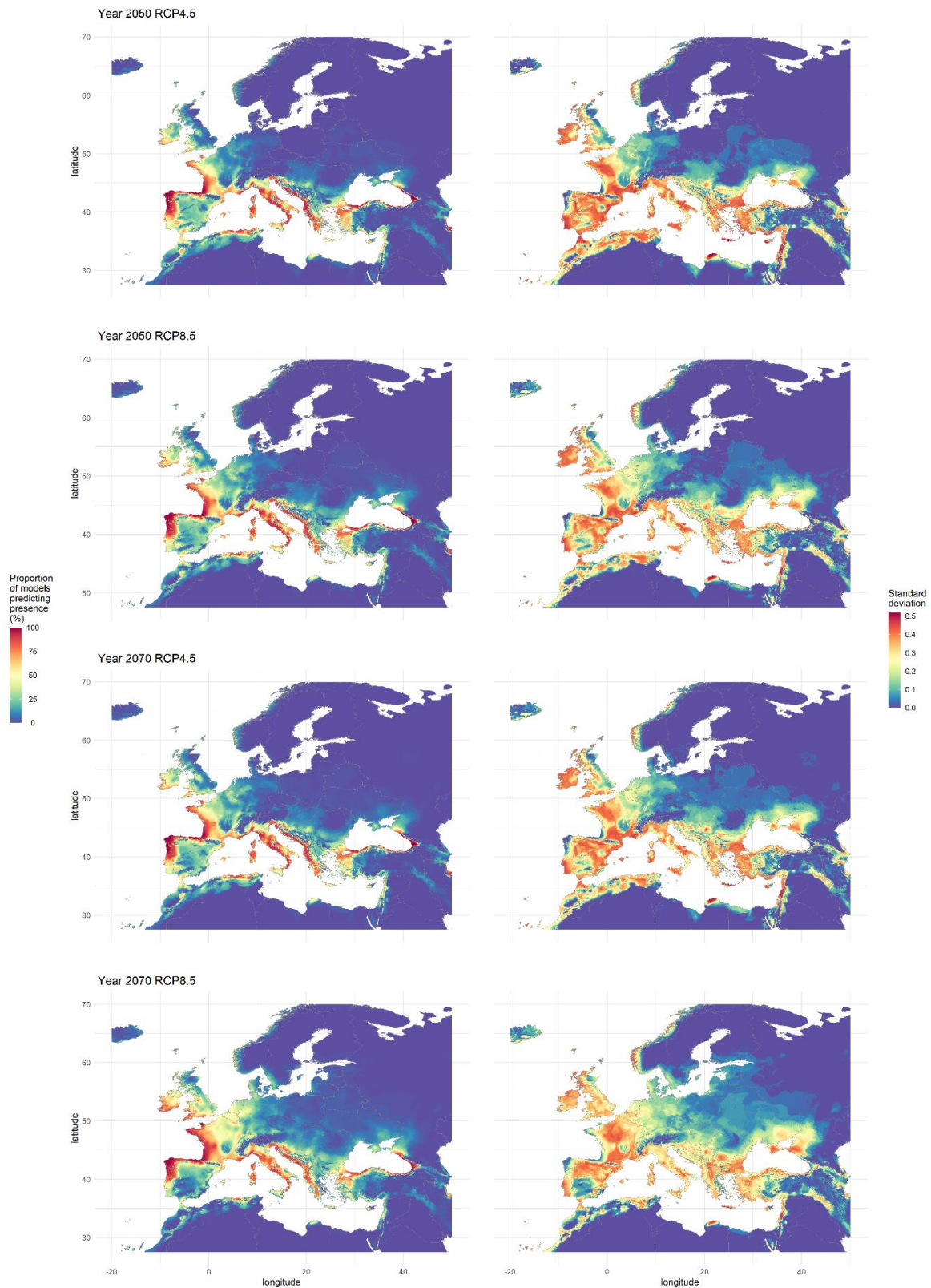
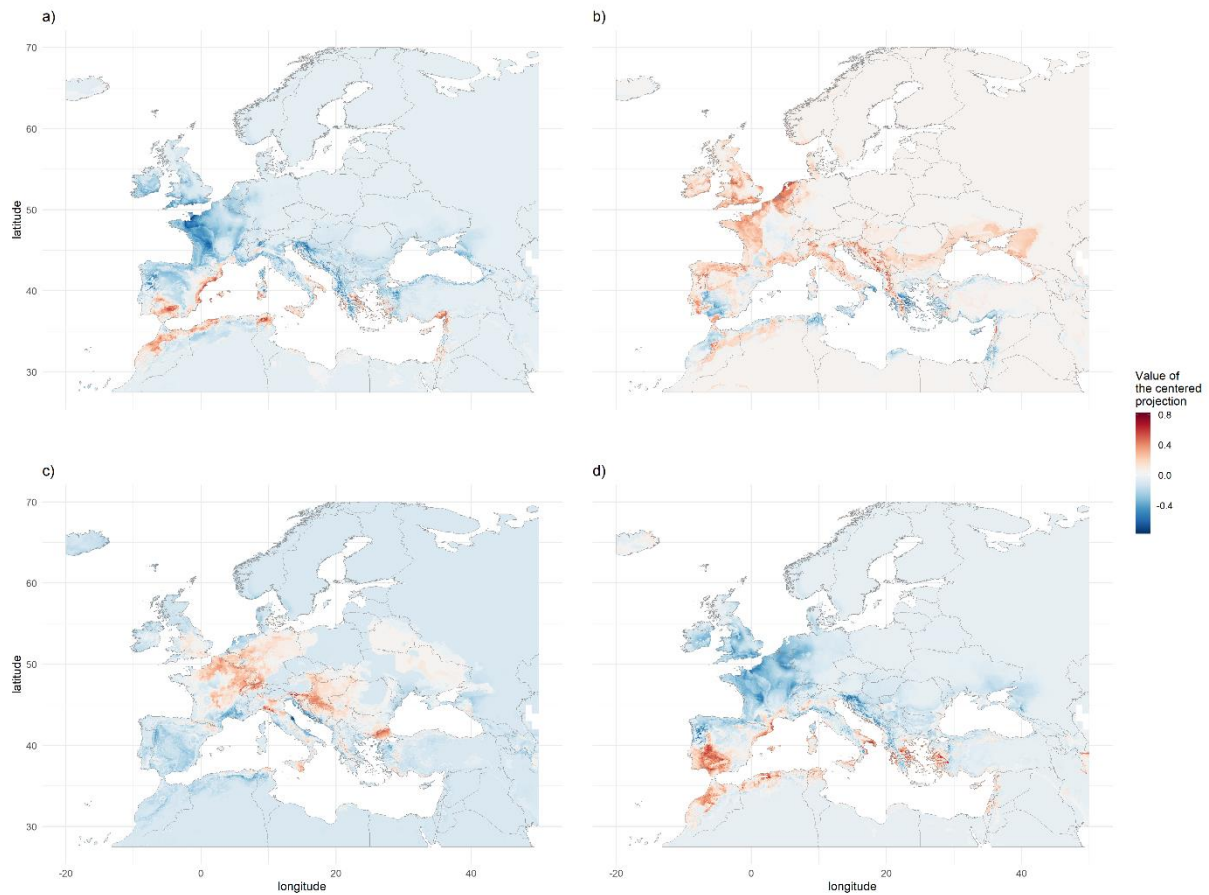


Figure 3: On the left side, consensus maps showing habitat suitability for *Xylosandrus compactus* under future climate for 2 greenhouse gases concentration scenarios (RCP4.5 and 8.5) and for 2 years (2050 and 2070). These consensus maps were computed by averaging presence-absence maps and represent the percentage of models predicting each pixel as suitable. On the right side, maps representing the standard deviation of their left counterpart where the higher values the lower the agreement between models' predictions. The maps were generated using R 4.0.0 (<https://cran.r-project.org/>).



**Figure 4:** Illustration of the variability between the GCMs used to create consensus maps using centered and standardised maps. These display a negative value when the GCM considered predicts a lower suitability than the average of all GCMs and a positive value otherwise. A and B correspond to two GCMs (MG and MI respectively) used to compute the RCP2.6 maps for the year 2050, C and D represent two GCM (HD and MG respectively) used to compute the RCP8.5 for the year 2070. The maps were generated using R 4.0.0 (<https://cran.r-project.org/>).

Our first hypothesis is that we may have overlooked crucial information when performing SDM on *X. crassiusculus*. According to the literature, *X. crassiusculus* is genetically structured and could be divided into two or more differentiated clades, corresponding to potential cryptic diversity (Ito & Kajimura 2009, Storer et al. 2017). It has been shown that integrating phylogeographical information into SDM can alter the results when performing SDM on different clades of a species (Godefroid et al. 2015, Godefroid et al. 2016). Yet, as genetic studies concerning *X. crassiusculus* in different regions of the world did not rely on similar molecular markers, it is not possible at present to determine which clade occurs in a given region. We thus tested the SDM approach at the species level, i.e. all occurrences were used to calibrate the model. In doing so, we possibly grouped clades with potentially different

ecological features, hence building models with weak predictive power. To counter this problem, we are currently working on a comprehensive genetic analysis of *X. crassiusculus* worldwide, to get a better insight about its genetic structure and assign a clade to each locality. This would then allow us to perform a SDM for each clade separately.

Another hypothesis is that SDM relies on several assumptions that can easily be violated when working on expanding invasive species. One is that species are supposed to be at equilibrium, which means that they should be present in all suitable areas (Gallien et al. 2012). However, we know that *X. crassiusculus* is still expanding. Moreover, even though we reached more than 300 occurrence records, we might have under-sampled the native area, which could prevent us from inferring *X. crassiusculus*' realised niche. Indeed, particular populations can sometimes evolve to face a harsher environment, and thus be preadapted to certain conditions, which ease further invasion (Rey et al. 2012). Failing to include such peculiar populations might affect SDM outputs, although it is difficult to evaluate the magnitude of such effect. A last possible explanation for SDM failure could be related to variable selection, but this latter possibility appears very unlikely as we followed the same procedure as for *X. compactus* and created models with 126 variable datasets made of 11 environmental variables.

#### *POTENTIAL DISTRIBUTION OF X. COMPACTUS UNDER CURRENT CLIMATE*

Correlative SDM uses relationships between environmental predictors and species' occurrences to predict its potential distribution. Therefore, unreliable information regarding *X. compactus*' distribution such as countries for which exact occurrence data were not mentioned, or localities where the species was detected but was not proved to have settled, had to be removed from datasets. Despite these precautions, our model successfully spotted suitable areas that were not initially included in the occurrence dataset (e.g., in Central Africa and Oceania) for *X. compactus*. Similarly, the models predicted the Greek province of Peloponnese and the Balearic Island Mallorca, where it was reported as established after we stopped gathering occurrence data (Spanou et al. 2019, Leza et al. 2020), which suggests that the models have good predictive power. According to our model, *X. compactus*' distribution in America could expand to Chile and Argentina, all Central America and the Western coast of North America. In the focal area, most of the Mediterranean coasts and the westernmost parts of the UK are predicted as suitable. Besides Northwest Australia, almost all Oceania and South East Asia is expected to be suitable.

This suggests that even in its native area in Asia, *X. compactus* might colonise new areas or islands where it is not present yet. Even though *X. compactus* has proven to be very adaptable, invading different climatic regions in the last century, our models unanimously predicted more than 50% of the world's area as not suitable. Most of these areas are considered arid or semi-arid (Ma & Yang 2017) whether hot (e.g. Sahara or Arabian Peninsula) or cold (e.g. Canada or Andean Mountains). Little is known about the critical thermal minimum and maximum limits in species of the *Xylosandrus* genus, which could be used as thresholds constraining *X. compactus*' distribution. Gugliozzo et al. (Gugliuzzo et al. 2020) fitted a linear relationship between mortality and minimum temperature and found a 40% mortality in overwintering adults when the minimum temperatures decreased to 5°C. The study did not record temperature under 5°C, far from the lower lethal temperature of -10°C observed for *Xyleborus glabratus*, another ambrosia beetle (Formby et al. 2017). Some *Xylosandrus* species, including *X. compactus*, showed an absence of flight activity under 20°C (Reding et al. 2013, Gugliuzzo et al. 2019), a temperature threshold which may act as another constraining parameter. *X. compactus*' distribution is expected to shift with climate change as precipitations and temperature patterns are modified.

#### POTENTIAL DISTRIBUTION OF *X. COMPACTUS* UNDER FUTURE CLIMATE CONDITIONS

The direction and magnitude of a range shift depend on how climate change will affect the environmental parameters that constrain the species' distribution (Williams & Blois 2018). Being generalist and carrying its symbiotic fungi to feed on, *X. compactus*' distribution is expected to be mostly dependent on temperature and humidity. However, *X. compactus* lives most of its life in galleries, where wood acts as a buffer, protecting individuals from ambient air temperature and extreme events (Formby et al. 2017). The uncertainties of predictions were higher when dealing with future conditions compared to the consensus obtained under the current climate. Indeed, apart from Central Africa, the values observed on the consensus maps are usually lower. Whereas the areas predicted as suitable by at least some models stretches polewards in the Northern hemisphere, the predicted suitability in the Southern hemisphere is less consistent, decreasing over time in some places but not in others. In the focal area, the habitat suitability is predicted to increase going North and Northeast, reaching Central Europe,

the Balkans and the Black Sea. However, outside the focal area, no new country is projected to become suitable between now and 2050 or 2070.

Even though some GCMs can make close predictions for the environmental parameters' value in the future, it is necessary to use several of them when predicting species' potential distribution. Indeed, when using general-purpose machine learning methods such as MaxEnt, which relies on complex relations between the predictors to assess if areas are suitable or not, even small differences could lead to unpredictable and substantial differences in the final predictions (Porfirio et al. 2014). Moreover, performing models over a range of GCMs and RCPs provide decision-makers more reliable information regarding species' potential distribution under future climate, notably regarding the areas predicted as unsuitable. On this point, our study is remarkable as it uses an exceptionally high number of GCMs, sometimes predicting divergent if not symmetrical results, and 4 RCPs, aimed at representing four different potential futures. Indeed, in their review, Porfirio et al. (Porfirio et al. 2014) found that 40% of the studies (out of 163) used 2 or more GCMs, with only 7 using more than 10 GCMs, all being focused on methodology and not on conservation issues.

### *RISK PREVENTION AND INVASION MANAGEMENT*

In addition to altering ambrosia beetles' distribution, climate change might increase the damage they cause (Hlásny et al. 2019). On the one hand, temperature changes could facilitate their survival and development and thus significantly modify their population dynamics. On the other hand, changes in precipitations pattern would impact tree by prompting stress-induced ethanol emissions, which might increase their susceptibility to ambrosia beetles (Ranger et al. 2013, Ranger et al. 2015). While ambrosia beetles have been eradicated when established in very localised areas (LaBonte 2010), this strategy is most of the time unsuccessful. Indeed, they live most of their lives inside galleries where they are protected from pesticides, parasitoids and predators. Moreover, these ecological characteristics make them difficult to detect, which prevent efficient eradication strategies. Even if cutting and destroying infested trees can reduce population density, it is not applicable with high population densities or already widespread species.

The most cost effective management strategy is to prevent species' invasion in the first place. Wood transportation is a major introduction pathway for bark and ambrosia beetles (Hlásny et al. 2019), allowing them to disperse over long distances passively. However, even if

phytosanitary measures are in place to prevent involuntarily transporting species (e.g. heat treatment or fumigation of the wood), they are not sufficient to ensure that no specimen reaches its destination alive. Moreover, bark and ambrosia beetles are also known to travel in living plants, which do not comply with the same regulations. To limit species' invasion through wood and living plant transportation, a strengthening of the regulation might be necessary. However, resources are limited, so it is essential to prioritise areas to survey. For monophagous or oligophagous invasive species, the invasion pathways and currently suitable areas can be determined using host species transportation and distribution. However, both *X. compactus* and *X. crassiusculus* are known to have a broad range of hosts (Castrillo et al. 2011, Leza et al. 2020), and more are added to the list as they invade new regions (Horn & Horn 2006). Hence, managers should not rely on pre-existing host lists as a way to consider an area as unsuitable. Our result relies on environmental parameters to show which areas are suitable for *X. compactus*. This could significantly improve the future pest risk analyses, in addition to being a helpful tool for decision-makers when making policies about trapping for early detection of *X. compactus*. Indeed, our results show that some areas are still free of *X. compactus* even though they are predicted as suitable, today or in the future. We suggest that such areas should be prioritised for early detection strategy, while efforts could be partially relaxed in regions unanimously predicted as unsuitable in the present study.

## BIBLIOGRAPHY

- Anderson, D. M. 1974. First record of *Xyleborus semiopacus* in the continental United States (Coleoptera, Scolytidae). Cooperative Economic Insect Report **24**:863-864.
- ANSES. 2017. Évaluation du risque simplifiée sur *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) identifié en France métropolitaine.
- Beaumont, L. J., E. Graham, D. E. Duursma, P. D. Wilson, A. Cabrelli, J. B. Baumgartner, W. Hallgren, M. Esperón-Rodríguez, D. A. Nipperess, D. L. Warren, S. W. Laffan, & J. VanDerWal. 2016. Which species distribution models are more (or less) likely to project broad-scale, climate-induced shifts in species ranges? Ecological Modelling **342**:135-146.
- Beaumont, L. J., L. Hughes, & A. J. Pitman. 2008. Why is the choice of future climate scenarios for species distribution modelling important? Ecology Letters **11**:1135-1146.

- Bentsen, M., I. Bethke, J. B. Debernard, T. Iversen, A. Kirkevåg, Ø. Seland, H. Drange, C. Roelandt, I. A. Seierstad, C. Hoose, & J. E. Kristjánsson. 2013. The Norwegian Earth System Model, NorESM1-M – Part 1: Description and basic evaluation of the physical climate. *Geoscientific Model Development* **6**:687-720.
- Buisson, L., W. Thuiller, N. Casajus, S. Lek, & G. Grenouillet. 2010. Uncertainty in ensemble forecasting of species distribution. *Global Change Biology* **16**:1145-1157.
- Cassey, P., S. Delean, J. L. Lockwood, J. S. Sadowski, & T. M. Blackburn. 2018. Dissecting the null model for biological invasions: A meta-analysis of the propagule pressure effect. *PLoS Biology* **16**:e2005987.
- Castrillo, L. A., M. H. Griggs, C. M. Ranger, M. E. Reding, & J. D. Vandenberg. 2011. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood. *Biological Control* **58**:121-126.
- Collins, W. J., N. Bellouin, M. Doutriaux-Boucher, N. Gedney, P. Halloran, T. Hinton, J. Hughes, C. D. Jones, M. Joshi, S. Liddicoat, G. Martin, amp, apos, F. Connor, J. Rae, C. Senior, S. Sitch, I. Totterdell, A. Wiltshire, & S. Woodward. 2011. Development and evaluation of an Earth-System model – HadGEM2. *Geoscientific Model Development* **4**:1051-1075.
- Department for Environment Food and Rural Affairs. 2015. Rapid pest risk analysis for *Xylosandrus crassiusculus*.
- Douglas, H., P. Bouchard, R. S. Anderson, P. de Tonnancour, R. Vigneault, & R. P. Webster. 2013. New Curculionoidea (Coleoptera) records for Canada. *Zookeys* **309**:13-48.
- Dufresne, J. L., M. A. Foujols, S. Denvil, A. Caubel, O. Marti, O. Aumont, Y. Balkanski, S. Bekki, H. Bellenger, R. Benshila, S. Bony, L. Bopp, P. Braconnot, P. Brockmann, P. Cadule, F. Cheruy, F. Codron, A. Cozic, D. Cugnet, N. de Noblet, J. P. Duvel, C. Ethé, L. Fairhead, T. Fichefet, S. Flavoni, P. Friedlingstein, J. Y. Grandpeix, L. Guez, E. Guilyardi, D. Hauglustaine, F. Hourdin, A. Idelkadi, J. Ghattas, S. Joussaume, M. Kageyama, G. Krinner, S. Labetoulle, A. Lahellec, M. P. Lefebvre, F. Lefevre, C. Levy, Z. X. Li, J. Lloyd, F. Lott, G. Madec, M. Mancip, M. Marchand, S. Masson, Y. Meurdesoif, J. Mignot, I. Musat, S. Parouty, J. Polcher, C. Rio, M. Schulz, D. Swingedouw, S. Szopa, C. Talandier, P. Terray, N. Viovy, & N. Vuichard. 2013. Climate change projections using the IPSL-CM5 Earth System Model: from CMIP3 to CMIP5. *Climate Dynamics* **40**:2123-2165.

- EPPO. 2020. EPPO Technical Document No. 1081, Study on the risk of bark and ambrosia beetles associated with imported non-coniferous wood.
- Faccoli, M., D. Gallego, M. Branco, E. G. Brockerhoff, J. Corley, D. R. Coyle, B. P. Hurley, H. Jactel, F. Lakatos, V. Lantschner, S. Lawson, G. Martínez, D. F. Gómez, & D. Avtzis. 2020. A first worldwide multispecies survey of invasive Mediterranean pine bark beetles (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae). *Biological Invasions* **22**:1785-1799.
- Fick, S. E., & R. J. Hijmans. 2017. WorldClim 2: new 1km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* **37**:4302-4315.
- Formby, J. P., J. C. Rodgers, F. H. Koch, N. Krishnan, D. A. Duerr, & J. J. Riggins. 2017. Cold tolerance and invasive potential of the redbay ambrosia beetle (*Xyleborus glabratus*) in the eastern United States. *Biological Invasions* **20**:995-1007.
- Gallego, D., J. L. Lencina, H. Mas, J. Cervero, & M. Faccoli. 2017. First record of the granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in the Iberian Peninsula. *Zootaxa* **4273**:431-434.
- Gallien, L., R. Douzet, S. Pratte, N. E. Zimmermann, & W. Thuiller. 2012. Invasive species distribution models - how violating the equilibrium assumption can create new insights. *Global Ecology and Biogeography* **21**:1126-1136.
- Garonna, A. P., S. A. Dole, A. Saracino, S. Mazzoleni, & G. Cristinzio. 2012. First record of the black twig borer *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from Europe. *Zootaxa* **3251**:64-68.
- Gent, P. R., G. Danabasoglu, L. J. Donner, M. M. Holland, E. C. Hunke, S. R. Jayne, D. M. Lawrence, R. B. Neale, P. J. Rasch, M. Vertenstein, P. H. Worley, Z.-L. Yang, & M. Zhang. 2011. The Community Climate System Model Version 4. *Journal of Climate* **24**:4973-4991.
- Gettelman, A., & R. B. Rood. 2016. Demystifying Climate Models. Page 282 *A Users Guide to Earth System Models*. Springer.
- Gippet, J. M. W., A. M. Liebhold, G. Fenn-Moltu, & C. Bertelsmeier. 2019. Human-mediated dispersal in insects. *Current Opinion in Insect Science* **35**:96-102.
- Godefroid, M., A. Cruaud, J.-P. Rossi, & J. Y. Rasplus. 2015. Assessing the risk of invasion by Tephritid fruit flies: intraspecific divergence matters. *PLoS ONE* **10**:e0135209.
- Godefroid, M., N. Meurisse, F. Groenen, C. Kerdelhué, & J.-P. Rossi. 2019. Current and future distribution of the invasive oak processionary moth. *Biological Invasions* **22**:523-534.

- Godefroid, M., J.-Y. Rasplus, & J.-P. Rossi. 2016. Is phylogeography helpful for invasive species risk assessment? The case study of the bark beetle genus *Dendroctonus*. *Ecography* **39**:1197-1209.
- Greco, E. B., & M. G. Wright. 2015. Ecology, biology, and management of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with emphasis on coffee in Hawaii. *Journal of Integrated Pest Management* **6**:1-8.
- Gugliuzzo, A., G. Criscione, A. Biondi, D. Aiello, A. Vitale, G. Polizzi, & G. Tropea Garzia. 2020. Seasonal changes in population structure of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* and its associated fungi in a southern Mediterranean environment. *PLoS ONE* **15**:e0239011.
- Gugliuzzo, A., G. Criscione, G. Siscaro, A. Russo, & G. Tropea Garzia. 2019. First data on the flight activity and distribution of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) on carob trees in Sicily. *EPPO Bulletin* **49**:340-351.
- Guiot, J., & W. Cramer. 2016. Climate change: The 2015 Paris agreement thresholds and Mediterranean basin ecosystems. *Science* **354**:465-468.
- Guisan, A., W. Thuiller, & N. E. Zimmermann. 2017. Habitat suitability and distribution models with applications in R. Cambridge University Press.
- Hara, A. H., & J. W. Beardsley Jr. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), in Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* **13**:55-70.
- Hijmans, R. J. 2019. raster: Geographic Data Analysis and Modeling. R package version 3.0-7.
- Hijmans, R. J., S. Phillips, J. Leathwick, & J. Elith. 2017. dismo: Species Distribution Modeling. R package version 1.1-4.
- Hlásny, T., P. Krokene, A. Liebhold, C. Montagné-Huck, J. Müller, H. Qin, K. Raffa, M.-J. Schelhaas, R. Seidl, M. Svoboda, & H. Viiri. 2019. Living with bark beetles: impacts, outlook and management options. European Forest Institute.
- Horn, S., & G. N. Horn. 2006. New host record for the asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomological Science* **41**:90-91.
- IPCC. 2014. 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva, Switzerland.

- Ito, M., & H. Kajimura. 2009. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **44**:549-559.
- Jordal, B. H., R. A. Beaver, & L. R. Kirkendall. 2001. Breaking taboos in the tropics: incest promotes colonization by wood-boring beetles. *Global Ecology and Biogeography* **10**:345-357.
- Kavčič, A. 2018. First record of the Asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Slovenia. *Zootaxa* **4483**:191-193.
- Kavčič, A., & M. de Groot. 2017. Pest risk analysis for the Asian Ambrosia Beetle (*Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky, 1866)). Slovenian Forestry Institute.
- Kirkendall, L. R. 2018. Invasive bark beetles (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Chile and Argentina, including two species new for South America, and the correct identity of the *Orthotomicus* species in Chile and Argentina. *Diversity* **10**.
- Kirkendall, L. R., M. Dal Cortivo, & E. Gatti. 2008. First record of the ambrosia beetle, *Monarthrum mali* (Curculionidae, Scolytinae) in Europe. *Journal of Pest Science* **81**:175-178.
- Kirkendall, L. R., & M. Faccoli. 2010. Bark beetles and pinhole borers (Curculionidae, Scolytinae, Platypodinae) alien to Europe. *Zookeys* **56**:227-251.
- LaBonte, J. R. 2010. Eradication of an exotic ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), in Oregon. Pages 41-43 *in* USDA Research Forum on Invasive Species.
- Lenzner, B., D. Leclerc, O. Franklin, H. Seebens, N. Roura-Pascual, M. Obersteiner, S. Dullinger, & F. Essl. 2019. A framework for global twenty-first century scenarios and models of biological invasions. *Bioscience* **69**:697-710.
- Leza, M. A. R., L. Nuñez, J. M. Riba, C. Comparini, Á. Roca, & D. Gallego. 2020. First record of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in Spain. *Zootaxa* **4767**:345-350.
- Ma, Z., & Q. Yang. 2017. Global patterns of aridity trends and time regimes in transition. Pages 67-90 *in* Congbin Fu and Huiting Mao, editor. *Aridity Trend in Northern China* World Scientific Publishing Co.
- Muscarella, R., P. J. Galante, M. Soley-Guardia, R. A. Boria, J. Kass, M. Uriarte, & R. P. Anderson. 2014. ENMeval: An R package for conducting spatially independent

- evaluations and estimating optimal model complexity for ecological niche models. *Methods in Ecology and Evolution* **5**:1198-1205.
- Ngoan, N. D., R. C. Wilkinson, D. E. Short, C. S. Moses, & J. R. Mangold. 1976. Biology of an introduced ambrosia beetle, *Xylosandrus compactus*, in Florida. *Annals of the Entomological Society of America* **69**:872-876.
- Nunez-Mir, G. C., Q. Guo, M. Rejmanek, B. V. Iannone III, & S. Fei. 2019. Predicting invasiveness of exotic woody species using a traits-absed framework. *Ecology Letters* **100**:e02797.
- Pennachio, F., P. F. Roversi, V. Francardi, & E. Gatti. 2003. *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) a bark beetle new to Europe (Coleoptera Scolytidae). *Redia* **86**:77-80.
- Phillips, S. J., R. P. Anderson, & R. E. Schapire. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* **190**:231-259.
- Porfirio, L. L., R. M. Harris, E. C. Lefroy, S. Hugh, S. F. Gould, G. Lee, N. L. Bindoff, & B. Mackey. 2014. Improving the use of species distribution models in conservation planning and management under climate change. *PLoS ONE* **9**:e113749.
- Qiao, H., J. Soberón, A. T. Peterson, & D. Kriticos. 2015. No silver bullets in correlative ecological niche modelling: insights from testing among many potential algorithms for niche estimation. *Methods in Ecology and Evolution* **6**:1126-1136.
- R Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Radosavljevic, A., R. P. Anderson, & M. Araújo. 2014. Making better Maxent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation. *Journal of Biogeography* **41**:629-643.
- Raffa, K. F., J.-C. Grégoire, & B. Staffan Lindgren. 2015. Natural history and ecology of bark beetles. Pages 585-614 *dans* F. E. Vega & R. W. Hofstetter, editors. *Bark Beetles. Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. Elsevier.
- Ranger, C. M., M. E. Reding, P. B. Schultz, & J. B. Oliver. 2013. Influence of flood-stress on ambrosia beetle host-selection and implications for their management in a changing climate. *Agricultural and Forest Entomology* **15**:56-64.
- Ranger, C. M., P. B. Schultz, S. D. Frank, J. H. Chong, & M. E. Reding. 2015. Non-native ambrosia beetles as opportunistic exploiters of living but weakened trees. *PLoS ONE* **10**:e0131496.

- Reaser, J. K., S. W. Burgiel, J. Kirkey, K. A. Brantley, S. D. Veatch, & J. Burgos-Rodríguez. 2019. The early detection of and rapid response (EDRR) to invasive species: a conceptual framework and federal capacities assessment. *Biological Invasions* **22**:1-19.
- Reding, M. E., C. M. Ranger, J. B. Oliver, & P. B. Schultz. 2013. Monitoring attack and flight activity of *Xylosandrus spp.* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): the influence of temperature on activity. *Horticultural Entomology* **106**:1780-1787.
- Rey, O., A. Estoup, M. Vonshak, A. Loiseau, S. Blanchet, L. Calcaterra, L. Chifflet, J.-P. Rossi, G. J. Kergoat, J. Foucaud, J. Orivel, M. Leponce, T. Schultz, & B. Facon. 2012. Where do adaptive shifts occur during invasion? A multidisciplinary approach to unravelling cold adaptation in a tropical ant species invading the Mediterranean area. *Ecology Letters* **15**:1266-1275.
- Roques, A., R. Bellanger, J. B. Daubrée, C. Ducatillon, T. Urvois, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.
- Sage, R. F. 2020. Global change biodiversity: a primer. *Global Change Biology* **26**:3-30.
- Samuelson, G. A. 1981. A synopsis of Hawaiian Xyleborini (Coleoptera: Scolytidae). *Pacific Insects* **23**:50-92.
- Schmidt, G. A., M. Kelley, L. Nazarenko, R. Ruedy, G. L. Russell, I. Aleinov, M. Bauer, S. E. Bauer, M. K. Bhat, R. Bleck, V. Canuto, Y.-H. Chen, Y. Cheng, T. L. Clune, A. Del Genio, R. de Fainchtein, G. Faluvegi, J. E. Hansen, R. J. Healy, N. Y. Kiang, D. Koch, A. A. Lacis, A. N. LeGrande, J. Lerner, K. K. Lo, E. E. Matthews, S. Menon, R. L. Miller, V. Oinas, A. O. Oloso, J. P. Perlwitz, M. J. Puma, W. M. Putman, D. Rind, A. Romanou, M. Sato, D. T. Shindell, S. Sun, R. A. Syed, N. Tausnev, K. Tsigaridis, N. Unger, A. Voulgarakis, M.-S. Yao, & J. Zhang. 2014. Configuration and assessment of the GISS ModelE2 contributions to the CMIP5 archive. *Journal of Advances in Modeling Earth Systems* **6**:141-184.
- Soberon, J., & A. Townsend Peterson. 2005. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics* **2**:1-10.
- South, A. 2017. *rnaturalearth*: World Map Data from Natural Earth. R package version 0.1.0.
- Spanou, K., M. Marathianou, M. Gouma, D. Dimou, L. Nikoletos, P. Milonas, & D. Papachristos. 2019. First record of black twig borer *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae) in Greece. 18th Panhellenic Entomological Congress, Komotini.

- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, & J. Hulcr. 2017. Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* **7**:10974-10986.
- Sun, Y., X. Zhang, F. W. Zwiers, L. Song, H. Wan, T. Hu, H. Yin, & G. Ren. 2014. Rapid increase in the risk of extreme summer heat in Eastern China. *Nature Climate Change* **4**:1082-1085.
- Thuiller, W., D. Georges, R. Engler, & F. Breiner. 2019. biomod2: Ensemble platform for species distribution modeling. R package version 3.3-7.1.
- van der Geest, K., A. de Sherbinin, S. Kienberger, Z. Zommers, A. Sitati, E. Roberts, & R. James. 2018. The impacts of climate change on ecosystem services and resulting losses and damages to people and society. Pages 221-236 in Mechler R., Bouwer L., Schinko T., Surminski S., & L.-B. J., editors. *Loss and Damage from Climate Change*.
- Watanabe, M., T. Suzuki, R. O'ishi, Y. Komuro, S. Watanabe, S. Emori, T. Takemura, M. Chikira, T. Ogura, M. Sekiguchi, K. Takata, D. Yamazaki, T. Yokohata, T. Nozawa, H. Hasumi, H. Tatebe, & M. Kimoto. 2010. Improved climate simulation by MIROC5: mean states, variability, and climate sensitivity. *Journal of Climate* **23**:6312-6335.
- Watanabe, S., T. Hajima, K. Sudo, T. Nagashima, T. Takemura, H. Okajima, T. Nozawa, H. Kawase, M. Abe, T. Yokohata, T. Ise, H. Sato, E. Kato, K. Takata, S. Emori, & M. Kawamiya. 2011. MIROC-ESM 2010: model description and basic results of CMIP5-20c3m experiments. *Geoscientific Model Development* **4**:845-872.
- Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wilke, C. O. 2019. cowplot: Streamlined plot theme and plot annotations for 'ggplot2'. R package version 0.9.4.
- Williams, J. E., & J. L. Blois. 2018. Range shifts in response to past and future climate change: can climate velocities and species' dispersal capabilities explain variation in mammalian range shifts? *Journal of Biogeography* **45**:2175-2189.
- Wood, S. L. 1980. New American bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) with two recently introduced species. *Great Basin Naturalist* **40**:353-358.
- Wu, T., L. Song, W. Li, Z. Wang, H. Zhang, X. Xin, Y. Zhang, Z. Li, J. Li, F. Wu, Y. Liu, F. Zhang, X. Shi, M. Chu, J. Zhang, Y. Fang, F. Wang, Y. Lu, X. Liu, M. Wei, Q. Liu, W. Zhou, M. Dong, Q. Zhao, J. Ji, L. Li, & M. Zhou. 2013. An overview of BCC climate system model development and application for climate change studies. *Journal of Meteorological Research* **28**:34-56.

Yukimoto, S., Y. Adachi, M. Hosaka, T. Sakami, H. Yoshimura, M. Hirabara, T. Y. Tanaka, E. Shindo, H. Tsujino, M. Deushi, R. Mizuta, S. Yabu, A. Obata, H. Nakano, T. Koshiro, T. Ose, & A. Kitoh. 2012. A new global climate model of the Meteorological Research Institute: MRI-CGCM3. *Journal of the Meteorological Society of Japan* **90A**:23-64.

Zeng, J., Y. Liu, H. Zhang, J. Liu, Y. Jiang, K. A. G. Wyckhuys, & K. Wu. 2020. Global warming modifies long-distance migration of an agricultural insect pest. *Journal of Pest Science* **93**:569-581.

### **Acknowledgement**

We would like to thank Giovanna Tropea, Jared Bernard, Andrew Johnson and You Li for sharing their occurrence data with us. This work was supported by the LIFE project SAMFIX (SAving Mediterranean Forests from Invasions of *Xylosandrus* beetles and associated pathogenic fungi, LIFE17 NAT/IT/000609, <https://www.lifesamfix.eu/>) which received funding from the European Union's LIFE Nature and Biodiversity programme.

### **Author contributions**

CK, MAAR and JPR designed the study. TU collected the data. TU and JPR performed the analysis and made the figures. TU wrote the original draft of the manuscript. All authors reviewed, edited and approved the final version of the manuscript.

### **Competing interest**

The authors declare no competing interests.

### Résumé en français des principaux résultats et conclusions

Sur les 126 jeux de données testés, quatorze ont été sélectionnés pour *X. compactus*.

Conformément à notre première hypothèse, les résultats prédisent qu'il existe des aires géographiques favorables où *X. compactus* n'est pas établi. C'est le cas par exemple du Chili, de l'Argentine, l'Amérique Centrale, la côte Ouest des Etats-Unis ou la majeure partie de l'Océanie. En Europe, l'insecte pourrait s'établir sur la majorité des côtes Méditerranéennes, et le long de l'Atlantique du Sud, de l'Espagne jusqu'au Royaume-Uni.

Conformément à notre seconde hypothèse, les résultats prédisent que la distribution potentielle de *X. compactus* devrait évoluer avec le changement climatique. On pourrait ainsi assister à une augmentation des aires favorables vers le Nord dans l'hémisphère Nord. Dans l'hémisphère Sud, le signal est moins clair et les aires favorables diminuent par endroits et grandissent dans d'autres. En Europe, les aires favorables pourraient s'étendre vers le Nord-Est et atteindre l'Europe Centrale, les Balkans et la Mer Noire. Dans l'hémisphère nord, aucune rétractation de la limite sud n'est attendue, les régions restant en général favorables.

Aucun des 126 jeux de données testés pour *X. crassiusculus* n'a passé la première étape de sélection. Nous avons attribué cet échec à l'existence vraisemblable de structuration génétique cryptique chez *Xylosandrus crassiusculus* que nous n'avons pas prise en compte au moment de la modélisation. En effet, d'après la littérature, *X. crassiusculus* est composé de deux clusters différenciés. Si ces deux clusters possèdent des préférences écologiques différentes, on peut s'attendre à parvenir à de meilleurs résultats en modélisant leurs aires de distribution potentielle séparément.

Pour cela, il est nécessaire de confirmer l'existence de ces deux clusters, d'assigner un cluster génétique aux occurrences disponibles et de tester si les clusters montrent des niches écologiques significativement différentes. Après ces étapes, il sera utile de recommencer la modélisation sur chaque cluster indépendamment. C'est ce que nous avons fait pour la suite de ce travail de thèse, qui sera présenté dans les deux chapitres suivants.



## CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE *X. CRASSIUSCULUS*

Ce chapitre est un manuscrit non encore soumis, qui doit donner lieu à un article en collaboration avec nos collègues américains (J. Hulcr et A. Cognato) et japonais (H. Kajimura).

**Urvois, T.**, Perrier, C., Roques, A., Sauné, L., Courtin, C., Kajimura, H., Hulcr J., Cognato A. I., Auger-Rozenberg M.-A., & Kerdelhué, C. The complex worldwide invasion history of a pest species showing strong infra-specific structure. In prep.



**Résumé en français du contexte, des objectifs de l'étude et des méthodes utilisées**

*Xylosandrus crassiusculus* est un scolyte originaire d'Asie du Sud-Est et envahissant en Afrique, en Amérique et dans les îles du Pacifique. Il a récemment colonisé l'Europe, où il a été détecté pour la première fois en Italie, avant de s'établir en France, en Espagne et en Slovénie. D'après la littérature, *X. crassiusculus* est composé de deux clusters très différenciés (Storer et al. 2017). Cependant, nous ne disposons pas de données cohérentes sur l'ensemble des continents et les distributions de ces deux clusters restent à définir.

Les objectifs de ce chapitre sont : (i) de vérifier l'existence des clusters identifiés par Storer et al. (2017), (ii) d'identifier le nombre d'événements d'invasion survenus dans chaque continent, (iii) d'identifier l'origine de ces invasions et (iv) de retracer l'histoire de l'invasion au sein de chaque continent. Nous avons fait l'hypothèse que l'invasion de *X. crassiusculus* en Europe résulte d'une introduction unique en Italie suivie de dispersion intracontinentale, avec une histoire d'invasion similaire à celle de *X. compactus* présentée dans le chapitre 2. Dans une démarche analogue, nous avons utilisé les deux types de marqueurs complémentaires déjà employés pour *X. compactus* : un marqueur mitochondrial (fragment barcode) et des marqueurs pangénomiques obtenus par RAD-sequencing (Restriction-site Associated DNA sequencing).

Nous avons échantillonné des individus de 64 localités au total : 31 localités distribuées dans 6 pays de l'aire native de *X. crassiusculus* et 33 localités de son aire envahie, réparties sur 3 continents et 8 pays. Afin d'éviter les contaminations par des champignons, préalablement aux extractions d'ADN, nous avons retiré le mycélium des individus qui ont également été nettoyés pour enlever les éventuelles spores.

Nous avons séquencé le fragment barcode mitochondrial de 188 individus, et avons ajouté à l'alignement final 32 séquences disponibles sur Genbank. Nous avons calculé les distances génétiques K2P entre les haplotypes, ainsi que les diversités haplotypiques et nucléotidiques. Les phylogénies entre haplotypes ont été reconstruites par la méthode du Maximum de Vraisemblance et par inférence Bayésienne, et un réseau d'haplotypes de type median-joining a été construit.

Pour l'approche RAD-seq, la quantité d'ADN obtenue pour chaque individu étant trop faible, nous avons amplifié le génome des 206 individus utilisés dans l'expérience avant de construire les bibliothèques. Comme pour *X. compactus*, nous avons utilisé l'enzyme de restriction *PstI* pour ce protocole. L'analyse des données a été effectuée avec les pipelines *RADIS* et *STACKS*, en testant plusieurs valeurs des paramètres *M*, *n* et *r* afin de vérifier la robustesse des résultats. Les séquences du champignon symbiotique, *Ambrosiella roeperi*, ont été filtrées. Nous avons utilisé *Admixture* pour estimer le nombre de populations ancestrales et l'appartenance des individus à celles-ci. De plus, outre la construction d'un arbre basé sur le Maximum de Vraisemblance et d'un arbre basé sur une méthode de clustering, nous avons calculé les *F<sub>st</sub>* et distances génétiques entre les groupes identifiés par les méthodes citées précédemment. Ces étapes ont également été réalisées sur les séquences du champignon symbiotique que nous avons filtrées.

# **The complex worldwide invasion history of a pest species showing strong infra-specific structure**

T. Urvois<sup>1,2</sup>, C. Perrier<sup>2</sup>, A. Roques<sup>1</sup>, L. Sauné<sup>2</sup>, C. Courtin<sup>1</sup>, H. Kajimura<sup>3</sup>, J. Hulcr<sup>4,5</sup>, A. Cognato<sup>6</sup>, M.-A. Auger-Rozenberg<sup>1</sup>, C. Kerdelhué<sup>2</sup>

<sup>1</sup> INRAE, URZF, 45075 Orleans, France

<sup>2</sup> UMR CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Institut Agro, Université Montpellier, Montpellier, France

<sup>3</sup> Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Nagoya, Japan

<sup>4</sup> School of Forest, Fisheries, and Geomatics Sciences, University of Florida, Gainesville, FL, USA

<sup>5</sup> Department of Entomology and Nematology, University of Florida, Gainesville, FL, USA

<sup>6</sup> Department of Entomology, Michigan State University, East Lansing, MI, USA

## **Keywords**

Bioinvasion, Invasion route, *Xylosandrus crassiusculus*, Granulate ambrosia beetle, Genetic clusters, COI, RAD sequencing

## **INTRODUCTION**

The number of biological invasions has increased in the last decades with no sign of saturation (Seebens et al. 2017, Sardain et al. 2019). Invasions are known to have harmful effects on native biodiversity and ecosystems (Kenis et al. 2008, Simberloff et al. 2013) as well as on anthropized ecosystems (Paini et al. 2016) and human health (Jones & McDermott 2017). Invasion scenarios are diverse, ranging from a single introduction to multiple introductions from multiple localities, and influence the invasive populations' establishment and invasion successes and shape their genetic structure. Indeed, invasions often stem from the introduction of a limited number of specimens and genotypes, which may result in high inbreeding and is expected to have detrimental effects on introduced populations. Retracing invasion routes is crucial to prevent further introductions as it allows identifying both their sources and points of entry. The most effective way to retrace invasive species' invasion history is to study their worldwide genetic structure (Estoup & Guillemaud 2010).

As explained in Chapter 2, *Xylosandrus* is a remarkably successful genus of invasive species thanks to their biology and ecology (i.e. symbiotic fungi, minute size, haplodiploidy, predominantly sib-mating, ability to attack seemingly healthy trees), with four species invasive worldwide, namely *X. compactus*, *X. crassiusculus*, *X. germanus* and *X. morigerus*. The worldwide patterns of invasion of the three former species have been studied and showed dramatic differences despite their similar ecology, with *X. compactus* having the most straightforward invasion history and *X. crassiusculus* the most complex.

Several studies focused on *X. crassiusculus*' genetics and phylogeography. Yet, the complete picture remains unclear as the authors used different genetic markers, focused on different areas, and did not include Europe. Ito and Kajimura (2009b) studied *X. crassiusculus*' genetic structure in Japan using the second half of the cytochrome oxidase I mitochondrial gene and identified 3 distinct lineages that they named A, B and C. They did not include any invasive population. Storer et al. (2017) later analyzed *X. crassiusculus*' genetic structure worldwide, except Europe and South America, using genomic data (ddRADseq), and identified two highly differentiated Clusters. They found Cluster 1 in the native area in mainland China, Thailand and Taiwan, and stated that it invaded Central America and North America, the high structuration in the populations of North America suggesting it was invaded several times or by a large number of specimens. Cluster 2 was found in Japan only and invaded Africa and Oceania, while Hawaii was invaded by both Clusters. As they did not use any mitochondrial marker, no link could be established between the lineages identified in Japan by Ito and Kajimura (2009), and the clusters defined by Storer and collaborators. Landi et al. (2017) sequenced the barcode fragment of a specimen from Argentina and obtained the same haplotype as specimens sampled in the USA. Still, they could not conclude on the source of the invasion in South America. Finally, Nel et al. (2020) sequenced the barcode fragment of several specimens from South Africa and found two distinct highly divergent haplotypes. Again, these haplotypes could not be placed in any of the lineages identified in Japan nor in the clusters defined from ddRADseq data of Storer et al. (2017).

This study aimed to characterize *Xylosandrus crassiusculus*' genetic structure and to decipher its invasion history worldwide, with a special focus on Europe, the most recently invaded continent. We used both mitochondrial and nuclear markers, as they can provide complementary information (Toews & Brelsford 2012) and will ultimately allow to interpret the results obtained from the previous studies mentioned above. This study's first goal was to compare the genetic structure obtained using mitochondrial and nuclear markers and determine whether they displayed consistent patterns, such as the highly differentiated clusters identified

by Storer et al. (2017) or the three mitochondrial lineages observed by Ito and Kajimura (2009b). The second goal was to identify the origin(s) of the invasive populations on each invaded continent and determine whether they were invaded on one or several occasions. Finally, we aimed at deciphering the invasion history within the invaded continents. The last two objectives were critical as knowing *X. crassiusculus* pathways could help limit future introduction events and improve the early detection chances.

## MATERIAL & METHODS

### INSECT SAMPLING

We collected *Xylosandrus crassiusculus* females from 64 localities (Table 1), 31 localities over 6 countries in its native range and 33 localities in 8 countries distributed on 3 continents in its invaded range. While *X. crassiusculus* is often described as native from Eastern and Southeastern Asia (Ito & Kajimura 2009b, Ranger et al. 2016, Gallego et al. 2017), the precise boundaries of its native range are unknown. We thus decided to consider all Asian localities and Papua New Guinea as part of *X. crassiusculus* native area. The insects were either collected directly from the host tree or using traps baited with ethanol or more specific attractants (Roques et al., in prep), or obtained from collections. Whenever possible, insects from each location were caught from different trees and traps and at different dates to minimize inter-individual relatedness within each location. Individuals were stored in 96% ethanol and at -18°C until DNA extraction.

### DNA EXTRACTION

To reduce potential fungal contamination, specimens first had their mycangia removed, were washed with 70% alcohol and were cleaned with a paintbrush. DNA was then individually extracted using the Macherey-Nagel NucleoSpin Tissue kit following the manufacturer's instructions, with two successive elutions in 50 µL BE buffer and then stored at -18°C.

### MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCING AND STATISTICAL ANALYSES

We sequenced 188 specimens, 72 from the native area and 116 from the invaded range (Table 1), using between one and 16 insects per location. Specimens obtained from Japan originated

from the same populations as in Ito and Kajimura (2009) DNA sequencing and sequence alignment were performed as explained in Urvois et al. (2022). All sequences were trimmed at 567 bp. We completed the alignment with all of the barcode COI sequences publicly available from Genbank and for which location information was available, i.e., 32 sequences from 24 localities in 11 countries, including sequences from Cognato et al. (2020) (MN620070.1 to MN620078.1), Dole et al. (2010) (GU808708.1, GU808709.1, GU808710.1, GU808711.1), Ramage et al. (2017) (KX055192.1 to KX055198.1), Landi et al. (2017) (KX685266.1), Sire et al. (2019) (MN182983.1, MN183016.1) and Nel (2020) (MT230099.1, MT230101.1, MT230103.1, MT230104.1). The final alignment thus included 220 individuals.

The mitochondrial DNA statistical analyses were performed as in Urvois et al. (2022) with the following modifications: the outgroups used to perform the phylogenies were *Xylosandrus germanus* and *X. morigerus* (accession numbers NC\_036280.1 and NC\_036283.1, respectively); lineage and haplogroup maps were performed using the R packages maps (Becker et al. 2018), ggplot2 (Wickham 2016) and scatterpie (Guangchuang 2020).

### RAD SEQUENCING AND BIOINFORMATICS

We sequenced between 1 and 7 insects per location for a total of 206 specimens, 81 from the native area and 125 from the invaded range (Table 1). We followed the same procedure as in Urvois et al. (2022). We constructed 7 libraries pooling each time 32 specimens (some specimens were not used in the analysis due to their poor quality). The libraries were pooled altogether at an equimolar ratio and sent to MGX-Montpellier GenomiX for sequencing. The library was verified on a Fragment Analyzer (Agilent, HS NGS fragment Kit), quantified by qPCR (Kapa Library quantification kit) and sequenced on two SP lanes in paired-end 2x150 nt mode on a Novaseq6000 (Illumina) according to the manufacturer's instructions.

We used the RADIS pipeline (Cruaud et al. 2016) to demultiplex individuals using process\_radtags (Catchen et al. 2013) and to remove a few low-quality bases at the 3'-ends by trimming all reads at 139 bp. We obtained on average 7,162,285 (2,534,799 SD) reads per specimen after demultiplexing. We then removed PCR duplicates using clone\_filter (Catchen et al. 2013), decreasing the number of reads per individual to 2,323,533 (801,285 SD). To remove potential human contaminations, we aligned the remaining reads on the reference genome GRCh38.p13 of *Homo sapiens* (accession number: GCA\_000001405.28) using the BWA-MEM algorithm (Li & Durbin 2009) and removed the mapping reads, thereby keeping 2,220,459 (785,925 SD) reads per specimen.

The following steps were performed using STACKS (Catchen et al. 2013, Rochette et al. 2019) on the Genotoul Bioinformatics Platform (INRAE, Toulouse, France). We ran a pre-analysis on 20 specimens selected to encompass a maximum of genomic diversity to assess the effect of 9 combinations of M and n parameters in STACKS modules: M = 6, 8 and 10 in ustacks (i.e. the maximum distance allowed between stacks) and n = 4, 6 and 8 in cstacks (i.e. the number of mismatches allowed between sample loci when building the catalogue). To remove potential fungal contaminations, we then aligned the obtained loci on the *Ambrosiella xylebori*'s reference genome (Vanderpool et al. 2018), as it was the closest complete reference genome available to *X. crassiusculus*' symbiotic fungus (accession number: ASM277803v1). We used the BWA-MEM algorithm (Li & Durbin 2009) to create a loci blacklist that we used to filter the fungus' reads in STACKS' *populations* module. Between 0.14% and 0.16% of the sequences mapped on the *Ambrosiella xylebori*'s genome depending on the combinations of the parameters M and n, and were thus blacklisted. In STACKS' *populations* module, we used three possible filtering values for parameter r (the minimum percentage of individuals required to process a locus, here with one population), r = 0, 0.3 and 0.7, respectively. We excluded loci obtained with a mean read depth lower than 8 using VCFtools (Danecek et al. 2011) to test the effect of depth filtering. We compared the number of SNPs and the individual mean depth, homozygosity and missing data for each M, n and r combination. We also performed clustering with SNPrelate (Zheng et al. 2012) for the different combinations and used the dendextend R package (Galili 2015) to untangle the obtained dendrograms using the "step1side" method and calculate their entanglement using the entanglement function. The combination of the parameters M and n had limited effects on our results. For a given r, each parameter combination of M and n yielded similar numbers of SNPs (Supplementary Table 1), individual mean depth, homozygosity and missing data (Supplementary Figures S1, S2 & S3), and tree topologies were identical for every parameters combination (Supplementary Figures S4 & S5). Following this pre-analysis, we launched the analysis of the complete dataset, using M = 6, n = 4, and r = 0.8, excluding loci matching *X. crassiusculus*' symbiotic fungi, and removing loci with a mean depth lower than 8. This M and n parameter set corresponded to the parameters used for *X. compactus* in Urvois et al. (2022). We finally obtained 83,055 SNPs.

## RAD SNP STATISTICAL ANALYSIS

We estimated the specimens' relative ancestry using Admixture (Alexander et al. 2009), with a putative number of populations, K, ranging from 2 to 20 with a 100-fold cross-validation to

assess the best K. We then used the pong 1.4.9 software (Behr et al. 2016) to estimate the major mode (using a greedy approach with 300 runs and a similarity threshold value of 0.95) and we plotted and mapped the results using the ggplot2 package (Wickham 2016) in the R Software (R Core Team 2018). A Maximum Likelihood tree was generated using RAxML 8.2.21 (Stamatakis 2014). We used the GTRCAT approximation and allowed the program to automatically halt bootstrapping using the bootstrap converge criterion (Pattengale et al. 2010) through the autoMRE option. The tree was visualized using FigTree V.1.4.4 (<https://github.com/rambaut/figtree/releases>). Besides, a hierarchical clustering tree was built using SNPRelate (Zheng et al. 2012) on an individual dissimilarity matrix (Zheng 2013). We also calculated the pairwise  $F_{st}$  (Wright 1951, Weir & Cockerham 1984) and Nei distances (Nei 1972) between the different genomic groups obtained with Admixture using the StAMPP package (Pembleton et al. 2013).

## RESULTS

### MITOCHONDRIAL DIVERSITY AND DIFFERENTIATION

We obtained 50 mitochondrial haplotypes worldwide (Table 1, Figure 1), with 139 variable sites out of 567 bp. Haplotype and nucleotide diversities were 0.954 and 0.074 in the native area and 0.787 and 0.043 in the invaded area, respectively. We found 42 haplotypes in *X. crassiusculus*' native area, including 16 in Japan, 12 in Vietnam, 11 in China, three in Papua New Guinea, two in Taiwan and one in India, Indonesia and Thailand. We found 12 haplotypes in *X. crassiusculus*' invasive range, including five in Hawaii, four in mainland USA, three in mainland France, two in American Samoa, French Guiana, French Polynesia, South Africa and Slovenia, and one in Argentina, Canada, Italy, Madagascar, New Zealand, Panama and Spain. Three haplotypes were present in more than four localities (A02, A10 and D02, Figure 1), whereas 37 haplotypes were only found in one locality. Four haplotypes were found both in the native and invasive areas (Table 1, Figure 1). Haplotype A02 was the most widespread haplotype and was found in 26 localities in 8 countries (Japan and Papua New Guinea in the native range, and Argentina, Canada, Italy, New Zealand, Spain and the USA in the invasive area). Haplotype D02 was identified in 12 localities in six countries (Indonesia, Japan and Papua New Guinea in the native area, and Madagascar, France and the Pacific Islands of the USA in the invasive area). Haplotype A10 was found in 14 localities in four countries (China, France, Slovenia and the

USA), and haplotype A07 was found in two localities in Japan and the USA. The median-joining networks showed that 5 (A01, A03, A08, D03 and D04) haplotypes exclusive to the invasive range had a single mutational step difference from haplotypes found in the native range (Supplementary Figures S6 & S7). The haplotype A11 was the closest from the three remaining invasive haplotypes A05, A06, and A09 with 3, 4 and 7 mutational steps, respectively.

The Maximum-Likelihood and the Bayesian inference trees suggested that haplotypes can be grouped in two differentiated Clusters (Figure 2, Supplementary Figures S8 & S9), with average K2P genetic distances within Clusters of 0.054 (0.032 SD) and between Clusters of 0.118 (0.008 SD) (Supplementary Table 2). Both Clusters were further structured into 5 lineages, Cluster 1 including the lineages D and E, while Cluster 2 included lineages A, B and C (Table 1, Figures 3, Supplementary Figure S8). The distances within lineages were lower than 0.048 (mean 0.020) (Table 1) and between lineages higher than 0.071 (mean 0.103) (Table 2). Lineage A comprised 12 haplotypes and was present in the native area in China, Japan, Papua New Guinea, and in the invaded area in France, Italy, Slovenia, Spain, Argentina, New Zealand, Canada, mainland USA and Hawaii (Figure 3). Lineages B and C were exclusively found in Japan and consisted of 7 and 6 haplotypes, respectively. Lineage D comprised 10 haplotypes and was found in the native area in China, India, Indonesia, Japan, Papua New Guinea, Thailand, Vietnam, and in the invaded area in Madagascar, Panama, French Polynesia, Hawaii, American Samoa and French Guiana. Finally, lineage E consisted of 15 haplotypes and was found exclusively in *X. crassiusculus*' native area in China, Taiwan and Vietnam. The Maximum-Likelihood tree reached high support ( $>0.50$ ) for most nodes except for some nodes within lineage A and within lineage E (Figure 2). On the other hand, the Bayesian inference tree had a lower resolution and had low support for the separation between lineages A and B (Posterior Probability = 0.78) but high support for lineages C, D, and E (Supplementary Figure S9).

# CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE X. CRASSIUSCULUS

**Table 1: Summary of the localities sampled and specimens used in the COI and RAD sequencing analyses. UFFE is short for University of Florida's Forest Entomology Laboratory and uffeID represents the sample's unique identifier in the UFFE collection database. PACA is short for the French region Provence-Alpes-Côtes d'Azur.**

| Range  | Sender (Genbank/accession number/uffeID) | Country    | State/Province/Region | Locality               | Latitude | Longitude | No. in COI analysis (haplotype) | Haplotype diversity | Nucleotide diversity | Mitochondrial cluster | No. In RAD analysis |
|--------|------------------------------------------|------------|-----------------------|------------------------|----------|-----------|---------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|
| Africa | Genbank (GU808709.1)                     | Madagascar | -                     | -                      | -        | -         | 1 (D02)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | UFFE (19842)                             | China      | Fujian                | Gushan                 | 26.077   | 119.379   | 1 (A04)                         | -                   | -                    | 2                     | 1                   |
| Asia   | UFFE (19847)                             | China      | Fujian                | Nanan                  | 24.954   | 118.351   | 1 (E09)                         | -                   | -                    | 1                     | 1                   |
| Asia   | UFFE (19844)                             | China      | Fujian                | Qishan                 | 24.802   | 118.554   | 1 (E02)                         | -                   | -                    | 1                     | 1                   |
| Asia   | UFFE (19848, 19851)                      | China      | Guangxi               | Shiwandashan           | 21.908   | 107.909   | 2 (A11, E06)                    | 1                   | 0.1093               | 1, 2                  | 3                   |
| Asia   | UFFE (19722)                             | China      | Hainan                | Hainan                 | 19.566   | 109.95    | 5 (E01, E09)                    | 0.4                 | 0.0113               | 1                     | 6                   |
| Asia   | Genbank (MN620075.1)                     | China      | Hong Kong             | Hong Kong              | 22.365   | 114.155   | 1 (E06)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | UFFE (19878)                             | China      | Hong Kong             | Kadoorie Farm          | 22.433   | 114.117   | 1 (E06)                         | -                   | -                    | 1                     | 1                   |
| Asia   | UFFE (19877)                             | China      | Hong Kong             | Tai Po Kau             | 22.423   | 114.183   | 3 (E06)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 7                   |
| Asia   | INRAE team                               | China      | Hubei                 | Wuhan                  | 30.544   | 114.306   | 4 (A11, A12)                    | 0.5                 | 0.0044               | 2                     | -                   |
| Asia   | INRAE team                               | China      | Jiangxi               | Xiangshan              | 27.554   | 116.039   | 1 (E03)                         | -                   | -                    | 1                     | 1                   |
| Asia   | Genbank (MN620076.1)                     | China      | Shanghai              | Shanghai               | 31.117   | 121.485   | 1 (A10)                         | -                   | -                    | 2                     | -                   |
| Asia   | Anthony Cognato                          | China      | Yunnan                | -                      | 24.462   | 101.903   | 2 (D06, D07)                    | 1                   | 0.0018               | 1                     | 5                   |
| Asia   | Genbank (MN620071.1)                     | India      | Uttarakhand           | Dehra Dun              | 30.34    | 78.008    | 1 (D01)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | UFFE (7942)                              | Indonesia  | East Java             | Bangunrejo             | -5.109   | 105.056   | 2 (D02)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 5                   |
| Asia   | UFFE (7954)                              | Indonesia  | East Java             | Blawan                 | -7.978   | 114.189   | 2 (D02)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 5                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Central Ryukyu        | Amami                  | 28.403   | 129.487   | 2 (A02, C04)                    | 1                   | 0.0705               | 2                     | 1                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Central Ryukyu        | Naha                   | 26.183   | 127.683   | 3 (A07, C05, C06)               | 1                   | 0.0470               | 2                     | 3                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Chubu                 | Chiisagata-gun         | 36.533   | 138.35    | 2 (B06, B07)                    | 1                   | 0.0018               | 2                     | 2                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Chuugoku, San'in      | Tottori                | 35.493   | 134.199   | 2 (A02)                         | 0                   | 0                    | 2                     | 2                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Chuugoku, San'yo      | Miyoshi                | 34.783   | 132.85    | 2 (A02, B02)                    | 1                   | 0.0705               | 2                     | 2                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Hokkaido              | Sapporo                | 43       | 141.383   | 2 (B03, B05)                    | 1                   | 0.0053               | 2                     | 2                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Miyazaki              | Kobayashi              | 32.06    | 130.59    | -                               | -                   | -                    | -                     | 1                   |
| Asia   | Genbank (MN620077.1)                     | Japan      | Okinawa               | -                      | 26.345   | 127.801   | 1 (D02)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Shikoku               | Hata-gun               | 33.2     | 133.033   | 2 (B01, B02)                    | 1                   | 0.0035               | 2                     | 3                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Southern Ryukyu       | Ishigaki               | 24.333   | 124.167   | 3 (C01, C02, C03)               | 1                   | 0.0035               | 2                     | 3                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Tohoku                | Tsuruoka               | 38.65    | 139.817   | 3 (B04, B05)                    | 0.667               | 0.0012               | 2                     | 2                   |
| Asia   | Hisashi Kajimura                         | Japan      | Tokai                 | Shizuoka               | 34.983   | 138.467   | 2 (A02)                         | 0                   | 0                    | 2                     | 2                   |
| Asia   | UFFE (8515, 8520)                        | Taiwan     | Miaoли                | Dayueshan              | 24.332   | 121.119   | 2 (E03)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 3                   |
| Asia   | Genbank (MN620074.1)                     | Taiwan     | Taiwan                | -                      | 24.378   | 121.035   | 1 (E10)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Genbank (GU808708.1)                     | Thailand   | -                     | -                      | -        | -         | 1 (D05)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Anthony Cognato                          | Vietnam    | Cao Bang              | -                      | 22.662   | 106.249   | 2 (E07, E12)                    | 1                   | 0.0071               | 1                     | 2                   |
| Asia   | Genbank (MN620070.1)                     | Vietnam    | Cao Bang              | -                      | 22.662   | 106.249   | 1 (E11)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Anthony Cognato                          | Vietnam    | Dong Nai              | Cát Tiên Nat. Park     | 11.425   | 107.428   | 2 (D09)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 5                   |
| Asia   | Genbank (MN620073.1)                     | Vietnam    | Dong Nai              | Cát Tiên National Park | 11.425   | 107.428   | 1 (D08)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Anthony Cognato                          | Vietnam    | Ninh Binh             | -                      | 20.245   | 105.904   | 1 (E15)                         | -                   | -                    | 1                     | 4                   |
| Asia   | Genbank (MN620078.1)                     | Vietnam    | Ninh Binh             | -                      | 20.245   | 105.904   | 1 (E08)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |
| Asia   | Anthony Cognato                          | Vietnam    | Thừa Thiên Huế        | -                      | 16.229   | 107.853   | 2 (E09)                         | 0                   | 0                    | 1                     | 3                   |
| Asia   | Genbank (MN620072.1)                     | Vietnam    | Thừa Thiên Huế        | -                      | 16.229   | 107.853   | 1 (E09)                         | -                   | -                    | 1                     | -                   |

|                 |                                  |                  |                           |                                 |        |         |                         |       |        |      |   |
|-----------------|----------------------------------|------------------|---------------------------|---------------------------------|--------|---------|-------------------------|-------|--------|------|---|
| Asia            | UFFE (14645)                     | Vietnam          | Vĩnh Phúc                 | Tam Dao                         | 21.453 | 105.598 | 15 (E04, E05, E13, E14) | 0.467 | 0.0041 | 1    | 5 |
| Central America | Jhuniar Morillo                  | Costa-Rica       | Puntarenas                | Osa Peninsula                   | 8.558  | -83.464 | -                       | -     | -      | -    | 1 |
| Central America | Genbank (KX035196.1)             | Panama           | -                         | -                               | -      | -       | 2 (D04)                 | 0     | 0      | 1    | - |
| Central America | Anthony Cognato                  | Panama           | -                         | Barro Colorado Island           | 9.151  | -79.847 | 2 (D04)                 | 0     | 0      | 1    | 5 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | Nouvelle-Aquitaine        | Bayonne                         | 43.49  | -1.481  | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | - |
| Europe          | INRAE team                       | France           | Nouvelle-Aquitaine        | Saint Jean de Luz               | 43.388 | -1.629  | 2 (A03)                 | 0     | 0      | 2    | 2 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | Nouvelle-Aquitaine        | Saint Maurice sur Adour         | 43.791 | -0.469  | 2 (A03)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | Occitanie                 | Gignac                          | 43.651 | 3.556   | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | 1 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Cap d'Ail                       | 43.728 | 7.402   | 5 (A10)                 | 0     | 0      | 2    | 3 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Cap Ferrat                      | 43.676 | 7.33    | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | 2 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Menton                          | 43.808 | 7.481   | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | 1 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Mont Boron                      | 43.696 | 7.3     | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | 4 |
| Europe          | Genbank (MN182983.1, MN183016.1) | France           | PACA                      | Nice                            | 43.696 | 7.268   | 2 (A10)                 | 0     | 0      | 2    | - |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Nice Albert 1er                 | 43.696 | 7.268   | 2 (A10)                 | 0     | 0      | 2    | 2 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Nice Vallée du Var              | 43.798 | 7.138   | 1 (A10)                 | -     | -      | 2    | 1 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Sainte-Marguerite               | 43.52  | 7.049   | 3 (A10)                 | 0     | 0      | 2    | 3 |
| Europe          | INRAE team                       | France           | PACA                      | Villa Thuret                    | 43.564 | 7.125   | 7 (A10)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Europe          | INRAE team                       | Italy            | Latina                    | Parco Monti Aurunci             | 41.347 | 13.583  | 3 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Europe          | INRAE team                       | Italy            | Latina                    | Parco Riviera di Ulisse         | 41.212 | 13.577  | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 2 |
| Europe          | INRAE team                       | Italy            | Latina                    | Sabaudia                        | 41.297 | 13.047  | 3 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Europe          | Andreja Kavčič                   | Slovenia         | Littoral                  | Podsabotin                      | 45.989 | 13.609  | 16 (A09, A10)           | 0.233 | 0.0025 | 2    | 5 |
| Europe          | Diego Gallego                    | Spain            | Valencia                  | El Tello                        | 39.305 | -0.549  | 12 (A02)                | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Europe          | Diego Gallego                    | Spain            | Valencia                  | Naquera                         | 39.662 | -0.434  | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| North America   | Genbank (MF637141.1)             | Canada           | Ontario                   | Point Pelee National Park       | 41.963 | -82.521 | 1 (A02)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | Genbank (BBCCA4264-12)           | USA              | Arkansas                  | Toad Suck Park                  | 35.077 | -92.545 | 1 (A02)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | Genbank (BBCCA4147-12C)          | USA              | Florida                   | Collier Seminole State Park     | 25.992 | -81.592 | 1 (A06)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | Genbank (GU808710.1)             | USA              | Maryland                  | -                               | -      | -       | 1 (A02)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | Jhuniar Morillo                  | USA              | New-York                  | Long Island                     | 40.888 | -73.202 | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 2 |
| North America   | Anthony Cognato                  | USA              | New-York                  | Smithtown                       | 40.848 | -73.224 | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 2 |
| North America   | Genbank (GU808711.1)             | USA              | North Carolina            | -                               | -      | -       | 1 (A02)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | UFFE (20193)                     | USA              | North Carolina            | Cherokee                        | 35.477 | -83.32  | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| North America   | Steve Frank                      | USA              | North Carolina            | Raleigh                         | 35.814 | -78.64  | 4 (A02, A07)            | 0.5   | 0.0071 | 2    | 3 |
| North America   | UFFE (20230)                     | USA              | Tennessee                 | Cosby                           | 35.817 | -83.248 | 2 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| North America   | Genbank (GMGSC323-12)            | USA              | Tennessee                 | Great Smoky Mountains Nat. Park | 35.621 | -83.499 | 1 (A02)                 | -     | -      | 2    | - |
| North America   | Anthony Cognato                  | USA              | Texas                     | Tomball                         | 30.103 | -95.654 | 2 (A02, A08)            | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Oceania         | Ben Boyd                         | New Zealand      | Auckland                  | Auckland                        | -36.78 | 174.706 | 4 (A02)                 | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Oceania         | UFFE (19876)                     | Papua New Guinea | Eastern Highland Province | Kugofanka                       | -6.492 | 145.664 | 4 (A02, D02)            | 0.5   | 0.0547 | 1, 2 | 5 |

# CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE X. CRASSIUSCULUS

|                |                                              |                  |                      |                      |         |          |                   |       |        |      |   |
|----------------|----------------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|---------|----------|-------------------|-------|--------|------|---|
| Oceania        | UFFE (19863, 19864, 19865, 19866, 19867)     | Papua New Guinea | Madang               | Ohu                  | -5.259  | 145.675  | 2 (D10)           | 0     | 0      | 1    | 5 |
| Pacific Island | Genbank (KX055193.1, KX055195.1, KX055196.1) | France           | French Polynesia     | Mont Marau           | -17.617 | -149.534 | 3 (D02)           | 0     | 0      | 1    | - |
| Pacific Island | Genbank (KX055198.1)                         | France           | French Polynesia     | Moorea Island        | -17.539 | -149.831 | 1 (D02)           | -     | -      | 1    | - |
| Pacific Island | Genbank (KX055192.1)                         | France           | French Polynesia     | Motu Tiahura         | -17.487 | -149.912 | 1 (D02)           | -     | -      | 1    | - |
| Pacific Island | Genbank (KX055197.1)                         | France           | French Polynesia     | Tahiti Island        | -17.671 | -149.409 | 1 (D02)           | -     | -      | 1    | - |
| Pacific Island | Jared Bernard                                | USA              | Hawaii               | Manoa Valley         | 21.316  | -157.804 | 4 (A01, A02, D02) | 0.833 | 0.0738 | 1, 2 | 5 |
| Pacific Island | Jared Bernard                                | USA              | Hawaii               | Moloka'a Bay         | 22.198  | -159.334 | 4 (A02, A10)      | 0.667 | 0.0129 | 2    | 4 |
| Pacific Island | Jared Bernard                                | USA              | Hawaii               | Poamoho Ridge        | 21.52   | -158.042 | 3 (A05, D02)      | 0.667 | 0.0670 | 1, 2 | 2 |
| Pacific Island | Anthony Cognato                              | USA              | Hawaii               | Vulcano Nat. Park    | 19.405  | -155.225 | 2 (A02)           | 0     | 0      | 2    | 5 |
| Pacific Island | UFFE (17525, 17526)                          | USA              | Samoa                | Leone                | -14.338 | -170.781 | 8 (D02, D03)      | 0.25  | 0.0004 | 1    | 5 |
| South America  | Genbank (KX685266.1)                         | Argentina        | -                    | -                    | -34.416 | -58.561  | 1 (A02)           | -     | -      | 2    | - |
| South America  | UFFE (19874)                                 | France           | French Guiana        | Carrefour de Gallion | 4.824   | -52.487  | 4 (D03)           | 0     | 0      | 1    | 5 |
| Africa         | From Storer et al. 2017                      | Cameroon         | Fako                 | Limbe                | 4.018   | 9.179    | -                 | -     | -      | 1    | - |
| Africa         | From Storer et al. 2017                      | Ghana            | Western Region       | Ankasa               | 5.213   | -2.651   | -                 | -     | -      | 1    | - |
| Africa         | From Storer et al. 2017                      | Madagascar       | Vatovavy-Fitovinany  | Ranomafana           | -21.252 | 47.451   | -                 | -     | -      | 1    | - |
| Africa         | From Nel et al. 2020                         | South Africa     | KwaZulu-Natal        | -                    | NA      | NA       | -                 | -     | -      | 1    | - |
| Africa         | From Nel et al. 2020                         | South Africa     | Limpopo              | Tzaneen              | -23.708 | 30.099   | 3 (A06)           | 0     | 0      | 2    | - |
| Africa         | From Nel et al. 2020                         | South Africa     | Northern Cape        | -                    | NA      | NA       | 1 (D04)           | -     | -      | 1    | - |
| Asia           | From Storer et al. 2017                      | China            | Yunnan               | Xishuangbanna        | 21.982  | 100.701  | -                 | -     | -      | 1    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Central Ryukyu       | Amami                | 28.4    | 129.5    | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Central Ryukyu       | Naha                 | 26.183  | 127.683  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Storer et al. 2017                      | Japan            | Chubu                | Aichi                | 35.045  | 137.224  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Chubu                | Chi'isagata-gun      | 36.533  | 138.35   | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Chubu                | Shimominochi-gun     | 37      | 138.533  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Chubu                | Shiojiri             | 36.15   | 138      | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Chuugoku, San'in     | Tottori              | 35.4    | 134.2    | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Chuugoku, San'yo     | Miyoshi              | 34.783  | 132.85   | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Hokkaido             | Sapporo              | 43      | 141.383  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Hokuriku             | Nakashinkawa-gun     | 36.6    | 137.333  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kanto                | Chichibu             | 35.917  | 138.833  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kanto                | Kamogawa             | 35.133  | 140.15   | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kinki                | Maizuru              | 35.533  | 135.383  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kinki                | Nantan               | 35.267  | 135.167  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kinki, Kii Peninsula | Isshi-gun            | 34.6    | 136.35   | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kinki, Kii Peninsula | Tanabe               | 33.7    | 135.55   | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Kyushu               | Kobayashi            | 32.1    | 130.983  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Shikoku              | Hata-gun             | 33.2    | 133.033  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Storer et al. 2017                      | Japan            | Southern Ryukyu      | Iriomote             | 24.339  | 123.821  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Southern Ryukyu      | Ishigaki             | 24.333  | 124.167  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Tohoku               | Iwate-gun            | 39.883  | 141.167  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Tohoku               | Tsuruoka             | 38.65   | 139.817  | -                 | -     | -      | 2    | - |
| Asia           | From Ito & Kajimura 2009                     | Japan            | Tokai                | Shizuoka             | 34.983  | 138.467  | -                 | -     | -      | 2    | - |

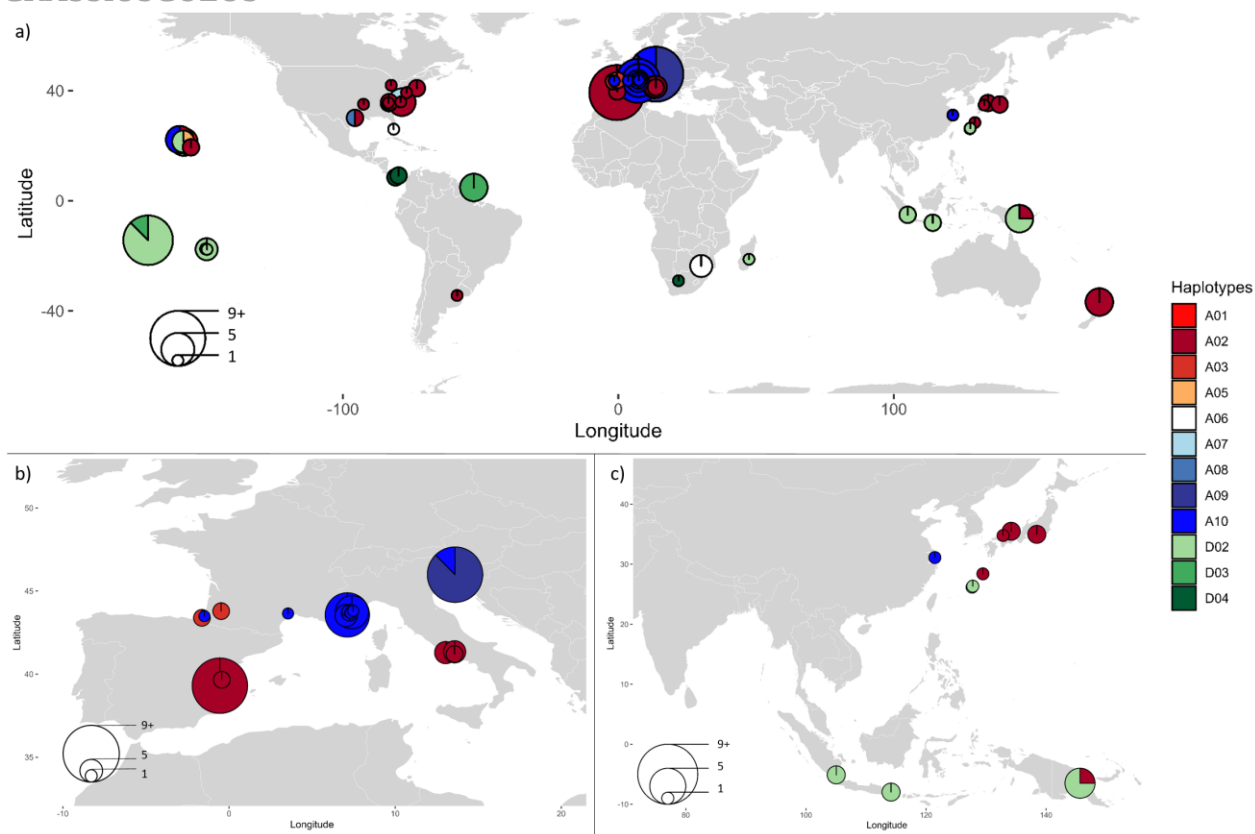
|                 |                          |                  |           |         |        |         |   |   |   |      |   |
|-----------------|--------------------------|------------------|-----------|---------|--------|---------|---|---|---|------|---|
| Asia            | From Ito & Kajimura 2009 | Japan            | Tokai     | Toyota  | 35.2   | 137.567 | - | - | - | 2    | - |
| Asia            | From Storer et al. 2017  | Taiwan           | Taichung  | Dali    | 24.084 | 120.728 | - | - | - | 1, 2 | - |
| Asia            | From Storer et al. 2017  | Thailand         | Chang Mai | Doi Pui | 18.807 | 98.916  | - | - | - | 1    | - |
| Central America | From Storer et al. 2017  | Honduras         | Atlantida | -       | 15.692 | -87.073 | - | - | - | 2    | - |
| Oceania         | From Storer et al. 2017  | Papua New Guinea | Madang    | Madang  | -5.223 | 145.776 | - | - | - | 1    | - |

Table 1 (Continued)

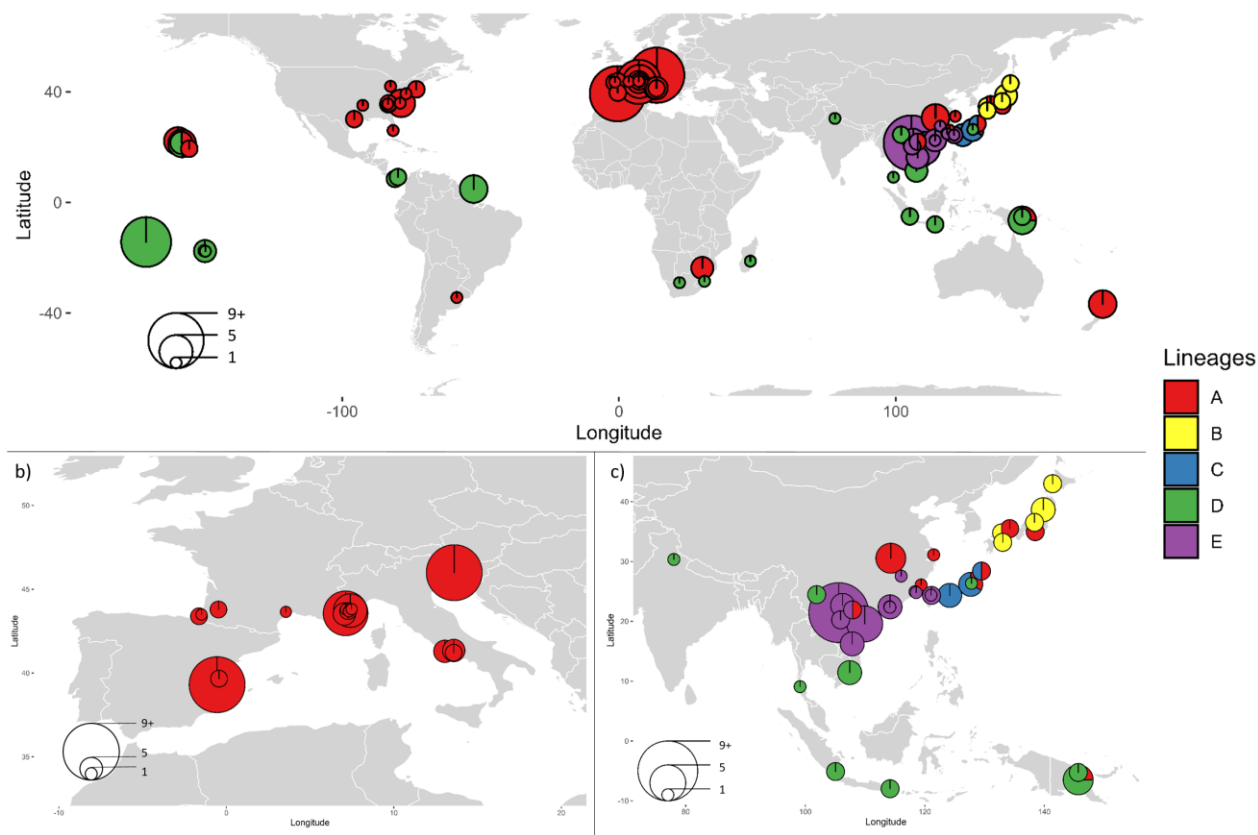
Table 2: Genetic distances within and between COI lineages and their respective standard error estimates based on the Kimura 2-parameter model. The genetic distances between COI lineages are on the bottom left part, and the standard error estimates on the top left part of the table.

| Within    |           |                          | Between   |           |           |           |           |
|-----------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           | Distances | Standard Error Estimates | Lineage A | Lineage B | Lineage C | Lineage D | Lineage E |
| Lineage A | 0.0135    | 0.003                    |           | 0.011     | 0.0117    | 0.0123    | 0.014     |
| Lineage B | 0.0076    | 0.0024                   | 0.0709    |           | 0.0128    | 0.0135    | 0.0147    |
| Lineage C | 0.014     | 0.0039                   | 0.0798    | 0.0932    |           | 0.0135    | 0.0145    |
| Lineage D | 0.0482    | 0.0063                   | 0.1095    | 0.1242    | 0.1158    |           | 0.01      |
| Lineage E | 0.0152    | 0.0029                   | 0.1176    | 0.1252    | 0.1188    | 0.0783    |           |

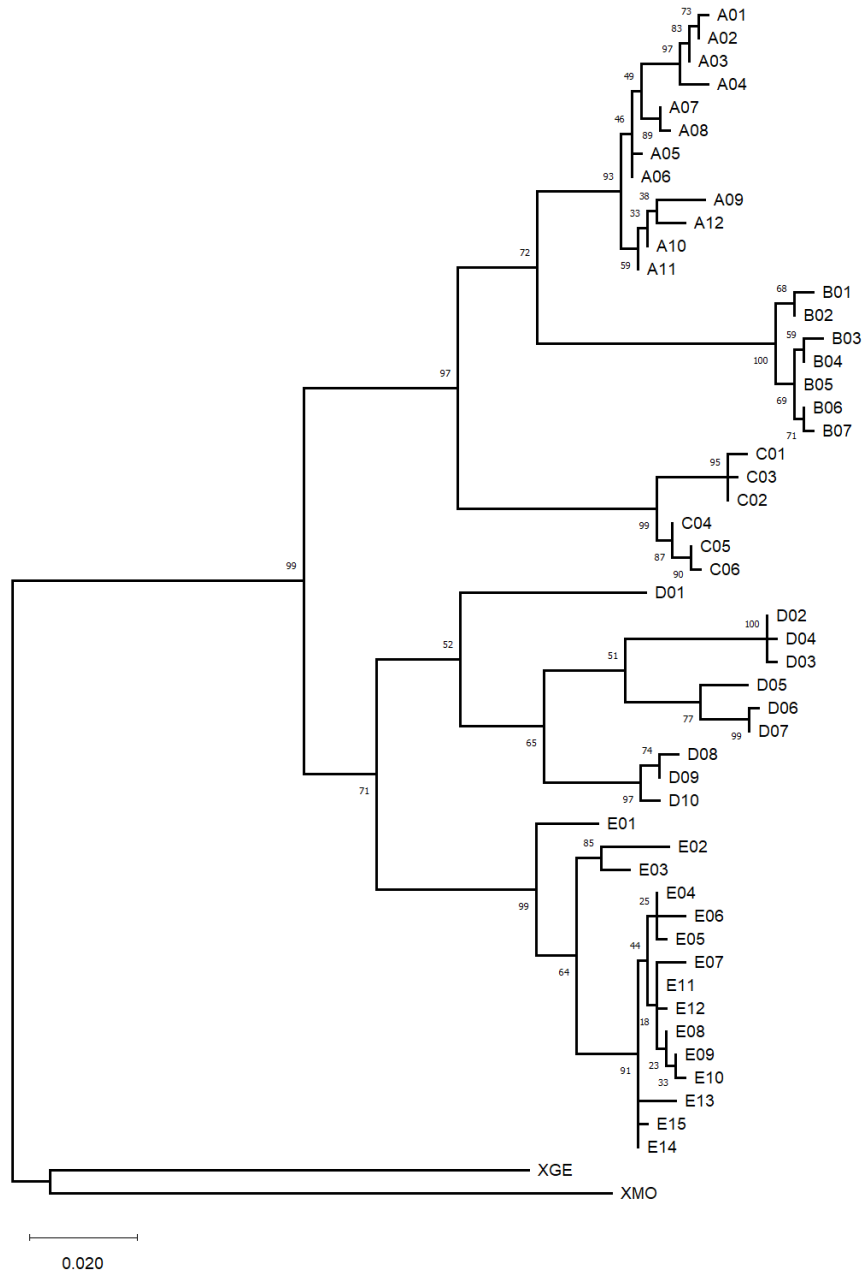
# CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA STRUCTURE GENETIQUE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE *X. CRASSIUSCULUS*



**Figure 1:** *X. crassiusculus*' invasive haplotype map a) worldwide and focusing on b) Europe, and c) Asia. The coordinates of some localities were not known (cf. Table 1). Their pies were thus added at approximate coordinates.



**Figure 3:** *X. crassiusculus*' lineage map a) worldwide and focusing on b) Europe, and c) Asia. The coordinates of some localities were not known (cf. Table 1). Their pies were thus added at approximate coordinates.



**Figure 2: Maximum Likelihood tree based on *X. crassiusculus*' COI sequences built with MEGA X. We used *Xylosandrus germanus* (XGE NC036280.1) and *Xylosandrus morigerus* (XMO NC\_036283.1) as outgroups.**

## GENETIC STRUCTURE AT NUCLEAR SNPS OBTAINED FROM RAD SEQUENCING

The average homozygosity estimated from RADseq data was 0.993 (0.016 SD), and the average inbreeding coefficient was 0.958 (0.101 SD). When running Admixture on the complete dataset, the cross-validation values reached a plateau for  $K = 9$ , which we considered the most

parsimonious number of genetic groups (Supplementary Figure S10). With a similarity threshold of 0.95, the 300 Admixture runs yielded 82 modes, the major mode representing 109 runs with a pairwise similarity of 0.978.

The genomic groups obtained at  $K = 2$  matched the mitochondrial Clusters 1 and 2, except for the 17 specimens with the lowest assignation score and corresponding to the mitochondrial lineages B and C (Supplementary Figure S11). These specimens from Japan formed the third genomic group at  $K = 3$  before splitting into two genomic groups at  $K = 5$  with an assignation score higher than 0.967, matching the mitochondrial lineages B and C (Figure 4). The two other genomic groups obtained from  $K = 3$  corresponded to the mitochondrial Clusters 1 and 2 and will be referred to as genomic Clusters 1 and 2 hereafter (Figure 4). For  $K = 9$ , genomic groups 1 and 2 corresponded to the mitochondrial lineages B and C mentioned above, genomic groups 3, 4 and 5 corresponded to genomic Cluster 1 and genomic groups 6, 7, 8 and 9 to genomic Cluster 2.

For  $K = 9$ , 177 specimens were assigned to their genomic group with a score higher than 0.95, and 154 scored more than 0.999. Only eleven specimens were assigned to their genomic Cluster with a score lower than 0.97, with a minimum of 0.744. No specimen from genomic groups 3 to 9 was assigned to genomic groups 1 or 2 with a score higher than 0.003. Within genomic Cluster 1, genomic group 6 was composed exclusively of specimens from one locality in China (Figure 5). Genomic group 7 included specimens from Pacific Islands, Costa Rica, French Guiana in the invaded area, and Indonesia and Papua New Guinea in the native area. Specimens from two localities in Papua New Guinea and Vietnam were assigned to genomic group 8. Finally, genomic group 9 was only present in the native range and included specimens from Taiwan and from several localities in Vietnam and China. Within genomic Cluster 2, genomic group 3 was composed of specimens from Hawaii, mainland USA, Spain, Italy, New Zealand in the invaded area, and Japan and Papua New Guinea in the native area (Figure 6). Genomic group 4 included specimens from Italy, France, Slovenia, Japan, China, Hawaii and mainland USA. Note that all specimens from the USA were assigned to genomic groups 3 and 4. Genomic group 5 was composed exclusively of specimens from France and one specimen from Costa Rica.

The average  $F_{st}$  and Nei distances between genomic groups were 0.894 (0.125 SD) and 0.294 (0.132 SD). Our results showed lower divergence between genomic groups within Cluster 2 than within Cluster 1, with average  $F_{st}$  of 0.529 (0.0132 SD) and 0.847 (0.059 SD), and Nei distances of 0.0189 (0.005 SD) and 0.102 (0.020 SD), respectively.

The RAxML analysis stopped after 400 bootstraps with a best tree scoring a likelihood score of -359,651.47, and displaying similar results as the clustering tree and Admixture, with two groups composed of specimens from Japan and two distinct Clusters corresponding to the genomic Clusters 1 and 2, respectively split in 4 and 3 major branches (Supplementary Figure S12).

## DISCUSSION

### GENETIC STRUCTURE AND DIVERSITY OF *X. CRASSIUSCULUS*

The mitochondrial and nuclear results were mostly consistent and confirmed the existence of two Clusters as previously suggested by Storer and collaborators (2017) from ddRADseq data only. Thanks to the use of the mitochondrial barcode marker and a partially overlapping sampling design, we could unambiguously align our results to those from previous studies and conclude about the limits and distributions of both Clusters by gathering the information from all works concerning the genetics of *X. crassiusculus*. In the native area, Cluster 1 was present in Okinawa Island in Japan (Storer et al. 2017, Cognato et al. 2020), China, India, Indonesia, Papua New Guinea, Taiwan, Thailand (Storer et al. 2017) and Vietnam. In the invaded range, it was identified in Panama, French Guiana, French Polynesia, Hawaii, the US Samoa, South Africa (Nel et al. 2020), Cameroon, Ghana, and Madagascar (Storer et al. 2017). Cluster 2 was identified in the native area in Japan, China, Taiwan and Papua New Guinea. In the invaded range, it was present in Argentina (Landi et al. 2017), Costa Rica, Honduras (Storer et al. 2017), mainland USA, Canada, Hawaii, New Zealand, and South Africa (Nel et al. 2020) and our results showed that it is also present in the recently invaded European countries (Italy, France, Slovenia and Spain). When examining the worldwide distributions of both Clusters, we observed that they were mostly allopatric, Cluster 1 having a circumtropical distribution and Cluster 2 being present at higher latitudes. They were only found together in the invaded range in two localities in Oahu Island in Hawaii and in South Africa, and in the native range in Taiwan (Storer et al. 2017), Papua New Guinea, the Guangxi province in China and the Okinawa Island in Japan. Both Clusters were also found in neighbouring countries in Central America, namely in Panama (Cluster 1) and Costa Rica and Honduras (Cluster 2).

Genomic divergence

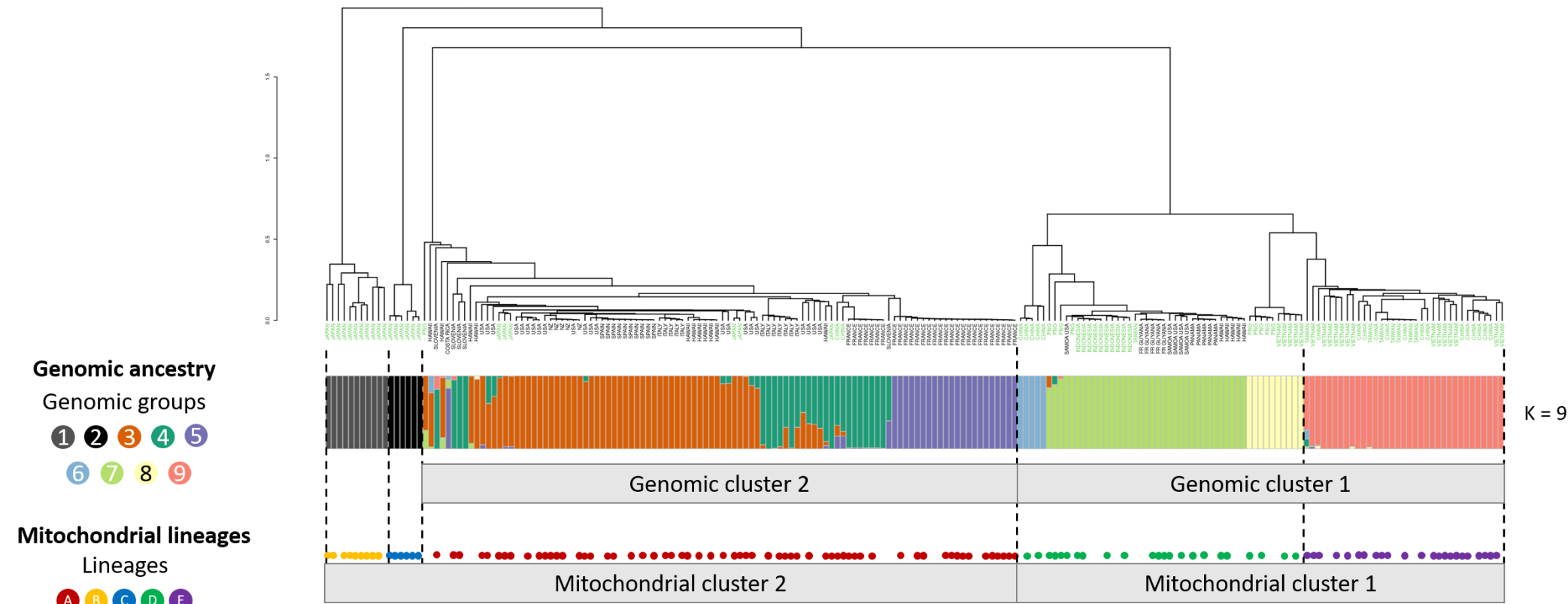


Figure 4: Clustering tree and admixture plot for K = 9 calculated on *Xylosandrus crassiusculus*' RAD sequencing data. The leaves labels of the clustering tree represent the country of origin of the samples, and the countries in the *X. crassiusculus*' native area are represented in green. When available, the specimens' mitochondrial lineage are represented as coloured circles at the bottom of the figure.

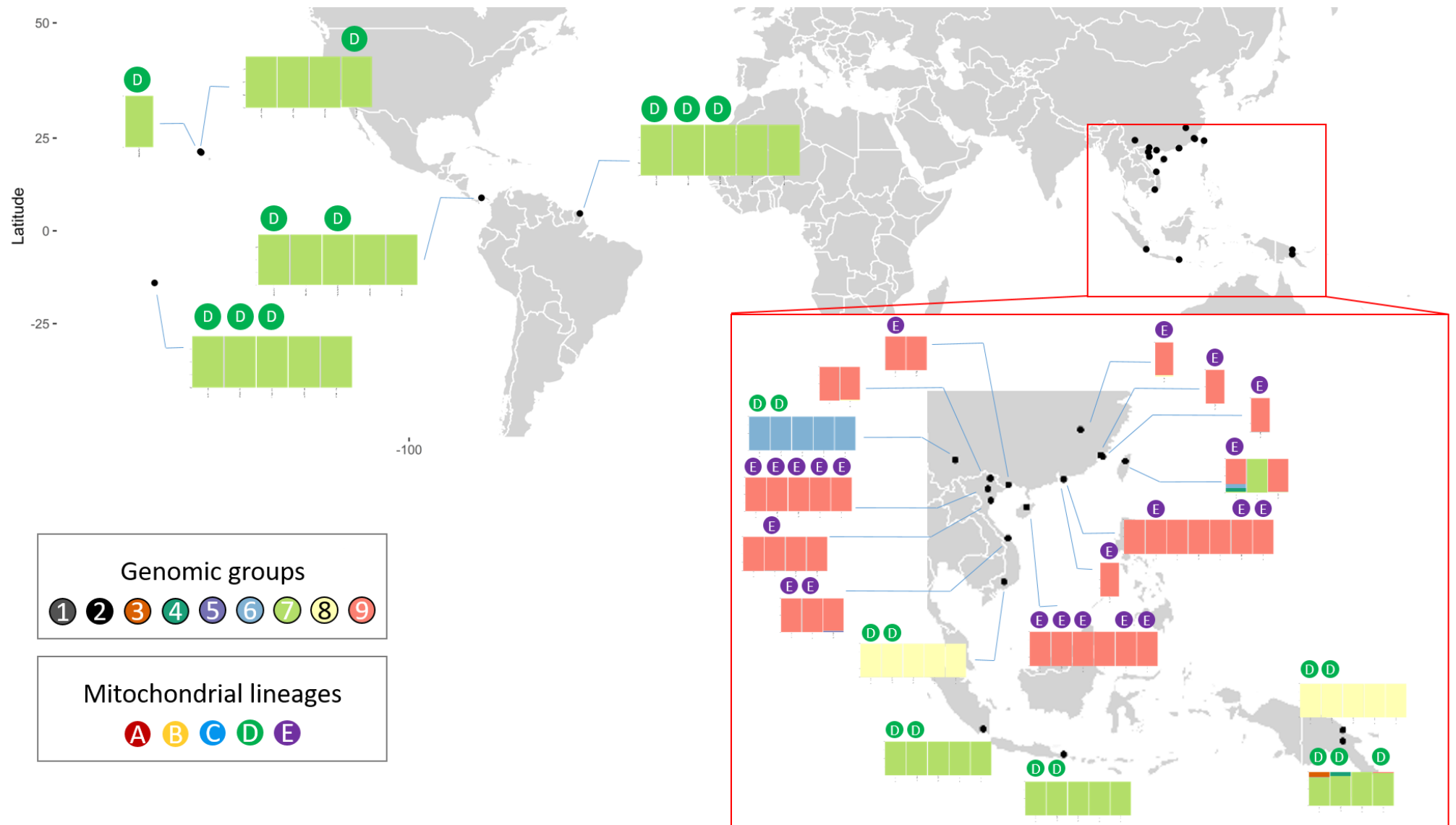


Figure 5: Map representing the admixtures plot for the specimens belonging to the genomic cluster 1 for  $K = 9$ . The specimens' mitochondrial lineage was added on top of the barplots when available.

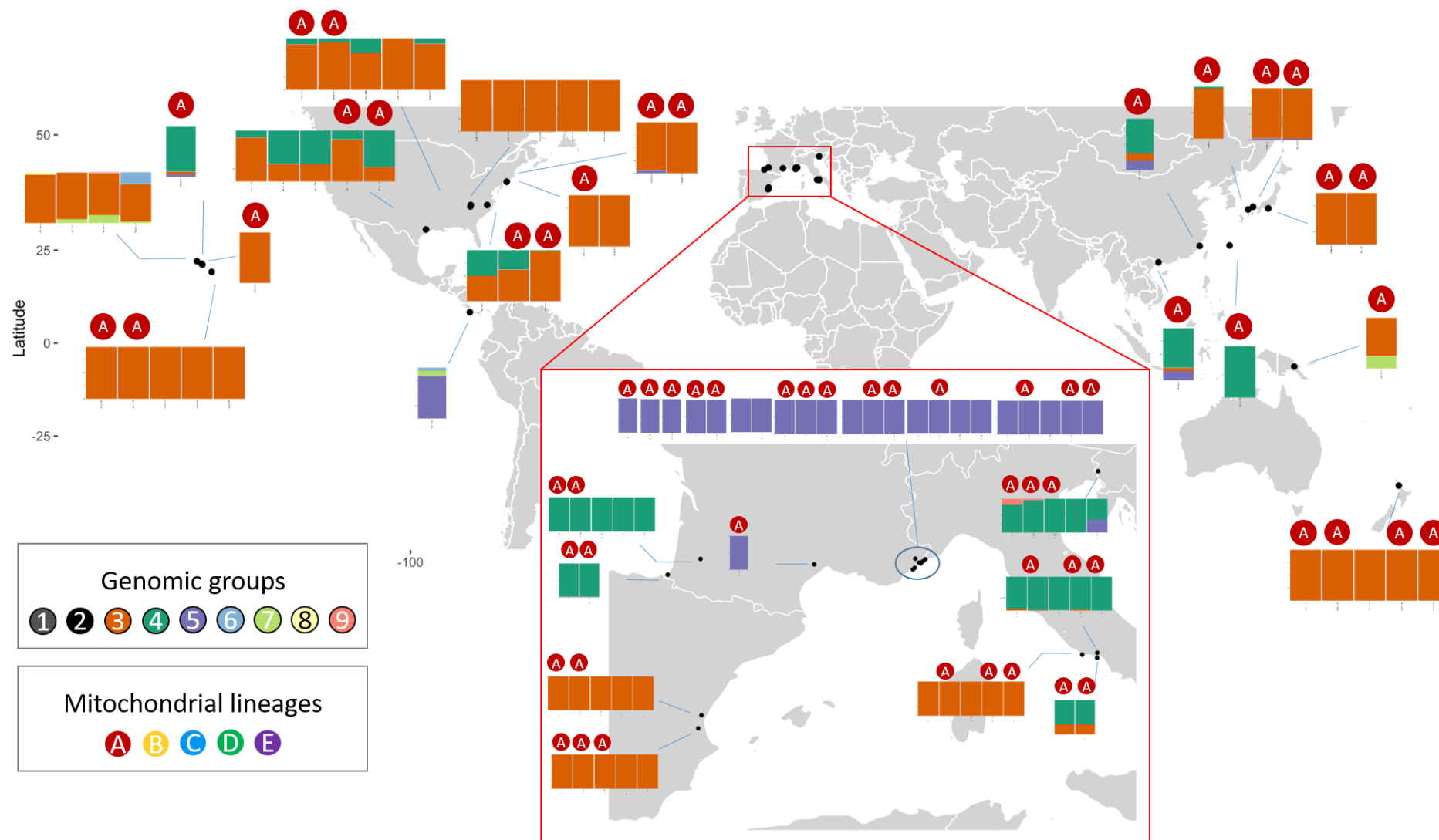


Figure 6: Map representing the admixtures plot for the specimens belonging to the genomic cluster 2 for K = 9. The specimens' mitochondrial lineage was added on top of the barplots when available.

Storer et al. (2017) hypothesized that any unsampled population would easily be assigned to one of these two Clusters. However, our results showed that specimens from mitochondrial lineages B and C, all originating from Japan and corresponding to genomic groups 1 and 2, were included in the mitochondrial Cluster 1 but were placed as sister groups of the genomic Clusters 1 and 2 in the trees obtained from RADseq data. These two mitochondrial lineages were exclusively found in Japan and corresponded to two of the three clades identified by Ito and Kajimura (2009b). Based on their results and ours, we suggest that these two lineages are actually restricted to the four main Japanese Islands and the Ryukyu Islands, respectively, and did not participate in the colonization of any other country worldwide. Their third clade corresponds to the lineage A we identified within Cluster 2. Hence, it seems that the intra-specific structure of *X. crassiusculus* is even more complex than hypothesized by Storer et al. (2017).

The strong intraspecific differentiation we here documented from nuclear and mitochondrial markers, and the existence of 2 genetic lineages that cannot be placed within any of these clusters, advocate for the need of a taxonomic revision of *X. crassiusculus*. We suggest that this species could correspond to a species complex that needs to be disentangled. The relative geographic distributions of both clusters further suggest that they might have differentiated climatic optima and ecological niches. Indeed, Urvois et al. (2021) failed to model the worldwide distribution of *X. crassiusculus* using Species Distribution Modeling approaches and suggested that infra-specific ecological differentiation might explain this negative outcome. In the light of our present results and the assignment of populations from all continents to both Clusters, we suggest that their environmental requirements should be explored separately to explicitly test for ecological differentiation and model their respective potential distributions.

The 50 haplotypes found for *X. crassiusculus* in the present study was severalfold the number of haplotypes identified in studies on the worldwide phyleographies of *X. compactus* (Urvois et al. 2022) and *X. germanus* (Dzurenko et al. 2020), with 9 and 11 haplotypes, respectively. This probably only represents a fraction of the haplotypic diversity in their native range and does not necessarily reflect their total genetic diversity. Indeed, focusing only on the Japanese archipelago, Ito and collaborators found 48 haplotypes of *X. crassiusculus* (Ito & Kajimura 2009b), all belonging to Cluster 2, 30 haplotypes of *X. germanus* (Ito et al. 2008) and 85 haplotypes of *X. brevis* (Ito & Kajimura 2009a), a non-invasive congener.

## COMPLEX INVASION SCENARIOS

This study identified 12 haplotypes in *X. crassiusculus*' invasive range, against 3 for *X. compactus* (Urvois et al. 2022) and 5 for *X. germanus* (Dzurenko et al. 2020). It also revealed a higher genetic diversity in *X. crassiusculus*' invasive range compared to *X. compactus* and *X. germanus*, with K2P distances up to 0.123, 0.086 and 0.005, respectively. This could result from a higher diversity in donor areas or more donor areas for *Xylosandrus crassiusculus*. It could also result from a higher establishment rate of *X. crassiusculus*, which could be due to larger propagule pressure or a better survival and installation rate in the recipient areas, or a combination of both.

Even though we included more localities from the invasive range compared to the native area, we documented a higher genetic diversity in *Xylosandrus crassiusculus*' native area. Indeed, we only observed two out of five mitochondrial lineages and four out of nine genomic groups in its invaded range. This is in line with our hypothesis, consistent with other studies on *Xylosandrus* species (Storer et al. 2017, Dzurenko et al. 2020, Urvois et al. 2022), and suggests that some regions only of the native range participated in the invasion history.

Cluster 1 was found in the native area in Japan (but restricted to the Okinawa island), China, India, Indonesia, Papua New Guinea, Taiwan, Thailand and Vietnam. It was first found in Madagascar more than a century ago and is now present in South Africa, Cameroon and Ghana in Africa. It was first found in the US Samoa in the first half of the XXth century (Schedl 1951), Hawaii in 1950 (Samuelson 1981), Panama in 2004 (Kirkendall & Odegaard 2007), French Guiana in 2008 (Flechtman & Atkinson 2016), and French Polynesia (first record unknown). On the contrary, this Cluster is still undetected in Europe and North America. Interestingly, only one genomic group (Group 7) corresponding to a unique mitochondrial lineage (lineage D) occurs in the invaded range, suggesting that the other mitochondrial lineage (E – corresponding to the genomic group 9) did not take part in *X. crassiusculus*' invasion.

A more detailed examination of the results shows that only three very closely related haplotypes (out of the 25 haplotypes identified in Cluster 1) were found in the invasive areas, namely D02, D03 and D04. Haplotypes D03 and D04 were only found in the invaded area, but haplotype D02 was present in the native area in Indonesia, Papua New Guinea and Okinawa in Japan. The corresponding nuclear data points to the same potential source area and suggests that Taiwan could also be included. Haplotype D02 invaded Madagascar, Hawaii, US Samoa and French Polynesia. The distances between Madagascar and the Pacific Islands, the 50-year time lag between their invasion, and the apparent lack of trade between these two areas suggest

independent invasions from a close geographical area. On the contrary, Hawaii and the US Samoa were invaded around the same period. More, their relative proximity and common nationality could suggest that commercial exchanges existed between these two Pacific regions, which probably favoured long-range movements of *X. crassiusculus* from one to the other by bridgehead effect. Indeed, even though Hawaii did not become part of the USA before 1953, both Hawaii and US Samoa already had connexions with the USA. Thus, it is possible that Hawaii or US Samoa were invaded from the native area and acted as a source for the invasion of the other. It is unknown when French Polynesia was invaded by *X. crassiusculus*, but its relative proximity with US Samoa suggests a link with the invasion of US Samoa or Hawaii. Still, we cannot rule out that all Pacific Islands were invaded independently from the native area. Storer et al. (2017) found a low pairwise  $F_{st}$  between Cameroon and Ghana (0.02), but high  $F_{st}$  values with Madagascar (0.92 and 0.93), and Nel et al. (2020) found haplotype D04 in South Africa. This suggests that the colonization of mainland Africa happened through several independent introductions rather than a bridgehead from Madagascar. Still, the genetic information available about *X. crassiusculus* in Africa is too restricted to infer its invasion history, as only 6 localities were sampled while it is reported as present in several African countries such as Equatorial Guinea, Ivory Coast, Kenya, Mauritania, Nigeria, Sierra Leone, Seychelles Islands, Tanzania and the Democratic Republic of the Congo (Wood & Bright 1992). It will thus be necessary in the future to obtain a better sampling in this continent to understand its invasion history better.

Cluster 2 was identified in the native area in Japan, China, Taiwan and Papua New Guinea. In the invaded range, it was discovered in Hawaii in 1950 (Samuelson 1981), mainland USA in 1974 (Anderson 1974), Costa Rica in 1996 (Kirkendall & Odegaard 2007), Argentina in 2001 (Kirkendall 2018), Italy in 2003 (Pennachio et al. 2003), Canada in 2012 (Douglas et al. 2013), Honduras in 2013 (Storer et al. 2017), France in 2014 (Roques et al. 2019), Spain in 2016 (Gallego et al. 2017), Slovenia in 2017 (Kavčič 2018), New Zealand in 2019 (Ministry for Primary Industries 2019), and in South Africa (Nel et al. 2020) (first record unknown). All invasive individuals from Cluster 2 belonged to the mitochondrial lineage A, and to the three genomic groups (3, 4 and 5) identified from the nuclear analyses. Genomic groups 3, 4 and 5 were only marginally divergent compared to other genomic groups, and likely were created by Admixture because of the larger number of specimens included in genomic Cluster 2.

Out of the 25 haplotypes identified in Cluster 2, 3 were found in both native and invasive areas, namely A02, A07 and A10, and 6 were found only in the invasive area, namely A01, A03, A05,

A06, A08 and A09. In the native area, haplotype A02 was found in Papua New Guinea, Amami and main islands in Japan, A07 in Okinawa Island in Japan, and A10 in China in Shanghai.

The Americas and Pacific were invaded by the 3 genomic groups of Cluster 2, and 7 mitochondrial haplotypes, namely A1, A2, A5, A6, A7, A8 and A10. As opposed to *Xylosandrus compactus*, which likely invaded Pacific Islands and the Americas with a single introduction from the Shanghai area (Urvois et al. 2022), and *X. germanus* which likely invaded North America with repeated introductions from the main Japanese Islands (Dzurenko et al. 2020), *Xylosandrus crassiusculus*' invasion in Pacific Islands and the Americas likely resulted from multiple introductions from multiple sources followed by bridgehead effect and local dispersal. Hawaii included two genomic groups and four haplotypes, which suggests at least two invasions from independent sources. The presence of genomic group 3 and haplotype A02 likely points to a source in Japan, although Papua New Guinea could also be the donor area. Given the commercial exchanges, this last hypothesis remains less plausible. Several localities in the USA across different states were genetically similar, and the same mitochondrial haplotype was found in localities in the USA, Canada and Argentina. The important connections between Hawaii and mainland USA suggest that *X. crassiusculus* colonized the USA from Hawaii through bridgehead followed by stepping stone expansion to other states. Mainland USA could have acted as a source for further expansion to Canada and Argentina through stepping stone expansion and bridgehead. However, we cannot rule out an invasion of continental USA directly from the native area. Genomic group 4 was found in Hawaii and mainland USA, and China and Japan in the native area. Hawaii and mainland USA clustered with Japan in the RADseq analysis, but Hawaii bore haplotype A10 found exclusively in China. Thus, we lack information to conclude about the invasion history of genomic group 4 in the USA. Genomic group 5 was found in Costa Rica and Europe but not in the native area. Yet, as all sequenced specimens bore haplotype A10, we can suggest Costa Rica was invaded by individuals originating from the Shanghai area in China. Storer (2017) sequenced three specimens from Honduras and found that the closer populations from Honduras were Georgia, Okinawa, and Florida, with  $F_{st} = 0.26$ , 0.20 and 0.18, respectively. However, due to the proximity between  $F_{st}$  with Georgia and Okinawa, we cannot confidently assess whether Costa Rica was invaded by the USA, an independent introduction from Japan or even another locality from the native range.

South Africa was invaded by haplotype A06, which was not found in the native range and was only found in the USA, suggesting an invasion from the USA, such as *Harmonia axyridis*, which most likely invaded South Africa from Eastern North America (Lombaert et al. 2014). It could also have invaded from a non-sampled locality in the native range, potentially from Japan,

where most of the diversity the Lineage A was identified. New Zealand was only invaded two years ago by haplotype A02, suggesting an invasion from the USA or Japan. As both countries are top trading partners with New Zealand, we cannot infer which one is the most probable source.

Europe was invaded by the 3 genomic groups of Cluster 2, and 4 haplotypes were identified there, namely A02, A03, A09 and A10. Our results suggest that, contrary to our hypothesis and to what was documented for *X. compactus* (Urvois et al. 2022) and *X. germanus* (Dzurenko et al. 2020), *Xylosandrus crassiusculus*' invasion in Europe did not result from a single introduction followed by stepping stone expansion in Europe, but likely from multiple invasions from multiple sources followed by local dispersal. The first locality invaded in Italy among sampled sites is characterized by haplotype A2 and the genomic group 3, which could point to a source in Japan if the species was directly introduced from the native range, or from one of the US localities invaded during the XXth century and having the same genetic characteristics. As the Spanish populations were very similar genetically to the Italian ones, we suppose that *X. crassiusculus* colonized Spain directly from the Italian source by intracontinental movements. This would be similar to the situation described by Dzurenko (2020) for *X. germanus*, where a single introduction in Europe managed to spread to neighbouring countries. Interestingly, all individuals from Southeastern France belonged to genomic group 5 and bore haplotype A10, suggesting that these populations originated from an independent colonization event from the region of Shanghai. However, as Shanghai is one of China's most economically important cities and the busiest port worldwide (UNCTAD 2020), it could also have acted as a bridgehead by exporting infested plants from other areas in China or other countries in Asia. Few individuals with similar characteristics were later discovered in Eastern Slovenia, and in Southern and Southwestern France, suggesting that this successful invasion in Southeastern France from Shanghai or its region was followed by stepping-stone expansion in nearby regions. It is interesting to note that a similar invasion route from Shanghai to Europe followed by local dispersal within the continent was documented for *X. compactus* (Urvois et al. 2022). A third situation was also found in Europe, as populations belonging to genomic group 4 and having either haplotype A2 (in Italy) or A3 (in Southwestern France) were identified. It could correspond to a new colonization event, ca. 15 years after the first detection of *X. crassiusculus* in Europe. Finally, haplotype A9, which is very differentiated from the other haplotypes found in Europe but was not found in the native range, was identified in Slovenia. This observation

could suggest again a new, independent colonization event. Yet, the native distribution of A9 would need to be clarified before we can propose hypotheses about its potential source.

## Conclusion

The present study aimed at bridging the gap left in the literature by the previous studies (Ito & Kajimura 2009b, Landi et al. 2017, Storer et al. 2017, Nel et al. 2020) by sampling specimens worldwide, including the recently invaded European regions, and sequencing all specimens with common mitochondrial and nuclear markers. We confirmed the findings of Storer et al. (2017) that *X. crassiusculus* is composed of two differentiated Clusters. Our result suggested that they are largely allopatric and that Cluster 1 could originate from continental Asia while Cluster 2 originates from Japan. In addition to helping with *Xylosandrus crassiusculus*' invasion history, an extensive sampling in Asia could also help pinpoint the native range of each Cluster. It is crucial to address whether they have divergent ecological preferences, as this would advocate that both clusters could be cryptic species. In the meantime, we advise sequencing specimens of *Xylosandrus crassiusculus* routinely in ports of entry as the invasion of a second Cluster could have dramatic impacts on its host range, expansion dynamic and actions needed to mitigate its invasion.

## Acknowledgement

We thank Richard Bellanger, Jared Bernard, Ben Boyd, Massimo Faccoli, Steve Frank, Diego Gallego, Andreja Kavčič and Jhuni Morillo for sending specimens. We thank GenSeq technical facilities of ISEM, Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier, supported by the Labex CeMEB and ANR "Investissements d'Avenir" program (ANR-10-LABX-04-01), for the use of the ultrasonicator. We are grateful to MGX-Montpellier GenomiX for sequencing the RAD libraries and to the Genotoul bioinformatics platform Toulouse Occitanie (Bioinfo Genotoul, doi: 10.15454/1.5572369328961167E12) for providing computing and storage resources. We are also grateful to the Sino-French Joint Laboratory for Invasive Forest Pests in Eurasia (IFOPE) for its support.

## Funding

Funding This work was supported by the LIFE project SAMFIX (SAving Mediterranean Forests from Invasions of *Xylosandrus* beetles and associated pathogenic fungi, LIFE17

NAT/IT/000609, <https://www.lifesamfix.eu/>) which received funding from the European Union's LIFE Nature and Biodiversity programme. JH was supported by the US Forest Service, the USDA APHIS, and the National Science Foundation.

## BIBLIOGRAPHY

- Alexander, D. H., J. Novembre, & K. Lange. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* **19**:1655-1664.
- Anderson, D. M. 1974. First record of *Xyleborus semiopacus* in the continental United States (Coleoptera, Scolytidae). *Cooperative Economic Insect Report* **24**:863-864.
- Becker, R. A., A. R. Wilks, R. Brownrigg, T. P. Minka, & A. Deckmyn. 2018. maps: draw geographical maps. R package version 3.3.0.
- Behr, A. A., K. Z. Liu, G. Liu-Fang, P. Nakka, & S. Ramachandran. 2016. pong: fast analysis and visualization of latent clusters in population genetic data. *Bioinformatics* **32**:2817-2823.
- Catchen, J., P. A. Hohenlohe, S. Bassham, A. Amores, & W. A. Cresko. 2013. Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* **22**:3124-3140.
- Cognato, A. I., G. Sari, S. M. Smith, R. A. Beaver, Y. Li, J. Hulcr, B. H. Jordal, H. Kajimura, C.-S. Lin, T. H. Pham, S. Singh, & W. Sittichaya. 2020. The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian ambrosia beetle species (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). *Frontiers in Ecology and Evolution* **8**.
- Cruaud, A., M. Gautier, J.-P. Rossi, J. Y. Rasplus, & J. Gouzy. 2016. RADIS: analysis of RAD-seq data for interspecific phylogeny. *Bioinformatics* **32**:3027-3028.
- Danecek, P., A. Auton, G. Abecasis, C. A. Albers, E. Banks, M. A. DePristo, R. E. Handsaker, G. Lunter, G. T. Marth, S. T. Sherry, G. McVean, R. Durbin, & G. Genomes Project Analysis. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* **27**:2156-2158.
- Dole, S. A., B. H. Jordal, & A. I. Cognato. 2010. Polyphyly of *Xylosandrus* Reitter inferred from nuclear and mitochondrial genes (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **54**:773-782.
- Douglas, H., P. Bouchard, R. S. Anderson, P. de Tonnancour, R. Vigneault, & R. P. Webster. 2013. New Curculionoidea (Coleoptera) records for Canada. *Zookeys* **309**:13-48.

- Dzurenko, M., C. M. Ranger, J. Hulcr, J. Galko, & P. Kaňuch. 2020. Origin of non-native *Xylosandrus germanus*, an invasive pest ambrosia beetle in Europe and North America. *Journal of Pest Science* **94**:553-562.
- Estoup, A., & T. Guillemaud. 2010. Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? *Molecular Ecology* **19**:4113-4130.
- Flechtmann, C. A. H., & T. H. Atkinson. 2016. First records of *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) from South America, with notes on its distribution and spread in the New World. *The Coleopterists Bulletin* **70**:79-83.
- Galili, T. 2015. dendextend: an R package for visualizing, adjusting and comparing trees of hierarchical clustering. *Bioinformatics* **31**:3718-3720.
- Gallego, D., J. L. Lencina, H. Mas, J. Cervero, & M. Faccoli. 2017. First record of the granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in the Iberian Peninsula. *Zootaxa* **4273**:431-434.
- Guangchuang, Y. 2020. scatterpie: Scatter Pie Plot. R package version 0.1.5.
- Ito, M., & H. Kajimura. 2009a. Genetic structure of Japanese populations of *Xylosandrus brevis* (Curculionidae: Scolytinae). *Environmental Entomology* **38**:1324-1335.
- Ito, M., & H. Kajimura. 2009b. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **44**:549-559.
- Ito, M., H. Kajimura, K. Hamaguchi, K. Araya, & F. Lakatos. 2008. Genetic structure of Japanese populations of an ambrosia beetle, *Xylosandrus germanus* (Curculionidae: Scolytinae). *Entomological Science* **11**:375-383.
- Jones, B. A., & S. M. McDermott. 2017. Health impacts of invasive species through an altered natural environment: assessing air pollution sinks as a causal pathway. *Environmental and Resource Economics* **71**:23-43.
- Kavčič, A. 2018. First record of the Asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Slovenia. *Zootaxa* **4483**:191-193.
- Kenis, M., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, L. Timms, C. Péré, M. J. W. Cock, J. Settele, S. Augustin, & C. Lopez-Vaamonde. 2008. Ecological effects of invasive alien insects. *Biological Invasions* **11**:21-45.
- Kirkendall, L. R. 2018. Invasive bark beetles (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Chile and Argentina, including two species new for South America, and the correct identity of the *Orthotomicus* species in Chile and Argentina. *Diversity* **10**.

- Kirkendall, L. R., & F. Odegaard. 2007. Ongoing invasions of old-growth tropical forests: establishment of three insectivorous beetle species in southern Central America (Curculionidae : Scolytinae). *Zootaxa*:53-62.
- Landi, L., D. Gómez, C. L. Braccini, V. A. Pereyra, S. M. Smith, & A. E. Marvaldi. 2017. Morphological and molecular identification of the invasive *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and its South American range extending into Argentina and Uruguay. *Annals of the Entomological Society of America* **110**:344-349.
- Li, H., & R. Durbin. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* **25**:1754-1760.
- Ministry for Primary Industries. 2019. Biosecurity New Zealand - Granulate ambrosia beetle. New Zealand Government.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* **106**:283-292.
- Nel, W. J., Z. W. De Beer, M. J. Wingfield, & T. A. Duong. 2020. The granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), and its fungal symbiont found in South Africa. *Zootaxa* **4838**:zootaxa 4838 4833 4837.
- Paini, D. R., A. W. Sheppard, D. C. Cook, P. J. De Barro, S. P. Worner, & M. B. Thomas. 2016. Global threat to agriculture from invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **113**:7575-7579.
- Pattengale, N. D., M. Alipour, O. R. Bininda-Emonds, B. M. Moret, & A. Stamatakis. 2010. How many bootstrap replicates are necessary? *Journal of Computational Biology* **17**:337-354.
- Pembleton, L. W., N. O. Cogan, & J. W. Forster. 2013. StAMPP: an R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Molecular Ecology Resources* **13**:946-952.
- Pennachio, F., P. F. Roversi, V. Francardi, & E. Gatti. 2003. *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) a bark beetle new to Europe (Coleoptera Scolytidae). *Redia* **86**:77-80.
- R Core Team. 2018. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ramage, T., P. Martins-Simoes, G. Mialdea, R. Allemand, A. Duploux, P. Rousse, N. Davies, G. K. Roderick, & S. Charlat. 2017. A DNA barcode-based survey of terrestrial arthropods in the Society Islands of French Polynesia: host diversity within the SymbioCode Project. *European Journal of Taxonomy* **272**:1-13.
- Ranger, C. M., M. E. Reding, P. B. Schultz, J. B. Oliver, S. D. Frank, K. M. Adesso, J. Hong Chong, B. Sampson, C. Werle, S. Gill, & C. Krause. 2016. Biology, ecology, and

- management of nonnative ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in ornamental plant nurseries. *Journal of Integrated Pest Management* **7**:1-23.
- Rochette, N. C., A. G. Rivera-Colon, & J. M. Catchen. 2019. Stacks 2: analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology* **28**:4737-4754.
- Roques, A., R. Bellanger, J. B. Daubrée, C. Ducatillon, T. Urvois, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.
- Samuelson, G. A. 1981. A synopsis of Hawaiian Xyleborini (Coleoptera: Scolytidae). *Pacific Insects* **23**:50-92.
- Sardain, A., E. Sardain, & B. Leung. 2019. Global forecasts of shipping traffic and biological invasions to 2050. *Nature Sustainability* **2**:274-282.
- Schedl, K. E. 1951. Fauna Samoanus (Scolytoidea), I. 109. Contribution to the morphology and taxonomy of the Scolytoidea. *Occasional papers of Bernice P. Bishop Museum* **20**:131-156.
- Seebens, H., T. M. Blackburn, E. E. Dyer, P. Genovesi, P. E. Hulme, J. M. Jeschke, S. Pagad, P. Pyšek, M. Winter, M. Arianoutsou, S. Bacher, B. Blasius, G. Brundu, C. Capinha, L. Celesti-Grapow, W. Dawson, S. Dullinger, N. Fuentes, H. Jager, J. Kartesz, M. Kenis, H. Kreft, I. Kuhn, B. Lenzner, A. Liebhold, A. Mosena, D. Moser, M. Nishino, D. Pearman, J. Pergl, W. Rabitsch, J. Rojas-Sandoval, A. Roques, S. Rorke, S. Rossinelli, H. E. Roy, R. Scalera, S. Schindler, K. Stajeroval, B. Tokarska-Guzik, M. van Kleunen, K. Walker, P. Weigelt, T. Yamanaka, & F. Essl. 2017. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications* **8**:14435.
- Simberloff, D., J. L. Martin, P. Genovesi, V. Maris, D. A. Wardle, J. Aronson, F. Courchamp, B. Galil, E. Garcia-Berthou, M. Pascal, P. Pyšek, R. Sousa, E. Tabacchi, & M. Vila. 2013. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology and Evolution* **28**:58-66.
- Sire, L., D. Gey, R. Debruyne, T. Noblecourt, F. Soldati, T. Barnouin, G. Parmain, C. Bouget, C. Lopez-Vaamonde, & R. Rougerie. 2019. The challenge of DNA barcoding saproxylic beetles in natural history collections - Exploring the potential of parallel multiplex sequencing With Illumina MiSeq. *Frontiers in Ecology and Evolution* **7**.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* **30**:1312-1313.

- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, & J. Hulcr. 2017. Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* **7**:10974-10986.
- Toews, D. P. L., & A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology* **21**:3907-3930.
- UNCTAD. 2020. Review of maritime transport 2020. United Nations, Geneva.
- Urvois, T., C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, & C. Kerdelhué. 2022. A first inference of the phylogeography of the worldwide invader *Xylosandrus compactus* *Journal of Pest Science*.
- Urvois, T., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, & C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Scientific Reports* **11**:1339.
- Vanderpool, D., R. R. Bracewell, & J. P. McCutcheon. 2018. Know your farmer: ancient origins and multiple independent domestications of ambrosia beetle fungal cultivars. *Molecular Ecology* **27**:2077-2094.
- Weir, B. S., & C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**:1358-1370.
- Wickham, H. 2016. ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag New York.
- Wood, S. L., & D. E. J. Bright. 1992. A catalog of Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera), Part 2: Taxonomic Index. *Great Basin Naturalist Memoirs* **13**:1-1553.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**:323-354.
- Zheng, X. 2013. Statistical prediction of HLA alleles and relatedness analysis in genome-wide association studies. University of Washington, Washington.
- Zheng, X., D. Levine, J. Shen, S. M. Gogarten, C. Laurie, & B. S. Weir. 2012. A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. *Bioinformatics* **28**:3326-3328.

### Résumé en français des principaux résultats et conclusions

Nous avons obtenu 50 haplotypes mitochondriaux, qui se répartissent en 2 clusters différenciés correspondant, pour les régions présentes dans les deux études, aux clusters identifiés par Storer et al. (2017). Le Cluster 1 peut être divisé en 3 lignées mitochondriales (A, B et C), et le Cluster 2 scindé en 2 lignées (D et E). Seuls 12 haplotypes ont été retrouvés dans l'aire envahie. Ils appartiennent tous aux lignées A (A1, A2, A3, A5, A6, A7, A8, A9 et A10) et D (D2, D3 et D4).

En ce qui concerne les données RAD-seq, le nombre de groupes le plus parcimonieux obtenu avec *Admixture* est 9. Les résultats obtenus entre marqueur mitochondrial et données RAD-seq sont largement cohérents mais présentent également des différences. En effet, les groupes génomiques 3 à 5 correspondent au Cluster 2 (lignées D et E), et les groupes 6 à 9 au Cluster 1 (mais à la seule lignée A). Cependant, les groupes 1 et 2 correspondant aux lignées mitochondriales B et C (qui semblaient incluses dans le Cluster 1 sur la base des données mitochondriales) apparaissent comme un troisième cluster.

Nos résultats montrent, contrairement aux attendus, que l'histoire de l'invasion de *X. crassiusculus* est très différente de celle de *X. compactus*, bien que les deux espèces partagent de nombreux points communs (origine, biologie, morphologie...). En effet, l'histoire de *X. crassiusculus* s'avère beaucoup plus complexe que celle de *X. compactus* et tous les continents ont été envahis à plusieurs reprises, par différentes sources, et parfois par les deux Clusters.

Nos résultats suggèrent que :

- l'Afrique aurait été envahie suite à plusieurs introductions indépendantes par le Cluster 1, potentiellement depuis l'Indonésie, la Papouasie Nouvelle Guinée ou le Japon, et par le Cluster 2, potentiellement depuis les Etats-Unis ou une localité non échantillonnée. Mais comme pour *X. compactus*, le peu d'informations disponibles sur l'Afrique complique la formulation d'hypothèses sur l'histoire de l'invasion au niveau intracontinental.

- l'Amérique et le Pacifique ont été envahis à plusieurs reprises par différentes sources, avec des phénomènes de « têtes de pont » (c'est à dire que la source de l'invasion est une région elle-même précédemment envahie plutôt qu'une région de la zone native) et de dispersion intracontinentale. Ainsi, nos résultats suggèrent qu'Hawaii aurait été envahi depuis le Japon ou la Papouasie Nouvelle Guinée, puis aurait servi de source pour l'invasion des Etats-Unis continentaux, lesquels auraient ensuite été à l'origine de l'invasion du Canada et de l'Argentine. De façon plus simple, le Costa Rica aurait été envahi directement depuis la région de Shanghai en Chine.

- En ce qui concerne l'Europe, la mise en évidence d'au moins 3 événements d'invasion indépendants infirme notre hypothèse d'une arrivée unique en Italie, qui aurait servi de tête de pont pour le reste du continent européen. Nos résultats suggèrent (i) une invasion en Italie depuis le Japon ou les Etats-Unis, qui aurait servi de source à l'invasion en Espagne, (ii) une invasion du Sud-Est de la France depuis la région de Shanghai qui se serait propagée ensuite vers le Sud et le Sud-Ouest de la France et la Slovaquie, et (iii) une autre invasion en Italie et dans le Sud-Ouest de la France, potentiellement depuis le Japon. Enfin, l'haplotype A9 n'ayant

été retrouvé qu'en Slovénie, il est possible qu'une quatrième invasion indépendante ait eu lieu directement dans ce pays, mais dont l'origine ne peut pour l'instant pas être retracée.

Ces résultats nous ont par ailleurs permis de définir les distributions respectives des deux clusters, qui semblent être principalement allopatriques, le Cluster 1 étant distribué autour des tropiques et le Cluster 2 à des latitudes plus élevées. Cette différence de distribution géographique suggère que les Clusters ont des préférences écologiques différentes, ce qui pourrait expliquer l'échec de la première approche de modélisation pour *X. crassiusculus* (décrite dans le Chapitre 3). Avec les localités assignées aux Clusters 1 et 2, nous allons pouvoir vérifier dans le prochain chapitre si les Clusters possèdent vraiment des niches écologiques différentes et éventuellement modéliser séparément leurs aires de distributions potentielles.

## CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE *X. CRASSIUSCULUS*

Ce chapitre est en préparation pour une soumission à *Diversity and Distributions* :

**Urvois, T.**, Auger-Rozenberg, M.-A., Roques, A., Rossi, J.-P., & Kerdelhué, C. (2021). Modelling the current and future range of the invasive ambrosia beetle *Xylosandrus crassiusculus*: infraspecific genetic structure matters. In prep. for *Diversity and Distribution*



**Résumé en français du contexte, des objectifs de l'étude et des méthodes utilisées**

Nous avons montré dans le Chapitre 4 que *Xylosandrus crassiusculus* est composé de 2 clusters génétiquement différenciés et largement allopatriques. En Europe, seul le Cluster 2 est présent, détecté pour la première fois en Italie en 2003. Le Cluster 1 n'y a encore jamais été observé.

Les objectifs de cette étude sont : (i) de tester l'hypothèse selon laquelle les deux clusters possèdent des niches écologiques différentes, (ii) de modéliser la distribution potentielle de chaque cluster selon le climat actuel (dans le monde entier) et le climat futur (en Europe) en utilisant plusieurs scénarios de changement climatique, afin d'identifier des régions favorables où l'espèce pourrait s'établir ou s'étendre et (iii) de rechercher si l'invasion récente du Cluster 2 en Europe est liée à une modification récente des conditions environnementales suite au changement climatique en cours. D'autre part, le Cluster 1 n'étant pas présent en Europe, nous avons voulu tester si les conditions environnementales n'y étaient pas favorables, ou s'il pourrait s'y établir en cas d'arrivée. Enfin, explorer l'effet du changement climatique nous a permis d'estimer si la probabilité d'établissement de ce Cluster en Europe allait évoluer avec le temps.

Nous avons utilisé les données d'occurrences assignées aux Clusters 1 et 2 présentées dans le Chapitre 4, et ajouté les occurrences déjà assignées issues de publications précédentes. Après filtration des données, nous avons donc obtenu pour les Clusters 1 et 2, 38 et 44 occurrences respectivement.

Nous avons choisi d'utiliser les variables environnementales de la base de données Chelsa, dont la résolution spatiale est supérieure à WorldClim (utilisé au Chapitre 3), afin d'obtenir des prédictions plus précises et de limiter les pertes d'occurrences lors de l'étape de filtration des données. Nous avons sélectionné a priori 7 variables environnementales pouvant influencer la distribution des deux Clusters, 6 variables décrivant la température, et une variable décrivant la saisonnalité des précipitations.

A l'aide de ces 7 variables environnementales, nous avons d'abord comparé les niches écologiques des deux Clusters en utilisant une ACP et une analyse inter-classes, ainsi qu'une analyse de chevauchement de niches. Ces analyses ont ensuite été refaites en ne gardant que les variables effectivement utilisées dans l'étape de modélisation.

Comme nous disposions d'un nombre d'occurrences très limité, nous avons utilisé le package *R* «*MIAMaxent*», récemment mis à disposition par ses auteurs, adapté de l'algorithme *Maxent*. *MIAMaxent* ajoute une étape de sélection, qui permet de garder ou de retirer certaines variables du modèle final en se basant sur des tests statistiques, et fournit la part de la variance expliquée par chaque modèle. Les modèles retenus pour les Clusters 1 et 2 ont été évalués avec le *Continuous Boyce Index*, ce qui a permis de reclasser les résultats du modèles en plusieurs catégories discrètes : « non favorable », « marginal », « favorable » et « optimal ».

Les projections dans le passé et le futur ont été obtenues en utilisant les modèles validés pour le présent avec les valeurs des variables correspondant aux projections passées et futures disponibles. Pour le passé, nous avons utilisé des données historiques pour chaque décennie du XXème siècle. Pour le futur, nous avons utilisé des projections pour 3 scénarios de futurs possibles (SSPs ou trajectoires socio-économiques partagées), chacune calculée par 5 simulations numériques différentes (GCMs) et pour deux périodes : 2041-2070 et 2071-2100.

# **Modelling the current and future range of the invasive ambrosia beetle**

## ***Xylosandrus crassiusculus*: infraspecific genetic structure matters**

T. Urvois<sup>1,2</sup>, M.-A. Auger-Rozenberg<sup>1</sup>, A. Roques<sup>1</sup>, J.-P. Rossi<sup>2\*</sup> & C. Kerdelhué<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> INRAE, URZF, 45075 Orleans, France

<sup>2</sup> UMR CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Institut Agro, Université Montpellier, Montpellier, France

\* These authors contributed equally

### **ABSTRACT**

#### **Aim:**

*Xylosandrus crassiusculus* is an invasive ambrosia beetle comprising two differentiated genetic clusters. We first tested whether these clusters have different ecological niches. We also aimed to determine in which regions each group is most likely to expand, and to assess how their distributions may change in the future. Finally, we explored whether a recent change in habitat suitability could explain why *Xylosandrus crassiusculus* invaded Europe only recently.

#### **Location:**

Global, Europe

#### **Methods:**

We assessed the niche overlap of the two genetics clusters with Schoener's D and Hellinger's I. Species distribution modelling was performed on each cluster using the Maxent algorithm and the R package MIAMaxent. The resulting models were projected according to future and recent past climate datasets. The future projections were performed for two periods 2041-2070 and 2071-2100 using 3 SSPs and 5 GCMs.

#### **Results:**

The two clusters displayed significantly different ecological niches. The suitable area for Cluster 1 was twofold the area for Cluster 2. Europe, the Americas, Sub-Saharan Africa, Central Asia, Oceania and Southeastern Asia were predicted as suitable for Cluster 1. Europe, South America, Central and South Africa, Oceania, Southern Asia and Japan were predicted as suitable for Cluster 2. Habitat suitability is expected to decrease in Southern Europe and increase towards Northeastern Europe in 2071-2100. Most of Southern and Western Europe was predicted as already suitable for both clusters in the early XXth century.

**Main conclusions:**

Both clusters could expand their distributions in different parts of the world, and Cluster 1 could establish in Europe. Climate change is expected to shift both clusters range in Europe. The recent colonization of Europe by Cluster 2 is not due to a change in climate suitability related to climate change but probably to an increase in propagule pressure via international trade. As *X. crassiusculus* is probably accidentally transported with plants as a hitchhiker, we suggest that its dispersal capacity will not be a limiting factor for its future expansions.

**Keywords**

Species Distribution Modelling, Climate change, Niche overlap analysis, Biological invasion

## INTRODUCTION

Pest Risk Analysis (PRA) uses information about a focal species' biology and ecology to estimate its potential pathways, spread speed, and potential ecological, economic and social impacts. To do so, PRA can use Species Distribution Modelling (SDM), which relies on the relationship between distribution data and environmental variables to predict a species' potential geographic range across space and time (EFSA Panel on Plant Health et al. 2018). SDM is widely used to assess species' establishment and expansion risks according to current and future climates. These models can also use historical environmental records to estimate past habitat suitability, thereby giving insight into the factors that constrained the establishment of an invasive species. Indeed, in areas already considered suitable in the past, one can infer that the species did not establish earlier because of reduced propagule pressure or stochastic events. In contrast, in areas considered as unsuitable, it would have failed even with sufficient propagule pressure.

Species can consist of several subspecies or lower taxonomic levels, each possibly showing adaptations to different biotic or abiotic conditions. Yet, SDM is mostly performed at the species level, overlooking subspecific ecological differences. Genetically informed SDM (i.e. SDM performed independently on each infra-specific group) has been shown to give more accurate predictions (Godefroid et al. 2015, Banerjee et al. 2019, Smith et al. 2019) and thus improves PRA and ultimately invasive species management. Indeed, the estimated risk level associated

to a pest species is used to decide whether measures to reduce the invasion risk would be cost-effective and feasible, and if applicable, to propose mitigation measures.

*Xylosandrus crassiusculus* is an ambrosia beetle native of Southeast Asia and invasive worldwide. During the last century, it reached most tropical and subtropical areas worldwide, as well as some countries in temperate regions. It was first detected in Madagascar more than a century ago (Schedl 1953). Later discovered in Hawaii in 1950 (Samuelson 1981) and in North America in 1974 (Anderson 1974), it is now established in 31 states in the USA and one Canadian province. It was discovered in South America in Argentina in 2001 (Kirkendall 2018). Finally, it was detected in Europe in Italy in 2003 (Pennachio et al. 2003), in France in 2014 (Roques et al. 2019), in Spain in 2016 (Gallego et al. 2017) and in Slovenia in 2017 (Kavčič 2018).

Urvois et al. (2021) failed to model *Xylosandrus crassiusculus*' potential distribution and hypothesized that it could be due to the existence of differentiated genetic lineages with different ecological requirements. Indeed, a preliminary study by Storer et al. (2017), suggested that this species is divided into two differentiated clusters, but they did not include specimens from Europe nor South America. Ito and Kajimura (2009) documented a large genetic diversity in Japan and suggested that several subspecies could occur in this country. Unfortunately, because the two studies used different molecular markers and separate samples, it was impossible to relate the reported genetic structures. In Chapter 4, we used a more comprehensive sampling and complementary molecular markers. They confirmed the existence of two clusters and were thereby able to assign specimens worldwide to Cluster 1 or Cluster 2. Both Clusters were only found to co-occur in Oahu Island in Hawaii, South Africa (Nel et al. 2020), Taiwan (Storer et al. 2017), Papua New Guinea, the Guangxi province in China and the Okinawa Island in Japan. Interestingly, only Cluster 2 was found in Europe.

The first goal of the present study was to assess the niche overlap between both clusters to evaluate whether they displayed different ecological preferences. The occurrences available for Clusters 1 and 2 revealed a circumtropical distribution for the former and a more peripheric distribution for the latter; we hypothesized that the Clusters had different realized ecological niches. Our second goal was to estimate their potential distributions according to current climate, to identify (i) new areas where at least one Cluster could establish, (ii) areas where they could currently expand their distributions. In particular, knowing their potential distributions would also help identify new areas where both clusters could co-occur, which could change the invasion dynamic in areas already invaded by one cluster. Our third goal was to explore the effect of climate change on both Clusters' potential distributions in Europe, the most recently

invaded continent. This would allow identifying the areas where Cluster 2 could expand and, conversely, if some areas could become unsuitable in the future. In addition, it would enable to assess whether suitability in Europe would increase for Cluster 1, and identify potential areas where it could establish. Finally, the fourth goal of this study was to test the hypothesis that environmental conditions in Europe were unsuitable for *X. crassiusculus* in the past and that ongoing climate change has played a role in its recent colonization of this continent by increasing Europe's suitability. To answer our three last objectives, we performed SDM separately on *Xylosandrus crassiusculus*' Clusters 1 and 2 using the Maxent algorithm on (i) current climate, (ii) future climate conditions for 2041-2070 and 2071-2100 using 3 SSPs and 5 GCMs, and (iii) past climate conditions for each decade of the XXth century.

## METHODS

Data analysis and graphical displays were performed using the R Software (R Core Team 2020).

### OCCURRENCE DATA

Records of *X. crassiusculus* specimens unambiguously assigned to each cluster were retrieved from Chapter 4 (Table 1). We thus obtained 74 records, including 32 for Cluster 1 and 42 for Cluster 2. In addition, nine records from Storer et al. (2017) were also used, including 7 for Cluster 1 and 2 for Cluster 2. We then removed the duplicated data by withdrawing all but one occurrence by pixel of the climate raster (see below), and obtained 38 and 44 records for Cluster 1 and Cluster 2, respectively (Figure 1).

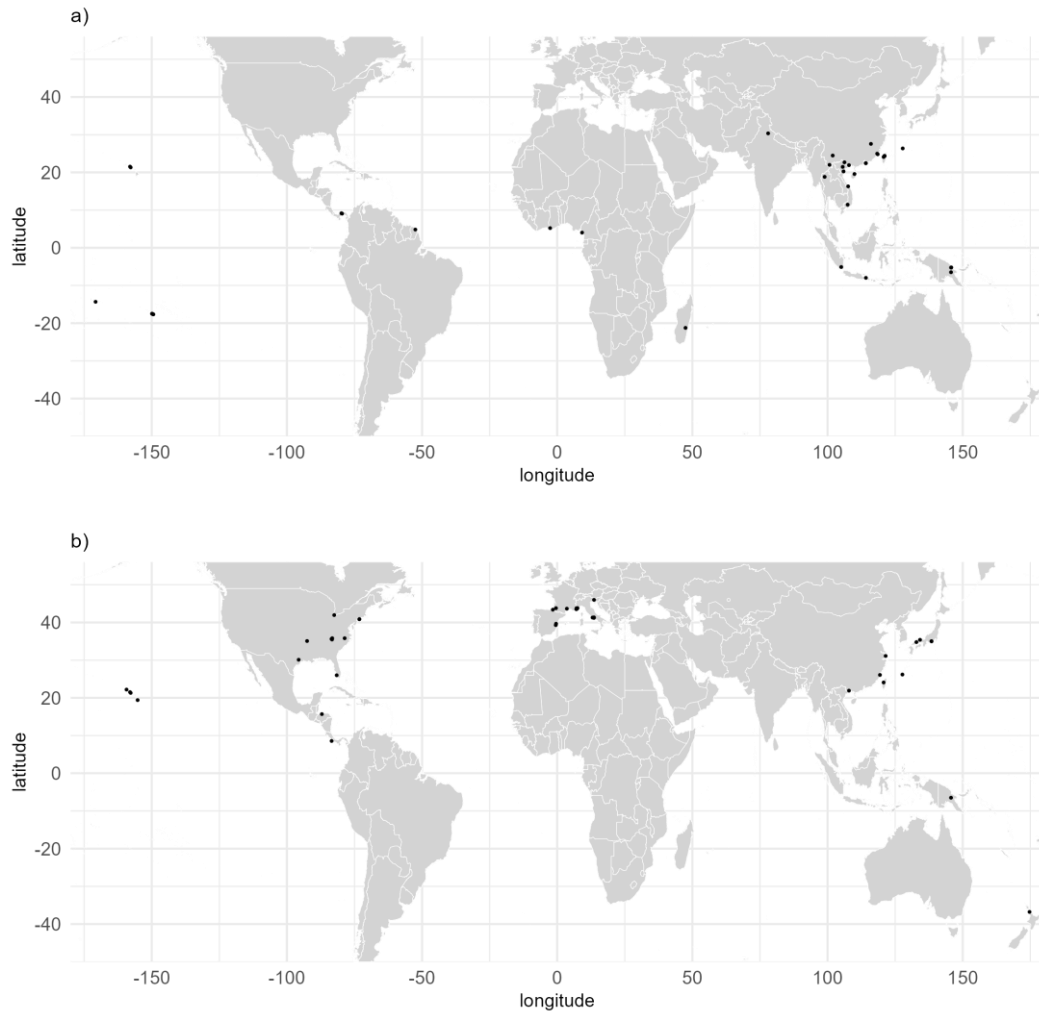


Figure 1: Occurrence data used in the present study for *Xylosandrus crassiusculus*’ a) cluster 1 and b) cluster 2, after duplicate removal. The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).

# CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE X. CRASSIUSCULUS

**Table 1: Metadata of the occurrence used to perform the ecological niche testing and species distribution modelling.**

| Source     | DOI | Country     | Locality                            | Longitude   | Latitude   | Clusters identified |
|------------|-----|-------------|-------------------------------------|-------------|------------|---------------------|
| Genbank    | -   | Canada      | Point Pelee National Park           | -82.521121  | 41.963035  | Cluster 2           |
| Genbank    | -   | China       | Shanghai                            | 121.484815  | 31.117381  | Cluster 2           |
| Genbank    | -   | China       | Taiwan                              | 121.034979  | 24.378205  | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | France      | Mont Marau                          | -149.533642 | -17.616569 | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | France      | Moorea Island                       | -149.830566 | -17.538696 | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | France      | Motu Tiahura                        | -149.912126 | -17.487315 | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | France      | Tahiti Island                       | -149.408785 | -17.671191 | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | India       | Dehra Dun                           | 78.007862   | 30.340226  | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | Japan       | Okinawa                             | 127.801188  | 26.344871  | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | Japan       | Shizuoka                            | 138.433248  | 35.036829  | Cluster 2           |
| Genbank    | -   | Madagascar  | Madagascar                          | 47.450575   | -21.251591 | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | Panama      | Panama                              | -79.591211  | 9.047692   | Cluster 1           |
| Genbank    | -   | USA         | Collier Seminole State Park         | -81.591780  | 25.991611  | Cluster 2           |
| Genbank    | -   | USA         | Great Smoky Mountains National Park | -83.498914  | 35.621094  | Cluster 2           |
| Genbank    | -   | USA         | Toad Suck Park                      | -92.545166  | 35.076680  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | China       | Gushan                              | 119.378934  | 26.077160  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | China       | Hainan                              | 109.94968   | 19.56639   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Kadoorie Farm                       | 114.11735   | 22.43348   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Nanan                               | 118.351019  | 24.954197  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Qishan                              | 118.554052  | 24.801866  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Shiwandashan                        | 107.908814  | 21.907674  | Both                |
| INRAE team | -   | China       | Tai Po Kau                          | 114.183144  | 22.423068  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Xiangshan                           | 116.039123  | 27.554360  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | China       | Yunnan                              | 101.902729  | 24.462307  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | Costa Rica  | Osa Peninsula                       | -83.467554  | 8.562002   | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Cap d'Ail                           | 7.402091    | 43.728410  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Cap Ferrat                          | 7.329719    | 43.676092  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Carrefour de Gallion                | -52.486669  | 4.824021   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | France      | Gignac                              | 3.556011    | 43.651232  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Menton                              | 7.480549    | 43.807742  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Mont Boron                          | 7.300049    | 43.695819  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Nice Albert 1er                     | 7.267888    | 43.695849  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Nice Vallée du Var                  | 7.138146    | 43.798166  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Saint Jean de Luz                   | -1.629137   | 43.387619  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Sainte-Marguerite                   | 7.048594    | 43.519819  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | St Maurice/Adour                    | -0.468759   | 43.791172  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | France      | Villa Thuret                        | 7.124504    | 43.563996  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Indonesia   | Bangunrejo                          | 105.05574   | -5.10875   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | Indonesia   | Blawan                              | 114.18852   | -7.97783   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | Italy       | Parco Monti Aurunci                 | 13.582557   | 41.346504  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Italy       | Parco Riviera di Ulisse             | 13.576837   | 41.211806  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Italy       | Sabaudia                            | 13.046848   | 41.297216  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | New Zealand | Auckland                            | 174.705786  | -36.779685 | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Panama      | Barro Colorado Island               | -79.846797  | 9.151401   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | PNG         | Kugofanka                           | 145.663778  | -6.491987  | Both                |
| INRAE team | -   | PNG         | Ohu                                 | 145.67463   | -5.25868   | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | Slovenia    | Podsobotin                          | 13.60881    | 45.98851   | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Spain       | El Tello                            | -0.548752   | 39.305396  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Spain       | Naquera                             | -0.433665   | 39.662251  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | Taiwan      | Dayueshan                           | 121.118537  | 24.331903  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | USA         | Cherokee                            | -83.320107  | 35.477122  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | USA         | Cosby                               | -83.247855  | 35.816781  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | USA         | Leone                               | -170.78101  | -14.33772  | Cluster 1           |
| INRAE team | -   | USA         | Long Island                         | -73.202186  | 40.887575  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | USA         | Manoa Valley                        | -157.80398  | 21.31564   | Both                |
| INRAE team | -   | USA         | Molokai Bay                         | -159.334457 | 22.198215  | Cluster 2           |
| INRAE team | -   | USA         | Poamoho Ridge                       | -158.04219  | 21.52029   | Both                |

|                    |                   |                  |                                  |                |               |           |
|--------------------|-------------------|------------------|----------------------------------|----------------|---------------|-----------|
| INRAE team         | -                 | USA              | Raleigh                          | -78.640260     | 35.813624     | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | USA              | Smithtown                        | -73.223589     | 40.848349     | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | USA              | Tomball                          | -95.653569     | 30.102794     | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | USA              | Vulcano Nat. Park, Hawaii Island | -155.224596    | 19.405169     | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | Vietnam          | Cao Bang                         | 106.248813     | 22.661750     | Cluster 1 |
| INRAE team         | -                 | Vietnam          | Dong Nai Cat Tien Nat. Park      | 107.428165     | 11.424827     | Cluster 1 |
| INRAE team         | -                 | Vietnam          | Ninh Binh                        | 105.903659     | 20.245171     | Cluster 1 |
| INRAE team         | -                 | Vietnam          | Tam Dao                          | 105.597752     | 21.452504     | Cluster 1 |
| INRAE team         | -                 | Vietnam          | Thua Tien Hue                    | 107.609195     | 16.278460     | Cluster 1 |
| INRAE team         | -                 | Japan            | Miyoshi                          | 132.85         | 34.7833333333 | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | Japan            | Naha                             | 127.6833333333 | 26.1833333333 | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | Japan            | Shizuoka                         | 138.4666666667 | 34.9833333333 | Cluster 2 |
| INRAE team         | -                 | Japan            | Tottori                          | 134.2          | 35.4          | Cluster 2 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Cameroon         | Limbe                            | 9.179169       | 4.018047      | Cluster 1 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | China            | Xishuangbanna                    | 100.701200     | 21.981952     | Cluster 1 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Ghana            | Ankhasa                          | -2.650684      | 5.213139      | Cluster 1 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Honduras         | Atlantida                        | -87.073269     | 15.692140     | Cluster 2 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Madagascar       | Ranomafana                       | 47.450575      | -21.251591    | Cluster 1 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Papua_new_guinea | Madang                           | 145.775979     | -5.223434     | Cluster 1 |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Taiwan           | Dali                             | 120.727823     | 24.083783     | Both      |
| Storer et al. 2017 | 10.1002/ece3.3625 | Thailand         | Doi Pui                          | 98.915756      | 18.806820     | Cluster 1 |

**Table 1 (Continued)**

## ENVIRONMENTAL VARIABLES

We used the Chelsa dataset, which provides worldwide environmental layers with a 30 arc-second resolution ( $\approx 1 \text{ km}^2$  at the equator) for the past, current, and future climate conditions (Karger et al. 2017, 2018, Karger & Zimmermann 2018, Karger et al. 2020). Current climate conditions were calculated using monthly data for 1979-2013. We also used forecasts of future climate conditions described for two periods, 2041-2070 and 2071-2100, and calculated for three of the CMIP6 Shared Socio-Economic Pathways (SSPs), namely SSP1-2.6, SSP3-7.0 and SSP5-8.5. SSPs represent different future scenarios named after their narrative (i.e. potential socio-economic development, ranging from 1 to 5) and radiative forcing value (i.e. change in energy flux, from 2.6 to 8.5  $\text{W/m}^2$ ), ranging from the most optimistic SSP1-2.6 to the most pessimistic SSP5-8.5. For each SSP, we used five Global Circulation Models (GCMs), numerical models simulating the effect of the modifications of the greenhouse gases concentrations on the climate, named GFDL-ESM4, IPSL-CM6A-LR, MPI-ESM1-2-HR, MRI-ESM2-0 and UKESM1-0-LL (see Lange (2021) for the details on the GCM selection). Past climate conditions were described for each decade from 1901-1910 to 1991-2000 on the basis of the monthly data from CHELSAcruts (Karger & Zimmermann 2018) using the biovar function from the R package ‘dismo’ (Hijmans et al. 2017).

We *a priori* selected seven climate descriptors assumed to be potential drivers of *X. crassiusculus*’ distribution, to analyse both the relative niches of both clusters and their potential

distributions. Six were associated with temperatures: the average temperatures of the warmest, coldest, wettest and driest quarters (bio8, bio9, bio10, bio11, respectively), the maximum temperature of the warmest month (bio5) and the coldest temperature of the coldest month (bio6). The last variable was the precipitation seasonality (bio15) which can be considered as a proxy for the water-related stress (Dannenberget al. 2019), and thus increases tree susceptibility to *Xylosandrus crassiusculus* (Ranger et al. 2015). *X. crassiusculus*’ spending most of its life buried in galleries, variables linked to monthly and quarterly precipitation were assumed to be less relevant and discarded.

## ECOLOGICAL NICHE COMPARISON BETWEEN CLUSTERS

We first wanted to test whether the two genetic clusters displayed different ecological preferences. Since choosing the climate variable that should be involved in niche comparison has a strong impact on the output of the test, we adopted a 2 step-strategy:

In the first step we used the seven environmental variables selected above (bio5, bio6, bio8, bio9, bio10, bio11 and bio15). We then performed a Principal Component Analysis (PCA) and used the Between-Class Analyses (Thioulouse et al. 2018) to compare the inertia associated to each cluster. Computations were done using the ‘ade4’ R package (Dray & Dufour 2007). The niche overlap between the two clusters was assessed using the R package ‘ecospat’ (Broennimann et al. 2021) to calculate Schoener’s D (Schoener 1968) and Hellinger’s based I (Warren et al. 2008) indices and the p-values of their respective unilateral tests. The background environment used to calculate the clusters’ niche overlap was characterized using six areas encompassing all occurrences used in this study (Supplementary Figure 1).

In the second step, we ran the same analyses using only the environmental variables retained by the variable selection procedure implemented in the model calibration (bio5, bio9, bio11 and bio15, see Results) to ensure that the results obtained remained similar with a reduced environmental dataset.

## SPECIES DISTRIBUTION MODELLING

### Modelling

*Xylosandrus crassiusculus*’ invasion is still ongoing, its geographical range is therefore constantly changing. Such a non-equilibrium situation in the studied range makes it difficult to identify locations where the species is absent because of environmental conditions (i.e. true

absences), from locations where it is absent because of dispersion limitation (i.e., the species did not reach this region so far). In such situations, presence-only algorithms are recommended (Guisan et al. 2017). The Maxent algorithm uses presence data and background points (Phillips et al. 2006): the latter correspond to locations where the species' presence is not documented and provides information about the environmental conditions across the study area. It has been widely adopted in the last decade because of its easy accessibility (Ahmed et al. 2015) and high-performance results (Elith et al. 2006). Maxent can identify complex relationships between the predictors, which can increase the prediction accuracy but may lead to poor transferability when the model is used with new climate conditions (e.g. new region or future climate conditions) (Beaumont et al. 2016). We used the 'MIAMaxent' R package (Vollering et al. 2019), which adapts Maxent with a different penalization method. The latter penalizes the models' complexity with lasso regularization, which keeps all predictors and transformations but shrinks their coefficients to balance fit quality and model complexity. MIAMaxent, on the other hand, relies on subset selection and performs a forward stepwise selection to either discard or retain variables and their transformation. This leads to simpler models, which are thus more easily interpretable, better for small sample sizes and more transferable for spatial or temporal projections (Elith et al. 2010, Moreno-Amat et al. 2015).

Six transformations types were used on the environmental variables to create transformed variables: linear, monotonous, deviation, forward hinge, reverse hinge and threshold. The significance threshold in the subset selection was 0.05, and the best model for each Cluster was selected among the significant models ( $p < 0.05$ ) based on the fraction of the deviance it explained ( $D^2$ ). The modelling approach was performed separately for each Cluster. In each case, 10,000 background points were generated by randomly sampling locations in five and six areas encompassing all occurrences of Cluster 1 and Cluster 2, respectively (Supplementary Figure 2, Supplementary Figure 3).

## Model evaluation

Model performance was assessed using the Continuous Boyce Index (CBI) (Hirzel et al. 2006), a metric developed to evaluate presence-only models. This method consists in dividing the range of the habitat suitability values into classes and calculating the frequency of occurrences falling into each class (P) and the expected frequency of points falling into each class after random reallocation (E). CBI corresponds to the Spearman-ranked correlation between P/E and

the suitability classes (Hirzel et al. 2006). The CBI ranges from -1 to 0 and 1, corresponding to counter-prediction, randomness and perfect prediction, respectively. CBI was calculated using the 'ecospat' package (Broennimann et al. 2021). Independent data points should ideally be used to assess model quality, but such data are not often available. Here, due to the very limited number of occurrence points available and the difficulty of collecting genetically verified location for each Cluster, we had to compute the CBI using the dataset used for model calibration. Following Hirzel and collaborators (Hirzel et al. 2006), we identified climate suitability thresholds for Cluster 1 and Cluster 2. These thresholds were used to reclassify climate suitability into three classes for Cluster 1, namely unsuitable, marginal and suitable climatic conditions, and a fourth class for Cluster 2 by adding optimal climatic conditions (see Results). The marginal areas correspond to climatic conditions nearing the species' tolerance limits and where the populations' growth rate is expected to be positive but low, while the optimal areas correspond to climatic conditions where the species can thrive. Finally, we computed the proportion of the area corresponding to each class worldwide and in the focal area including most of Europe and the Mediterranean area, comprised between longitudes 20° W and 50° E and latitudes 27.5° N and 70° N. The Area Under Curve (AUC) typically uses presence-absence data but is widely calculated (Ahmed et al. 2015) even in presence-only modelling experiments and was thus computed for comparison purposes.

The area predicted as unsuitable for *X. crassiusculus* was computed by combining predictions for both clusters. In addition, we retrieved the occurrences used in a previous study and for which no genetic assignment was available (Urvois et al. 2021), discarded points falling inside the same pixel of the climate raster, and projected them on this map to assess whether some fell into unsuitable areas.

## POTENTIAL DISTRIBUTION UNDER PAST AND FUTURE CLIMATE CONDITIONS

The two models were projected in the focal area using the past and future climate datasets described in the *Environmental variables* part above. The past and future projections were restricted to the focal area (Europe and the Mediterranean).

### Past

For each Cluster, we built 11 maps depicting the potential distribution for each decade from 1901-1910 to 2001-2010. These maps were reclassified using the thresholds yielded by the

Boyce index approach described above, and the proportion of the area occupied by each class was computed.

## Future

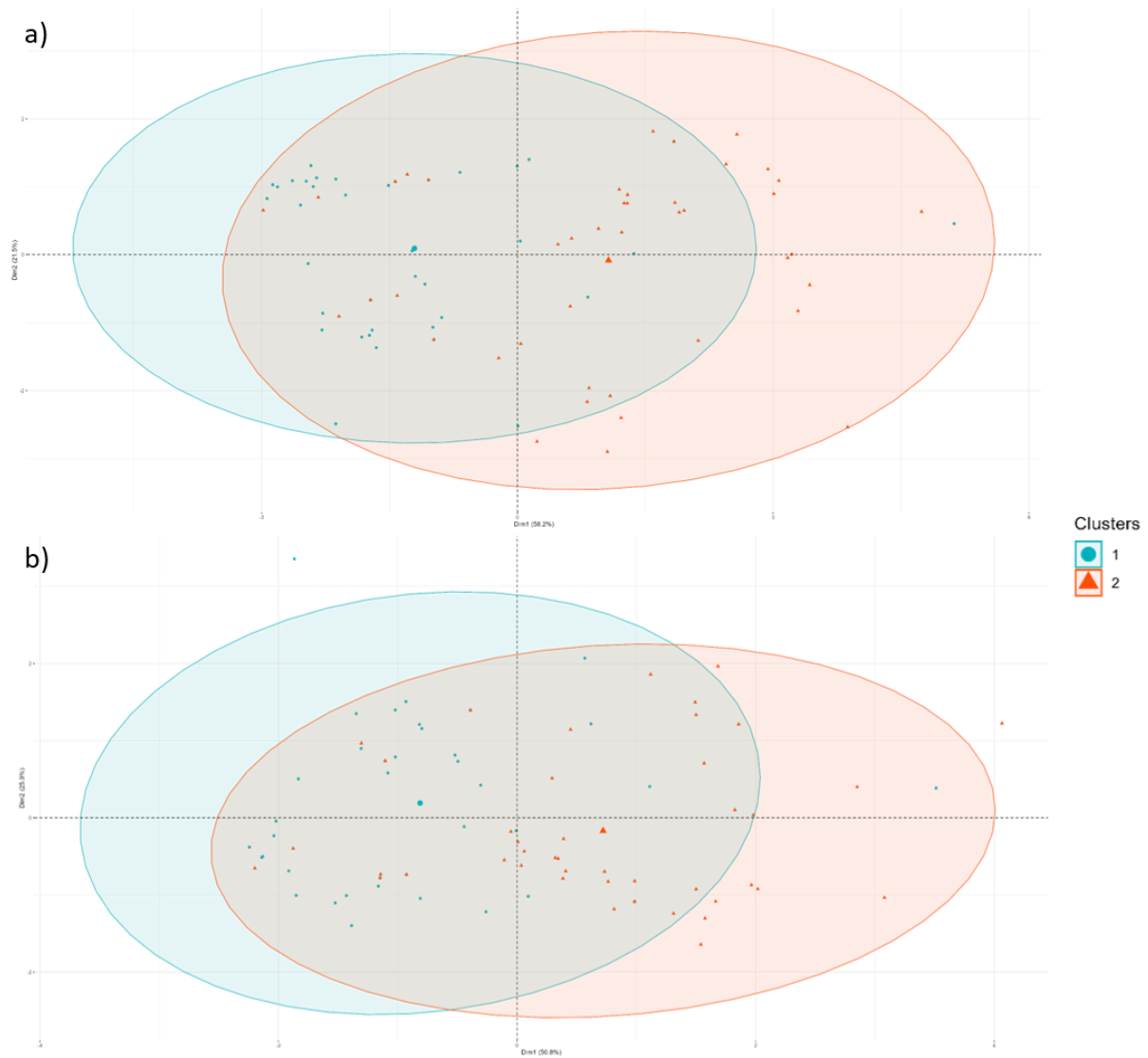
We focused on 3 SSPs (SSP1-2.6, SSP3-7.0 and SSP5-8.5) projected in two periods (2041-2070 and 2071-2100) leading to a total of six possible future conditions. The predictions were computed for each of the five selected GCMs for each future condition. The corresponding maps were reclassified using the thresholds described above to get binary maps showing unsuitable and suitable areas, the latter combining marginal, suitable and optimal areas. These maps were averaged to derive an ensemble forecast representing the agreement between models, uncertainty and prediction (i.e. committee averaging (Marmion et al. 2009, Meller et al. 2014)). Finally, to identify areas where the 5 GCMs had divergent predictions, we reclassified the areas into three categories: (i) suitable (i.e. habitat suitability = 100% of models predicting as suitable), (ii) unsuitable (i.e. habitat suitability = 0%), and (iii) disagreement areas (i.e.  $0\% < \text{habitat suitability} < 100\%$ ).

## RESULTS

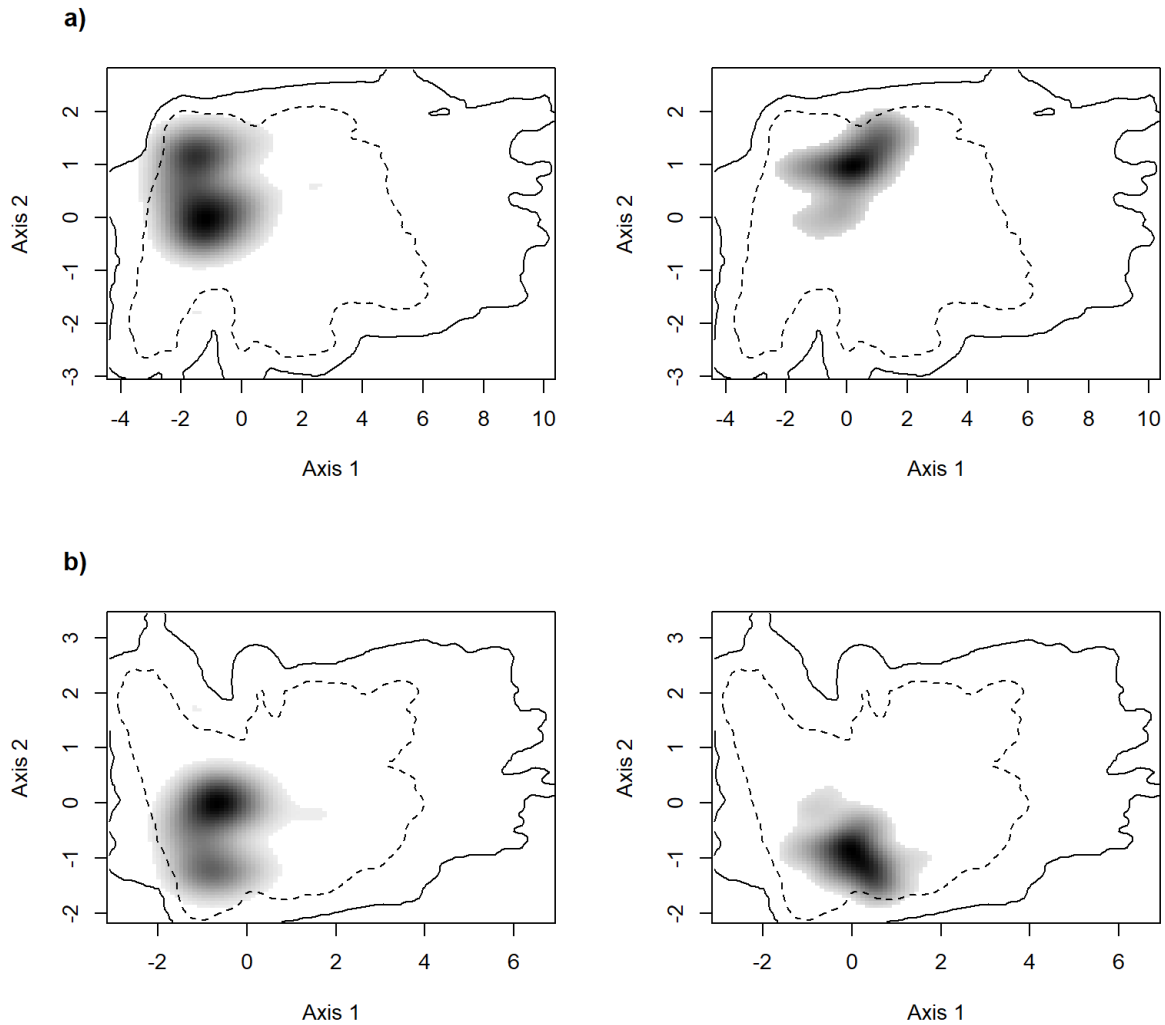
### ECOLOGICAL NICHE COMPARISON BETWEEN CLUSTERS

Using the seven variables selected *a priori*, the PCA revealed that the two first principal components corresponded to 75% of the total inertia. The between-group analysis attributed 20.6% of the inertia to the clusters, and the Monte Carlo test showed a significant difference between Clusters 1 and 2 ( $p < 0.001$ ) (Figure 2a). The ecological niche test showed that the two clusters exhibited significantly different climatic niches ( $p < 0.001$ ), with a Shoeners' D of 0.023 and a Hellingers' based I of 0.10 (Figure 3a, Supplementary Figure 4).

The results obtained when running the same analyses with the four variables retained in the MIAMaxent models were similar. The combined axes 1 and 2 of the PCA explained 70% of the inertia; the clusters were responsible for 17.6% of the total inertia, and the Monte Carlo test showed a significant difference between the two clusters ( $p < 0.01$ ) (Figure 2b). The test of ecological niche overlap showed a significant difference between the two clusters, with a Shoeners' D of 0.172 ( $p = 0.040$ ) and a Hellingers' based I of 0.310 ( $p < 0.01$ ) (Figure 3b, Supplementary Figure 4).



**Figure 2:** Graph of the individuals based on the first two axes of the Principal Component Analysis based on a) the seven environmental variables selected a priori (bio5, bio6, bio8, bio9, bio10, bio11 and bio15), and the four environmental variables in the models (bio5, bio9, bio11 and bio15). Specimens from clusters 1 and 2 are represented in blue and orange, respectively. The ellipses represent a 95% interval confidence.



**Figure 3: Bivariate plots of the ecological niche of cluster 1 (left) and cluster 2 (right), calculated on a) the seven environmental variables selected a priori (bio5, bio6, bio8, bio9, bio10, bio11 and bio15), and b) the four environmental variables retained in the models (bio5, bio9, bio11 and bio15)**

## SDM UNDER CURRENT CONDITIONS

### Cluster 1

MIAMaxent performed three selection rounds for Cluster 1 and transformed the seven environmental variables into 62 transformed variables. The best model accounted for 6.8% of the null deviance ( $p < 0.01$ ) and comprised the variables bio5, bio9 and bio15, accounting for 11.8%, 42.6%, and 45.6% of the total variation. The best model comprised four transformed variables, two of which included a deviation–type transformation with a parameter value of 1 and 2, bio9 and bio15, respectively. The variable bio9 had a threshold transformation for knot

value of 11, and bio5 had a forward hinge transformation with a knot in the 15<sup>th</sup> position. The AUC was 0.815, and the CBI was 0.9. Two thresholds were identified (th1 = 0.28029119 and th2 = 0.5347342) and were used to reclassify climate suitability into three categories corresponding to unsuitable, marginal and suitable climatic conditions.

The worldwide highest climate suitability predicted by the model was 0.79. Around 70% of the total landmass was predicted as non-suitable for Cluster 1 (Supplementary Figure 5). Marginally suitable areas represented 21% and were encountered in Sub-Saharan Africa, Western Europe, Southeastern Asia, and in South America from Guatemala to Brazil (Figure 4). The remaining 9% were predicted as suitable areas and were mainly distributed in Argentina, South Africa, the USA, Australia and Southeastern China.

Around 16% of the focal area was considered as marginally suitable for *X. crassiusculus*' Cluster 1. These marginal areas were mostly found in France, Spain, Italy, Greece, Turkey and the Northern parts of Morocco, Algeria and Tunisia. The suitable areas represented 7% of the focal area and consisted of a few patches in Northwestern Spain, Brittany (France), the United Kingdom, Turkey and the surroundings of the Azov Sea.

## Cluster 2

MIAMaxent performed four selection rounds for Cluster 2 and transformed the seven environmental variables into 55 transformed variables. The best model accounted for 12.1% of the null deviance ( $p < 0.0001$ ) and included variables bio5, bio11 and bio15, accounting for 28.1%, 37.2%, and 34.7% of the total variation. It comprised six transformed variables, three of which included a deviation-type transformation with a parameter value of 1, namely bio5, bio11 and bio15, and bio15 with a parameter of 5. The variable bio11 had a reverse hinge transformation with a knot in the 10<sup>th</sup> position, and bio15 had a forward hinge transformation with a knot in the 7<sup>th</sup> position. The AUC was 0.879, and the CBI was 0.901. Three thresholds could be identified (th1 = 0.14448742, th2 = 0.42376512, and th3 = 0.72049767) and were used to reclassify climate suitability into four categories corresponding to unsuitable, marginal, suitable and optimal climatic conditions.

The worldwide highest suitability for Cluster 2 was 0.97. Around 13% of the landmass area was predicted to be at least marginally suitable (9% considered marginal, 3% suitable, and 1% optimal, Supplementary Figure 5). Marginal and suitable areas were distributed in Southwestern USA, Argentina, Central Africa, South Australia, and Europe in the invasive area, and China and Japan in the native area (Figure 5). Optimal areas were found in the invaded

range in Argentina, South Africa, Southwestern Australia, Europe, and in the native range in China and Japan.

Around 78% of the focal area was predicted as non-suitable. The climate suitability was higher near the Mediterranean coasts and decreased in most areas with increasing distance to the coast. The optimal areas represented around 2% and were distributed in Northwestern Spain, Southeastern France, Mediterranean coasts from Almeria to Istanbul, and islands in the Eastern Mediterranean. Suitable areas represented 8% of the focal area and were primarily found in Northern Spain, Central France, Northern Italy and near the eastern part of the Adriatic Sea. Marginally suitable areas were found in Southern Spain, from Northern France to the Netherlands, and in the Balkans.

Out of the 420 occurrences remaining from Urvois et al. (2021) after removing occurrences assigned to a genetic cluster and duplicated, 63 fell into areas predicted as unsuitable for both clusters (Figure 6). These records occurred on average at around 50 Km from the nearest suitable pixel, with 36 at less than 10 Km, and 16 between 100 and 225 Km. A total of 36 occurrences out of these 63 fell in *X. crassiusculus*' invaded range, with 31 localized in Central and Northeastern USA. In the native range, nine occurrences fell in Korea and four in Japan.

## SDM PREDICTION UNDER FUTURE CONDITIONS IN THE FOCAL AREA

### Cluster 1

The area predicted as non-suitable by all 5 GCMs ranged between 67% and 70% in the six future conditions (Supplementary Figure 6). For SSP1-2.6, the ensemble model (committee) for 2041-2070 and 2071-2100 yielded similar results, with most of Spain, France, the United Kingdom, Italy, Greece and Turkey predicted as suitable by at least four GCMs (Figure 7). For SSP3-70 and SSP5-8.5, the ensemble models showed a higher disagreement (i.e. areas where GCMs yielded at least two classes) between GCMs in 2071-2100. In 2071-2100, the GCMs disagreed for 25% of the area, while in 2041-2070 they disagreed for 16% and 20% for SSP3-70 and SSP6-8.5, respectively. The models also revealed a shrinkage in the suitable areas in Southern Spain, Central France, Italy and Greece, and increased suitability from the Baltic Sea to Russia.

## CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE X. CRASSIUSCULUS

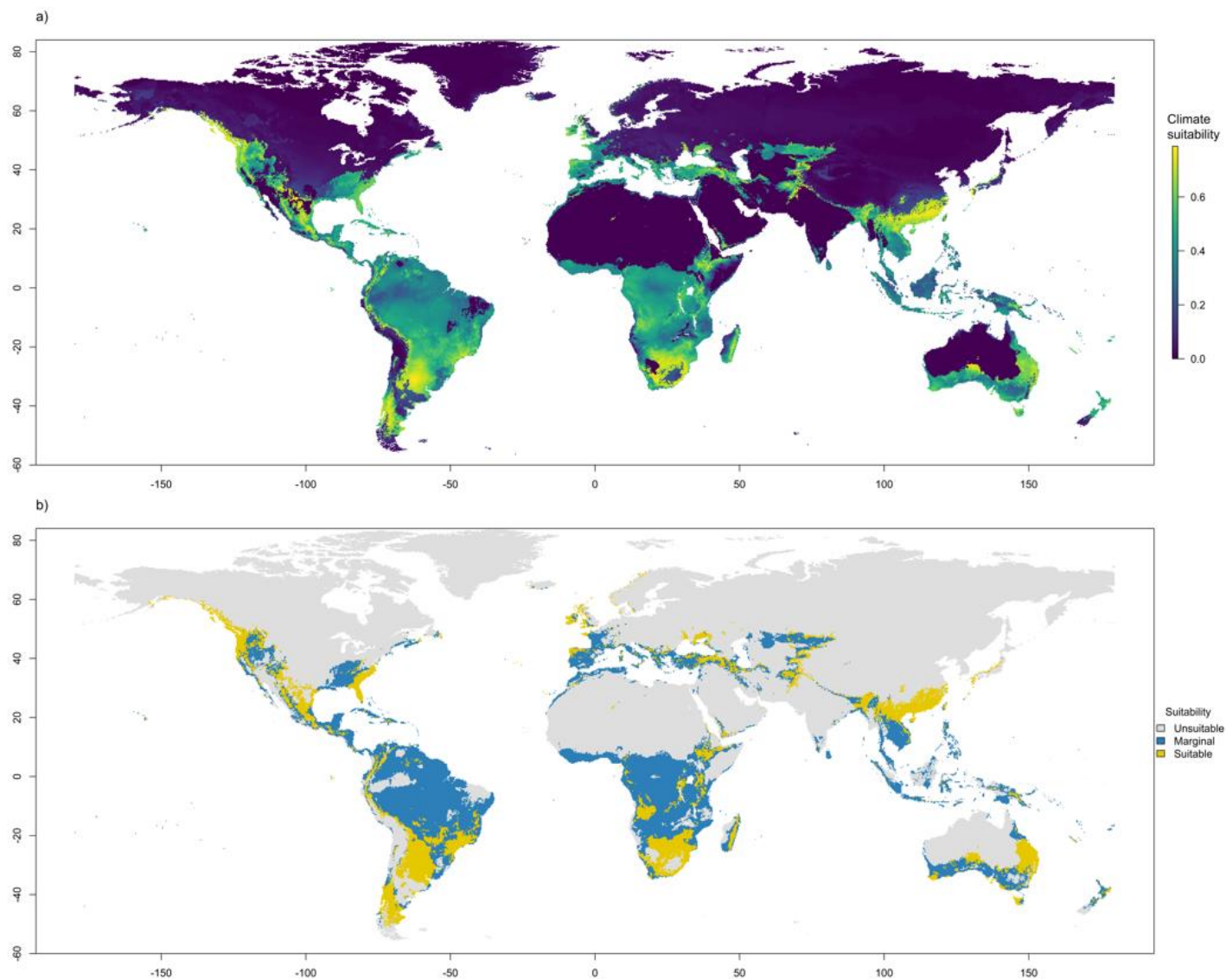


Figure 4: Maps showing a) climate suitability and b) reclassified climate suitability of *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 1 according to current climate conditions. The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).

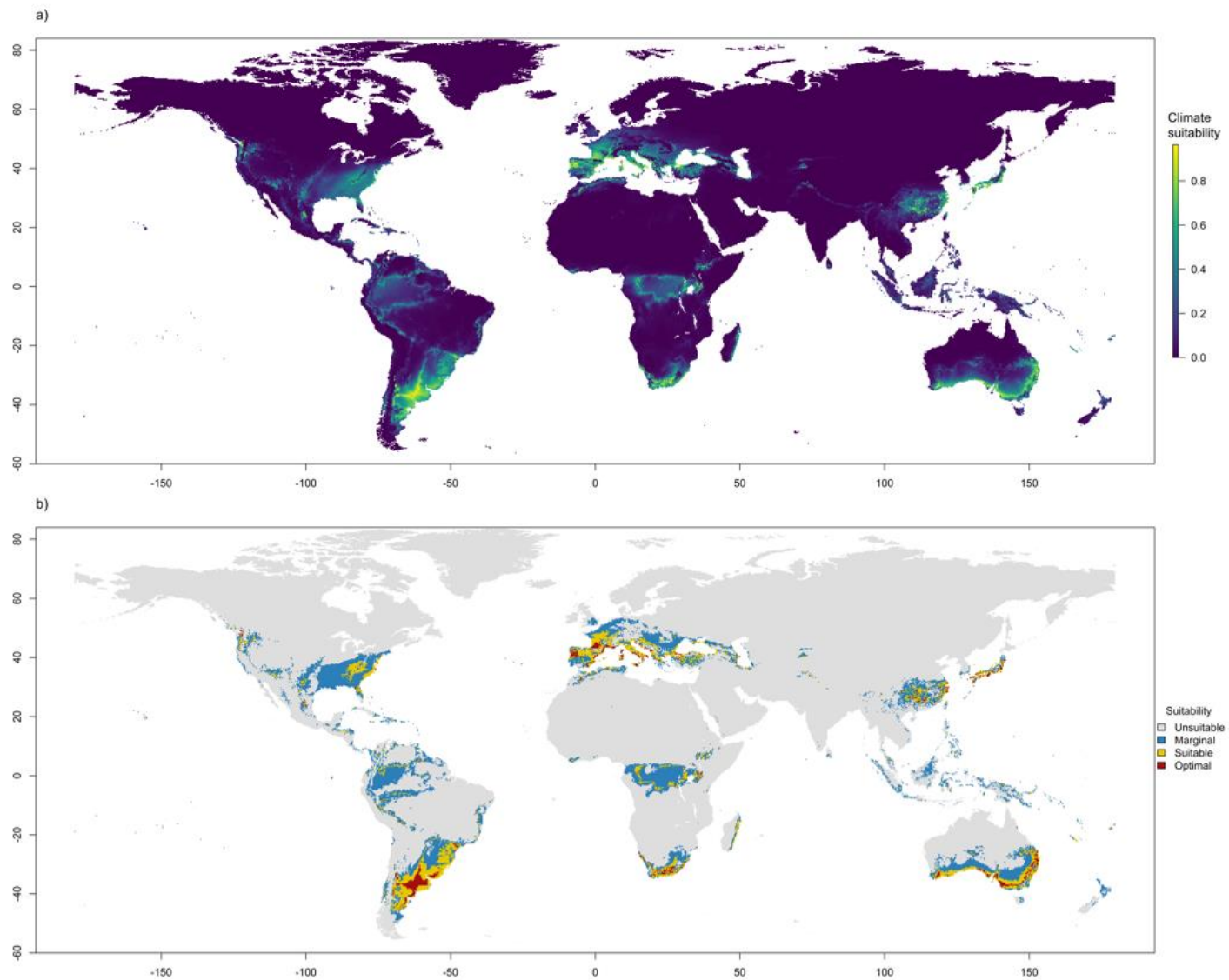
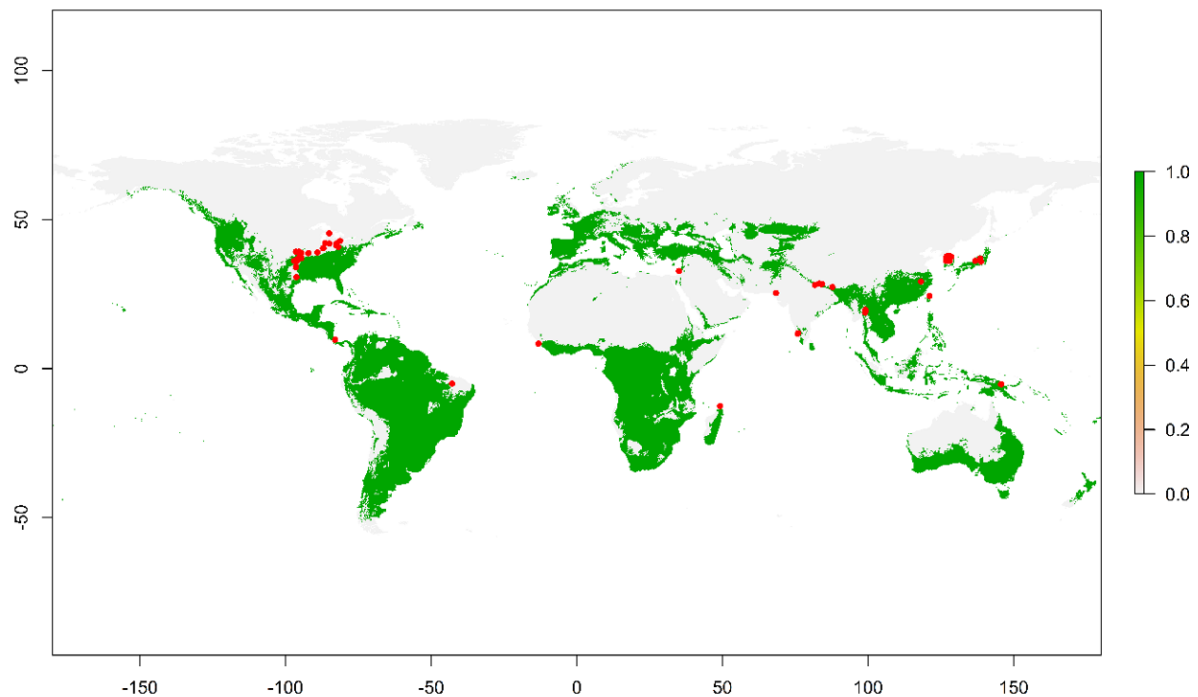


Figure 5: Maps showing a) climate suitability and b) reclassified climate suitability of *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 2 according to current climate conditions. The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).



**Figure 6:** Map showing areas predicted as unsuitable for both clusters of *Xylosandrus crassiusculus*. The red dots represent the occurrences from Urvois et al. (2021) falling into unsuitable areas. The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).

## Cluster 2

The area predicted as non-suitable by all 5 GCMs varied between 58% and 66% in the six future conditions (Supplementary Figure 6). The committee averagings for SSP1-2.6 yielded similar results for 2041-2070 and 2071-2100, with a higher disagreement between GCMs leading to higher suitability in Eastern Europe for 2071-2100 (Figure 8). As for Cluster 1, the committee averagings between the two periods showed a higher disagreement for SSP3-70 and SSP5-8.5, particularly for 2071-2100, with GCMs predicting suitability increase towards Northern and Eastern Europe. The committee averagings also revealed a decrease in climate suitability in Southern Spain, Italy, Greece and Turkey.

## SDM UNDER PAST CONDITIONS IN THE FOCAL AREA

### Cluster 1

Around 25% of the focal area was predicted as at least marginally suitable in 1901-1910, and this value was similar in the following decades, ranging from 23.3% to 29% (Figure 9,

Supplementary Figure 7). Despite variations between decades, the area predicted as marginal and suitable was roughly the same and consisted in the areas predicted as suitable according to current climate. The main variation occurred in the 1960s, with an increase in the suitability around the Azov Sea, followed by a decrease in the 1970s (data not shown).

## Cluster 2

The areas predicted as non-suitable ranged from 77% to 83% in the XXth century, and the marginal, suitable, and optimal areas represented an average of 12%, 7% and 1%, respectively (Supplementary Figure 7). As for Cluster 1, the areas predicted as suitable in the XXth century were similar to those predicted as suitable according to current climate (Figure 10).

# DISCUSSION

## TWO CLUSTERS WITH DIFFERENT CLIMATIC PREFERENCES

*Xylosandrus crassiusculus* is composed of two highly divergent Clusters (Storer et al. 2017, Chapitre 4). Even though genetic differentiation does not necessarily translate into ecological divergence (e.g. Andersen et al. (2012) showed complete overlap in resource utilization in two deeply diverging haplotypes in *Xylosandrus morigerus*), our results revealed divergent but overlapping climatic niches between the two clusters of *X. crassiusculus*. This is in line with the initial hypothesis that the Clusters have different climatic preferences, and in addition to the genetic divergences, suggests that *X. crassiusculus* could be composed of cryptic species rather than clusters.

Cognato et al. (2020) reported that recognizing a new species of ambrosia beetles became more likely when COI distances were over 10-12% and advocated for the involvement of taxonomic experts and the use of integrative tools to set species boundaries. However, while a genetic divergence of 11.8% was observed between clusters, no morphological differences were observed (Cognato, comm. pers.). The evolution of secondary sexual characters – commonly used as morphological characters to distinguish Scolytinae species – is mainly driven by sexual selection. Thus, in species where siblings mate before dispersal, morphological evolution is expected to slow down due to a lack of sexual selection (Jordal et al. 2002), although the lack of outcrossing could help mutation fixation and thus morphological differences. Therefore,

## CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE *X. CRASSIUSCULUS*

reaching a conclusion about the taxonomic status of the Clusters will necessitate a revision of the whole species group (i.e., including all former species currently synonymized with *X. crassiusculus*) using molecular, morphological, ecological and distribution data. Our results are a first step showing some ecological divergence between genetic Clusters.

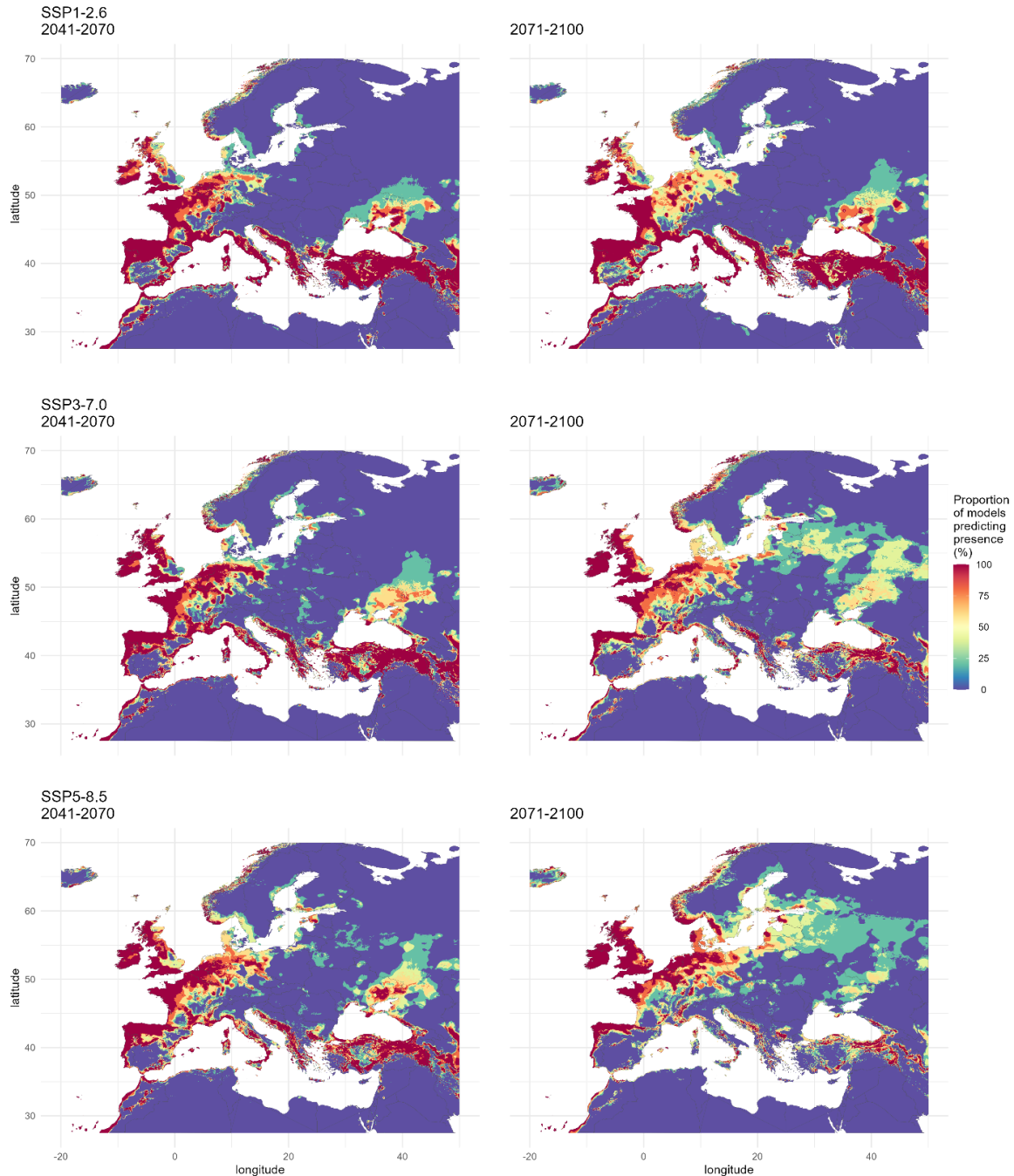
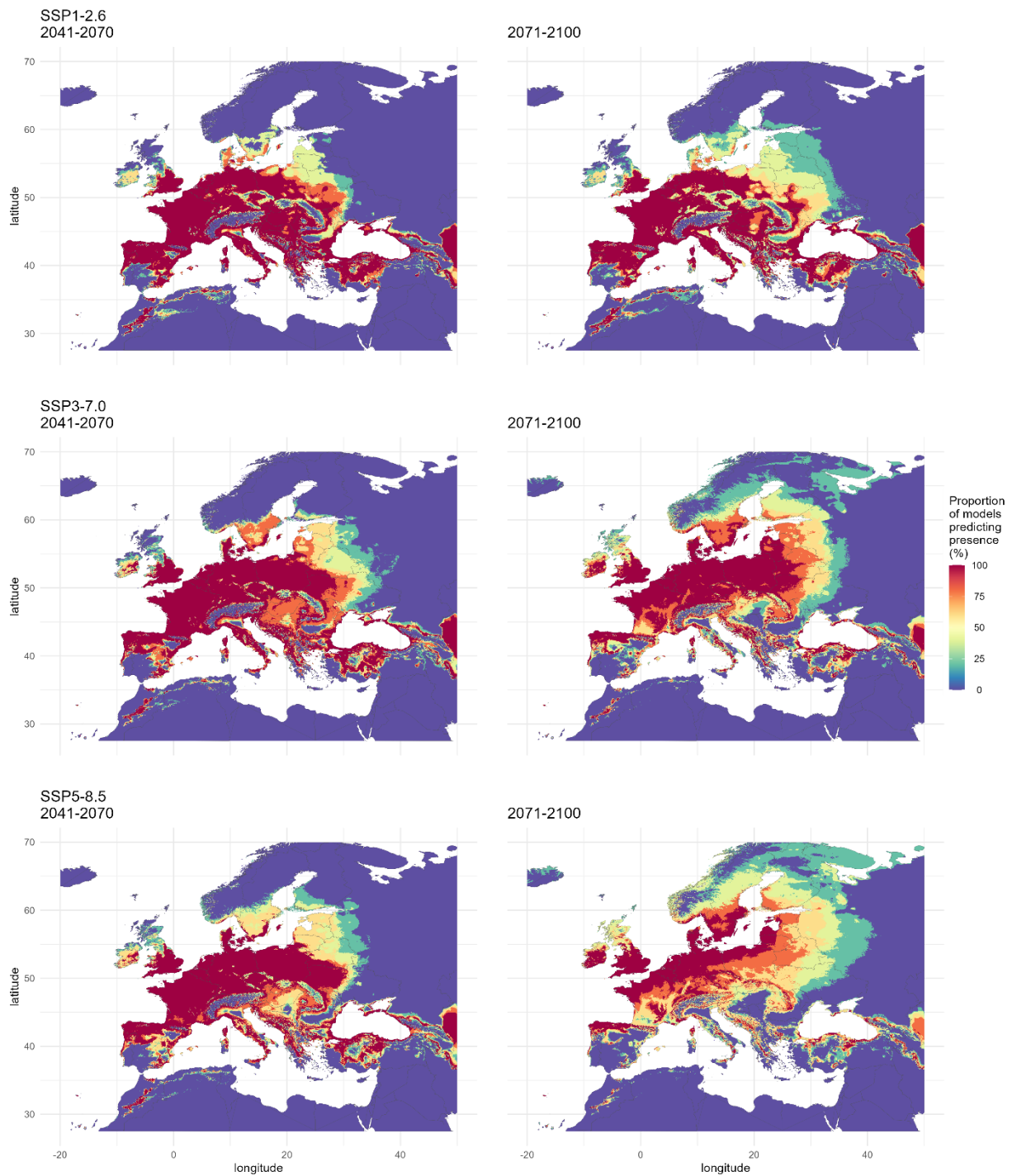


Figure 7: Consensus maps showing habitat suitability for *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 1 in the focal area under future climate conditions for 3 Shared Socio-Economic Pathways (SSP1-2.6, SSP3-7.0 and SSP5-8.5) for two different periods (2041-2070 and 2071-2100). The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).



**Figure 8: Consensus maps showing habitat suitability for *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 2 in the focal area under future climate conditions for 3 Shared Socio-Economic Pathways (SSP1-2.6, SSP3-7.0 and SSP5-8.5) for two different periods (2041-2070 and 2071-2100). The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).**

## CHAPITRE 5 : MODELISATION DE LA DISTRIBUTION POTENTIELLE PASSEE, PRESENTE ET FUTURE DES DEUX CLUSTERS DE X. CRASSIUSCULUS

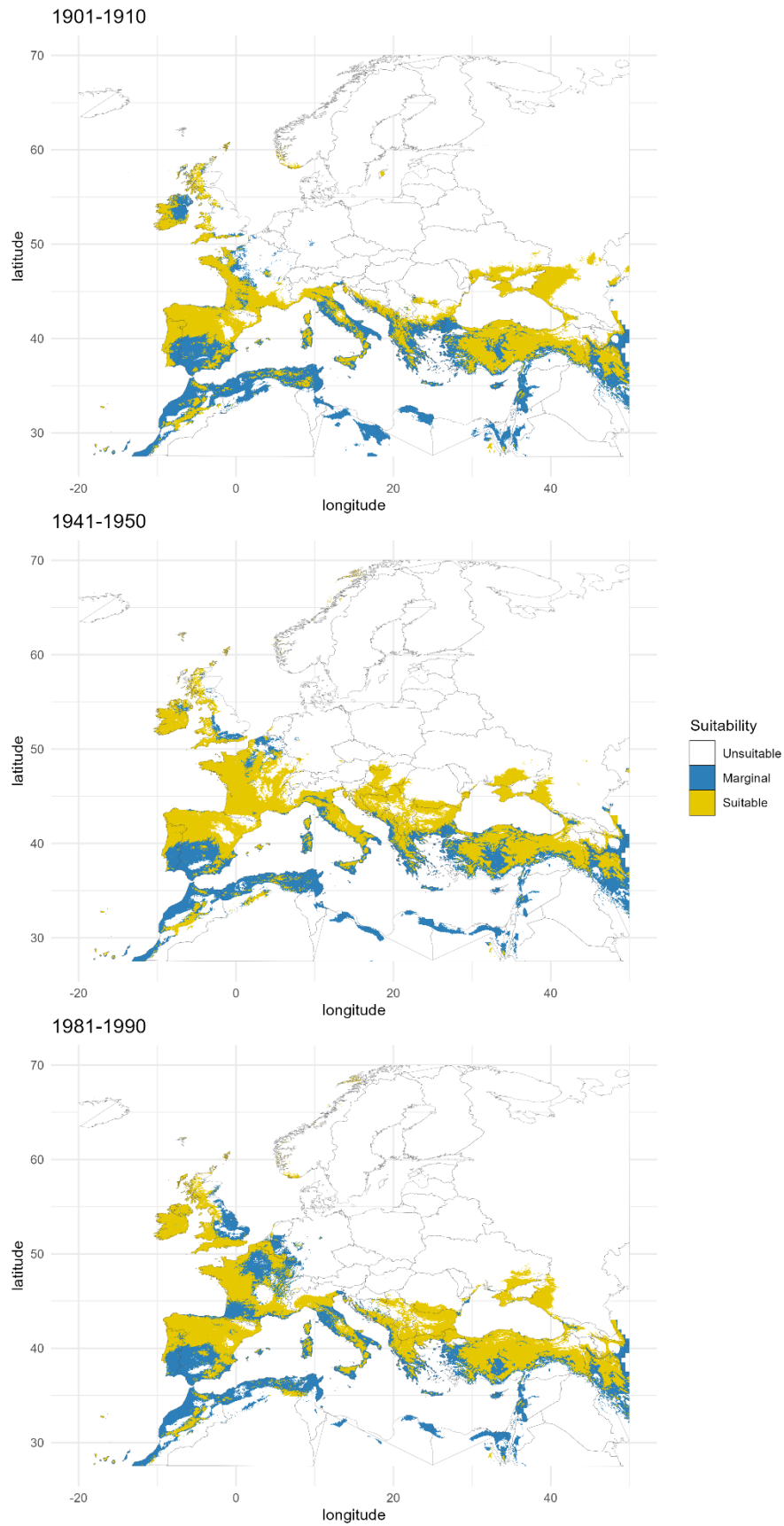


Figure 9: Habitat suitability for *Xylosandrus crassiusculus*’ cluster 1 under past climate conditions for three decades (1901-1910, 1941-1950 and 1981-1990). The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).

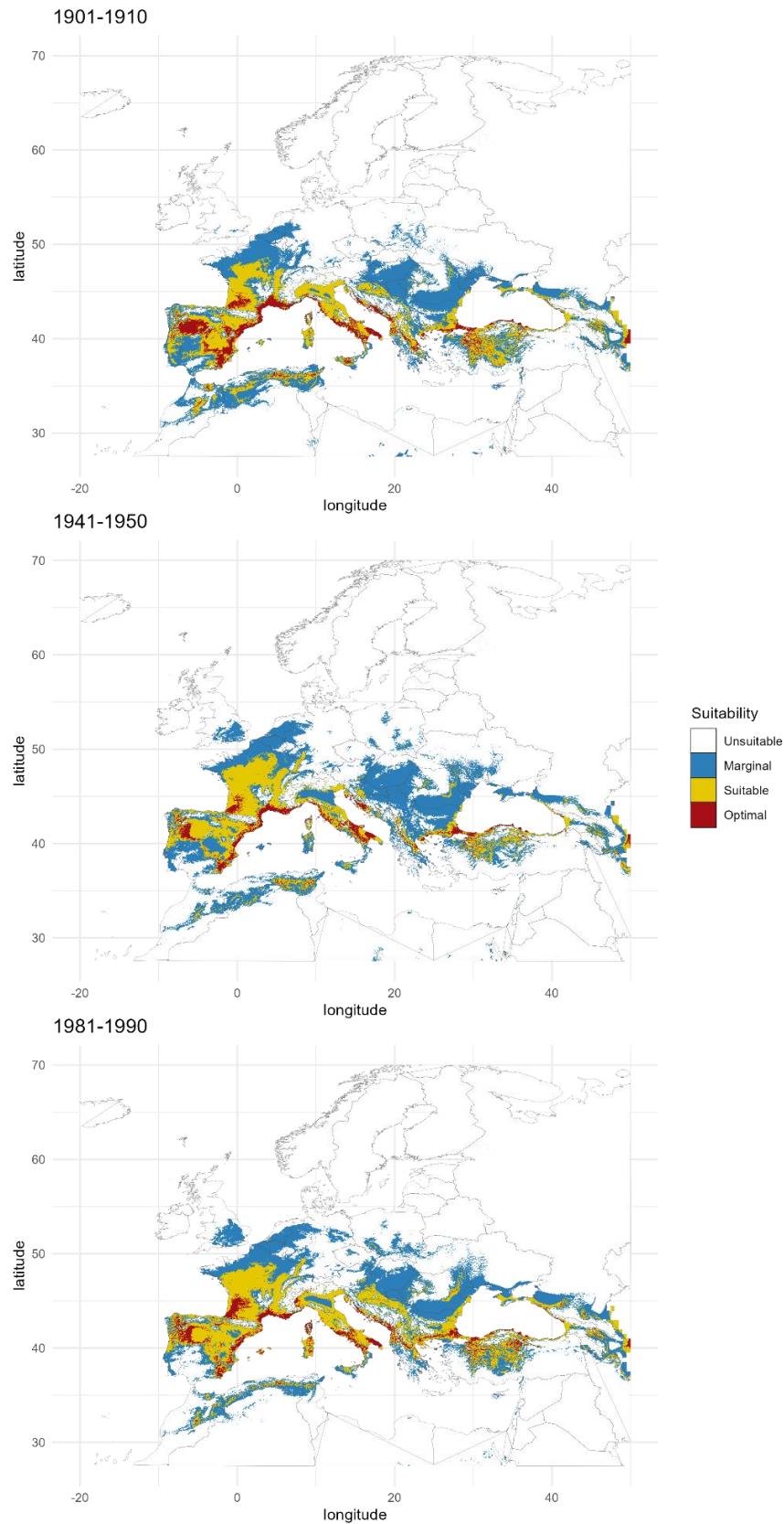


Figure 10: Habitat suitability for *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 2 under past climate conditions for three decades (1901-1910, 1941-1950 and 1981-1990). The maps were generated using R 4.0.2 (<https://cran.r-project.org/>).

POTENTIAL DISTRIBUTION WORLDWIDE ACCORDING TO THE CURRENT CLIMATE

As we performed the SDM analyses at the cluster scale, we relied on a limited number of occurrences for which genetic assignation was available, which constrained the number of variables retained in the models. Despite this limitation, we obtained several models explaining a significant part of the deviance for each Cluster. More, the two selected models scored high CBI and AUC, showing good performances. Finally, an increase in the number of selection rounds would have provided more complex models, with more environmental variables, which are generally considered less transferable to new geographical areas or past and future projections (Beaumont et al. 2016).

The area where Cluster 1 could establish is predicted to be twofold the area for Cluster 2, the former including most of the latter. The models predicted suitable areas for both clusters in Southeastern China, Southeast Asian islands and the Japanese archipelago in *X. crassiusculus*' native area. The areas predicted as suitable for both Clusters in the invasive range included Equatorial and South Africa, Southern and Western Australia, New Zealand, Northwestern and Southeastern United States, Northwestern South America, the Atlantic coast from Argentina to Salvador in Brazil, and Europe. In Chapter 4, we showed that Clusters 1 and 2 were mostly allopatric and co-occurred only in a few areas in the native and invasive ranges. Thus, most of these regions are at risk of being invaded by a second cluster, which could impact the invasion dynamic, host range and damages, and could potentially be treated as a new invasion.

Models also predicted areas in which Cluster 1 could establish but not Cluster 2. These included Vietnam, Cambodia, Thailand, Laos, Northeastern India, Bangladesh, Myanmar and Nepal in the native area. In the invaded area, it comprised the Western coast of North America from California up to British Columbia, all Central America and Mexico, the regions between Aral Sea and Lake Balkhash, and between Lake Balkhash and Afghanistan, and most of Africa below 8° latitude. The areas predicted as suitable for Cluster 2 and unsuitable for Cluster 1 are more restricted, and included Central Argentina, the coasts of South Korea, most of Honshu, Kyushu and Shikoku Islands in Japan. Areas predicted as optimal for Cluster 2 were mainly found in Australia, Japan, China, South Africa, Argentina, Uruguay and Europe. Note that *Xylosandrus crassiusculus* was proved to be easily moved and accidentally transported even at long distance, probably acting as a hitchhiker on traded plants (see Chapter 4). We can thus suggest that dispersal is not a long-term limiting factor for this species contrary to what was hypothesized

in other cases (e.g., Monsimet et al. (2020)) and that all suitable areas are actually at risk of invasion.

Our work also allowed to identify worldwide regions where *X. crassiusculus* is unlikely to invade. As for *X. compactus* (Urvois et al. 2021), they correspond both to cold or very hot regions such as most Northern North America, the highest regions of the Andean Mountains, hot and cold desert climates from Africa and Middle East, desert, semi-desert and tropical regions of Australia, India and most Northern Eurasia. Some occurrences from Chapter 3 for which genetic assignments were unavailable were found in areas predicted to be unsuitable for both clusters. In addition, specimens from Cluster 2 were identified in one locality in the Limpopo province in South Africa (Nel et al. 2020) not used in the models, which was predicted as unsuitable for Cluster 2. Most of these occurrences were found in Central and Northeastern USA in the invaded area, while they were mainly found in Korea and Japan in the native area. Except for a few records in North America and South Korea, most occurrences falling in unsuitable areas fell at less than 50 Km to the nearest suitable areas. These mismatches could happen if the occurrences in unsuitable areas corresponded to non established or sink populations (Araujo & Peterson 2012). However, this should not be the case as the occurrences were filtered to keep only established populations of *X. crassiusculus* according to the literature. They could also result from the existence of other genetic groups within *X. crassiusculus* with divergent ecological niches or misidentification of specimens with similar morphology, such as *X. declivigranulatus*, which was synonymized as *X. crassiusculus* but is currently being resurrected (Cognato et al., submitted to The Coleopterist Bulletin). In the future, it is crucial to generalize the genetic characterization to include more sites, particularly the marginal occurrence points and encompass the environmental envelope of each Cluster to improve the SDM performances. Indeed, populations with local adaptations to certain climate conditions, for instance, at the margin of the native area, might have been overlooked. This could result in biased models failing to predict particular areas, such as the Dfa climate from the Köppen-Geiger climate classification (Beck et al. 2018), which corresponds to humid continental climate with hot summer subtype and encompasses most mismatched occurrences in the USA. Finally, the number and the spatial location of occurrences used to create the models impact the shape of the presence / expected curve used to set the thresholds to categorize suitability. Thus, a more extensive sampling could have resulted in different thresholds hence different distribution of suitable areas.

## POTENTIAL DISTRIBUTION IN EUROPE ACCORDING TO THE CURRENT CLIMATE

We decided to focus on Europe as it was the most recently invaded continent by *Xylosandrus crassiusculus*. Both clusters could potentially establish in around 23% of the focal area, including Western France, most Southwestern Europe and a large part of the Mediterranean coasts. Within this range, the optimal area represented 9% for Cluster 2, and the marginally suitable area comprised 70% and 58% for Clusters 1 and 2. Furthermore, their suitable and marginal areas were distributed differently. Marginal areas were defined as nearing the Clusters' tolerance limits and hence correspond to regions where the populations' growth rate is limited, and where populations are expected to be more susceptible to stochastic demographic processes. For Cluster 2, suitable and optimal areas were mostly grouped and surrounded by marginal areas, while for Cluster 1 the suitable areas consisted of small separated patches in a large marginal area. This suggests that the establishment of Cluster 1 would be more difficult and that, once established, its dispersion would more constrained and subject to demographic stochasticity. This could be a reason explaining that Cluster 1 is not present in Europe yet.

## POTENTIAL DISTRIBUTION IN EUROPE ACCORDING TO FUTURE CLIMATES

Between the current climate and 2041-2070, the predictions for the three SSPs showed a limited decrease in suitability in Southern Europe for both Clusters and an increase towards the Benelux for Cluster 1 and towards Northeastern Europe for Cluster 2. The total area predicted as suitable would thus increase in Europe for both Clusters, including some of the busiest ports in Europe such as Antwerp for Cluster 1 and Rotterdam, Amsterdam, Hamburg for both Clusters. This should increase the probability that *X. crassiusculus* enters Europe near climatically suitable areas and thus increase the risk of new establishment in various regions, in addition to facilitating its intra-continental dispersion. For each Cluster, the predictions for SSP1-2.6 were similar for the two future periods, with most differences consisting in an increase in suitability from Northern France to Denmark for Cluster 1 and around the Baltic countries for Cluster 2. Models predicted a suitability decrease in Southern Europe and an increase in Northern Europe for SSP3-7.0 and SSP5-8.6 for both clusters between the two future periods. This suggests a significant impact of climate change in *X. crassiusculus*' clusters, with a shift toward higher latitudes, which is expected for ectothermic species (Deutsch et al. 2008). The observed increase in the disagreement areas between the two future periods was expected as the divergence between the predictions of the different GCMs increase with time (Beaumont et al.

2008). Finally, the areas where Cluster 1 could establish are expected to shrink with climate change and time, with areas predicted as suitable for all 5 GCMs restricted to the coast from Portugal to Norway, the United Kingdom and small patches in Italy, Greece and Turkey for SSP5-8.5 in 2071-2100. Thus, while its invasion probability and expansion in Southern Europe would be limited, its invasion probability is expected to increase in Northern Europe as some of the busiest ports-of-entry in Europe are predicted to become suitable in the future, including in the Netherlands where it was already intercepted several times (EPPO 2020).

## POTENTIAL DISTRIBUTION IN EUROPE ACCORDING TO PAST CLIMATE

Cluster 2 invaded Africa, Pacific Islands and North America between the beginning of the XXth century and 1974 but invaded Europe fairly recently (between 2003 and 2019). We first hypothesized that this time lag could be due to the fact that Europe was unsuitable for this species during the XXth century and that its environment became suitable only in the recent decades due to climate change. Our results did not support this hypothesis. On the contrary, the models showed that parts of the focal area were already suitable for both clusters during the XXth century, suggesting that both Clusters could have established earlier in Europe. Thus, the late invasion of Cluster 2 and lack of invasion of Cluster 1 could result from (i) dispersal limitations or reduced propagule pressure, (ii) local climatic mismatches as parts of Europe predicted as unsuitable could have received specimens, (iii) stochastic processes which eliminated the introduced specimens before reproduction, or a combination of the three. Indeed, *X. crassiusculus*' biology is known to limit the effects of mate-finding Allee effect (Gascoigne et al. 2009) and inbreeding depression (Peer & Taborsky 2005) but does not protect from environmental or demographic stochasticity.

Numerous studies showed that climate change is expected to have diverse effects depending on taxonomic groups, shrinking or expanding their potential distribution and favouring range shifts (Bellard et al. 2013, Pureswaran et al. 2018, Rahimi et al. 2021). Our results showed that climate change is expected to significantly impact *X. crassiusculus*' distribution in the future but probably did not play a role in its late invasion in Europe. On the contrary, the models according to past climate conditions did not display suitable areas for Cluster 1 as patches, but rather a continuous suitable area. Using species distribution modelling with past climate data is a promising approach to decipher the impact of climate change in biological invasions success, and explicitly question whether the current climate change has actually favoured recent invasions.

## BIBLIOGRAPHY

- Ahmed, S. E., G. McInerny, K. O'Hara, R. Harper, L. Salido, S. Emmott, L. N. Joppa, & J. Elith. 2015. Scientists and software - surveying the species distribution modelling community. *Diversity and Distributions* **21**:258-267.
- Andersen, H. F., B. H. Jordal, M. Kambestad, & L. R. Kirkendall. 2012. Improbable but true: the invasive inbreeding ambrosia beetle *Xylosandrus morigerus* has generalist genotypes. *Ecology and Evolution* **2**:247-257.
- Anderson, D. M. 1974. First record of *Xyleborus semiopacus* in the continental United States (Coleoptera, Scolytidae). *Cooperative Economic Insect Report* **24**:863-864.
- Araujo, M. B., & A. T. Peterson. 2012. Uses and misuses of bioclimatic envelope modeling. *Ecology* **93**:1527-1539.
- Banerjee, A. K., A. Mukherjee, W. Guo, W. L. Ng, & Y. Huang. 2019. Combining ecological niche modeling with genetic lineage information to predict potential distribution of *Mikania micrantha* Kunth in South and Southeast Asia under predicted climate change. *Global Ecology and Conservation* **20**.
- Beaumont, L. J., E. Graham, D. E. Duursma, P. D. Wilson, A. Cabrelli, J. B. Baumgartner, W. Hallgren, M. Esperón-Rodríguez, D. A. Nipperess, D. L. Warren, S. W. Laffan, & J. VanDerWal. 2016. Which species distribution models are more (or less) likely to project broad-scale, climate-induced shifts in species ranges? *Ecological Modelling* **342**:135-146.
- Beck, H. E., N. E. Zimmermann, T. R. McVicar, N. Vergopolan, A. Berg, & E. F. Wood. 2018. Present and future Koppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. *Sci Data* **5**:180214.
- Bellard, C., W. Thuiller, B. Leroy, P. Genovesi, M. Bakkenes, & F. Courchamp. 2013. Will climate change promote future invasions? *Glob Chang Biol* **19**:3740-3748.
- Broennimann, O., V. Di Cola, & A. Guisan. 2021. ecospat: Spatial Ecology Miscellaneous Methods. R package version 3.2.
- Cognato, A. I., G. Sari, S. M. Smith, R. A. Beaver, Y. Li, J. Hulcr, B. H. Jordal, H. Kajimura, C.-S. Lin, T. H. Pham, S. Singh, & W. Sittichaya. 2020. The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian ambrosia beetle species (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). *Frontiers in Ecology and Evolution* **8**.

- Dannenberger, M. P., E. K. Wise, & W. K. Smith. 2019. Reduced tree growth in the semiarid United States due to asymmetric responses to intensifying precipitation extremes. *Sci Adv* **5**:eaaw0667.
- Deutsch, C. A., J. J. Tewksbury, R. B. Huey, K. S. Sheldon, C. K. Ghalambor, D. C. Haak, & P. R. Martin. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**:6668-6672.
- Dray, S., & A.-B. Dufour. 2007. Theade4Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* **22**.
- EFSA Panel on Plant Health, M. Jeger, C. Bragard, D. Caffier, T. Candresse, E. Chatzivassiliou, K. Dehnen-Schmutz, J.-C. Grégoire, J. A. Jaques Miret, A. MacLeod, M. Navajas Navarro, B. Niere, S. Parnell, R. Potting, T. Rafoss, V. Rossi, G. Urek, A. Van Bruggen, W. Van Der Werf, J. West, S. Winter, A. Hart, J. Schans, G. Schrader, M. Suffert, V. Kertész, S. Kozelska, M. R. Mannino, O. Mosbach-Schulz, M. Pautasso, G. Stancanelli, S. Tramontini, S. Vos, & G. Gilioli. 2018. Guidance on quantitative pest risk assessment. *EFSA Journal* **16**:e05350.
- Elith, J., C. H. Graham, R. P. Anderson, M. Dudík, S. Ferrier, A. Guisan, R. J. Hijmans, F. Huettmann, J. R. Leathwick, A. Lehmann, J. Li, L. G. Lohmann, B. A. Loiselle, G. Manion, C. Moritz, M. Nakamura, Y. Nakazawa, J. McC. M. Overton, A. Townsend Peterson, S. J. Phillips, K. Richardson, R. Scachetti-Pereira, R. E. Schapire, J. Soberón, S. Williams, M. S. Wisz, & N. E. Zimmermann. 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* **29**:129-151.
- Elith, J., M. Kearney, & S. Phillips. 2010. The art of modelling range-shifting species. *Methods in Ecology and Evolution* **1**:330-342.
- EPPO. 2020. EPPO Technical Document No. 1081, Study on the risk of bark and ambrosia beetles associated with imported non-coniferous wood.
- Gallego, D., J. L. Lencina, H. Mas, J. Cervero, & M. Faccoli. 2017. First record of the granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in the Iberian Peninsula. *Zootaxa* **4273**:431-434.
- Gascoigne, J., L. Berec, S. Gregory, & F. Courchamp. 2009. Dangerously few liaisons: a review of mate-finding Allee effects. *Population Ecology* **51**:355-372.
- Godefroid, M., A. Cruaud, J.-P. Rossi, & J. Y. Rasplus. 2015. Assessing the risk of invasion by Tephritid fruit flies: intraspecific divergence matters. *PLoS ONE* **10**:e0135209.

- Guisan, A., W. Thuiller, & N. E. Zimmermann. 2017. Habitat suitability and distribution models with applications in R. Cambridge University Press.
- Hijmans, R. J., S. Phillips, J. Leathwick, & J. Elith. 2017. dismo: Species Distribution Modeling. R package version 1.1-4.
- Hirzel, A. H., G. Le Lay, V. Helfer, C. Randin, & A. Guisan. 2006. Evaluating the ability of habitat suitability models to predict species presences. *Ecological Modelling* **199**:142-152.
- Ito, M., & H. Kajimura. 2009. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **44**:549-559.
- Jordal, B. H., B. B. Normark, B. D. Farrell, & L. R. Kirkendall. 2002. Extraordinary haplotype diversity in haplodiploid inbreeders: phylogenetics and evolution of the bark beetle genus *Coccotrypes*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **23**:171-188.
- Karger, D. N., O. Conrad, J. Böhner, T. Kawohl, H. Kreft, R. W. Soria-Auza, N. E. Zimmermann, H. P. Linder, & M. Kessler. 2017. Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Scientific Data* **4**:170122.
- Karger, D. N., O. Conrad, J. Böhner, T. Kawohl, H. Kreft, R. W. Soria-Auza, N. E. Zimmermann, H. P. Linder, & M. Kessler. 2018. Data from: Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. Dryad Digital Repository.
- Karger, D. N., D. R. Schmatz, G. Dettling, & N. E. Zimmermann. 2020. High-resolution monthly precipitation and temperature time series from 2006 to 2100. *Scientific Data* **7**:248.
- Karger, D. N., & N. E. Zimmermann. 2018. CHELSAcruts – High resolution temperature and precipitation timeseries for the 20th century and beyond. EnviDat.
- Kavčič, A. 2018. First record of the Asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Slovenia. *Zootaxa* **4483**:191-193.
- Kirkendall, L. R. 2018. Invasive bark beetles (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Chile and Argentina, including two species new for South America, and the correct identity of the *Orthotomicus* species in Chile and Argentina. *Diversity* **10**.
- Lange, S. 2021. ISIMIP3b bias adjustment fact sheet. Inter-Sectoral Impact Model Intercomparison Project.

- Marmion, M., M. Parviainen, M. Luoto, R. K. Heikkinen, & W. Thuiller. 2009. Evaluation of consensus methods in predictive species distribution modelling. *Diversity and Distributions* **15**:59-69.
- Meller, L., M. Cabeza, S. Pironon, M. Barbet-Massin, L. Maiorano, D. Georges, & W. Thuiller. 2014. Ensemble distribution models in conservation prioritization: from consensus predictions to consensus reserve networks. *Diversity and Distributions* **20**:309-321.
- Monsimet, J., O. Devineau, J. Petillon, & D. Lafage. 2020. Explicit integration of dispersal-related metrics improves predictions of SDM in predatory arthropods. *Sci Rep* **10**:16668.
- Moreno-Amat, E., R. G. Mateo, D. Nieto-Lugilde, N. Morueta-Holme, J.-C. Svenning, & I. García-Amorena. 2015. Impact of model complexity on cross-temporal transferability in Maxent species distribution models: An assessment using paleobotanical data. *Ecological Modelling* **312**:308-317.
- Nel, W. J., Z. W. De Beer, M. J. Wingfield, & T. A. Duong. 2020. The granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), and its fungal symbiont found in South Africa. *Zootaxa* **4838**:zootaxa 4838 4833 4837.
- Peer, K., & M. Taborsky. 2005. Outbreeding depression, but no inbreeding depression in haplodiploid ambrosia beetles with regular sibling mating. *Evolution* **59**:317-323.
- Pennachio, F., P. F. Roversi, V. Francardi, & E. Gatti. 2003. *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) a bark beetle new to Europe (Coleoptera Scolytidae). *Redia* **86**:77-80.
- Phillips, S. J., R. P. Anderson, & R. E. Schapire. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* **190**:231-259.
- Pureswaran, D. S., A. Roques, & A. Battisti. 2018. Forest Insects and Climate Change. *Current Forestry Reports* **4**:35-50.
- R Core Team. 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rahimi, E., S. Barghjelveh, & P. Dong. 2021. Estimating potential range shift of some wild bees in response to climate change scenarios in northwestern regions of Iran. *Journal of Ecology and Environment* **45**.
- Ranger, C. M., P. B. Schultz, S. D. Frank, J. H. Chong, & M. E. Reding. 2015. Non-native ambrosia beetles as opportunistic exploiters of living but weakened trees. *PLoS ONE* **10**:e0131496.
- Roques, A., R. Bellanger, J. B. Daubrée, C. Ducatillon, T. Urvois, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.

- Samuelson, G. A. 1981. A synopsis of Hawaiian Xyleborini (Coleoptera: Scolytidae). *Pacific Insects* **23**:50-92.
- Schedl, K. E. 1953. Fauna Madagascariensis - III. Pages 67-106 Mémoires de l'Institut Scientifique de Madagascar - Série E - Tome III.
- Schoener, T. W. 1968. Anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. *Ecology* **49**:704-7226.
- Smith, A. B., W. Godsoe, F. Rodriguez-Sanchez, H. H. Wang, & D. Warren. 2019. Niche estimation above and below the species level. *Trends in Ecology & Evolution* **34**:260-273.
- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, & J. Hulcr. 2017. Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* **7**:10974-10986.
- Thioulouse, J., S. Dray, A.-B. Dufour, A. Siberchicot, T. Jombart, & S. Pavoine. 2018. Multivariate analysis of ecological data with ade4. Springer.
- Urvois, T., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, & C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Scientific Reports* **11**:1339.
- Vollering, J., R. Halvorsen, & S. Mazzoni. 2019. The MIAMaxent R package: Variable transformation and model selection for species distribution models. *Ecology and Evolution* **9**:12051-12068.
- Warren, D. L., R. E. Glor, & M. Turelli. 2008. Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution* **62**:2868-2883.

## Résumé en français des principaux résultats et conclusions

Nos résultats montrent que les deux Clusters ont des niches écologiques et des préférences climatiques significativement différentes. Une différenciation écologique s'ajoute donc à la différenciation génétique identifiée dans le Chapitre 4. Cela confirme qu'il est donc préférable de modéliser leurs aires de distribution potentielle indépendamment.

Les résultats des approches SDM ont permis d'identifier des régions favorables où chacun des deux clusters pourraient s'établir si des individus y étaient transportés. Le Cluster 1 pourrait ainsi s'établir dans la majorité de l'Afrique Sub-Saharienne, de l'Amérique Centrale et du Sud, au Mexique et sur les côtes de l'Amérique du Nord, de la Turquie, de la région de la Mer d'Azov, des côtes Sud et Ouest de l'Australie ainsi qu'en Nouvelle-Zélande. Quant au Cluster 2, il pourrait étendre sa distribution dans des zones plus restreintes, qui comprennent principalement le Sud-Ouest des Etats-Unis, l'Argentine, l'Afrique Centrale, le Sud de l'Australie, et la Nouvelle-Zélande. En Europe, il pourrait étendre sa distribution plus largement dans d'autres régions d'Espagne et de France, et coloniser une zone allant de la Grèce à la Turquie.

D'autre part, nous avons pu infirmer l'hypothèse selon laquelle les conditions environnementales actuelles en Europe ne permettaient pas l'établissement du Cluster 1. En effet, ce Cluster pourrait vraisemblablement s'établir dans une partie de l'Europe, qui reste toutefois largement prédite comme marginale, les zones favorables formant des patchs isolés. Dans les zones marginales, les conditions environnementales sont proches des limites de tolérance du Cluster 1 et la croissance de la population resterait a priori limitée, ce qui augmente la probabilité d'extinction des populations et donc d'échec des invasions. Cette disposition pourrait donc limiter les capacités d'établissement et de dispersion du Cluster 1 en Europe, et expliquer son absence actuelle.

Les prédictions futures en Europe ont montré un effet du changement climatique sur la distribution potentielle des deux Clusters. Conformément à notre hypothèse, les modèles montrent une augmentation des aires favorables dans le Nord et le Nord-Est de l'Europe, suggérant que le Cluster 2 pourrait s'y étendre. A l'inverse, les modèles suggèrent une diminution des aires favorables dans le Sud de l'Europe, donc une rétractation de *X. crassiusculus* dans ces régions. Ce changement de distribution potentielle avec l'apparition de régions favorables dans le Nord de l'Europe va augmenter la probabilité que de nouvelles populations s'établissent en arrivant via des ports importants de ces régions, actuellement non favorables.

L'analyse rétrospective montre que l'Europe était déjà en partie favorable aux deux Clusters au cours du XXème siècle. Cela infirme l'éventualité que l'invasion récente de l'Europe par le Cluster 2 soit liée à une modification des paramètres environnementaux au cours du temps. Son arrivée tardive pourrait surtout résulter de l'augmentation des échanges commerciaux entre l'Europe et les zones où *X. crassiusculus* est déjà établi, ce qui a pu favoriser son transport dans les années 2000.

Certaines occurrences utilisées dans le Chapitre 3 et non assignées à un Cluster tombent dans des aires prédites comme non favorables pour les deux Clusters. Si la majorité d'entre elles sont en fait proches d'endroits favorables pour l'un ou l'autre des Clusters, certaines en sont assez éloignées. Ceci suggère un manque de performance des modèles, et pourrait être dû au faible nombre d'occurrences utilisées, qui ne couvriraient pas la gamme de conditions environnementales permettant aux Clusters de s'établir et donc sous-estimerait l'étendue des zones favorables. Il serait donc intéressant de séquencer un plus grand nombre d'individus issus de l'aire native de *X. crassiusculus*, afin d'améliorer cette couverture et la capacité de prédiction des modèles de distributions de chaque Cluster. A l'instar de nombreuses études en biologie de l'invasion, c'est la difficulté d'échantillonner dans les zones d'origine qui représente le plus gros défi pour élucider l'origine des populations envahissantes.



## CHAPITRE 6 : DISCUSSION GENERALE



## 1) DISCUSSION ET ANALYSE CRITIQUE DE LA THESE

Ma thèse s'est déroulée dans le cadre du projet LIFE SAMFIX, mis en place suite à une pullulation de *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* en 2016 dans le parc italien du Circé, au sud du Latium. Ces deux espèces, alors considérées comme espèces de quarantaine en Europe, n'avaient été détectées que dans quelques régions encore bien délimitées (régions de Campanie, Lazio et Toscane en Italie, département des Alpes-Maritimes en France et province de Valence en Espagne). De plus, les premières observations suggéraient des dégâts importants sur les plantes du maquis méditerranéen, justifiant l'inquiétude liée à leur détection et l'élaboration du projet. Pour cette raison, mes travaux se sont concentrés exclusivement sur ces deux espèces émergentes, malgré la présence de deux autres *Xylosandrus* exotiques envahissants en Europe, *X. morigerus* et *X. germanus* (Nageleisen et al. 2015), présents depuis plus longtemps. Ma thèse avait deux objectifs principaux: (i) l'étude de l'histoire de leur invasion, et notamment l'identification des sources les plus probables des propagules importées en Europe; et (ii) l'analyse de leur risque d'expansion sur ce continent, aussi bien à court terme sous le climat actuel qu'à plus long terme en utilisant des projections climatiques futures.

*Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* sont deux espèces proches, tant phylogénétiquement qu'écologiquement, originaires de la même région et qui semblent avoir une histoire d'invasion similaire, commençant par l'Afrique, puis le nouveau monde, avant d'arriver en Europe via l'Italie. Pendant ma thèse, les deux espèces ont continué leur progression, et ont été signalées dans d'autres régions. Ces nouveaux signalements ont enrichi l'échantillonnage pour les investigations sur le traçage des invasions et m'ont permis de tester si ces nouveaux foyers étaient le fruit d'une expansion intracontinentale ou d'une nouvelle colonisation. Ces occurrences récentes m'ont également permis de tester les projections de la modélisation et de vérifier si ces nouvelles populations s'établissaient dans des régions considérées comme favorables par les modèles.

### A- DES HISTOIRES D'INVASIONS RADICALEMENT DIFFERENTES POUR CHAQUE ESPECE

#### Synthèse des résultats

Au démarrage de ma thèse, j'ai fait l'hypothèse que les deux espèces avaient une histoire d'invasion similaire, supposant qu'elles auraient colonisé les différents continents depuis les

mêmes aires géographiques avec une dynamique temporelle assez proche. De plus, du fait de la biologie et des modes de reproduction si particuliers de ces scolytes, on pouvait s'attendre à une diversité génétique faible et une forte homozygotie dans les localités étudiées. Pour aborder ces questions, et résoudre les ambiguïtés restées en suspens pour *X. crassiusculus* du fait de l'utilisation de marqueurs moléculaires différents dans les études préexistantes (voir Chapitre I: Introduction), j'ai d'abord consacré du temps à (i) mettre en place un plan d'échantillonnage, notamment via des contacts à l'international, (ii) tester plusieurs marqueurs mitochondriaux avec l'aide de Claudine Courtin, technicienne à l'URZF, et (iii) mettre au point le protocole RADseq finalement utilisé dans les chapitres correspondants (test de plusieurs enzymes, de plusieurs protocoles d'extraction, de l'amplification de génome...), avec l'aide de Laure Sauné, technicienne du plateau de biologie moléculaire du CBGP.

Les résultats obtenus dans les Chapitres 2 et 4 ont infirmé le premier attendu, *Xylosandrus compactus* ayant une histoire d'invasion simple et *X. crassiusculus* une histoire plus complexe. J'ai identifié chez les deux espèces de très forts niveaux d'homozygotie, ce qui est cohérent avec leur biologie, et j'ai pu en partie résoudre la question de la forte structuration intra-spécifique de *X. crassiusculus* en confirmant deux clusters différenciés. Chez *X. compactus*, les marqueurs génétiques ont également révélé l'existence de trois lignées mais dont le niveau de divergence reste infra-spécifique, chaque lignée étant à l'origine de la colonisation d'une région du monde différente. Les populations ayant envahi l'Europe d'une part et la région Américano-Pacifique d'autre part appartiennent à la première lignée et sont très proches génétiquement. De plus, elles ne présentent quasi aucune diversité génétique intracontinentale, suggérant une introduction unique dans chaque continent depuis des sources proches, vraisemblablement issues de la région de Shanghai. Les populations ayant envahi l'Afrique appartiennent à la seconde lignée et proviennent d'Asie du Sud-Est; cependant nos données n'incluant que des sites d'Inde et du Vietnam dans l'aire native, elles n'ont pas permis d'affiner l'identification de la source précise. Ces résultats amènent à la conclusion que *X. compactus* ne serait sorti de l'aire native que lors de trois événements de colonisation, une fois depuis une région d'Asie du Sud-Est vers Madagascar puis l'Afrique il y a environ un siècle (ce premier déplacement d'individus pourrait être concomitant à l'introduction du thé sur ce continent), puis deux fois depuis la région de Shanghai d'abord vers l'Amérique du nord et du sud et les îles Pacifiques dans le milieu du XXème siècle puis vers l'Europe au début du XXIème siècle. Dans chaque cas, l'absence de diversité génétique à large échelle est probablement due soit à une pression de propagules très faible, soit à une population source elle-même génétiquement peu diversifiée; elle suggère

également des mouvements de populations intracontinentaux à moyenne et longue distance sans nouvelles colonisations. Dans le cas de l'Europe qui correspond aux contours du projet SAMFIX, l'hypothèse d'une entrée unique en Italie puis de déplacements intracontinentaux rapides vers les autres pays (France, Espagne, Grèce) et certaines îles (Corse, Baléares) a donc été confirmée.

Les résultats obtenus chez *X. crassiusculus* montrent à l'inverse un grand nombre d'événements de colonisation. L'approche consistant à utiliser en parallèle un marqueur mitochondrial et des marqueurs génomiques m'a permis de faire la synthèse des résultats déjà existants dans la littérature et de proposer une hypothèse robuste quant à la différenciation intra-spécifique en deux clusters différenciés, même si plusieurs questions restent en suspens, notamment le positionnement de deux des trois lignées identifiées au Japon. La zone native du Cluster 1 inclut la Chine, l'Inde, l'Indonésie, la Papouasie Nouvelle Guinée, Taiwan, la Thaïlande, le Vietnam et le Japon (île d'Okinawa) tandis que le Cluster 2 a été identifié, en ce qui concerne sa zone d'origine, en Chine, en Papouasie Nouvelle Guinée, à Taiwan et au Japon (îles principales et archipel des Ryūkyū). Chaque Cluster est envahissant dans plusieurs régions du monde, et bien qu'ils semblent largement allopatriques, ils coexistent au moins à Hawaii et en Afrique du Sud. En Europe, seul le Cluster 2 est présent, mais j'ai pu montrer que les colonisations postérieures à sa détection en Italie étaient liées à au moins trois événements d'introduction indépendants. En ce qui concerne *X. crassiusculus*, contrairement à *X. compactus*, les populations initiales en Italie ne semblent être à l'origine que de l'invasion de l'Espagne continentale. Il semblerait donc que la probabilité de déplacement de *X. crassiusculus* depuis un autre continent soit supérieure à la probabilité de déplacement de *X. compactus*; à l'inverse, malgré une diversité génétique extrêmement faible, la capacité de dispersion intracontinentale de *X. compactus* semble très forte puisqu'on a pu observer en un très petit nombre d'années son installation dans plusieurs pays européens, dont plusieurs îles. Une hypothèse pourrait être que cette espèce est déplacée facilement avec des plantes vivantes dont le commerce se fait à l'échelle intracontinentale (Maxwell et al. 2014). Cette capacité à s'établir dans différentes conditions environnementales avec peu ou pas de diversité a aussi été observée chez *X. morigerus* au Costa-Rica et au Panama où seuls deux haplotypes mitochondriaux ont été identifiés (Andersen et al. 2012). En ce qui concerne l'espèce *Xylosandrus germanus*, invasive en Amérique du Nord et en Europe, Dzurenko et al. (2020) ont montré l'existence de 5 lignées mitochondriales fortement structurées géographiquement au sein de l'aire native, dont seule une lignée originaire du Japon a envahi l'Amérique du Nord au cours d'introductions multiples, et l'Europe suite à une

introduction unique dans la première moitié du XX<sup>ème</sup> siècle. Bien qu'originaires du même continent et possédant des biologies similaires, ces trois espèces montrent donc des histoires d'invasion différentes, ainsi que des capacités d'invasion différentes et ne dépendant pas nécessairement de la diversité génétique introduite. Il est donc important de ne pas transposer directement ces découvertes à d'autres espèces (p.ex. *X. morigerus*) et d'étudier chaque espèce sans a priori.

### Limites des approches utilisées

L'approche phylogéographique se base sur la comparaison de la diversité génétique et de la structure génétique des populations de l'aire native et l'aire envahie, et sur la comparaison des populations de l'aire envahie entre elles, pour identifier les populations sources à l'origine des populations envahissantes. Une des principales difficultés de cette approche consiste généralement à caractériser l'aire native. En effet, dans un certain nombre de cas l'aire native de l'espèce est inconnue ou mal délimitée (Roques et al. 2009, Valade et al. 2009). Quand elle est connue, les espèces envahissantes sont souvent mieux connues dans les régions néo-colonisées, où elles causent des dégâts, que dans leur aire native où elles ont co-évolué avec leurs hôtes et où les informations sur leur distribution peuvent faire défaut (Bras et al. 2019). C'est le cas pour *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus*, généralement décrits comme originaires d'Asie du Sud-Est et dont les limites de l'aire native ne sont pas clairement identifiées. Dans le travail présenté ici, l'échantillonnage de l'aire native ne résulte pas d'une campagne de terrain mais d'envois d'individus, parfois capturés il y a plusieurs années, par plusieurs collaborateurs de différents pays. De plus la crise du COVID a restreint les possibilités de collectes d'individus de plusieurs localités. Toutefois, malgré un nombre limité de sites et d'individus échantillonnés, nous sommes parvenus à confirmer ou invalider nos hypothèses et à dresser une première version de l'histoire de l'invasion de *X. compactus* et *X. crassiusculus*. Il est certain qu'un échantillonnage plus dense en Asie du Sud-Est permettrait de mieux cerner les régions donneuses des invasions, et de comparer les diversités observées en zone native et en zones envahies.

Améliorer l'échantillonnage dans l'aire envahie pourra aussi être informatif, en particulier si on cherche à prendre en compte les phénomènes de « tête de pont », qui correspondent à des scénarios où la population source d'une invasion ne correspond pas à une région de l'aire native mais à une autre région précédemment envahie (Lombaert et al. 2010). Un meilleur

échantillonnage de *Xylosandrus compactus* en Afrique permettrait ainsi de vérifier si plusieurs lignées ont envahi le continent ou si seule la lignée B est présente.

La biologie des scolytes à ambrosia (notamment haplodiploïdie et reproduction entre apparentés) peut poser problème vis-à-vis des conditions d'application des méthodes d'inférence statistiques en phylogéographie (p.ex. Approximate Bayesian Computation). Ces méthodes, qui impliquent de comparer différents scénarios d'invasion et d'attribuer à chacun une probabilité, permettent d'élire le scénario le plus probable, en prenant en compte l'existence potentielle de populations fantômes (p.ex. non échantillonnées) y compris dans le cas de phénomènes de « tête de pont » (Estoup & Guillemaud 2010). Ces méthodes permettent de surcroît de tester des événements et parfois d'estimer des paramètres démographiques comme l'intensité des goulots d'étranglement, les changements de taille efficace, l'introgression... N'ayant pas pu utiliser ces méthodes, je n'ai pas pu trancher sur certaines hypothèses qui restent en suspens (déterminer par exemple si les populations italiennes de *Xylosandrus crassiusculus* ont été introduites directement depuis le Japon ou s'il s'agit d'une invasion « tête de pont » depuis les Etats-Unis). Je compte collaborer dans un futur proche avec des chercheurs travaillant sur les méthodes d'inférence pour essayer d'appliquer des approches de tests de scénarios qui seraient adaptées aux données de cette thèse.

### B- IDENTIFICATION DES ZONES A RISQUE D'INVASION OU D'EXPANSION, ET ROLE POSSIBLE DU CHANGEMENT CLIMATIQUE

#### Synthèse des résultats

Les aires de distribution de *Xylosandrus compactus* et *Xylosandrus crassiusculus* sont en constante évolution du fait (i) de leurs introductions régulières dans de nouvelles régions géographiques (les deux espèces ont été détectées dans de nombreuses localités depuis le début de ce travail) et (ii) de leur expansion spatiale dans celles déjà envahies. L'un des objectifs de cette thèse était d'identifier les régions dans lesquelles les deux espèces pourraient s'établir en cas d'introduction, ou s'étendre après introduction. Nous avons donc décidé de développer des approches de SDM en nous basant sur les occurrences des deux espèces disponibles dans les bases de données et dans la littérature scientifique, en utilisant l'algorithme Maxent, majoritairement utilisé dans les études de SDM et applicable même lorsqu'on ne dispose pas de données d'absence fiables. Si cette approche a été couronnée de succès pour *X. compactus*, elle ne nous a pas permis de conclure pour *X. crassiusculus* (voir Chapitre 3). Nous avons alors

supposé que cet échec pourrait résulter d'une différence dans les préférences écologiques des deux Clusters identifiés au sein de cette espèce. Il nous a donc fallu finaliser l'analyse génétique de *X. crassiusculus* (Chapitre 4) avant de pouvoir reprendre l'analyse SDM par Cluster. Nous avons pu montrer que les deux clusters correspondaient à des niches réalisées différentes. Nous avons donc modélisé la distribution des deux clusters indépendamment en utilisant une nouvelle méthode basée sur le package *R* « *MIAMaxent* » (Vollering et al. 2019) qui n'était pas disponible au moment où les analyses présentées au chapitre 3 ont été effectuées. Dans cette partie, je discuterai donc des résultats obtenus pour *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus*-Cluster 1 (C1) et *X. crassiusculus*-Cluster 2 (C2), toutes méthodes confondues.

Les résultats obtenus montrent qu'il existe bien des aires favorables mais encore non envahies pour *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus*-C1 et *X. crassiusculus*-C2. Ainsi, *X. compactus* pourrait actuellement étendre son aire de distribution en Amérique du Sud au Chili et en Argentine, en Amérique Centrale, sur la côte Ouest des Etats-Unis, ainsi que dans la majorité de l'Océanie, à l'exception des régions arides de l'Australie. En Europe la majorité des côtes Méditerranéennes et des côtes Atlantiques sont favorables, jusqu'au Royaume-Uni. Depuis la publication de ces résultats (Urvois et al. (2021), Chapitre 3), *X. compactus* s'est établi dans plusieurs localités prédites comme favorables, ce qui montre que le modèle est performant. Le modèle sélectionné pour *X. crassiusculus*-C1 prédit qu'il pourrait s'établir dans la majorité de l'Afrique Sub-Saharienne, de l'Amérique Centrale et du Sud, le Mexique et les côtes de l'Amérique du Nord, la Turquie, la région de la Mer d'Azov, les côtes Sud et Ouest de l'Australie et la Nouvelle-Zélande. Le modèle montre que le Cluster 1 pourrait s'établir en Europe, avec une grande zone « marginale » (c'est-à-dire où les conditions environnementales sont proches des limites de tolérance et où le taux de croissance est limité) occupant une grande partie de l'Espagne jusqu'à la Turquie et occupant la majorité de la France, tandis que les régions favorables sont fragmentées et se limitent à plusieurs "patches" isolés. Nous avons fait l'hypothèse que le Cluster 1 n'était pas présent en Europe car les conditions n'y sont actuellement pas favorables. Ces résultats de modélisation suggèrent au contraire que ce Cluster pourrait s'établir en Europe, même si la distribution des aires favorables et marginales limite vraisemblablement sa probabilité d'installation et son expansion. En ce qui concerne *X. crassiusculus*-C2, bien que le modèle correspondant ait permis d'identifier des régions optimales pour son établissement, les régions favorables sont deux fois plus restreintes au niveau mondial que pour le Cluster 1. Elles comprennent principalement le Sud-Ouest des Etats-Unis, l'Argentine, l'Afrique Centrale, le Sud de l'Australie, l'Europe et la Nouvelle-

Zélande. En Europe, *X. crassiusculus*-C2 pourrait étendre sa distribution en Espagne, en France, et coloniser une zone allant de la Grèce à la Turquie. Contrairement au Cluster 1, les aires marginales sont situées à la périphérie des zones favorables, facilitant l'expansion des individus du Cluster 2. Cette caractéristique pourrait expliquer pourquoi le Cluster 2 a pu effectivement coloniser l'Europe.

L'une des applications possibles des SDM consiste à effectuer des projections de distributions potentielles futures en fonction de plusieurs scénarios de changement climatique. Pour cela, on réutilise les modèles créés pour les prédictions dans les conditions climatiques actuelles, en utilisant cette fois-ci les valeurs des variables calculées pour différentes périodes de temps, pour différents scénarios de changement climatique (RCPs ou SSPs), et par différents modèles numériques (GCMs). Les modèles ont montré un effet du changement climatique futur sur les distributions potentielles de *Xylosandrus compactus*, *X. crassiusculus*-C1 et *X. crassiusculus*-C2. Hormis pour les scénarios de changement climatique les plus optimistes, on observe une augmentation des aires favorables (expansion) dans le Nord et le Nord-Est de l'Europe, ainsi qu'une diminution des aires favorables (rétractation) dans le Sud de l'Europe. Les modèles prédisent de plus une diminution globale et une fragmentation des zones favorables pour *X. crassiusculus*-C1 avec l'augmentation de la concentration en gaz à effet de serre, ce qui devrait diminuer sa probabilité d'établissement avec le temps. Cette diminution est nettement moins marquée pour *X. crassiusculus*-C2. Dans certains modèles, cette modification de l'aire de distribution potentielle inclut de nouveaux ports d'entrée (p.ex. Rotterdam, Amsterdam et Hambourg), pouvant augmenter la probabilité d'établissement de nouvelles populations, potentiellement issues de nouvelles sources.

Le changement climatique est souvent cité comme une des raisons de la modification de l'aire de distribution des espèces, et de l'augmentation des phénomènes d'invasion dans les dernières décennies (Lenoir & Svenning 2015, Diamond & Fox 2018, Lehmann et al. 2020). Nous avons émis l'hypothèse de départ que l'invasion tardive de l'Europe par *X. crassiusculus*-C2 serait due au fait que l'Europe n'était pas par le passé une zone favorable à son établissement, et qu'elle ne le serait devenue que récemment à la faveur du changement climatique. Nos résultats permettent de rejeter cette hypothèse, car l'analyse rétrospective montre que les conditions climatiques étaient favorables à l'établissement des deux Clusters durant tout le XXème siècle. La latence entre les invasions de l'Afrique, de l'Amérique et des îles du Pacifique d'une part, et de l'Europe d'autre part, pourrait donc plutôt résulter du hasard ou d'une augmentation de la pression de propagules de *X. crassiusculus*-C2 au cours du temps. Cette dernière pourrait être

liée à une augmentation des échanges commerciaux susceptibles d'introduire des *Xylosandrus* entre l'aire native (ou certaines régions déjà envahies comme les Etats-Unis) et l'Europe (p.ex. plantes vivantes, palettes), comme cela a été observé chez la pyrale du buis introduite en Europe depuis la Chine (Bras et al. 2019). Dans le cas de *Xylosandrus compactus*, l'Europe a également été envahie plusieurs décennies après les autres continents, et il pourrait donc être intéressant de faire le même type d'analyse pour cette autre espèce pour vérifier si le changement climatique a joué un rôle dans cette invasion différée. Il est important de noter que le changement climatique peut avoir d'autres conséquences sur les invasions biologiques que de rendre des régions favorables ou non favorables. En effet, il peut entraîner entre autre des modifications dans les voies de transport (p.ex. augmentation de l'utilisation de la route maritime du Nord suite à l'augmentation de la période navigable avec la diminution de la banquise (Khon et al. 2009, Lin et al. 2020)), ce qui viendrait à modifier l'interaction entre différentes régions du monde et diminuer la durée des transports de marchandises et donc augmenter la probabilité que des individus y survivent (Renault et al. 2018). Il peut aussi favoriser les événements climatiques extrêmes, comme les tempêtes ou les épisodes de sécheresses, connus pour stresser les plantes et augmenter leur susceptibilité aux scolytes (Diez et al. 2012, Niu et al. 2014, Ogris et al. 2016, Senf et al. 2020, Baquero et al. 2021). Enfin, il peut modifier le nombre de génération annuelles des espèces (Stoeckli et al. 2020), ce qui peut en augmenter les éventuels impacts et compliquer la mise en place de mesures de gestion.

### Limites des approches utilisées

Les SDM corrélatifs utilisent des données sur la distribution effective des espèces (i.e. présences et potentiellement absences) pour estimer leur niche écologique réalisée et prédire les aires géographiques dans lesquelles elles peuvent s'établir. Une des hypothèses fortes des SDM est que la distribution de l'espèce étudiée est à l'équilibre, et donc qu'elle est établie là où les conditions environnementales le permettent et absente dans le cas contraire (Pearman et al. 2008). Or, la distribution des espèces n'est jamais réellement statique, et dans le cas d'espèces exotiques envahissantes, elle peut même évoluer rapidement. Idéalement, les données de distribution doivent être issues d'un échantillonnage aléatoire ou structuré (Araújo & Guisan 2006), permettant de caractériser précisément les conditions environnementales dans lesquelles l'espèce peut (présences) ou ne peut pas s'établir (vraies absences), y compris en marge de sa distribution où les conditions peuvent approcher les limites de tolérance de l'espèce. L'algorithme Maxent que nous avons sélectionné est l'un des plus utilisés en SDM (Guisan et al. 2017). Il fonctionne avec des données de présence uniquement, ce qui permet de contourner

le problème des données d'absences qui sont rarement disponibles en particulier dans le cas d'espèces en expansion géographique. En effet, dans le cas d'espèces dont la distribution n'est pas à l'équilibre, il peut être complexe de discriminer avec précision les aires géographiques dans lesquelles elles ne peuvent pas s'établir de celles où elles ne sont pas présentes mais pourraient s'établir. Dans le Chapitre 3, les occurrences utilisées correspondent à des données de présence des deux espèces obtenues depuis la littérature scientifique, la base de données GBIF (Global Biodiversity Information Facility) et des données partagées par nos collaborateurs. Cette approche est limitée par (i) le nombre d'occurrences disponibles, (ii) leur couverture des conditions environnementales dans lesquelles l'espèce peut s'établir, (iii) la précision du référencement géographique des occurrences et (iv) les éventuelles erreurs d'identifications des individus (Proosdij et al. 2015).

Pour modéliser la distribution de *X. crassiusculus*-C1 et *X. crassiusculus*-C2, seules les occurrences assignées après un typage génétique à ces deux Clusters ont pu être utilisées (Chapitre 4). Pour cette raison, le nombre d'occurrences initial est bien plus faible que dans le Chapitre 3 (39 et 44 occurrences pour *X. crassiusculus*-C1 et *X. crassiusculus*-C2, respectivement contre 781 pour l'ensemble des occurrences de *Xylosandrus crassiusculus* trouvées dans la littérature). Nous avons utilisé les variables climatiques du jeu de données Chelsa (Karger et al. 2020) caractérisées par une résolution fine ce qui nous a permis de conserver un maximum de points d'occurrence lors de l'élimination des duplicats (occurrences occupant un même pixel). Malgré cela, le nombre d'occurrences génétiquement caractérisées pour chaque Cluster reste limité, ce qui influe sur les résultats de la modélisation, même s'il a été montré que certains modèles affichent de bonnes performances avec un nombre réduit d'occurrences (Proosdij et al. 2015). Nous avons donc décidé d'utiliser le package *R MIAMaxent* (Vollering et al. 2019), publié après le début de ma thèse, qui adapte Maxent en ajoutant une étape de sélection des variables à inclure dans le modèle basée sur un test statistique, ainsi qu'une information concernant la variance expliquée par chaque modèle. Cette étape permet de choisir un modèle à la fois explicatif et simple, et donc plus facilement transposable à d'autres aires géographiques ou d'autres périodes de temps (Vollering et al. 2019, Streito et al. 2021).

Afin d'estimer la performance des modèles, j'ai ensuite utilisé les occurrences de *X. crassiusculus* non assignées à un Cluster pour vérifier si elles étaient associées à une aire géographique prédite comme favorable à l'établissement d'au moins l'un des deux Clusters. Un petit nombre d'entre elles tombent dans une aire prédite comme non favorable pour les deux

Clusters. Bien que la plupart soient proches de pixels favorables, cela semble indiquer une limite dans la performance des modèles. Ces incohérences pourraient également être dues à un problème de définition des présences dans la littérature, certaines des populations situées dans des aires non favorables pouvant en effet correspondre à des « puits » et donc ne pas être réellement établies: cela peut être le cas si des individus sont observés mais que l'espèce ne peut pas se maintenir à long terme. Ces erreurs peuvent aussi indiquer un problème d'identification des spécimens ou l'existence d'autres Clusters ou d'espèces sœurs chez *X. crassiusculus*. Enfin, l'hypothèse la plus probable est que l'ensemble des occurrences disponibles pour les deux clusters est encore trop limité et ne reflète pas complètement la gamme des conditions climatiques pour lesquelles les clusters peuvent se maintenir. Cela signifierait que nos modèles sous-estiment la surface des aires favorables à *X. crassiusculus*-C1 et *X. crassiusculus*-C2. Si cette hypothèse se révélait vraie, cela signifierait que nos résultats sous-estiment le risque de nouvelles colonisations ou d'expansion pour les deux Clusters étudiés. Ce travail révèle un problème important rencontré dans l'étude des espèces envahissantes lorsque l'on utilise des SDM pour identifier les zones à fort risque d'établissement dans le but d'améliorer la gestion préventive des invasions biologiques : le manque de données d'occurrences fiables dans la littérature en particulier au sein de l'aire native des espèces. Ceci s'explique assez logiquement par le fait qu'au sein de leur aire native, les espèces posent rarement des problèmes aussi aigus que ceux qu'elles provoquent lorsqu'elles parviennent à coloniser des zones très éloignées. Néanmoins, la difficulté à trouver des enregistrements fiables dans la littérature est un frein réel. Le développement de bases de données telles que GBIF améliore cependant la situation dans de nombreux cas.

## 2) PERSPECTIVES DE RECHERCHE ET QUESTIONS EN SUSPENS

Si cette thèse a répondu à une partie des questions initiales sur l'invasion de *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus*, certains points restent non résolus et de nouvelles questions ont émergé à la suite de mon travail. Dans cette dernière partie, je résumerai une partie de ces interrogations et proposerai des perspectives pour y répondre.

### A- BIOLOGIE ET ECOLOGIE DES DEUX ESPECES

Il existe plusieurs modes de reproduction chez les Scolytinae, dont la monogynie, la bigynie, la polygynie en harem et la polygynie entre apparentés (Kirkendall et al. 2015). Comme expliqué dans le Chapitre 1, les espèces du genre *Xylosandrus* appartiennent à cette dernière catégorie (un mâle peut s'accoupler avec plusieurs femelles et la reproduction a lieu majoritairement entre apparentés). De plus, les mâles sont plus petits et aptères et ne peuvent donc pas disperser hors de leur plante-hôte. La biologie particulière des *Xylosandrus* (en particulier la reproduction entre apparentés et l'haplodiploïdie) permet la purge du fardeau génétique chez les mâles et limite la dépression de consanguinité. En effet, Peer et Taborsky (2005) ont comparé des croisements exogames et endogames réalisés expérimentalement chez *Xylosandrus germanus* et montré une meilleure fitness dans le cas de croisements endogames. Il existe toutefois des observations de mâles aptères sortant des galeries maternelles, suggérant l'existence d'une reproduction entre non-apparentés (Peer & Taborsky 2004). Une part de reproduction exogame, entre individus issus de galeries et donc de familles différentes au sein d'un arbre hôte, semble confirmée par les niveaux de Fis relativement faibles observés chez *X. crassiusculus* dans les populations du Honduras, de Madagascar et de Honshū au Japon par Storer et al. (2017). Cependant, il a été observé chez les femelles de certaines espèces (p.ex. *Xyloterinus politus* (MacLean & Giese 1967), *Xylosandrus germanus* (Peer & Taborsky 2004), *Xyleborinus saxesenii* (Nuotclà et al. 2014),) des comportements visant à bloquer l'accès à la galerie pour limiter les risques de prédation et réguler le microclimat. Les croisements exogames semblant entraîner des conséquences négatives (Peer & Taborsky 2005), on peut supposer que ce comportement sert aussi à empêcher des mâles non apparentés de pénétrer dans les galeries. On observe également chez certaines espèces des combats entre mâles apparentés et non apparentés à l'entrée des tunnels pour en limiter l'accès. Fraser et al. (2014) se sont intéressés à la reproduction chez l'espèce *Dendroctonus micans*, un autre scolyte majoritairement consanguin mais dont les mâles peuvent voler et disperser. Ces auteurs ont observé moins de descendants

lors des accouplements entre non apparentés. Deux hypothèses ont été proposées pour expliquer cette observation, la compétition spermatique et une moins bonne fitness des descendants issus de reproduction exogame. Il serait intéressant d'étudier la place des croisements exogames chez *Xylosandrus* en conditions naturelles, directement au travers d'études comportementales et indirectement au travers des mesures de taux d'homozygotie et de Fis, pour en décrire la fréquence et identifier si des facteurs influencent cette fréquence. De même, il serait intéressant de reproduire l'expérience de Fraser et al. (2014) pour vérifier si les croisements exogames donnent moins de descendants chez *Xylosandrus*, et le cas échéant de tester les deux hypothèses qu'ils ont proposées.

Le Chapitre 2 a montré qu'il n'existe quasiment aucune diversité génétique chez *X. compactus* au sein de l'aire envahie. Ceci soulève la question d'une éventuelle reproduction clonale chez *X. compactus*, qui pourrait être testée en dupliquant des individus lors de l'étape de séquençage afin de quantifier la part de la diversité liée à l'erreur. Ainsi cette distance intra-individuelle pourrait être comparée aux distances inter-individuelles pour statuer sur l'absence ou la présence de reproduction clonale. Du fait de la faiblesse de l'échantillonnage disponible dans certaines régions, nous avons peu d'informations sur la distribution de la lignée B responsable de l'invasion en Afrique, et la lignée C n'est caractérisée que par un seul individu. Il est donc nécessaire de mettre en place un échantillonnage plus important dans l'aire native de *X. compactus* pour y remédier. Un travail de caractérisation génétique des populations est actuellement en cours en Chine, et fournira peut-être une réponse à ces questions de distributions des lignées B et C, ainsi qu'à la question de l'origine de l'haplotype A1 introduit en Europe depuis la région de Shanghai mais potentiellement présent dans une région plus large. La même question se pose à propos de l'haplotype A2, que nous n'avons pas trouvé dans la zone native.

Comme expliqué dans le Chapitre 1, la biologie et l'écologie des scolytes à ambrosia en font des espèces pouvant facilement devenir envahissantes, et potentiellement causer des dégâts dans la zone envahie. Le développement de génomes de références pour les espèces les plus à risques permettrait de développer plus facilement des marqueurs spécifiques en cas de besoin, ce qui faciliterait les collaborations internationales et éviterait les situations où plusieurs équipes utilisent des marqueurs différents, empêchant l'analyse conjointe de leurs résultats, comme cela s'est produit pour *X. crassiusculus*. Enfin, l'existence de génomes de référence permettrait de standardiser les futures analyses de type RADseq en évitant la création d'un catalogue *de novo*.

## B- REVISION DU COMPLEXE D'ESPECES *XYLOSANDRUS CRASSIUSCULUS* ET DU GENRE *XYLOSANDRUS*

L'existence de critères clairement définis permettant la distinction et l'identification des espèces est cruciale. En effet, les erreurs d'identifications taxonomiques peuvent être à l'origine d'informations erronées (p.ex. définition de la gamme d'arbres hôtes, nouvelles occurrences) et impacter négativement certaines analyses (p.ex. SDM, analyse de risque) et prises de décisions (p.ex. mesures de gestion et de surveillance). Ces erreurs pouvant se répercuter dans des bases de données mondiales (aussi bien sur la distribution des espèces (GBIF) que sur les ressources génétiques (GenBank)) et ainsi avoir des impacts à large échelle, il est nécessaire de collaborer à l'international pour mieux connaître et délimiter les espèces à haut risque. Un réseau international est en train de se structurer autour de la problématique des scolytes envahissants, incluant des équipes de recherche des Etats-Unis (Floride et Michigan), du Japon, de Chine, d'Espagne, d'Italie et de France. Celui-ci comprend entre autre (i) la mise en place de plantes sentinelles ayant pour objectif l'identification des espèces potentiellement envahissantes en amont de leur arrivée et (ii) la collaboration entre des experts systématiciens et généticiens pour développer la systématique intégrative. Je propose ci-dessous des perspectives de recherche dans ce contexte, concernant le complexe *Xylosandrus crassiusculus* d'une part, et les genres *Xylosandrus* et apparentés d'autre part.

### *Xylosandrus crassiusculus*, un complexe d'espèces ?

Nous avons confirmé que *Xylosandrus crassiusculus* est composé d'au moins deux Clusters fortement différenciés génétiquement. Storer et al. (2017) avaient déjà évoqué la possibilité que les Clusters soient en fait des espèces cryptiques, mais n'avaient pas pu conclure formellement. Cognato et al. (2020) ont récemment proposé pour les Xyleborini des seuils de différenciation génétique permettant de trancher sur le statut infra- ou inter-spécifique : deux individus sont considérés de la même espèce s'ils divergent de moins de 3% sur le fragment mitochondrial barcode et de moins de 1% sur le gène nucléaire CAD (aussi appelé « rudimentary », il s'agit d'un gène nucléaire codant pour trois protéines (Bukontaite et al. 2014)) considéré comme très performant pour étudier des divergences récentes, notamment chez les Coléoptères (Wild & Maddison 2008). A l'inverse, deux individus seront considérés comme appartenant à des espèces différentes s'ils divergent de plus de 10-12% sur le fragment barcode et de plus de 2-3 % sur le gène CAD. Ces seuils laissent donc une zone ambiguë si les divergences observées aux deux marqueurs sont incohérentes (par exemple forte différenciation sur l'un et faible sur

l'autre) ou intermédiaires. Dans le Chapitre 4, nous avons montré que la différenciation entre les deux Clusters pour le fragment barcode était comprise entre 9,3% et 12,5%, mais nous n'avons pas à ce jour séquencé le gène CAD. Cette forte différenciation, associée à la divergence de niche montrée au Chapitre 5 suggère que ces deux Clusters pourraient effectivement correspondre à des espèces cryptiques, et qu'il sera important de trancher en collaboration avec des spécialistes sur leur statut taxonomique.

Par ailleurs, durant la phase d'échantillonnage, nous avons reçu des individus originaires de Thaïlande et qui ont d'abord été identifiés comme *X. crassiusculus*. Ces individus, morphologiquement très similaires aux autres *X. crassiusculus*, présentaient cependant une divergence génétique avec les deux Clusters supérieure à 13% sur le fragment barcode. De plus, des analyses RADseq préliminaires avaient confirmé une forte différenciation de ces individus par rapport au reste de l'échantillonnage disponible. Nous avons donc décidé de les faire examiner par Anthony Cognato (Michigan State University), un des deux systématiciens spécialistes des scolytes à l'origine de la dernière révision de la phylogénie du genre *Xylosandrus* (Dole & Cognato 2010), et Sarah Smith (Michigan State University). Après analyse, ils ont proposé de "ressusciter" l'espèce *X. declivigranulatus*, anciennement synonymisée avec *X. crassiusculus* (voir Annexe 6 pour le détail des analyses et la description de *X. declivigranulatus* dans un manuscrit récemment soumis à The Coleopterist Bulletin).

### Une révision nécessaire du genre *Xylosandrus* et de ses limites

Dole & Cognato (2010) ont effectué une révision du genre *Xylosandrus* basée sur de la taxonomie intégrative, et ramené le nombre d'espèces dans le genre *Xylosandrus* de 54 à 40, en y déplaçant par ailleurs deux espèces précédemment classées dans le genre *Amasa*. Dans cette étude, ils montrent que *Xylosandrus crassiusculus* est plus proche du genre *Cnestus* et concluent qu'il faudrait étudier la relation de *Xylosandrus crassiusculus* vis-à-vis d'autres genres de Xyleborini non inclus dans leur étude avant d'éventuellement placer *X. crassiusculus* dans un genre monotypique qui resterait à décrire. D'autre part, Dole et al. (2010) ont montré que le genre *Xylosandrus* est polyphylétique. L'ensemble de ces résultats suggère qu'il est nécessaire de procéder à une nouvelle révision incluant toutes les espèces appartenant au genre *Xylosandrus*, ainsi que les genres proches.

Suite à mon travail de thèse, et notamment aux résultats concernant *X. declivigranulatus* et à la difficulté à statuer sur deux des lignées identifiées au Japon pour lesquelles les marqueurs mitochondriaux et nucléaires donnent des résultats différents, il faudrait maintenant envisager

un travail global de phylogénomique incluant l'ensemble du groupe. En effet, il sera donc nécessaire d'inclure des individus des deux lignées identifiées au Japon, ainsi que les types des espèces récemment mises en synonymie avec *X. crassiusculus* bien qu'appartenant à d'autres genres (*Phloeotrogus crassiusculus*, *Xyleborus crassiusculus*, *Xyleborus semiopacus*, *Xyleborus semigranosus*, *Dryocoetes bengalensis*, *Xyleborus mascarenius*, *Xyleborus okoumeensis* et *Xyleborus declivigranulatus*), ainsi que des représentants des autres genres de Xyleborini afin de proposer une révision des genres et d'éviter les groupes polyphylétiques. Pour cela, une approche intégrative basée sur la morphologie, la phylogénomique et incluant si possible des données d'écologie permettrait probablement d'arriver à un consensus. En ce qui concerne les marqueurs moléculaires, une approche utilisant par exemple le séquençage de mitogénomes et la capture d'exons génomiques serait certainement à privilégier pour limiter le risque lié aux données manquantes.

### C- CHAMPIGNONS SYMBIOTIQUES ET ASSOCIES

Les scolytes à ambrosia sont xylomycétophages et tirent leur nom de leur symbiose avec des champignons dits « ambrosia ». Ceux-ci sont transportés dans un organe spécialisé appelé mycangium, qui maintient un environnement favorable au champignon mutualiste primaire (Stone et al. 2007). Les recherches se sont longtemps concentrées sur ce champignon primaire. Cependant, l'amélioration récente des outils de séquençage ouvre des perspectives sur l'analyse des communautés fongiques transportées par ces scolytes (Rassati et al. 2019, Morales-Rodriguez et al. 2021). En effet, ceux-ci transportent en réalité une grande diversité de champignons, qui peut être révélée par les approches de métagénomique. Ainsi, Morales-Rodriguez et al. (2021) ont dénombré 206 OTUs (Unités Taxonomiques Opérationnelles, concept utilisé pour classer des groupes d'individus proches phylogénétiquement) associés *Xylosandrus compactus* sur 3 plantes-hôtes du Parc National du Circé, et Rassati et al. (2019) ont identifié 121 OTUs chez *X. germanus* dans le Nord-Est de l'Italie. Ces champignons peuvent être mutualistes, commensaux ou antagonistes du scolyte, sans lien avec leur taxonomie, ces trois types de relation pouvant exister au sein d'espèces proches (Six & Wingfield 2011). La majorité des champignons sont considérés comme commensaux, parfois faute de preuve ou d'étude sur leurs éventuels impacts qui aurait permis de prouver des caractéristiques de mutualisme ou d'antagonisme. Par exemple, Klepzig & Wilkens (1997) ont montré que *Ophiostoma minus* entraine en compétition avec les champignons mutualistes du

dendroctone méridional du pin (*Dendroctonus frontalis*) et Hofstetter et al. (2005) ont découvert qu'il possède un fort effet négatif sur le nombre de descendants et la survie larvaire de ce scolyte. A l'inverse, certains champignons phytopathogènes peuvent faciliter la colonisation de l'arbre en affaiblissant ses défenses immunitaires (mais voir Six & Wingfield (2011)). Des études ont démontré que la structure de la communauté fongique différait selon l'étape de colonisation de l'arbre et les conditions environnementales (Six & Wingfield 2011). De plus, les communautés fongiques peuvent changer au cours de l'invasion, notamment du fait des goulots d'étranglement, et les scolytes peuvent acquérir de nouveaux champignons dans leur aire envahie (Rassati et al. 2019). Il serait intéressant de comparer les structures des communautés fongiques dans l'aire native et l'aire envahie de *X. crassiusculus* et *X. compactus* afin de caractériser les événements de perte et d'acquisition de nouveaux champignons, ainsi que leur relation avec leurs insectes hôtes et leur potentiels impacts sur les plantes-hôtes. Ces questions ont commencé à être abordées dans le cadre du projet SAMFIX par des partenaires experts en pathologie, mais ce champ de recherche méritera de nouveaux développements. Le rôle des champignons dans le succès de l'invasion pourrait en particulier être analysé. Ces approches mériteraient par ailleurs d'être élargies à l'étude de l'ensemble du microbiote, la métagénomique permettant de cibler d'autres groupes taxonomiques comme les bactéries.

Par ailleurs, malgré un grand nombre de plantes-hôtes listées dans la littérature, la gamme d'hôtes de *X. crassiusculus* en Europe reste limitée. Nous avons fait l'hypothèse que cela pourrait être dû à une faible diversité génétique de *X. crassiusculus* en Europe, mais cela ne correspond pas à nos observations (voir Chapitre 4). Or, les champignons peuvent influencer la capacité de leurs hôtes à coloniser certains arbres (Mendel et al. 2021). Dans le cadre du projet SAMFIX une étude a été réalisée sur les champignons associés à *X. compactus* (Morales-Rodriguez et al. 2021) et une étude est en cours sur *X. crassiusculus*. Il serait intéressant de se servir des résultats de cette dernière pour tester l'hypothèse que le faible nombre d'hôtes est dû à la structure de sa communauté fongique.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons retiré les mycangia des individus utilisés dans les approches de génomique des populations, et nous les avons brossés et nettoyés pour limiter les contaminations, notamment par les champignons. Ce protocole a été mis en place car nous craignons que la quantité d'ADN soit limitante et nous ne voulions pas prendre le risque qu'une forte proportion des séquences générées ne corresponde pas au scolyte cible de l'étude. Lors de l'analyse des données de RADseq, nous avons mappé les loci obtenus sur le génome d'*Ambrosiella xylebori*, champignon symbiotique de *Xylosandrus compactus*, afin de les

« blacklister » et d'enlever les séquences du champignon du jeu de données final. Par curiosité, nous avons essayé d'analyser les loci blacklistés correspondant aux séquences de champignon dans le Chapitre 2, et montré des résultats similaires à ceux obtenus avec *X. compactus*. Lors de prochaines expériences, ne pas retirer le mycangium permettrait d'acquérir en même temps des données génomiques sur l'insecte et son champignon, puis de les traiter en parallèle. En plus d'éviter une procédure chronophage, cela permettrait de comparer avec une forte puissance statistique les résultats obtenus sur les deux partenaires symbiotiques. Il serait notamment intéressant de réaliser ce type d'étude sur des espèces avec des niveaux de diversité génétique variés. Pour cela, il est nécessaire de séquencer les génomes des scolytes à ambrosia les plus invasifs et ceux de leurs champignons symbiotiques. A l'heure actuelle, seul le génome du symbiote de *X. compactus* est disponible, ce qui est un verrou à ces recherches futures.

Ce travail de thèse s'est focalisé sur deux scolytes à ambrosia, *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus*, et a montré qu'elles présentaient deux histoire d'invasion radicalement différentes, malgré leurs apparentes similitudes. Notre approche souligne donc la difficulté à transférer les connaissances obtenues sur une espèce envahissante à une autre, même lorsqu'elles sont proches phylogénétiquement. Elle souligne aussi l'importance de la taxonomie intégrative et de la mise à jour des phylogénies, pour disposer de moyens clairs pour délimiter et identifier les espèces. Enfin, ce travail souligne l'importance de la collaboration internationale et de la mise à disposition des données dans l'étude de l'histoire de l'invasion des espèces.



## BIBLIOGRAPHIE



- Aikio, S., R. P. Duncan, & P. E. Hulme. 2010. Lag-phases in alien plant invasions: separating the facts from the artefacts. *Oikos* **119**:370-378.
- Alexander, D. H., J. Novembre, & K. Lange. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* **19**:1655-1664.
- Altermatt, F. 2010. Climatic warming increases voltinism in European butterflies and moths. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**:1281-1287.
- Andersen, H. F., B. H. Jordal, M. Kambestad, & L. R. Kirkendall. 2012. Improbable but true: the invasive inbreeding ambrosia beetle *Xylosandrus morigerus* has generalist genotypes. *Ecology and Evolution* **2**:247-257.
- Anderson, A. 2009. The rat and the octopus: initial human colonization and the prehistoric introduction of domestic animals to remote Oceania. *Biological Invasions* **11**:1503-1519.
- Anderson, D. M. 1974. First record of *Xyleborus semiopacus* in the continental United States (Coleoptera, Scolytidae). *Cooperative Economic Insect Report* **24**:863-864.
- Araújo, M. B., & A. Guisan. 2006. Five (or so) challenges for species distribution modelling. *Journal of Biogeography* **33**:1677-1688.
- Araújo, M. B., & A. T. Peterson. 2012. Uses and misuses of bioclimatic envelope modeling. *Ecology* **93**:1527-1539.
- Ashfaq, M., P. D. N. Hebert, & A. Naaum. 2016. DNA barcodes for bio-surveillance: regulated and economically important arthropod plant pests. *Genome* **59**:933-945.
- Auger-Rozenberg, M.-A., T. Boivin, E. Magnoux, C. Courtin, A. Roques, & C. Kerdelhué. 2012. Inferences on population history of a seed chalcid wasp: invasion success despite a severe founder effect from an unexpected source population. *Molecular Ecology* **21**:6086-6103.
- Azzurro, E., M. Nourigat, F. Cohn, J. Ben Souissi, & G. Bernardi. 2021. Right out of the gate: the genomics of Lessepsian invaders in the vicinity of the Suez Canal. *Biological Invasions*.
- Bailey, S. A. 2015. An overview of thirty years of research on ballast water as a vector for aquatic invasive species to freshwater and marine environments. *Aquatic Ecosystem Health & Management* **18**:261-268.
- Baquero, R. A., A. M. Barbosa, D. Ayllón, C. Guerra, E. Sánchez, M. B. Araújo, G. G. Nicola, & Z. Zhang. 2021. Potential distributions of invasive vertebrates in the Iberian Peninsula under projected changes in climate extreme events. *Diversity and Distributions* **27**:2262-2276.

- Bateman, C., M. Sigut, J. Skelton, K. E. Smith, & J. Hulcr. 2016. Fungal associates of the *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) are spatially segregated on the insect body. *Environmental Entomology* **45**:883-890.
- Beaumont, L. J., E. Graham, D. E. Duursma, P. D. Wilson, A. Cabrelli, J. B. Baumgartner, W. Hallgren, M. Esperón-Rodríguez, D. A. Nipperess, D. L. Warren, S. W. Laffan, & J. VanDerWal. 2016. Which species distribution models are more (or less) likely to project broad-scale, climate-induced shifts in species ranges? *Ecological Modelling* **342**:135-146.
- Beaumont, M. A., W. Zhang, & D. J. Balding. 2002. Approximate Bayesian computation in population genetics. *Genetics* **162**:2025-2035.
- Beaver, R. A., W. Sittichaya, & L. Y. Liu. 2014. A synopsis of the scolytine ambrosia beetles of Thailand (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Zootaxa* **3875**:1-82.
- Beebee, T. J. C., J. Buckley, I. Evans, J. P. Foster, A. H. Gent, C. P. Gleed-Owen, G. Kelly, G. Rowe, C. Snell, J. T. Wycherley, & I. Zeisset. 2005. Neglected native or undesirable alien? Resolution of a conservation dilemma concerning the pool frog *Rana lessonae*. *Biodiversity and Conservation* **14**:1607-1626.
- Biedermann, P. H. W. 2010. Observations on sex ratio and behavior of males in *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Scolytinae, Coleoptera). *Zookeys* **56**:253-267.
- Biedermann, P. H. W., & M. Taborsky. 2011. Larval helpers and age polyethism in ambrosia beetles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**:17064-17069.
- Blackburn, T. M., C. Bellard, & A. Ricciardi. 2019. Alien versus native species as drivers of recent extinctions. *Frontiers in Ecology and the Environment* **17**:203-207.
- Blackburn, T. M., P. Pyšek, S. Bacher, J. T. Carlton, R. P. Duncan, V. Jarošík, J. R. Wilson, & D. M. Richardson. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **26**:333-339.
- Blomqvist, D., A. Pauliny, M. Larsson, & L. A. Flodin. 2010. Trapped in the extinction vortex? Strong genetic effects in a declining vertebrate population. *BMC Evolutionary Biology* **10**:33.
- Blondel, J., B. Hoffmann, & F. Courchamp. 2013. The end of invasion biology: intellectual debate does not equate to nonsensical science. *Biological Invasions* **16**:977-979.
- Bonnamour, A., J. M. Gippet, & C. Bertelsmeier. 2021. Insect and plant invasions follow two waves of globalisation. *Ecology Letters* **24**:2418-2426.

- Bosso, L., M. Senatore, R. Varlese, M. Ruocco, A. P. Garonna, G. Bonanomi, S. Mazzoleni, & G. Cristinzio. 2012. Severe outbreak of *Fusarium solani* on *Quercus ilex* vectored by *Xylosandrus compactus*. *Journal of Plant Pathology* **94**:85-105.
- Bradshaw, C. J., B. Leroy, C. Bellard, D. Roiz, C. Albert, A. Fournier, M. Barbet-Massin, J. M. Salles, F. Simard, & F. Courchamp. 2016. Massive yet grossly underestimated global costs of invasive insects. *Nature Communications* **7**:12986.
- Bras, A., D. N. Avtzis, M. Kenis, H. Li, G. Vétek, A. Bernard, C. Courtin, J. Rousselet, A. Roques, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. A complex invasion story underlies the fast spread of the invasive box tree moth (*Cydalima perspectalis*) across Europe. *Journal of Pest Science* **92**:1187-1202.
- Bukontaite, R., K. B. Miller, & J. Bergsten. 2014. The utility of CAD in recovering Gondwanan vicariance events and the evolutionary history of *Aciliini* (Coleoptera: Dytiscidae). *BMC Evolutionary Biology* **14**.
- Castrillo, L. A., M. H. Griggs, & J. D. Vandenberg. 2012. Brood production by *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and growth of its fungal symbiont on artificial diet based on sawdust of different tree species. *Environmental Entomology* **41**:822-827.
- Castrillo, L. A., M. H. Griggs, & J. D. Vandenberg. 2016. Competition between biological control fungi and fungal symbionts of ambrosia beetles *Xylosandrus crassiusculus* and *X. germanus* (Coleoptera: Curculionidae): Mycelial interactions and impact on beetle brood production. *Biological Control* **103**:138-146.
- Chapman, D., B. V. Purse, H. E. Roy, & J. M. Bullock. 2017. Global trade networks determine the distribution of invasive non-native species. *Global Ecology and Biogeography* **26**:907-917.
- Chew, M. K., & A. Hamilton. 2010. The rise and fall of biotic nativeness: a historical perspective. Pages 35-47 *dans* D. M. Richardson, editor. *Fifty years of invasion ecology*. Wiley-Blackwell.
- Cognato, A. I., G. Sari, S. M. Smith, R. A. Beaver, Y. Li, J. Hulcr, B. H. Jordal, H. Kajimura, C.-S. Lin, T. H. Pham, S. Singh, & W. Sittichaya. 2020. The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian ambrosia beetle species (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). *Frontiers in Ecology and Evolution* **8**.
- Colautti, R. I., & H. J. MacIsaac. 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and Distributions* **10**:135-141.

- Contarini, M., A. Vannini, F. Giarruzzo, M. Faccoli, C. Morales-Rodriguez, L. Rossini, & S. Speranza. 2020. First record of *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in the Mediterranean scrubland in Southern Italy, and its co-presence with the co-generic species *X. compactus* (Eichhoff) and *X. crassiusculus* (Motschulsky). EPPO Bulletin **50**:311-315.
- Crees, J. J., & S. T. Turvey. 2015. What constitutes a 'native' species? Insights from the Quaternary faunal record. Biological Conservation **186**:143-148.
- Crespi, B. J. 2000. The evolution of maladaptation. Heredity **84**:623-629.
- Crimmins, S. M., S. Z. Dobrowski, & A. R. Mynsberge. 2013. Evaluating ensemble forecasts of plant species distributions under climate change. Ecological Modelling **266**:126-130.
- Département de Santé des Forêts. 2020. Bilan de la santé des forêts de Corse.
- Desneux, N., A. Decourtye, & J. M. Delpuech. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology **52**:81-106.
- Devorshak, C. 2012. Plant pest risk analysis: concepts and applications. Cabi.
- Diagne, C., B. Leroy, R. Gozlan, A.-C. Vaissière, C. Assailly, L. Nuninger, D. Roiz, F. Jourdain, I. Jarić, & F. Cournchamp. 2020. InvaCost, a public database of the economic costs of biological invasions worldwide. Scientific Data **7**:1-12.
- Diagne, C., B. Leroy, A. C. Vaissiere, R. E. Gozlan, D. Roiz, I. Jaric, J. M. Salles, C. J. A. Bradshaw, & F. Cournchamp. 2021. High and rising economic costs of biological invasions worldwide. Nature **592**:571-576.
- Diamond, S. E., & C. Fox. 2018. Contemporary climate-driven range shifts: putting evolution back on the table. Functional Ecology **32**:1652-1665.
- Diez, J. M., C. M. D'Antonio, J. S. Dukes, E. D. Grosholz, J. D. Olden, C. J. B. Sorte, D. M. Blumenthal, B. A. Bradley, R. Early, I. Ibáñez, S. J. Jones, J. J. Lawler, & L. P. Miller. 2012. Will extreme climatic events facilitate biological invasions? Frontiers in Ecology and the Environment **10**:249-257.
- Dole, S. A., & A. I. Cognato. 2008. Review of the Australian species of *Xylosandrus* Reitter (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). The Coleopterists Bulletin **62**:481-492.
- Dole, S. A., & A. I. Cognato. 2010. Phylogenetic revision of *Xylosandrus* Reitter (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborina). Proceedings of the Californian Academy of Sciences **61**:451-545.
- Dole, S. A., B. H. Jordal, & A. I. Cognato. 2010. Polyphyly of *Xylosandrus* Reitter inferred from nuclear and mitochondrial genes (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Molecular Phylogenetics and Evolution **54**:773-782.

- Douglas, H., P. Bouchard, R. S. Anderson, P. de Tonnancour, R. Vigneault, & R. P. Webster. 2013. New Curculionoidea (Coleoptera) records for Canada. *Zookeys* **309**:13-48.
- Drake, J. 2007. Hull fouling is a risk factor for intercontinental species exchange in aquatic ecosystems. *Aquatic Invasions* **2**:121-131.
- Dueñas, M.-A., D. J. Hemming, A. Roberts, & H. Diaz-Soltero. 2021. The threat of invasive species to IUCN-listed critically endangered species: A systematic review. *Global Ecology and Conservation* **26**.
- Dzurenko, M., C. M. Ranger, J. Hulcr, J. Galko, & P. Kaňuch. 2020. Origin of non-native *Xylosandrus germanus*, an invasive pest ambrosia beetle in Europe and North America. *Journal of Pest Science* **94**:553-562.
- Egonyu, J. P., J. Baguma, I. Ogari, G. Ahumuza, & G. Ddumba. 2017. Host preference by the twig borer *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Scolytidae) and simulated influence of shade trees on its populations. *International Journal of Tropical Insect Science* **37**:183-188.
- Egonyu, J. P., J. Baguma, I. Ogari, G. Ahumuza, S. Kyamanywa, P. Kucel, G. H. Kagezi, M. Erbaugh, N. Phiri, B. J. Ritchie, & W. W. Wagoire. 2015. The formicid ant, *Plagiolepis* sp., as a predator of the coffee twig borer, *Xylosandrus compactus*. *Biological Control* **91**:42-46.
- Elton, C. S. 1958. The ecology of invasions by animals and plants. Chapman and Hall, London.
- Engler, R., & A. Guisan. 2009. MigClim: Predicting plant distribution and dispersal in a changing climate. *Diversity and Distributions* **15**:590-601.
- EPPO. 2021. EPPO Reporting Service N°5, Paris 2021-05.
- Erper, İ., R. Kushiyevev, M. Türkkkan, & C. Tuncer. 2018. Evaluation of some fungicides against symbiotic fungus *Ambrosiella hartigii* associated with *Anisandrus dispar* Fabricius and *Xylosandrus germanus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Selcuk Journal of Agricultural and Food Sciences* **32**:60-66.
- Essl, F., S. Dullinger, W. Rabitsch, P. E. Hulme, K. Hulber, V. Jarosik, I. Kleinbauer, F. Krausmann, I. Kuhn, W. Nentwig, M. Vila, P. Genovesi, F. Gherardi, M. L. Desprez-Loustau, A. Roques, & P. Pysek. 2011. Socioeconomic legacy yields an invasion debt. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **108**:203-207.
- Estoup, A., & T. Guillemaud. 2010. Reconstructing routes of invasion using genetic data: why, how and so what? *Molecular Ecology* **19**:4113-4130.

- Evans, E. A., J. Crane, A. Hodges, & J. L. Osborne. 2010. Potential economic impact of laurel wilt disease on the Florida avocado industry. *HortTechnology* **20**:234-238.
- Falk-Petersen, J., T. Bøhn, & O. T. Sandlund. 2006. On the numerous concepts in invasion biology. *Biological Invasions* **8**:1409-1424.
- Fauvergue, X., E. Vercken, T. Malausa, & R. A. Hufbauer. 2012. The biology of small, introduced populations, with special reference to biological control. *Evolutionary Applications* **5**:424-443.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **3**:294-299.
- Frank, S. D., & C. S. Sadof. 2011. Reducing insecticide volume and nontarget effects of ambrosia beetle management in nurseries. *Journal of Economic Entomology* **104**:1960-1968.
- Fraser, C. I., O. Brahy, P. Mardulyn, L. Dohet, F. Mayer, & J. C. Grégoire. 2014. Flying the nest: male dispersal and multiple paternity enables extrafamilial matings for the invasive bark beetle *Dendroctonus micans*. *Heredity* **113**:327-333.
- Galko, J., M. Dzurenko, C. Ranger, J. Kulfan, E. Kula, C. Nikolov, M. Zúbrik, & P. Zach. 2018. Distribution, habitat preference, and management of the invasive ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in European forests with an emphasis on the West Carpathians. *Forests* **10**.
- Gallego, D., J. L. Lencina, H. Mas, J. Cervero, & M. Faccoli. 2017. First record of the granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in the Iberian Peninsula. *Zootaxa* **4273**:431-434.
- Gallego, D., J. María Riba, N. Molina, E. González, N. di Sora, L. Núñez, A. María Closa, C. Comparini, & M. Leza. 2020. Las invasiones silenciosas de escolítidos: el caso del género *Xylosandrus* (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae). *Foresta* **78**:78-83.
- Garonna, A. P., S. A. Dole, A. Saracino, S. Mazzoleni, & G. Cristinzio. 2012. First record of the black twig borer *Xylosandrus compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) from Europe. *Zootaxa* **3251**:64-68.
- Gascoigne, J., L. Berec, S. Gregory, & F. Courchamp. 2009. Dangerously few liaisons: a review of mate-finding Allee effects. *Population Ecology* **51**:355-372.
- Genovesi, P., S. H. M. Butchart, M. A. McGeoch, & D. B. Roy. 2013. Monitoring trends in biological invasion, its impact and policy responses. Pages 138-158 *dans* B. Collen, N.

- Pettorelli, J. E. M. Baillie, & S. M. Durant, editors. Biodiversity monitoring and conservation: bridging the gap between global commitment and local actions.
- Gilroy, J. J., J. D. Avery, & J. L. Lockwood. 2017. Seeking international agreement on what it means to be “native”. *Conservation Letters* **10**:238-247.
- Greco, E. B., & M. G. Wright. 2015. Ecology, biology, and management of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with emphasis on coffee in Hawaii. *Journal of Integrated Pest Management* **6**:1-8.
- Grevstad, F. S. 1999. Experimental invasions using biological control introductions: the influence of release size on the chance of population establishment. *Biological Invasions* **1**:313-323.
- Gugliuzzo, A., P. H. W. Biedermann, D. Carrillo, L. A. Castrillo, J. P. Egonyu, D. Gallego, K. Haddi, J. Hulcr, H. Jactel, H. Kajimura, N. Kamata, N. Meurisse, Y. Li, J. B. Oliver, C. M. Ranger, D. Rassati, L. L. Stelinski, R. Sutherland, G. Tropea Garzia, M. G. Wright, & A. Biondi. 2021. Recent advances toward the sustainable management of invasive *Xylosandrus ambrosia* beetles. *Journal of Pest Science* **94**:615-637.
- Gugliuzzo, A., G. Criscione, & G. Tropea Garzia. 2019. Unusual behavior of *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Scolytinae) on carob trees in a Mediterranean environment. *Insects* **10**.
- Guisan, A., B. Petitpierre, O. Broennimann, C. Daehler, & C. Kueffer. 2014. Unifying niche shift studies: insights from biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **29**:260-269.
- Guisan, A., W. Thuiller, & N. E. Zimmermann. 2017. Habitat suitability and distribution models with applications in R. Cambridge University Press.
- Hao, T., J. Elith, J. J. Lahoz-Monfort, & G. Guillera-Aroita. 2020. Testing whether ensemble modelling is advantageous for maximising predictive performance of species distribution models. *Ecography* **43**:549-558.
- Hara, A. H., & J. W. Beardsley Jr. 1979. The biology of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Eichhoff), in Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* **13**:55-70.
- Hellmann, J. J., J. E. Byers, B. G. Bierwagen, & J. S. Dukes. 2008. Five potential consequences of climate change for invasive species. *Conservation Biology* **22**:534-543.
- Hofstetter, R. W., J. T. Cronin, K. D. Klepzig, J. C. Moser, & M. P. Ayres. 2005. Antagonisms, mutualisms and commensalisms affect outbreak dynamics of the southern pine beetle. *Oecologia* **147**:679-691.

- Hoppe, B., A. Wilstermann, G. Schrader, A. Delbianco, & S. Vos. 2020. Pest survey card on *Xylosandrus crassiusculus*. EFSA Supporting Publications **17**.
- Hopper, K. R., R. T. Roush, & W. Powell. 1993. Management of genetics of biological-control introductions. *Annual Review of Entomology* **38**:27-51.
- Horn, S., & G. N. Horn. 2006. New host record for the asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomological Science* **41**:90-91.
- Hulcr, J., & R. R. Dunn. 2011. The sudden emergence of pathogenicity in insect-fungus symbioses threatens naive forest ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **278**:2866-2873.
- Hulcr, J., M. Kolarik, & L. R. Kirkendall. 2007. A new record of fungus-beetle symbiosis in Scolytodes bark beetles (Scolytinae, Curculionidae, Coleoptera). *Symbiosis* **43**:151-159.
- Hulcr, J., V. Novotny, B. A. Maurer, & A. I. Cognato. 2008. Low beta diversity of ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae) in lowland rainforests of Papua New Guinea. *Oikos* **117**:214-222.
- Hulcr, J., & L. L. Stelinski. 2017. The ambrosia symbiosis: from evolutionary ecology to practical management. *Annual Review of Entomology* **62**:285-303.
- Hulme, P. E. 2021. Unwelcome exchange: International trade as a direct and indirect driver of biological invasions worldwide. *One Earth* **4**:666-679.
- Hulme, P. E., S. Bacher, M. Kenis, S. Klotz, I. Kühn, D. Minchin, W. Nentwig, S. Olenin, V. Panov, J. Pergl, P. Pyšek, A. Roques, D. Sol, W. Solarz, & M. Vilà. 2008. Grasping at the routes of biological invasions: a framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology* **45**:403-414.
- Ito, M., & H. Kajimura. 2009. Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **44**:549-559.
- Jakoby, O., H. Lischke, & B. Wermelinger. 2019. Climate change alters elevational phenology patterns of the European spruce bark beetle (*Ips typographus*). *Global Change Biology* **25**:4048-4063.
- Jones, B. A. 2017. Invasive species impacts on human well-being using the life satisfaction index. *Ecological Economics* **134**:250-257.

- Jones, B. A., & S. M. McDermott. 2017. Health impacts of invasive species through an altered natural environment: assessing air pollution sinks as a causal pathway. *Environmental and Resource Economics* **71**:23-43.
- Jordal, B. H. 2002. Elongation Factor 1  $\alpha$  resolves the monophyly of the haplodiploid ambrosia beetles Xyleborini (Coleoptera: Curculionidae). *Insect Molecular Biology* **11**:453-465.
- Jordal, B. H., R. A. Beaver, & L. R. Kirkendall. 2001. Breaking taboos in the tropics: incest promotes colonization by wood-boring beetles. *Global Ecology and Biogeography* **10**:345-357.
- Jordan, N. R., D. L. Larson, & S. C. Huerd. 2007. Soil modification by invasive plants: effects on native and invasive species of mixed-grass prairies. *Biological Invasions* **10**:177-190.
- Joseph, R., & N. O. Keyhani. 2021. Fungal mutualisms and pathosystems: life and death in the ambrosia beetle mycangia. *Applied Microbiology and Biotechnology* **105**:3393-3410.
- Kagezi, G., P. Kucel, S. Olal, F. Pinard, J. Seruyange, P. Musoli, & A. Kangire. 2015. In vitro inhibitory effect of selected fungicides on mycelial growth of ambrosia fungus associated with the black coffee twig borer, *Xylosandrus compactus* Eichhoff (Coleoptera: Curculionidae) in Uganda. *Agricultural Research*.
- Kajimura, H., & N. Hiji. 1992. Dynamics of the fungal symbionts in the gallery system and the mycangia of the ambrosia beetle, *Xylosandrus mutilatus* (Blandford) (Coleoptera: Scolytidae) in relation to its life history. *Ecological Research* **7**:107–117.
- Karger, D. N., D. R. Schmatz, G. Dettling, & N. E. Zimmermann. 2020. High-resolution monthly precipitation and temperature time series from 2006 to 2100. *Scientific Data* **7**:248.
- Kavčič, A. 2018. First record of the Asian ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), in Slovenia. *Zootaxa* **4483**:191-193.
- Kawasaki, Y., H. Schuler, C. Stauffer, F. Lakatos, & H. Kajimura. 2016. Wolbachia endosymbionts in haplodiploid and diploid scolytine beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Environmental microbiology reports* **8**:680-688.
- Khon, V. C., I. I. Mokhov, M. Latif, V. A. Semenov, & W. Park. 2009. Perspectives of Northern Sea Route and Northwest Passage in the twenty-first century. *Climatic Change* **100**:757-768.
- Kiran, V. S., R. Asokan, R. Revannavar, M. S. Hanchipura Mallesh, & E. Ramasamy. 2019. Genetic characterization and DNA barcoding of coffee shot-hole borer, *Xylosandrus*

- compactus* (Eichhoff) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Mitochondrial DNA Part A **30**:779-785.
- Kirkendall, L. R. 2018. Invasive bark beetles (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) in Chile and Argentina, including two species new for South America, and the correct identity of the *Orthotomicus* species in Chile and Argentina. Diversity **10**.
- Kirkendall, L. R., P. H. W. Biedermann, & B. H. Jordal. 2015. Evolution and diversity of bark and ambrosia beetle. *dans* F. E. Vega & R. W. Hofstetter, editors. Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species. Academic Press, London.
- Klepzig, K. D., & R. T. Wilkens. 1997. Competitive interactions among symbiotic fungi of the Southern pine beetle. Applied Environmental Microbiology **63**:621-627.
- Kuebbing, S. E., & M. A. Nunez. 2016. Invasive non-native plants have a greater effect on neighbouring natives than other non-natives. Nat Plants **2**:16134.
- Kuussaari, M., R. Bommarco, R. K. Heikkinen, A. Helm, J. Krauss, R. Lindborg, E. Öckinger, M. Pärtel, J. Pino, & F. Rodà. 2009. Extinction debt: a challenge for biodiversity conservation. Trends in Ecology & Evolution **24**:564-571.
- LaBonte, J. R. 2010. Eradication of an exotic ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky), in Oregon. Pages 41-43 *dans* USDA Research Forum on Invasive Species.
- Lande, R. 1988. Genetics and demography in biological conservation. Science **241**:1455-1460.
- Lande, R. 1993. Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. The American Naturalist **142**:911-927.
- Landi, L., D. Gómez, C. L. Braccini, V. A. Pereyra, S. M. Smith, & A. E. Marvaldi. 2017. Morphological and molecular identification of the invasive *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and its South American range extending into Argentina and Uruguay. Annals of the Entomological Society of America **110**:344-349.
- Lehmann, P., T. Ammunét, M. Barton, A. Battisti, S. D. Eigenbrode, J. U. Jepsen, G. Kalinkat, S. Neuvonen, P. Niemelä, J. S. Terblanche, B. Økland, & C. Björkman. 2020. Complex responses of global insect pests to climate warming. Frontiers in Ecology and the Environment **18**:141-150.
- Lenoir, J., & J. C. Svenning. 2015. Climate-related range shifts - a global multidimensional synthesis and new research directions. Ecography **38**:15-28.
- Leza, M. A. R., L. Nuñez, J. M. Riba, C. Comparini, Á. Roca, & D. Gallego. 2020. First record of the black twig borer, *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in Spain. Zootaxa **4767**:345-350.

## BIBLIOGRAPHIE

- Li, Y., Y. Ruan, M. T. Kasson, E. L. Stanley, C. Gillett, A. J. Johnson, M. Zhang, & J. Hulcr. 2018. Structure of the ambrosia beetle (Coleoptera: Curculionidae) mycangia revealed through micro-computed tomography. *Journal of Insect Science* **18**.
- Li, Y., Y. Y. Ruan, E. L. Stanley, J. Skelton, & J. Hulcr. 2019. Plasticity of mycangia in *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Insect Science* **26**:732-742.
- Liebholt, A. M., T. Yamanaka, A. Roques, S. Augustin, S. L. Chown, E. G. Brouwerhoff, & P. Pysek. 2018. Plant diversity drives global patterns of insect invasions. *Scientific Report* **8**:12095.
- Lin, Y., A. K. Y. Ng, & M. Afenyo. 2020. Chapter 13 - Climate change, a double-edged sword: the case of Churchill on the Northwest passage. Pages 223-235 *dans* A. K. Y. Ng, J. Monios, & C. Jiang, editors. Maritime transport and regional sustainability.
- Lombaert, E., T. Guillemaud, J. M. Cornuet, T. Malausa, B. Facon, & A. Estoup. 2010. Bridgehead effect in the worldwide invasion of the biocontrol harlequin ladybird. *PLoS ONE* **5**:e9743.
- Ludsin, S. A., & A. D. Wolfe. 2001. Biological invasion theory: Darwin's contributions from *The Origin of Species*. *Bioscience* **51**:780-789.
- MacLean, D. B., & R. L. Giese. 1967. The life history of the ambrosia beetle *Xyloterinus politus* (Coleoptera: Scolytidae). *The Canadian Entomologist* **99**:285-299.
- Mageroy, M. H., E. Christiansen, B. Långström, A. K. Borg-Karlson, H. Solheim, N. Björklund, T. Zhao, A. Schmidt, C. G. Fossdal, & P. Krokene. 2019. Priming of inducible defenses protects Norway spruce against tree-killing bark beetles. *Plant, Cell & Environment* **43**:420-430.
- Mangold, J. R., R. C. Wilkinson, & D. E. Short. 1977. Chlorpyrifos sprays for control of *Xylosandrus compactus* in flowering dogwood. *Journal of Economic Entomology* **70**:789-790.
- Mavruk, S., & D. Avsar. 2007. Non-native fishes in the Mediterranean from the Red Sea, by way of the Suez Canal. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **18**:251-262.
- Maxwell, A., A. M. Vettraino, R. Eschen, & V. Andjic. 2014. International plant trade and biosecurity. Pages 1171-1195 *Horticulture: Plants for People and Places, Volume 3*. Springer.
- Mendel, Z., S. C. Lynch, A. Eskalen, A. Protasov, M. Maymon, & S. Freeman. 2021. What determines host range and reproductive performance of an invasive ambrosia beetle *Euwallacea fornicatus*; lessons from Israel and California. *Frontiers in Forests and Global Change* **4**:29.

- Ministry for Primary Industries. 2019. Biosecurity New Zealand - Granulate ambrosia beetle. New Zealand Government.
- Molloy, G., J. H. Pantel, & T. N. Romanuk. 2017. Chapter 2 - The effects of invasive species on the decline in species richness: a global meta-analysis. Pages 61-83 *dans* D. A. Bohan, A. J. Dumbrell, & F. Massol, editors. *Advances in Ecological Research*.
- Morales-Rodriguez, C., I. Sferrazza, M. P. Aleandri, M. Dalla Valle, S. Speranza, M. Contarini, & A. Vannini. 2021. The fungal community associated with the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* invading the mediterranean maquis in central Italy reveals high biodiversity and suggests environmental acquisitions. *Fungal Biology* **125**:12-24.
- Mueller, U. G., & N. Gerardo. 2002. Fungus-farming insects: multiple origins and diverse evolutionary histories. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:15247-15249.
- Mueller, U. G., N. M. Gerardo, D. K. Aanen, D. L. Six, & T. R. Schultz. 2005. The evolution of agriculture in insects. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**:563-595.
- Myers, J. H., D. Simberloff, A. M. Kuris, & J. R. Carey. 2000. Eradication revisited: dealing with exotic species. *Trends in Ecology & Evolution* **15**:316-320.
- Nabutanyi, P., & M. J. Wittmann. 2021. Models for eco-evolutionary extinction vortices under balancing selection. *American Naturalist* **197**:336-350.
- Nageleisen, L.-M., C. Bouget, & T. Noblecourt. 2015. Les Scolytes du genre *Xylosandrus* en France (Coleoptera Curculionidae Scolytinae). *L'Entomologiste* **71**:267-271.
- Netherer, S., B. Panassiti, J. Pennerstorfer, & B. Matthews. 2019. Acute drought is an important driver of bark beetle infestation in Austrian Norway spruce stands. *Frontiers in Forests and Global Change* **2**:39.
- Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority. 2018. First finding of *Xylosandrus crassiusculus* (EPPO Alert List) in kairomone traps surrounding three import locations of wood packaging material (municipalities Venlo, Nuth and Moerdijk). February 2018 Pest report – The Netherlands. Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority.
- Ngoan, N. D., R. C. Wilkinson, D. E. Short, C. S. Moses, & J. R. Mangold. 1976. Biology of an introduced ambrosia beetle, *Xylosandrus compactus*, in Florida. *Annals of the Entomological Society of America* **69**:872-876.

- Niu, S., Y. Luo, D. Li, S. Cao, J. Xia, J. Li, & M. D. Smith. 2014. Plant growth and mortality under climatic extremes: An overview. *Environmental and Experimental Botany* **98**:13-19.
- Nogués-Bravo, D. 2009. Predicting the past distribution of species climatic niches. *Global Ecology and Biogeography* **18**:521-531.
- Nunes, A. L., J. M. Fill, S. J. Davies, M. Louw, A. D. Rebelo, C. J. Thorp, G. Vimercati, & J. Measey. 2019. A global meta-analysis of the ecological impacts of alien species on native amphibians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **286**:20182528.
- Nuotclà, J. A., M. Taborsky, & P. H. Biedermann. 2014. The importance of blocking the gallery entrance in the ambrosia beetle *Xyleborinus saxesenii* Ratzeburg (Coleoptera; Scolytinae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie* **19**:203-207.
- Ogris, N., N. Pristov, & A. Kobler. 2016. Model za kratkoročno napoved pojava žledoloma v Sloveniji. *Napovedi o zdravju gozdov*.
- Paini, D. R., A. W. Sheppard, D. C. Cook, P. J. De Barro, S. P. Worner, & M. B. Thomas. 2016. Global threat to agriculture from invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **113**:7575-7579.
- Parmesan, C., N. Ryrholm, C. Stefanescu, J. K. Hill, C. D. Thomas, H. Descimon, B. Huntley, L. Kaila, J. Kullberg, & T. Tammaru. 1999. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* **399**:579-583.
- Pearman, P. B., A. Guisan, O. Broennimann, & C. F. Randin. 2008. Niche dynamics in space and time. *Trends in Ecology & Evolution* **23**:149-158.
- Peer, K., & M. Taborsky. 2004. Female ambrosia beetles adjust their offspring sex ratio according to outbreeding opportunities for their sons. *Journal of Evolutionary Biology* **17**:257-264.
- Peer, K., & M. Taborsky. 2005. Outbreeding depression, but no inbreeding depression in haplodiploid ambrosia beetles with regular sibling mating. *Evolution* **59**:317-323.
- Peer, K., & M. Taborsky. 2006. Delayed dispersal as a potential route to cooperative breeding in ambrosia beetles. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **61**:729-739.
- Peniston, J. H., M. Barfield, & R. D. Holt. 2019. Pulsed immigration events can facilitate adaptation to harsh sink environments. *American Naturalist* **194**:316-333.
- Pennachio, F., P. F. Roversi, V. Francardi, & E. Gatti. 2003. *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) a bark beetle new to Europe (Coleoptera Scolytidae). *Redia* **86**:77-80.

- Pimentel, D., S. McNair, J. Janecka, J. Wightman, C. Simmonds, C. O'Connell, E. Wong, L. Russel, J. Zern, T. Aquino, & T. Tsomondo. 2001. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **84**:1-20.
- Prenter, J., C. MacNeil, J. T. Dick, & A. M. Dunn. 2004. Roles of parasites in animal invasions. *Trends in Ecology & Evolution* **19**:385-390.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, & P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**:945-959.
- Proosdij, A. S. J., M. S. M. Sosef, J. J. Wieringa, & N. Raes. 2015. Minimum required number of specimen records to develop accurate species distribution models. *Ecography* **39**:542-552.
- Qiao, H., J. Soberón, A. T. Peterson, & D. Kriticos. 2015. No silver bullets in correlative ecological niche modelling: insights from testing among many potential algorithms for niche estimation. *Methods in Ecology and Evolution* **6**:1126-1136.
- Ranger, C. M., M. E. Reding, A. B. Persad, & D. A. Herms. 2010. Ability of stress-related volatiles to attract and induce attacks by *Xylosandrus germanus* and other ambrosia beetles. *Agricultural and Forest Entomology* **12**:177-185.
- Ranger, C. M., M. E. Reding, P. B. Schultz, J. B. Oliver, S. D. Frank, K. M. Addesso, J. Hong Chong, B. Sampson, C. Werle, S. Gill, & C. Krause. 2016. Biology, ecology, and management of nonnative ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in ornamental plant nurseries. *Journal of Integrated Pest Management* **7**:1-23.
- Rassati, D., L. Marini, & A. Malacrinò. 2019. Acquisition of fungi from the environment modifies ambrosia beetle mycobiome during invasion. *PeerJ* **7**.
- Reitter, E. 1913. Bestimmungs-Tabelle der Borkenkäfer (Scolytidae) aus Europa und den angrenzenden Ländern. *Wiener Entomologische Zeitung* **32**: 1-116.
- Renault, D., M. Laparie, S. J. McCauley, & D. Bonte. 2018. Environmental adaptations, ecological filtering, and dispersal central to insect invasions. *Annual Review of Entomology* **63**:345-368.
- Ricciardi, A., & J. Cohen. 2006. The invasiveness of an introduced species does not predict its impact. *Biological Invasions* **9**:309-315.
- Richardson, D. M., P. Pyšek, & J. T. Carlton. 2010. A compendium of essential concepts and terminology in invasion ecology. Pages 409-420 *dans* D. M. Richardson, editor. *Fifty years of invasion ecology*, Wiley-Blackwell.

- Robinet, C., R. van den Dool, D. Collot, & J. C. Douma. 2020. Modelling for risk and biosecurity related to forest health. *Emerg Top Life Sci* **4**:485-495.
- Robinson, T. B., N. Martin, T. G. Loureiro, P. Matikinca, & M. P. Robertson. 2020. Double trouble: the implications of climate change for biological invasions. *NeoBiota* **62**:463-487.
- Rochlin, I., D. V. Ninivaggi, M. L. Hutchinson, & A. Farajollahi. 2013. Climate change and range expansion of the Asian tiger mosquito (*Aedes albopictus*) in Northeastern USA: implications for public health practitioners. *PLoS ONE* **8**:e60874.
- Roques, A. 2010. Alien forest insects in a warmer world and a globalised economy: impacts of changes in trade, tourism and climate on forest biosecurity. *New Zealand Journal of Forestry Science* **40**:S77-S94.
- Roques, A., M.-A. Auger-Rozenberg, T. M. Blackburn, J. Garnas, P. Pyšek, W. Rabitsch, D. M. Richardson, M. J. Wingfield, A. M. Liebhold, & R. P. Duncan. 2016. Temporal and interspecific variation in rates of spread for insect species invading Europe during the last 200 years. *Biological Invasions* **18**:907-920.
- Roques, A., R. Bellanger, J. B. Daubrée, C. Ducatillon, T. Urvois, & M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.
- Roques, A., W. Rabitsch, J.-Y. Rasplus, C. Lopez-Vaamonde, W. Nentwig, & M. Kenis. 2009. Alien terrestrial invertebrates of Europe. Pages 63-79 *Handbook of alien species in Europe*. Springer.
- Samuelson, G. A. 1981. A synopsis of Hawaiian Xyleborini (Coleoptera: Scolytidae). *Pacific Insects* **23**:50-92.
- Sanders, M. D., & R. F. Maloney. 2002. Causes of mortality at nests of ground-nesting birds in the Upper Waitaki Basin, South Island, New Zealand: a 5-year video study. *Biological Conservation* **106**:225-236.
- Schindler, S., B. Staska, M. Adam, W. Rabitsch, & F. Essl. 2015. Alien species and public health impacts in Europe: a literature review. *NeoBiota* **27**:1-23.
- Seebens, H., S. Bacher, T. M. Blackburn, C. Capinha, W. Dawson, S. Dullinger, P. Genovesi, P. E. Hulme, M. van Kleunen, I. Kuhn, J. M. Jeschke, B. Lenzner, A. M. Liebhold, Z. Pattison, J. Pergl, P. Pyšek, M. Winter, & F. Essl. 2020. Projecting the continental accumulation of alien species through to 2050. *Global Change Biology*.
- Seebens, H., T. M. Blackburn, E. E. Dyer, P. Genovesi, P. E. Hulme, J. M. Jeschke, S. Pagad, P. Pyšek, M. Winter, M. Arianoutsou, S. Bacher, B. Blasius, G. Brundu, C. Capinha, L. Celesti-Grapow, W. Dawson, S. Dullinger, N. Fuentes, H. Jager, J. Kartesz, M. Kenis,

- H. Kreft, I. Kuhn, B. Lenzner, A. Liebhold, A. Mosena, D. Moser, M. Nishino, D. Pearman, J. Pergl, W. Rabitsch, J. Rojas-Sandoval, A. Roques, S. Rorke, S. Rossinelli, H. E. Roy, R. Scalera, S. Schindler, K. Stajeroval, B. Tokarska-Guzik, M. van Kleunen, K. Walker, P. Weigelt, T. Yamanaka, & F. Essl. 2017. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications* **8**:14435.
- Senf, C., A. Buras, C. S. Zang, A. Rammig, & R. Seidl. 2020. Excess forest mortality is consistently linked to drought across Europe. *Nature Communications* **11**.
- Shackleton, S., D. Kirby, & J. Gambiza. 2011. Invasive plants – friends or foes? Contribution of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) to livelihoods in Makana municipality, Eastern Cape, South Africa. *Development Southern Africa* **28**:177-193.
- Shipley, B. R., R. Bach, Y. Do, H. Strathearn, J. L. McGuire, & B. Dilkina. 2021. megaSDM: integrating dispersal and time-step analyses into species distribution models. *Ecography* **2022**.
- Simberloff, D. 2009. The role of propagule pressure in biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **40**:81-102.
- Simberloff, D., J. L. Martin, P. Genovesi, V. Maris, D. A. Wardle, J. Aronson, F. Courchamp, B. Galil, E. Garcia-Berthou, M. Pascal, P. Pyšek, R. Sousa, E. Tabacchi, & M. Vila. 2013. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology and Evolution* **28**:58-66.
- Six, D. L., & M. J. Wingfield. 2011. The role of phytopathogenicity in bark beetle-fungus symbioses: a challenge to the classic paradigm. *Annual Review of Entomology* **56**:255-272.
- Spanou, K., M. Marathianou, M. Gouma, D. Dimou, L. Nikoletos, P. Milonas, & D. Papachristos. 2019. First record of black twig borer *Xylosandrus compactus* (Coleoptera: Curculionidae) in Greece. 18th Panhellenic Entomological Congress, Komotini.
- Stoeckli, S., R. Felber, & T. Haye. 2020. Current distribution and voltinism of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*, in Switzerland and its response to climate change using a high-resolution CLIMEX model. *International Society of Biometeorology* **64**:2019-2032.
- Stone, W., T. Nebeker, W. Monroe, & J. MacGown. 2007. Ultrastructure of the mesonotal mycangium of *Xylosandrus mutilatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Canadian Journal of Zoology* **85**:232-238.

- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, & J. Hulcr. 2017. Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* **7**:10974-10986.
- Streito, J.-C., M. Chartois, É. Pierre, F. Dusoulier, J.-M. Armand, J. Gaudin, & J.-P. Rossi. 2021. Citizen science and niche modeling to track and forecast the expansion of the brown marmorated stinkbug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855). *Scientific Reports* **11**.
- Tien, N., M. Sabelis, & M. Egas. 2015. Inbreeding depression and purging in a haplodiploid: gender-related effects. *Heredity* **114**:327-332.
- UICN France. 2015. Les espèces exotiques envahissantes sur les sites d'entreprises. Livret 1 : Connaissances et recommandations générales. Paris, France.
- Urvois, T., M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, & C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus* ambrosia beetles. *Scientific Reports* **11**:1339.
- Valade, R., M. Kenis, A. Hernandez-Lopez, S. Augustin, N. Mari Mena, E. Magnoux, R. Rougerie, F. Lakatos, A. Roques, & C. Lopez-Vaamonde. 2009. Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae). *Molecular Ecology* **18**:3458-3470.
- Valéry, L., H. Fritz, & J.-C. Lefeuvre. 2013. Another call for the end of invasion biology. *Oikos* **122**:1143-1146.
- Vannini, A., M. Contarini, M. Faccoli, M. D. Valle, C. M. Rodriguez, T. Mazzetto, D. Guarneri, A. M. Vettraino, & S. Speranza. 2017. First report of the ambrosia beetle *Xylosandrus compactus* and associated fungi in the Mediterranean maquis in Italy, and new host-pest associations. *EPPO Bulletin* **47**:100-103.
- Vollering, J., R. Halvorsen, & S. Mazzoni. 2019. The MIAMaxent R package: Variable transformation and model selection for species distribution models. *Ecology and Evolution* **9**:12051-12068.
- Walther, G.-R., A. Roques, P. E. Hulme, M. T. Sykes, P. Pyšek, I. Kühn, M. Zobel, S. Bacher, Z. Botta-Dukat, & H. Bugmann. 2009. Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* **24**:686-693.
- Wang, Z., Y. Li, A. S. Ernstsons, R. Sun, J. Hulcr, & L. Gao. 2020. The infestation and habitat of the ambrosia beetle *Euwallacea interjectus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in the riparian zone of Shanghai, China. *Agricultural and Forest Entomology* **23**:104-109.

- Webb, D. A. 1985. What are the criteria for presuming native status? *Watsonia* **15**:231-236.
- Wiens, J. A., D. Stralberg, D. Jongsomjit, C. A. Howell, & M. A. Snyder. 2009. Niches, models, and climate change: assessing the assumptions and uncertainties. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **106 (Supplement 2)**:19729-19736.
- Wild, A. L., & D. R. Maddison. 2008. Evaluating nuclear protein-coding genes for phylogenetic utility in beetles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48**:877-891.
- Wood, S. L. 1980. New American bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) with two recently introduced species. *Great Basin Naturalist* **40**:353-358.
- Wood, S. L. 1982. *The Bark and Ambrosia Beetles of North and Central America (Coleoptera: Scolytidae), a Taxonomic Monograph*. Brigham Young University, Provo, Utah.
- Wu, Y., N. F. Trepanowski, J. J. Molongoski, P. F. Reagel, S. W. Lingafelter, H. Nadel, S. W. Myers, & A. M. Ray. 2017. Identification of wood-boring beetles (Cerambycidae and Buprestidae) intercepted in trade-associated solid wood packaging material using DNA barcoding and morphology. *Scientific Reports* **7**:1-12.
- Young, A. M., & B. M. H. Larson. 2011. Clarifying debates in invasion biology: a survey of invasion biologists. *Environmental Research* **111**:893-898.
- Zenni, R. D., F. Essl, E. García-Berthou, & S. M. McDermott. 2021. The economic costs of biological invasions around the world. *NeoBiota* **67**:1-9.

## ANNEXES



## 1) LISTE DE PRODUCTIONS

**Publications scientifiques dans des revues à comité de lecture :**

- Smith, S. M., **T. Urvois**, A. Roques, and A. I. Cognato. Recognition of the pseudocryptic species *Xylosandrus declivigranulatus* (Schedl) as distinct from *X. crassiusculus* (Motchulsky) (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). Soumis à The Coleopterists Bulletin le 07/12/2021.
- Urvois, T.**, C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2022. A first inference of the phylogeography of the worldwide invader *Xylosandrus compactus* Journal of Pest Science, sous presse. doi: 10.1007/s10340-021-01443-7
- Urvois, T.**, M.-A. Auger-Rozenberg, A. Roques, J.-P. Rossi, and C. Kerdelhué. 2021. Climate change impact on the potential geographical distribution of two invading *Xylosandrus* ambrosia beetles. Scientific Reports **11**:1339. doi: 10.1038/s41598-020-80157-9

**Communications orales :**

- Urvois, T.**, C. Perrier, A. Roques, M.-A. Auger-Rozenberg, C. Kerdelhué. 2021. Comment les outils génétiques permettent-ils de retracer les invasions biologiques ? Cas des scolytes invasifs *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus*. Antibes, 4èmes Rencontres de Thuret, 29-30/11/2021.
- Boivin, T., P. Fernandez Conradi, J. Chadoeuf, **T. Urvois**, M.-A. Auger-Rozenberg, C. Kerdelhué, A. Roques, and J.-B. Daubrée. 2021. Dynamique d'expansion d'une population introduite de *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera : Curculionidae) en France. Biscarosse, 14èmes rencontres GEFF-GPFF, 27-30/09/21.
- Urvois, T.**, C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2021. Genetic structure of European invasive populations of two *Xylosandrus* species. Workshop of the Joint Sino-French Laboratory for Invasive Forest Pests in Eurasia (IFOPE), Patterns of Pest Invasion and Emergence in Eurasian Forests (virtual), 12/10/21.
- Urvois, T.**, C. Perrier, A. Roques, L. Sauné, C. Courtin, Y. Li, A. J. Johnson, J. Hulcr, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2021. Genetic structure of European invasive populations of *Xylosandrus* species. XXVI Italian Congress of Entomology, Turin, Italy (virtual), 7-11/06/21.
- Urvois, T.**, J.-P. Rossi, A. Roques, M.-A. Auger-Rozenberg, and C. Kerdelhué. 2020. Etude de l'invasion de deux scolytes invasifs en Europe : *Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus*. Journées Scientifiques Annuelles, INRAE, Orléans (virtual), 24/11/2020.
- Urvois, T.**, A. Roques, J.-P. Rossi, C. Kerdelhué, and M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Species distribution modelling and expansion monitoring of two invasive ambrosia beetles, *Xylosandrus compactus* and *X. crassiusculus*. Detection and control of forest invasive alien species in a dynamic world (International conference organised by the project LIFE ARTEMIS), Ljubljana, Slovenia, 25-28/09/2019.

**Publication dans une revue professionnelle :**

Roques, A., R. Bellanger, J.-B. Daubrée, C. Ducatillon, **T. Urvois**, and M.-A. Auger-Rozenberg. 2019. Les scolytes exotiques : une menace pour le maquis. *Phytoma* **727**:16-20.

**Chapitre d'ouvrage:**

**Urvois, T.**, J.-P. Rossi, C. Perrier, A. Roques, M.-A. Auger-Rozenberg & C. Kerdelhué. Les scolytes du genre *Xylosandrus* à la conquête de l'Europe. In: *Invasions biologiques et crises sanitaires en agriculture*, Lannou C., Rossi J.-P. (eds), Quae Editions, Paris, à paraître.

**Communication grand public dans le cadre du projet SAMFIX**

Participation à l' édition 2020 du flyer « *Xylosandrus: a small insect to know and control* ». Disponible en ligne : <https://www.lifesamfix.eu/fr/telecharger/>

2) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 2

| Mn<br>paramet<br>ers | No filter         |                             | r = 0.5           |                            |                      | r = 0.7           |                            |                      |
|----------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------|----------------------------|----------------------|-------------------|----------------------------|----------------------|
|                      | Number<br>of loci | Number of<br>variants sites | Number<br>of loci | Number of<br>variant sites | Mean %<br>homozygoty | Number<br>of loci | Number of<br>variant sites | Mean %<br>homozygoty |
| M6n4                 | 1292162           | 105124                      | 56863             | 55267                      | 0,9209               | 50506             | 48300                      | 0,9204               |
| M6n6                 | 1279667           | 105181                      | 56885             | 55355                      | 0,9201               | 50677             | 48531                      | 0,9196               |
| M8n4                 | 1318900           | 108287                      | 55703             | 53927                      | 0,9221               | 48251             | 45936                      | 0,9217               |
| M8n6                 | 1305269           | 108585                      | 55775             | 54057                      | 0,9233               | 48481             | 46214                      | 0,9213               |

Supplementary Table 1: Number of loci, number of variant sites and mean homozygoty (%) for different M and n combination parameters (i.e. respectively the maximum distance allowed between stacks and the number of mismatches allowed between sample loci when building the catalog) and different r values (i.e. the minimum percentage of individuals a locus must be present in to be processed).

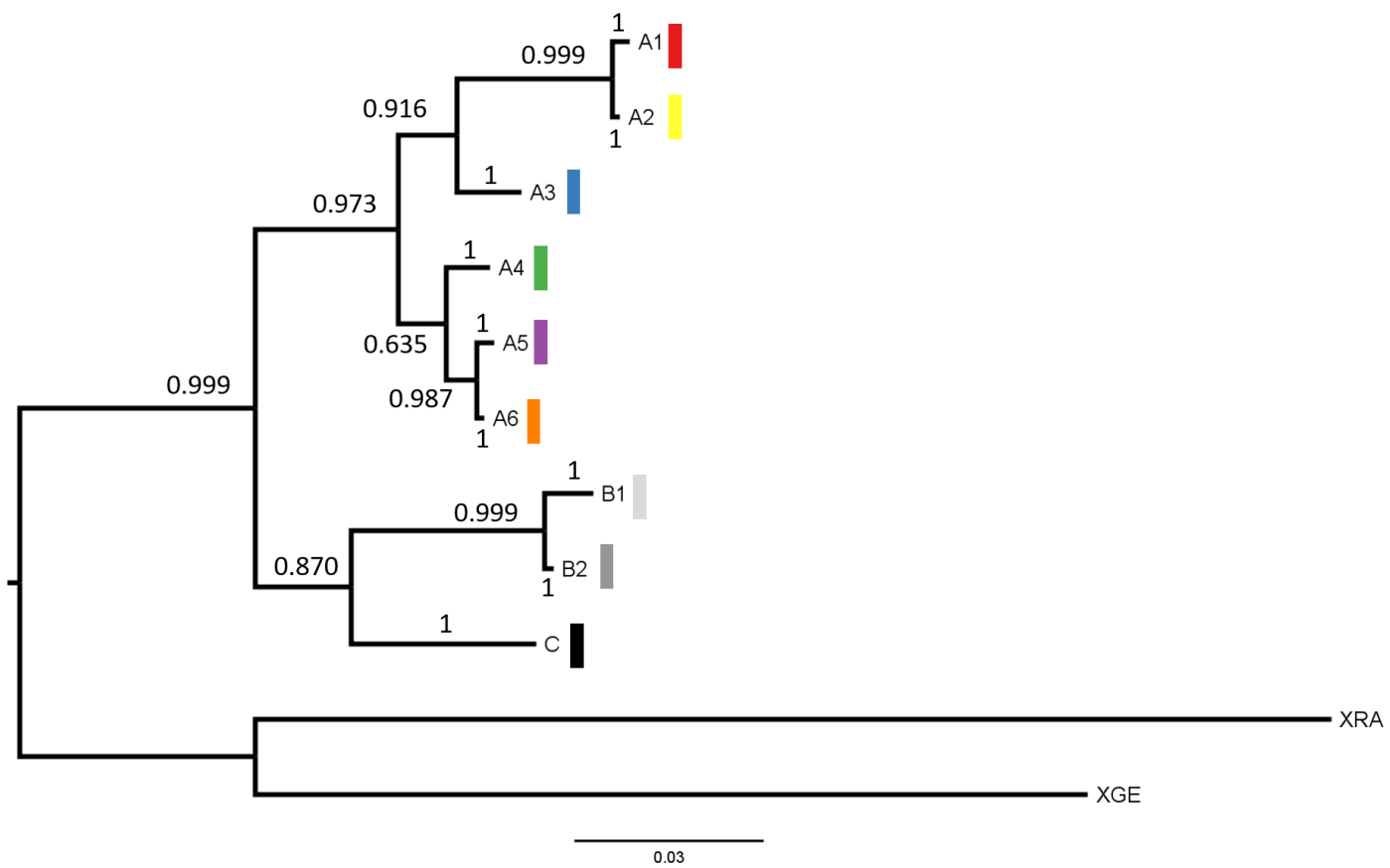
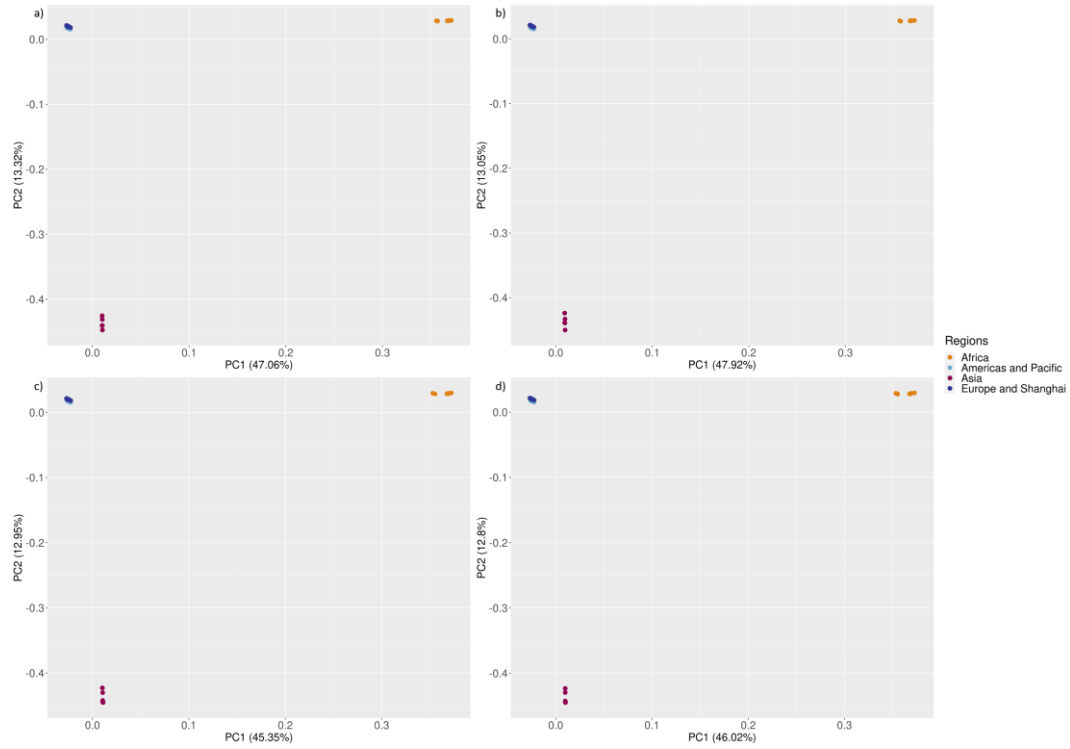
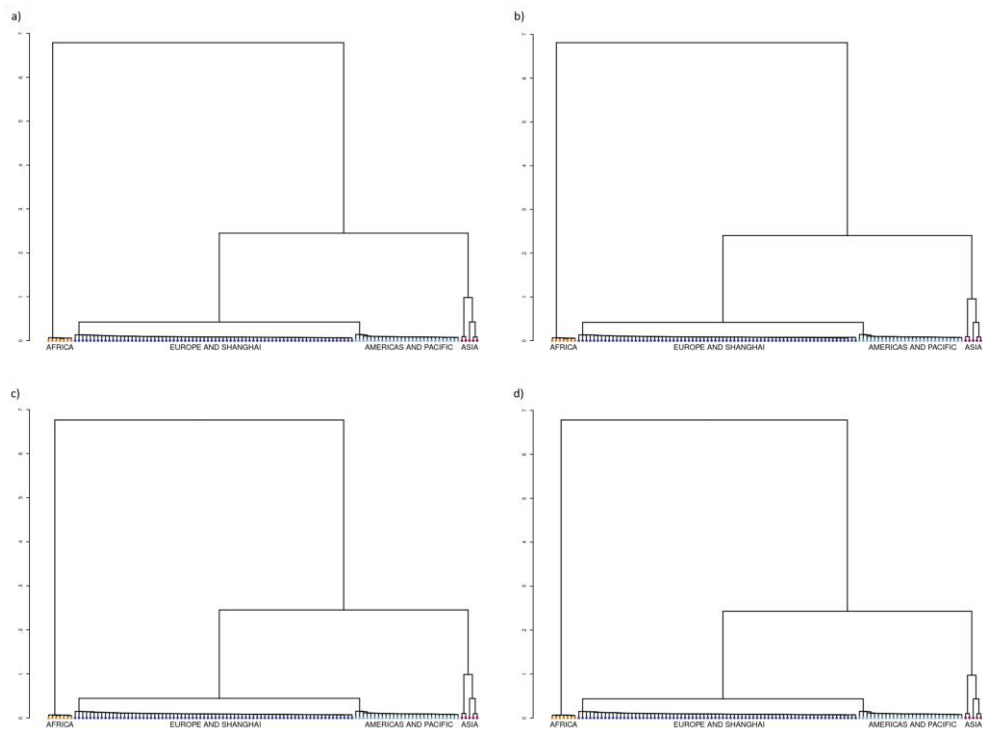


Figure S1: Tree representing the phylogenetic relationships between COI haplotypes with Bayesian inference with MrBayes 3.2.1. The values represent the branches' posterior probabilities. We used *Xylosandrus germanus* (XGE NC036280.1) and *Xylosandrus crassiusculus* (XRA MT230099.1) as outgroups in both trees.



**Figure S2: Principal components analysis showing the first and second principal components for different M and n parameters settings: a) M6n4 (48300 SNPs), b) M6n6 (48531 SNPs), c) M8n4 (45936 SNPs) and d) M8n6 (46214 SNPs).**



**Figure S3: Dendrograms of the 118 specimens of *X. compactus* based on individual dissimilarities for different M and n parameters settings: a) M6n4 (48300 SNPs), b) M6n6 (48531 SNPs), c) M8n4 (45936 SNPs) and d) M8n6 (46214 SNPs).**

## ANNEXES

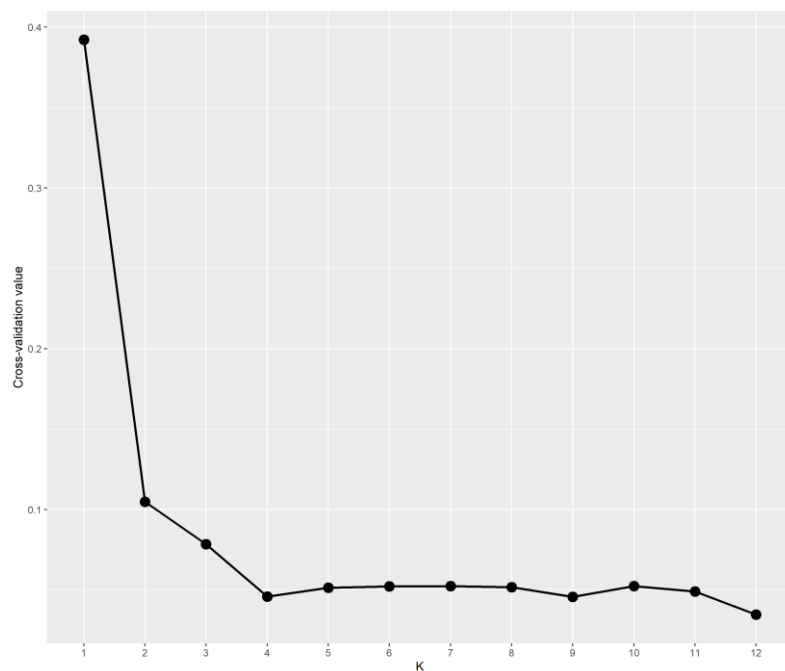


Figure S4: Cross-validation plot of the Admixture performed on the 118 specimens of *X. compactus*.

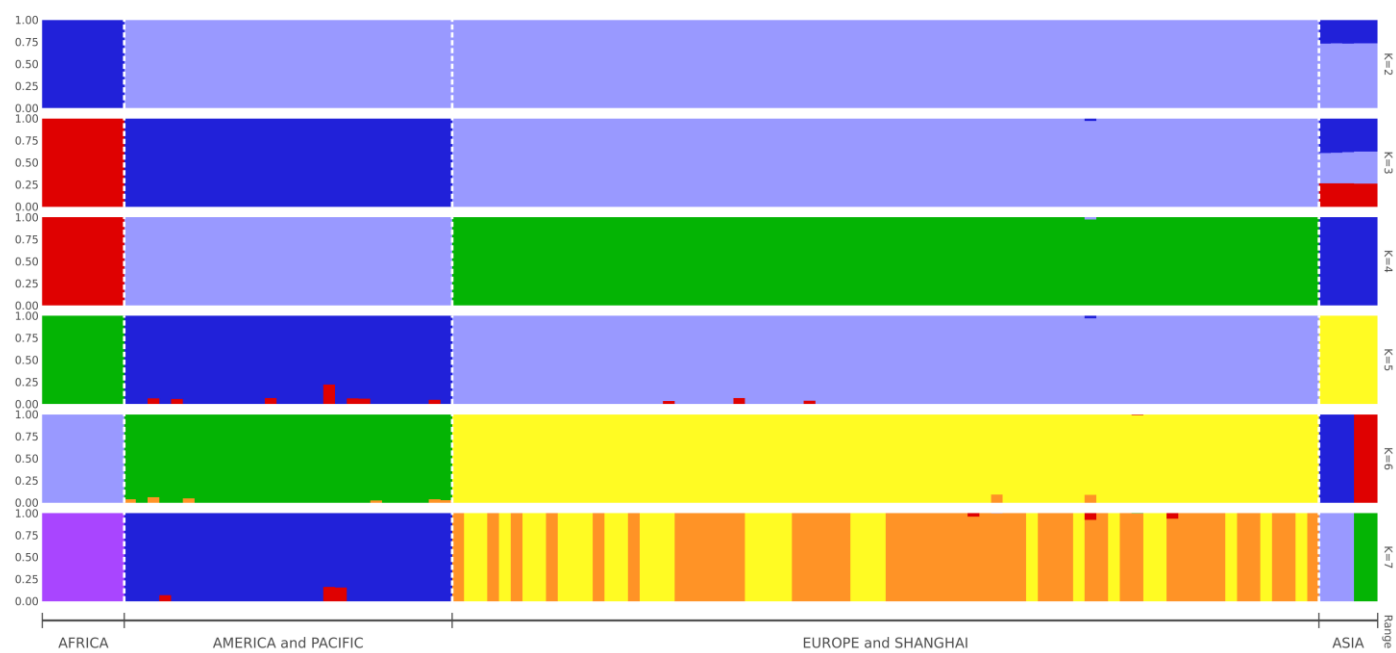
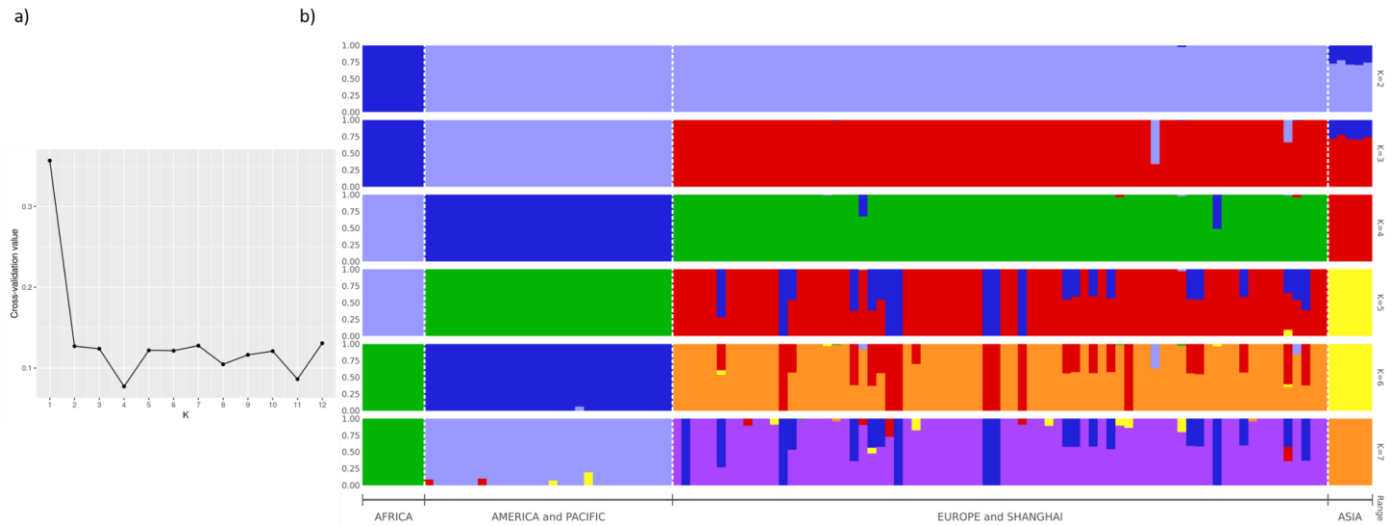


Figure S5: Admixture plots for K ranging from 2 to 7 for *Xylosandrus compactus*. Specimens are divided according to their geographical origin. The results for K = 8 to 12 are not shown because there was no major mode.



**Figure S6: a) Cross-validation and b) Admixture plots for K ranging from 2 to 7 for *A. xylebori*. Specimens are divided according to their geographical origin. The results for K = 8 to 12 are not shown because there was no major mode.**

### 3) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 3

Le Supplementary Table S1 et les Supplementary Figure S2 to S5 sont disponibles avec la version en ligne du manuscrit : <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80157-9>

| Consensus      | 0%     | <5%    | >95%  | 100%  | No<br>consensus | Good<br>agreement |
|----------------|--------|--------|-------|-------|-----------------|-------------------|
| <b>Present</b> | 54,843 | 62,743 | 2,627 | 1,132 | 44,025          | 65,369            |
| <b>2050/26</b> | 51,538 | 59,779 | 1,333 | 0,312 | 48,15           | 61,113            |
| <b>2050/45</b> | 51,806 | 60,682 | 1,162 | 0,293 | 47,9            | 61,844            |
| <b>2050/60</b> | 51,901 | 60,349 | 1,22  | 0,285 | 47,813          | 61,569            |
| <b>2050/85</b> | 51,25  | 60,799 | 0,961 | 0,285 | 48,465          | 61,76             |
| <b>2070/26</b> | 51,879 | 59,973 | 1,274 | 0,245 | 47,876          | 61,247            |
| <b>2070/45</b> | 51,211 | 60,961 | 0,929 | 0,273 | 48,517          | 61,89             |
| <b>2070/60</b> | 51,787 | 60,959 | 0,973 | 0,198 | 48,014          | 61,932            |
| <b>2070/85</b> | 50,133 | 62,357 | 0,683 | 0,193 | 49,674          | 63,04             |

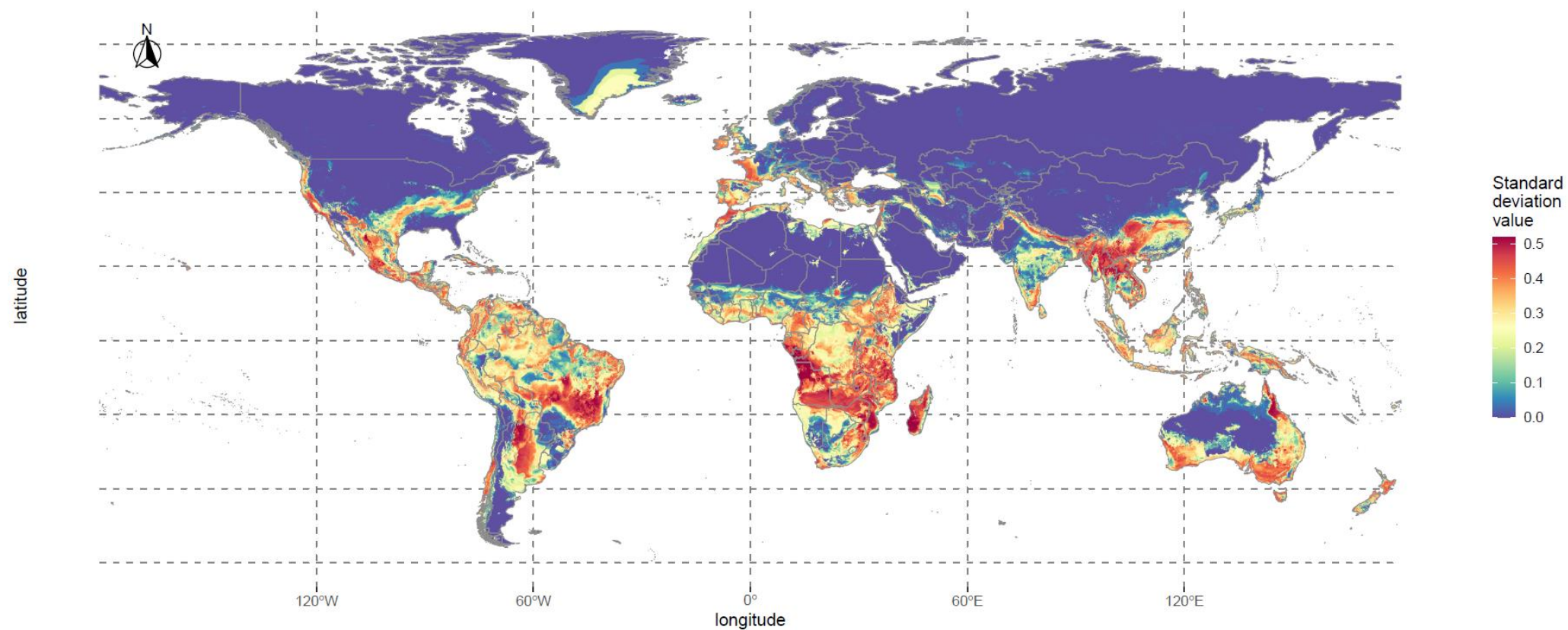
Supplementary Table S2: Worldwide habitat suitability for *X. compactus* for the current and future climate scenarios. The proportion of pixels satisfying each conditions was converted to proportions of terrestrial surface. “Good agreement” represents the proportion of surface with at least 95% agreement, whereas the “No consensus” represent the proportion of surface which not all models agree.

| Consensus      | 0%    | <5%   | >95% | 100% | No<br>consensus | 95%<br>agreement |
|----------------|-------|-------|------|------|-----------------|------------------|
| <b>Present</b> | 66,13 | 76,24 | 0,71 | 0,23 | 33,64           | 76,95            |
| <b>2050/26</b> | 56,97 | 72,2  | 0,4  | 0,12 | 42,9            | 72,6             |
| <b>2050/45</b> | 55,35 | 71,9  | 0,39 | 0,16 | 44,49           | 72,3             |
| <b>2050/60</b> | 56,61 | 71,81 | 0,41 | 0,12 | 43,27           | 72,22            |
| <b>2050/85</b> | 52,66 | 69,25 | 0,38 | 0,12 | 47,22           | 69,64            |
| <b>2070/26</b> | 60,05 | 72,87 | 0,44 | 0,13 | 39,82           | 73,31            |
| <b>2070/45</b> | 51,95 | 69,96 | 0,4  | 0,13 | 47,92           | 70,36            |
| <b>2070/60</b> | 55,54 | 69,69 | 0,42 | 0,14 | 44,33           | 70,12            |
| <b>2070/85</b> | 45,1  | 65,28 | 0,36 | 0,02 | 54,87           | 65,63            |

Supplementary Table S3: Summary of the habitat suitability for *X. compactus* in Europe for the current and future climate scenarios. The proportion of pixels satisfying each conditions was converted to proportions of terrestrial surface. “Good agreement” represents the proportion of surface with at least 95% agreement, whereas the “No consensus” represent the proportion of surface which not all models agree.

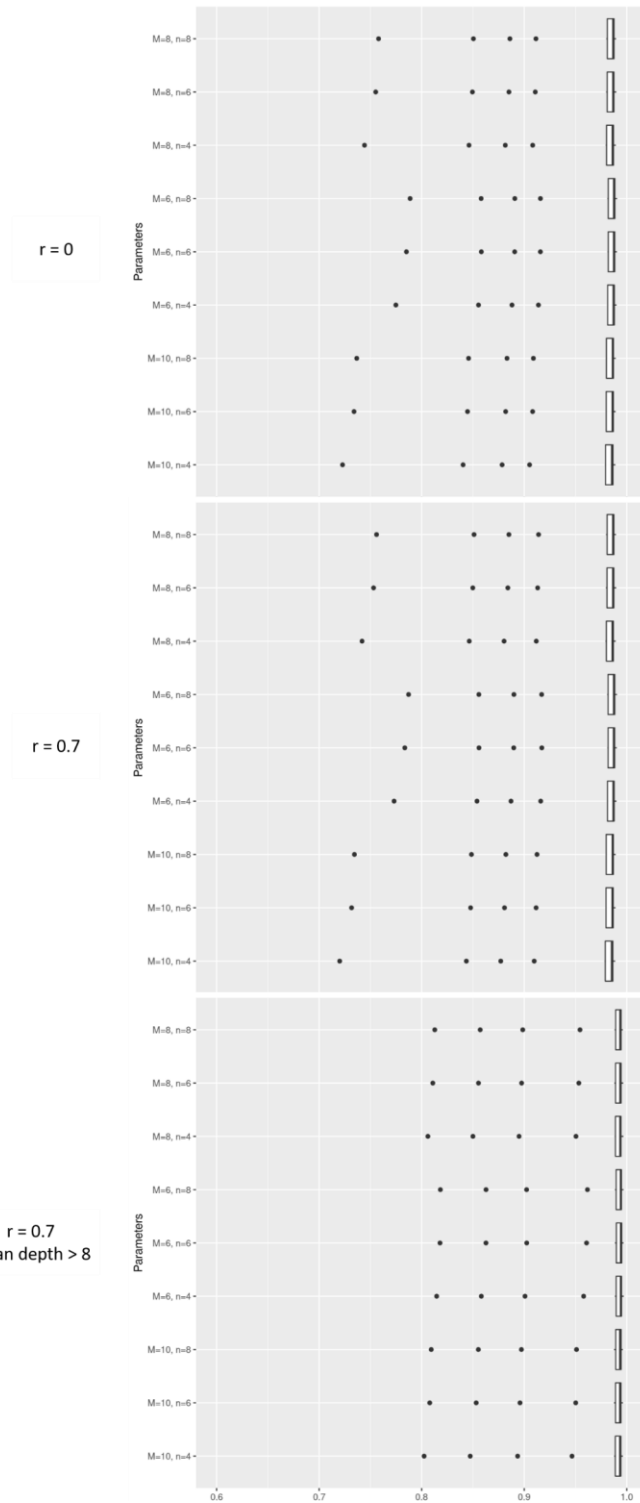
|               | Dataset 1          | Dataset 2          | Dataset 3          | Dataset 4          | Dataset 5          | Dataset 6          | Dataset 7          | Dataset 8          | Dataset 9          | Dataset 10         | Dataset 11         | Dataset 12         | Dataset 13         | Dataset 14         |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>bio 4</b>  |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    | bio4               |
| <b>bio 8</b>  | bio8               | bio8               | bio8               | bio8               | bio8               | bio8               | bio8               | bio8               |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
| <b>bio 9</b>  | bio9               | bio9               | bio9               |                    |                    |                    |                    |                    | bio9               | bio9               |                    |                    |                    | bio9               |
| <b>bio 10</b> | bio10              |                    |                    | bio10              | bio10              | bio10              |                    |                    | bio10              | bio10              | bio10              | bio10              | bio10              |                    |
| <b>bio 11</b> | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              | bio11              |
| <b>bio 15</b> |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    | bio15              |
| <b>bio 16</b> |                    |                    |                    | bio16              |                    |                    | bio16              | bio16              |                    |                    | bio16              | bio16              |                    |                    |
| <b>bio 18</b> |                    | bio18              |                    |                    | bio18              | bio19              | bio18              |                    | bio18              |                    | bio18              |                    | bio18              |                    |
| <b>bio 19</b> |                    |                    | bio19              |                    |                    |                    |                    | bio19              |                    | bio19              |                    | bio19              | bio19              | bio19              |
| <b>AUC</b>    | [0.808 -<br>0.902] | [0.835 -<br>0.869] | [0.892 -<br>0.924] | [0.827 -<br>0.923] | [0.799 -<br>0.879] | [0.885 -<br>0.916] | [0.811 -<br>0.865] | [0.882 -<br>0.921] | [0.818 -<br>0.891] | [0.899 -<br>0.943] | [0.863 -<br>0.931] | [0.870 -<br>0.918] | [0.865 -<br>0.914] | [0.893 -<br>0.919] |

**Supplementary Table S4: Range of the evaluation metrics for the second modelling step for the 14 selected environmental datasets for *Xylosandrus compactus*.** For each dataset, we ran 10 replicates that were calibrated using 80% randomly selected data, and evaluated with the 20% remaining data. We report here the value for two metrics (AUC and TSS) for the models retained to perform the consensus maps

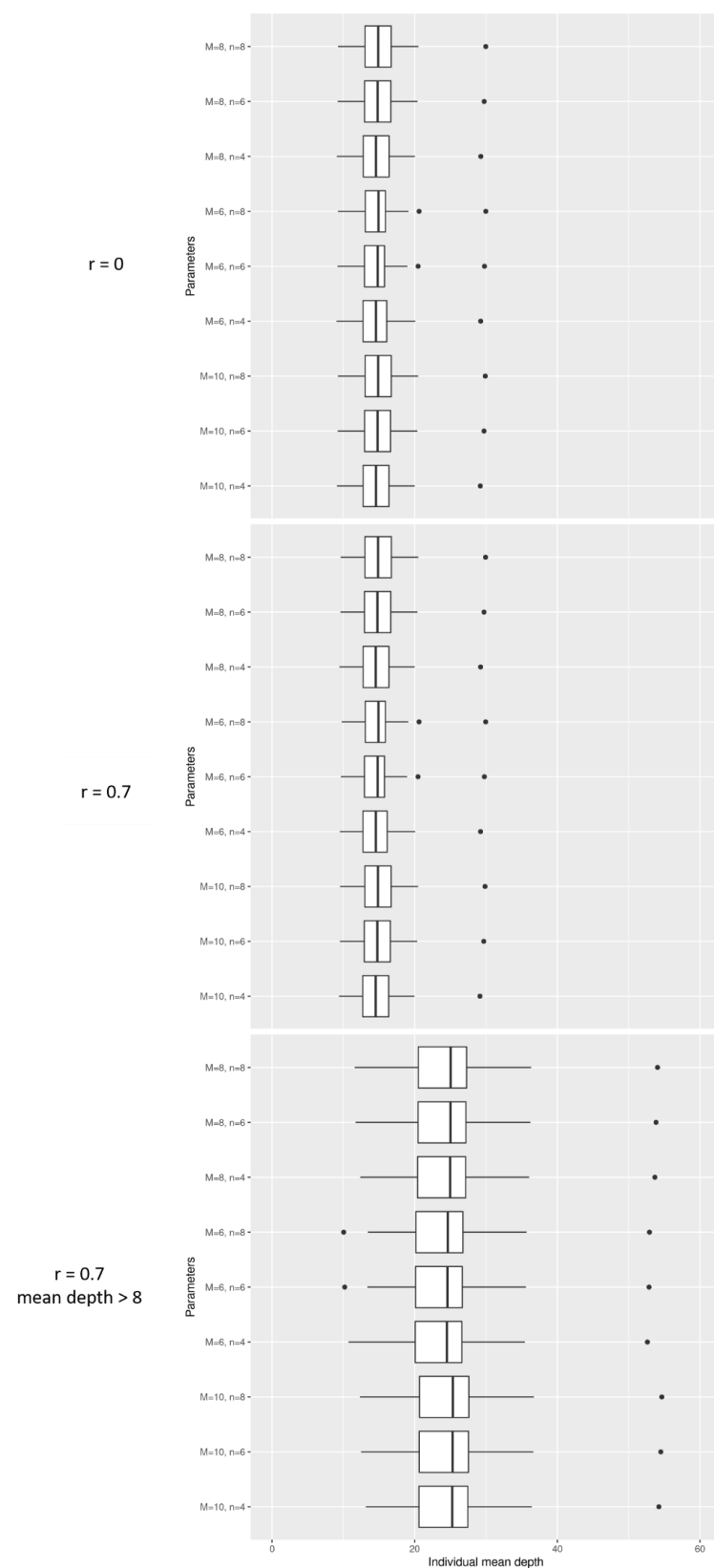


Supplementary Figure S1: Map showing the standard deviation of the habitat suitability for *Xylosandrus compactus* under current climate conditions. This map was created by computing the standard deviation for each pixel.

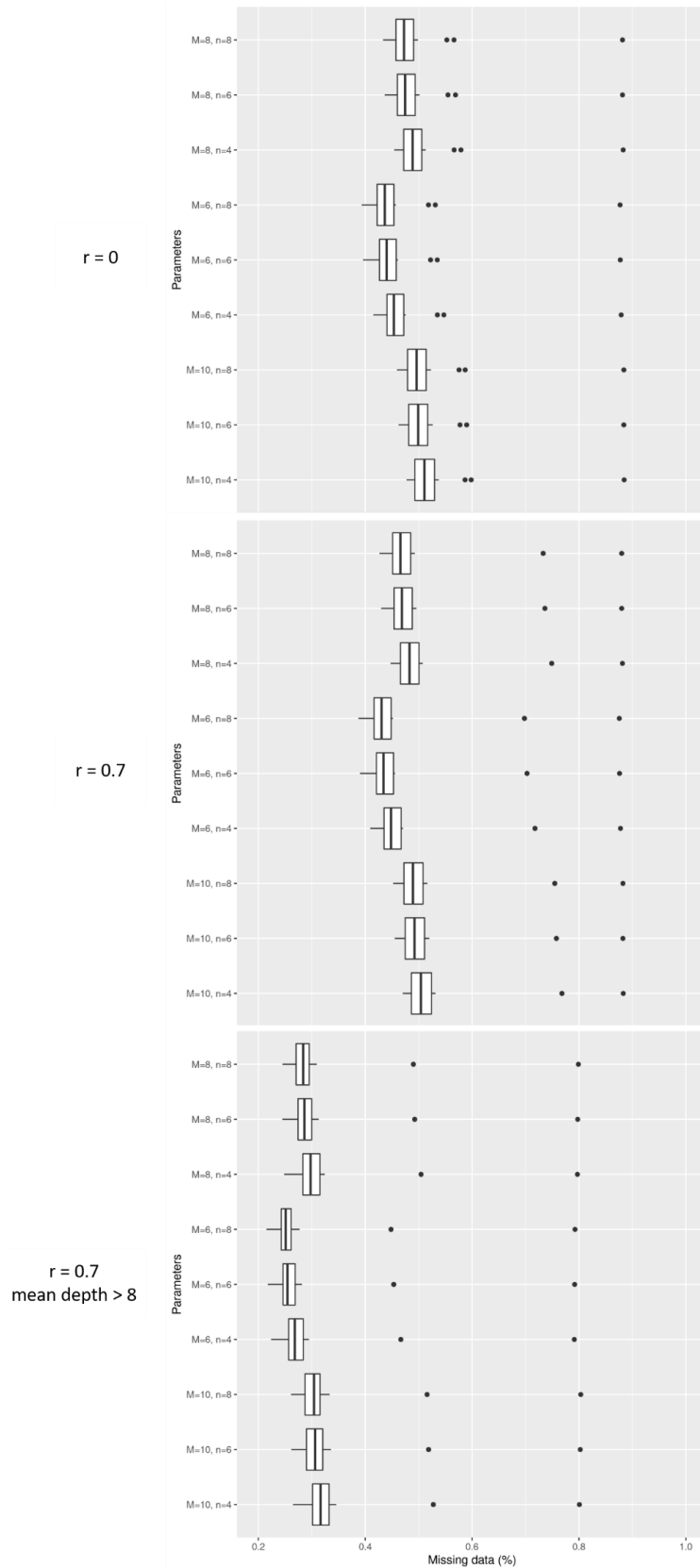
## 4) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 4



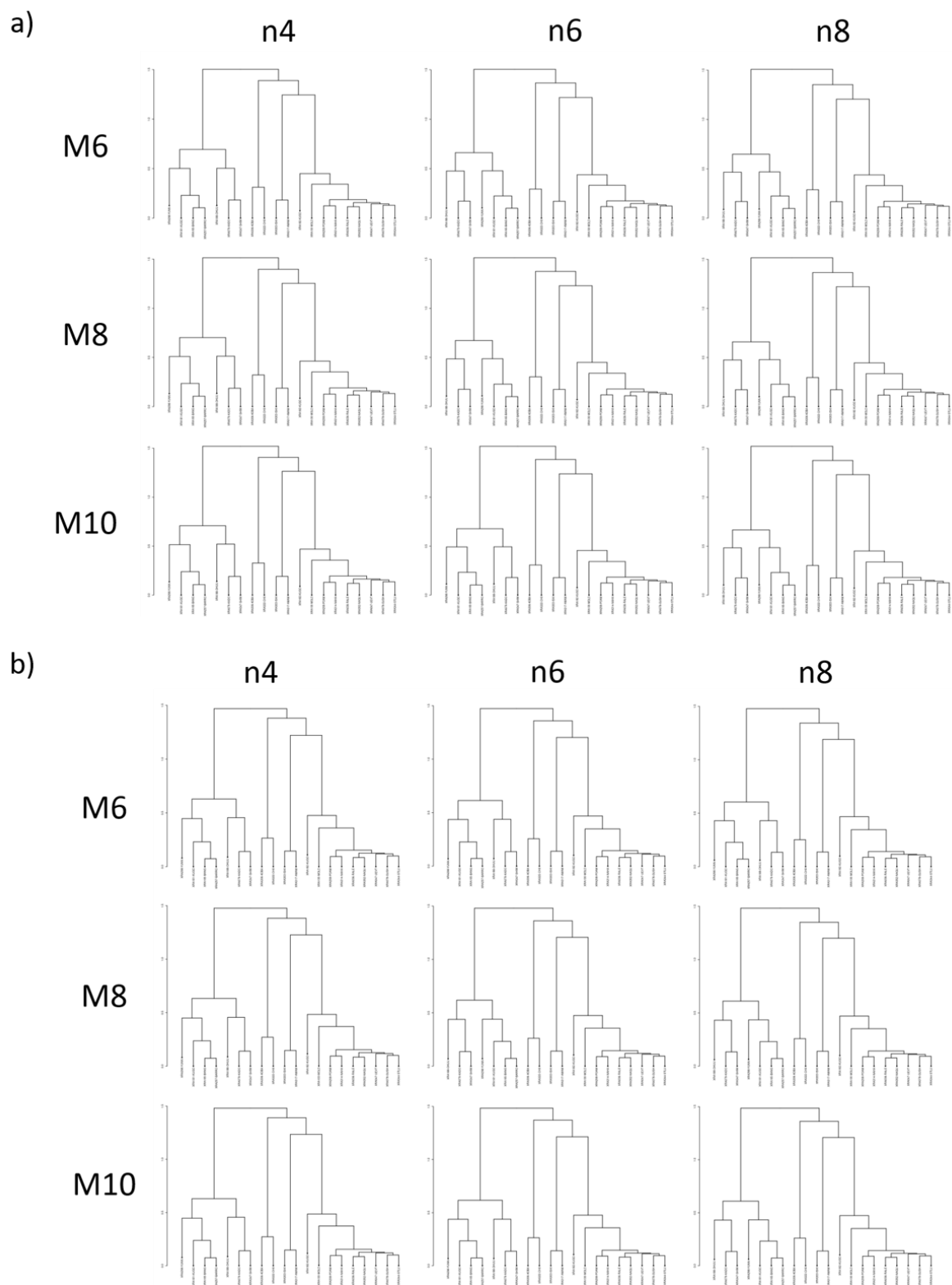
**Supplementary Figure 1: Boxplots of the individual homozygosity rate for the different  $M$  and  $n$  combination tested ( $M = 6, 8$  and  $10$ ,  $n = 4, 6$  and  $8$ ) for three filtering conditions (without filtering,  $r = 0.7$  and  $r = 0.7$  and excluding loci with a mean depth lower than  $8$ ).**



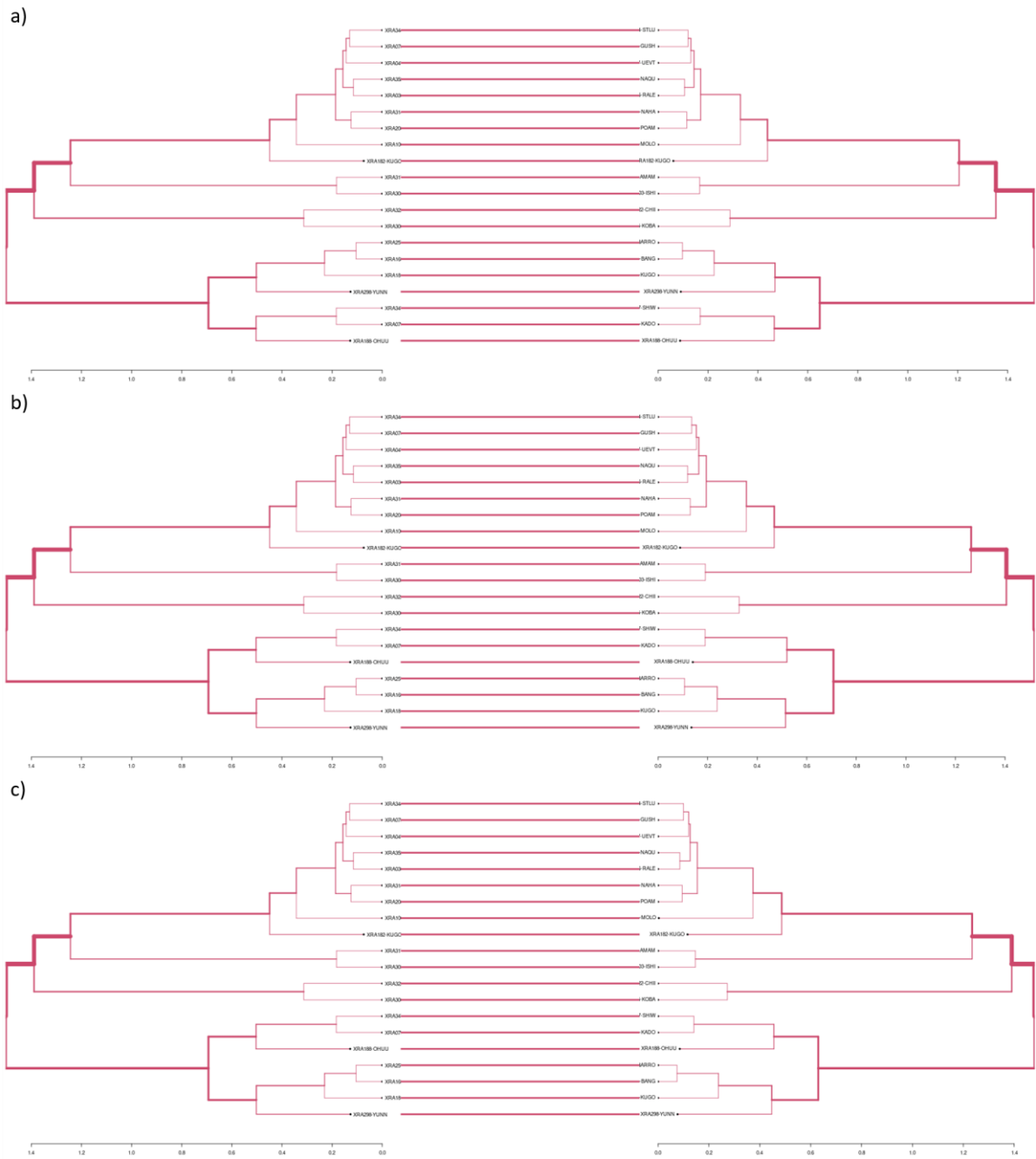
**Supplementary Figure 2: Boxplots of the individual mean depth for the different M and n combination tested (M = 6, 8 and 10, n = 4, 6 and 8) for three filtering conditions (without filtering,  $r = 0.7$  and  $r = 0.7$  and excluding loci with a mean depth lower than 8).**



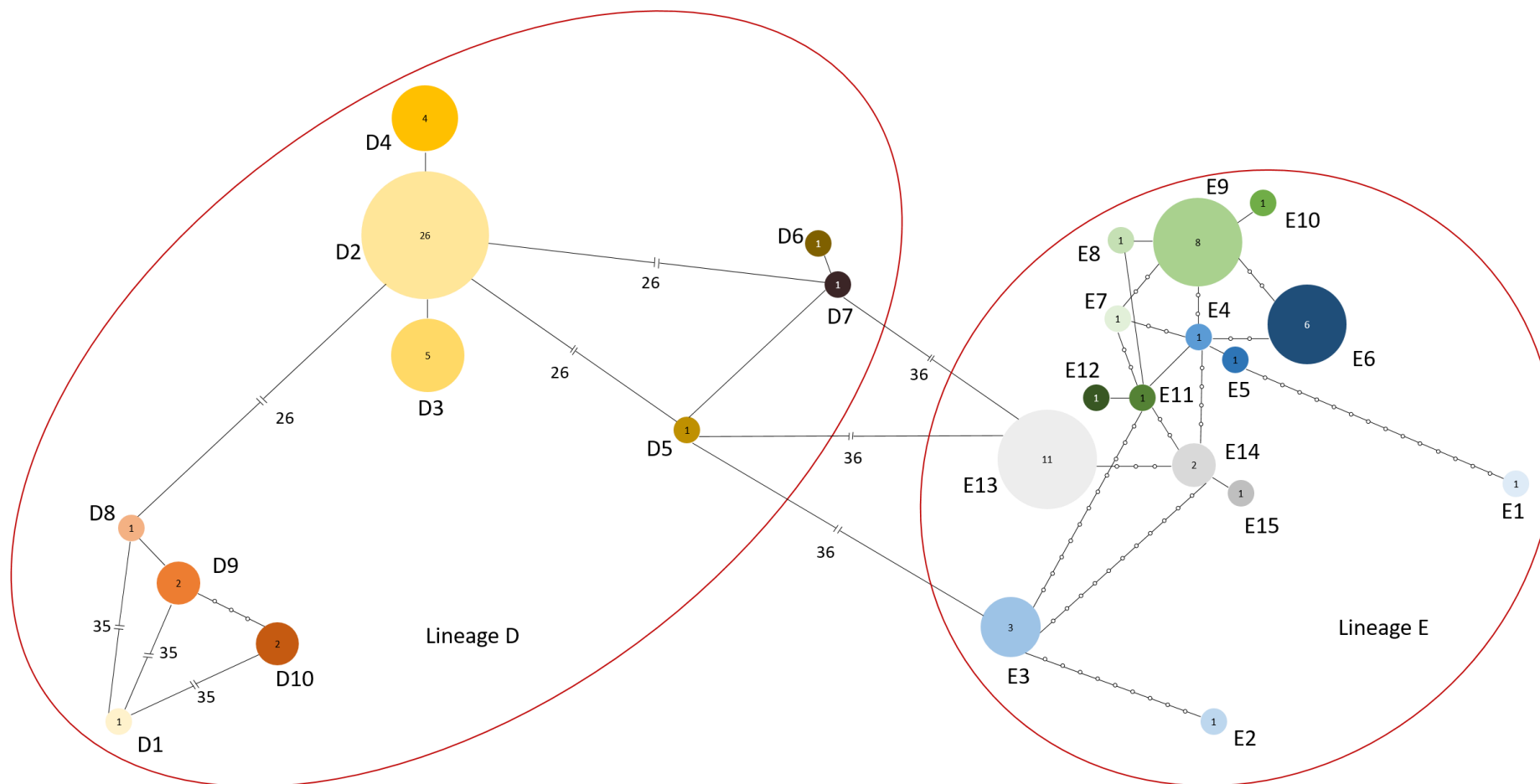
**Supplementary Figure 3: Boxplots of the individual missing data (%) for the different M and n combination tested (M = 6, 8 and 10, n = 4, 6 and 8) for three filtering conditions (without filtering,  $r = 0.7$  and  $r = 0.7$  and excluding loci with a mean depth lower than 8).**



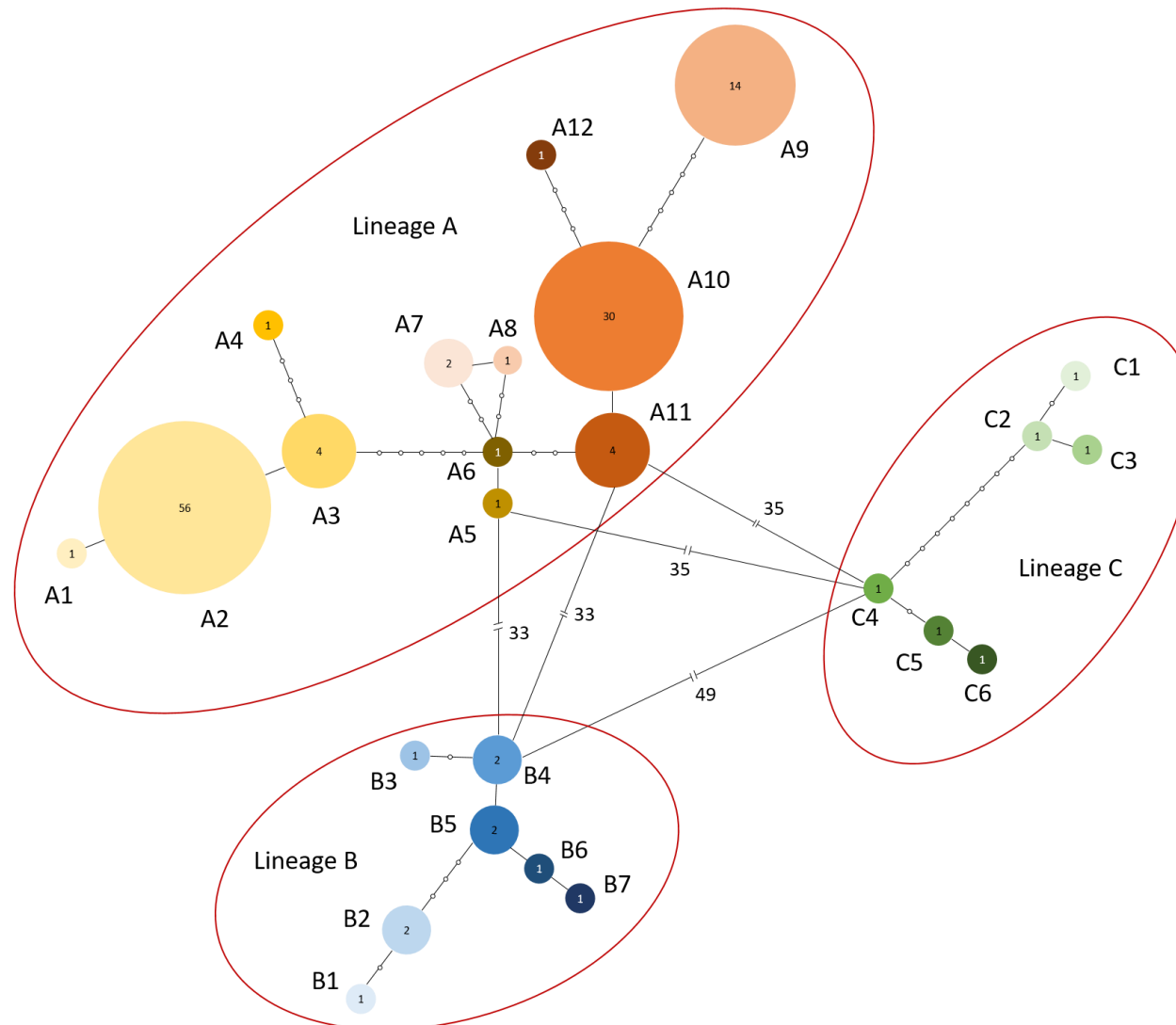
**Supplementary Figure 4: Dendrograms obtained in the pre-analysis for the different M and n combination for a)  $r = 0$  and without filtering on depth and b)  $r = 0.7$  and after excluding loci with a mean depth lower than 8.**



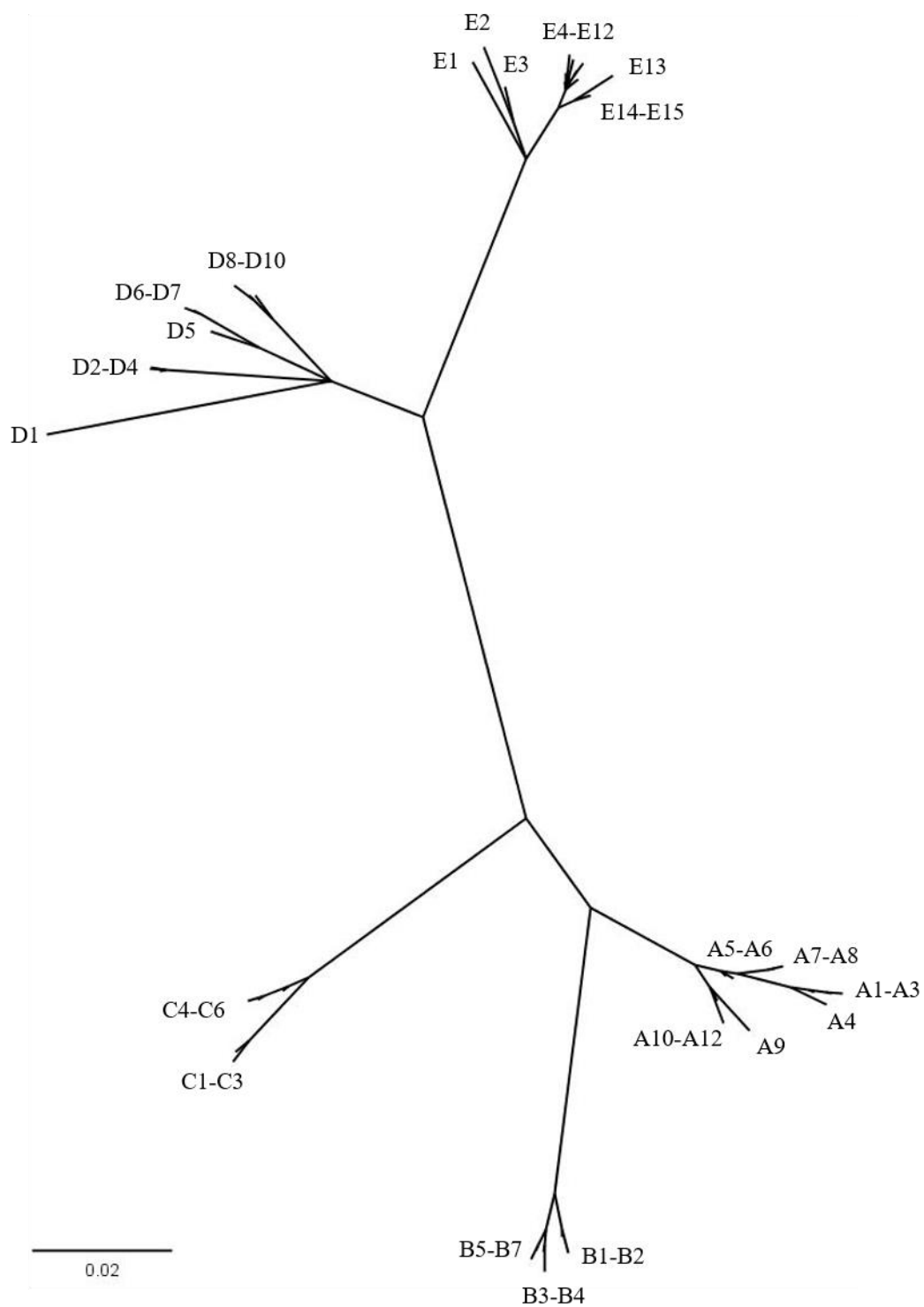
**Supplementary Figure 5: Tanglegram plots comparing the dendrograms of obtained in the pre-analysis with different parameter combinations: a)  $M = 6$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0$  and  $M = 6$ ,  $n = 8$ ,  $r = 0$ , b)  $M = 6$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0$  and  $M = 8$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0$  and c)  $M = 6$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0$  and  $M = 6$ ,  $n = 4$ ,  $r = 0.7$ , excluding the loci with a mean depth lower than 8. The entanglement value for each figure is 0, showing no difference between all dendrograms.**



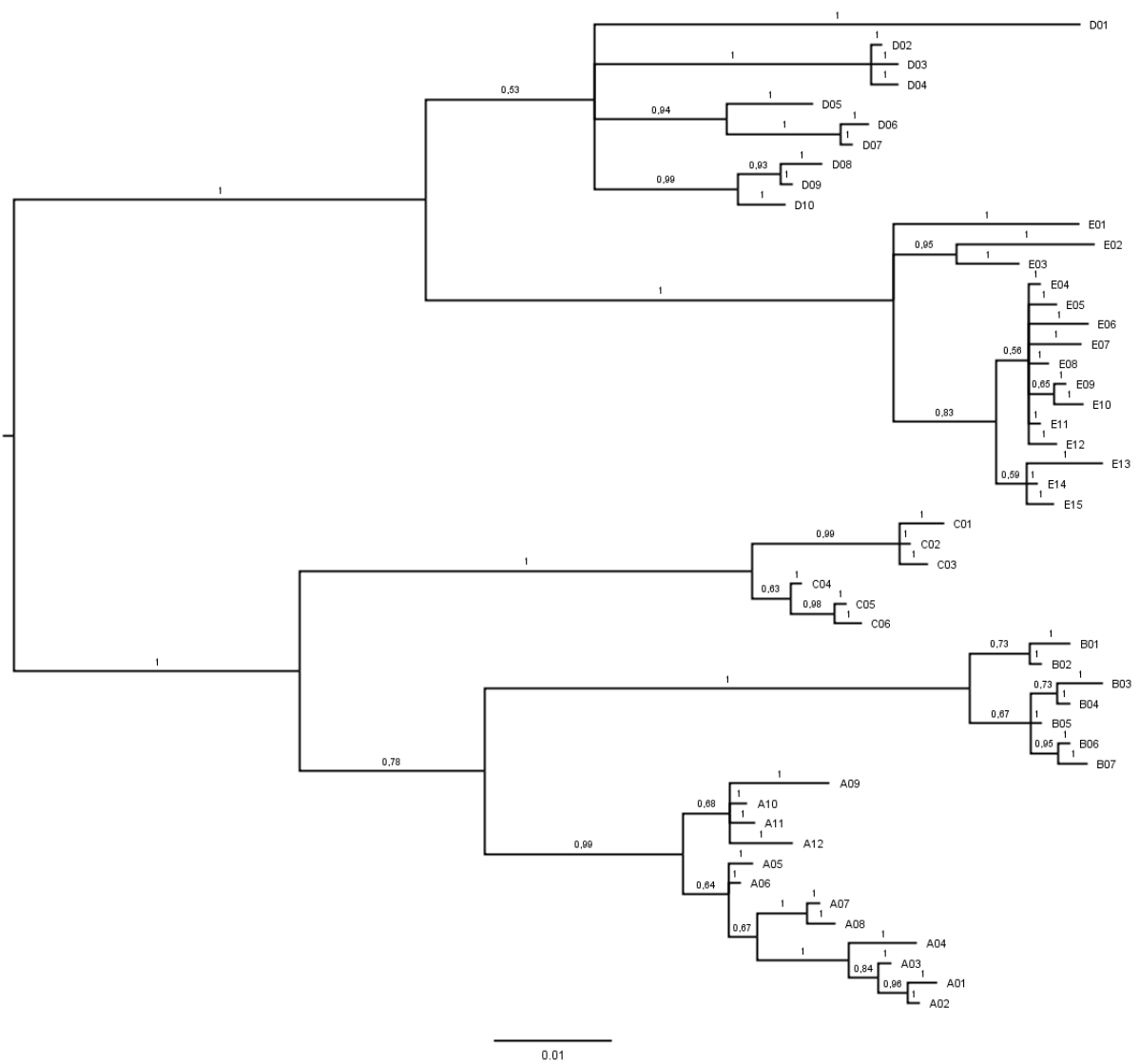
Supplementary Figure 6: Median-joining network representing *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 1 based on COI sequences.



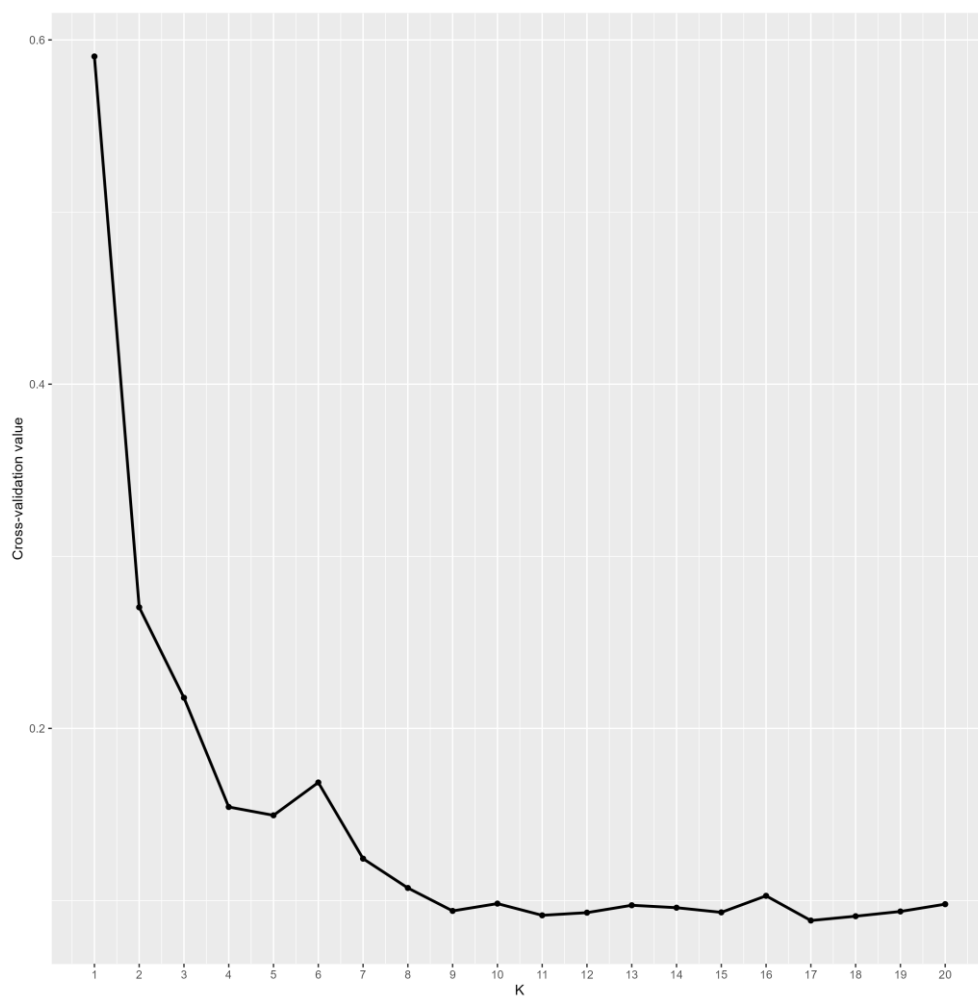
**Supplementary Figure 7: Median-joining network representing *Xylosandrus crassiusculus*' cluster 2 based on COI sequences.**



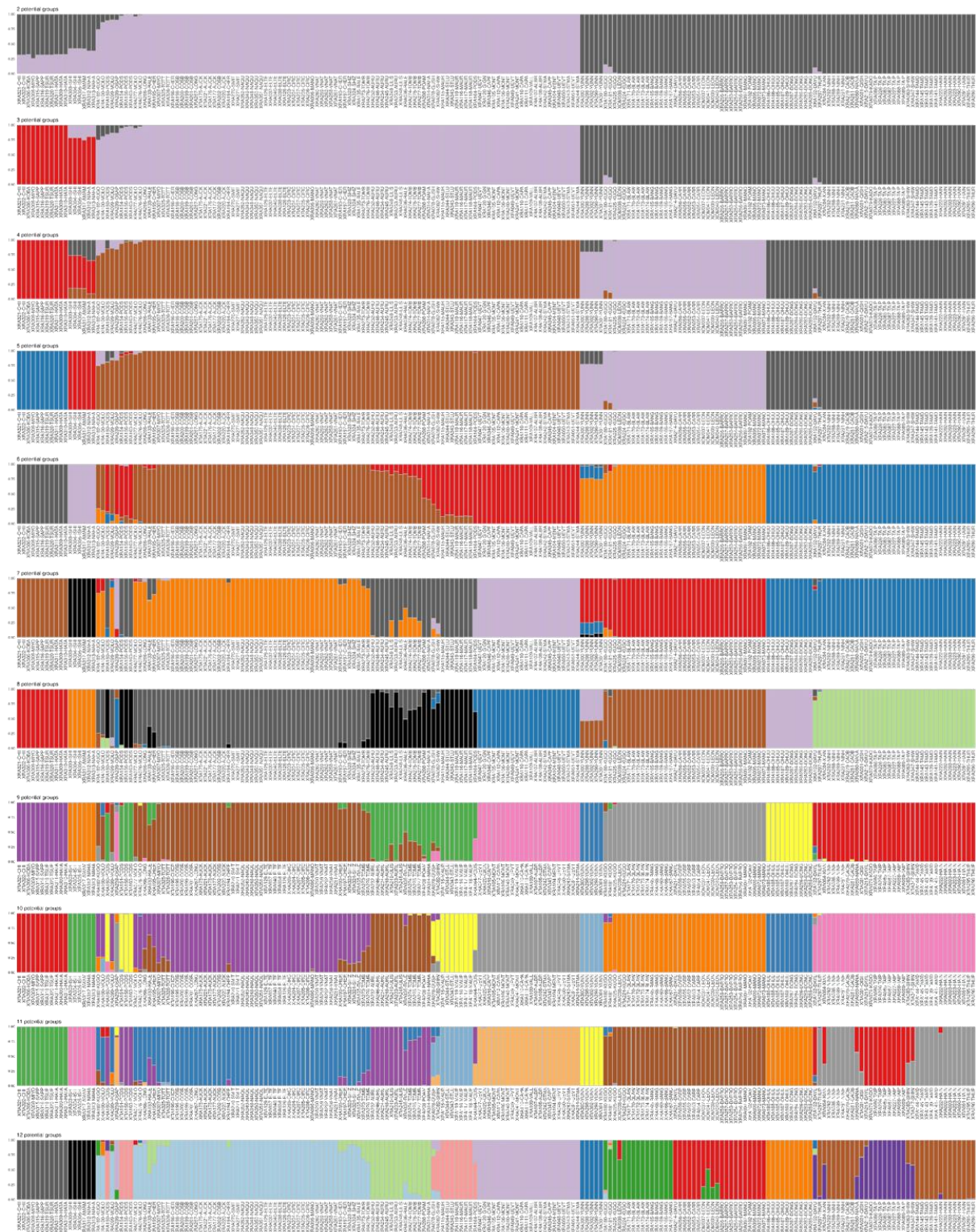
**Supplementary Figure 8:** Radial Bayesian tree based on *X. crassiusculus*' COI sequences built with MrBayes 3.2.7 without outgroup.



Supplementary Figure 9: Bayesian tree based on *X. crassiusculus*' COI sequences built with MrBayes 3.2.7 without outgroup.



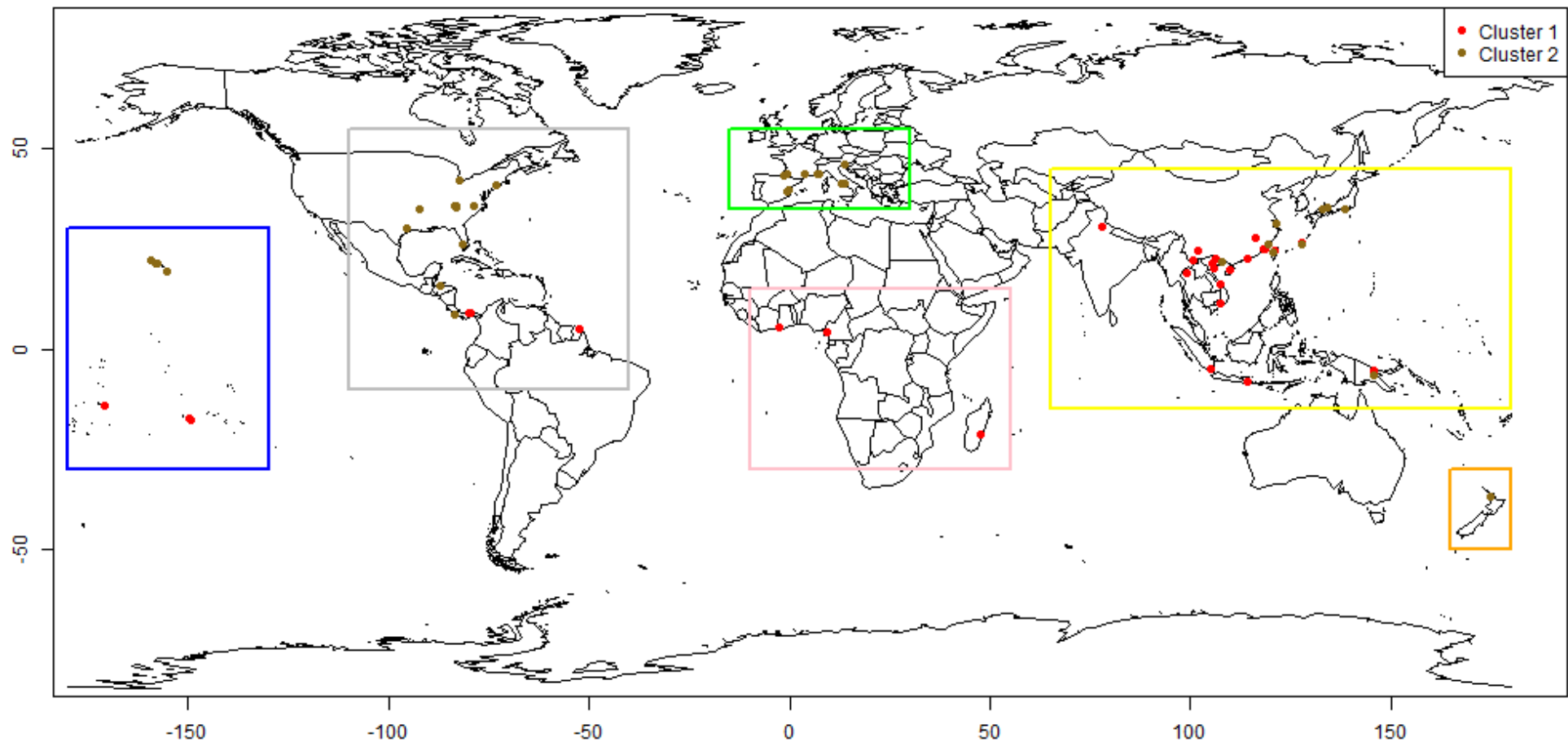
**Supplementary Figure 10: Cross-validation plot for K ranging from 2 to 20.**



**Supplementary Figure 11: Admixture plots for K ranging from 2 to 12. Specimens are ordered according to their order in the clustering tree in Figure 8.**

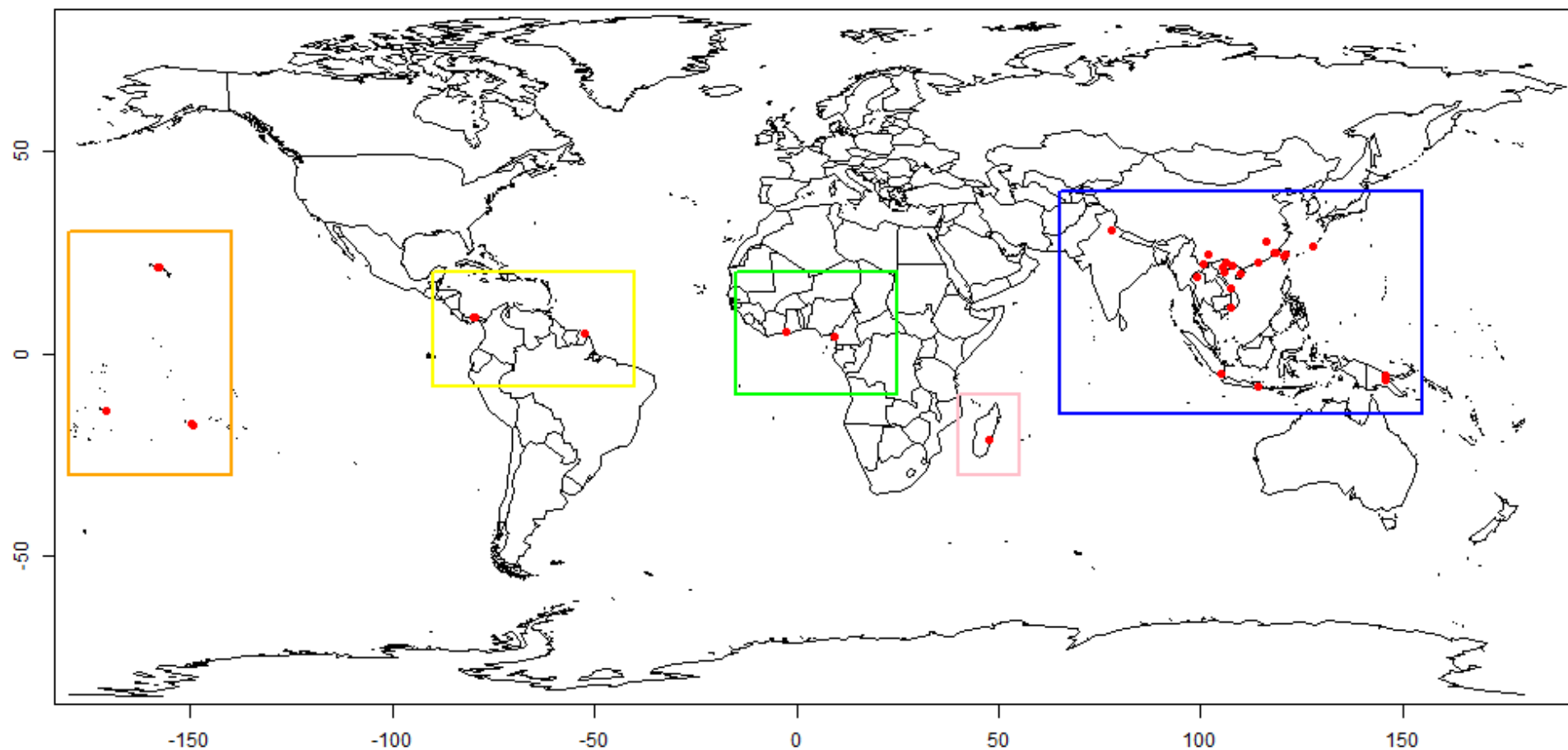


## 5) MATERIEL SUPPLEMENTAIRE DU CHAPITRE 5

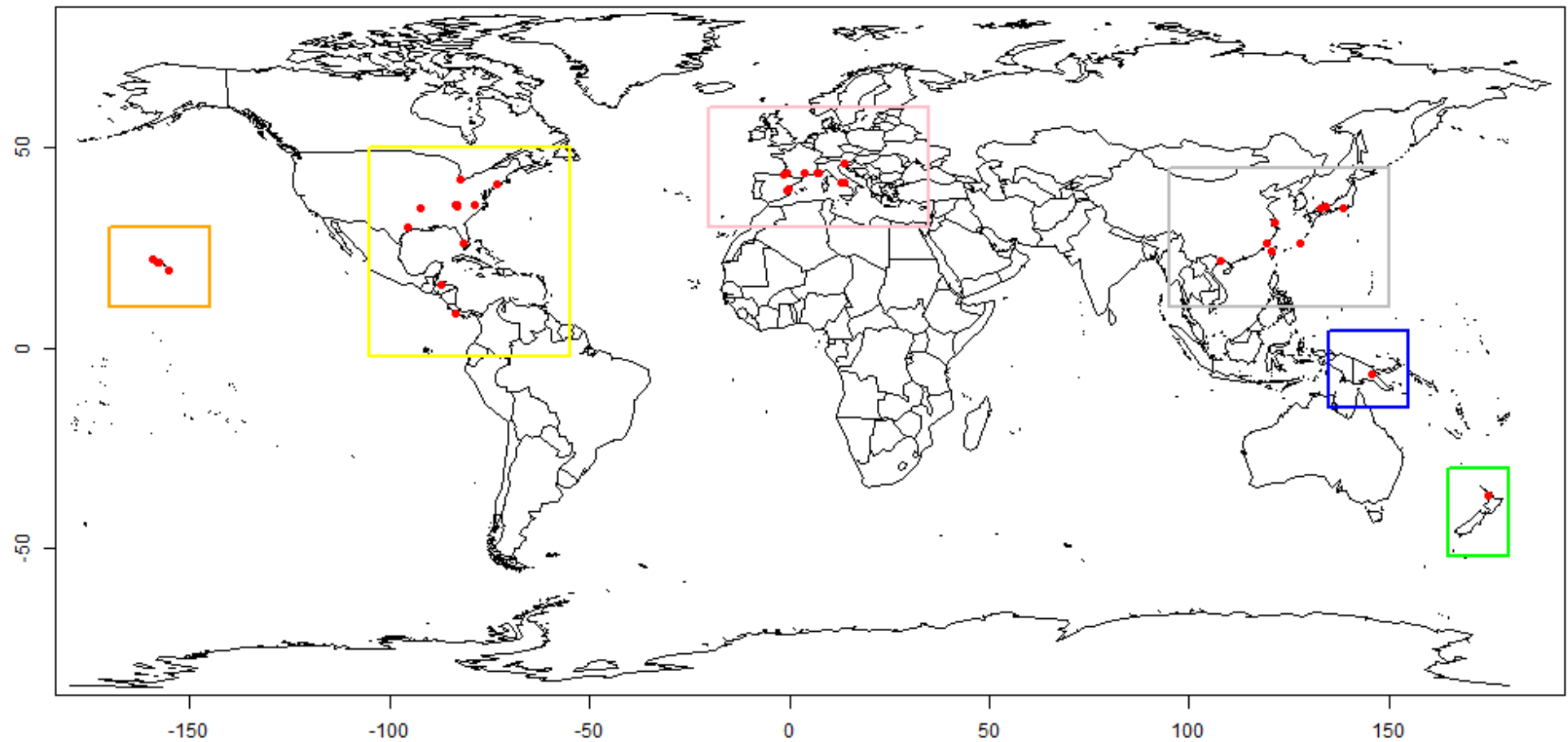


Supplementary Figure 3: Map representing the areas in which background points used in the ecological niche testing have been randomly placed. The occurrence data used for Cluster 1 are represented in red, and Cluster 2 in brown. The gray area is comprised between longitudes 110° W and 40° W and latitudes 10° S and 55° N, the blue area between longitudes 180° W and 130° W and latitudes 30° S and 30° N and the green area between longitudes 15° W and 30° E and latitudes 35° N and 55° N. The pink area is comprised between longitudes 10° W and 55° E and latitudes 30° S and

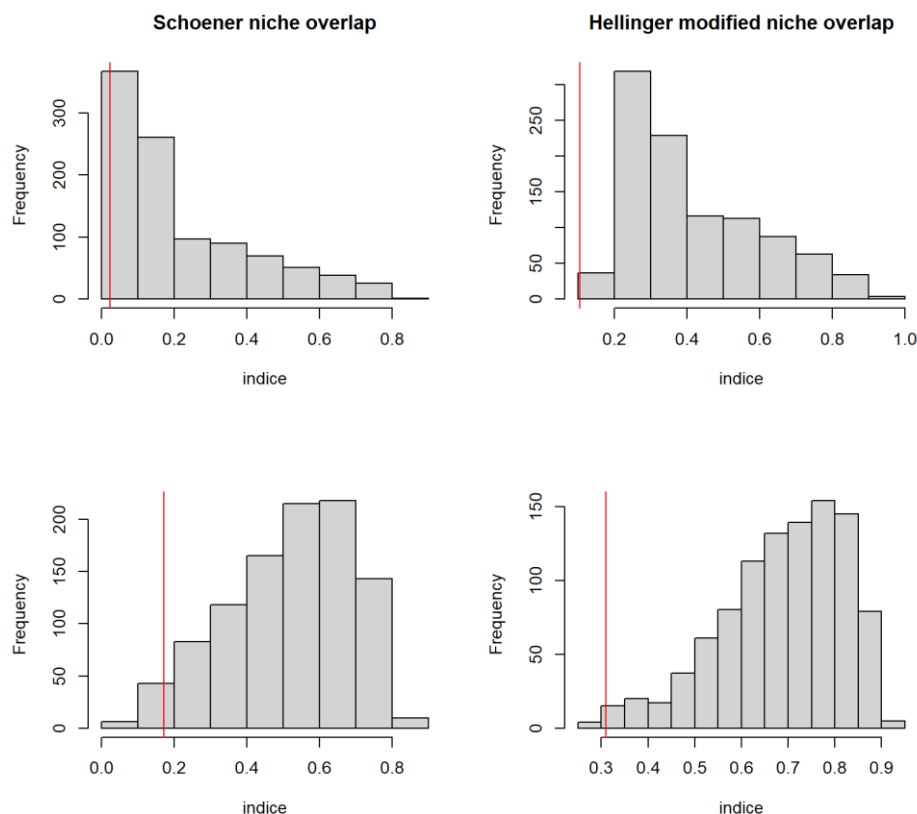
15° N, the yellow area is comprised between longitudes 65° E and 180° E and latitudes 15° S and 45° N, and the orange area between longitudes 165° S and 180° S and latitudes 50° S and 30° S.



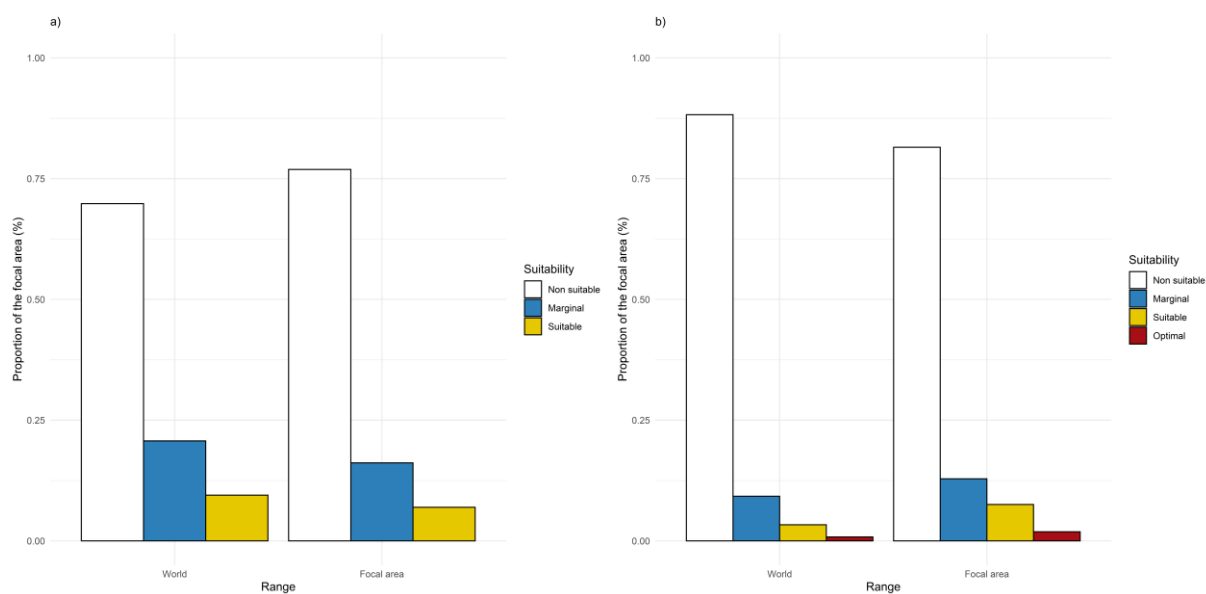
Supplementary Figure 4: Map representing the areas in which background points used in the species distribution modelling of Cluster 1 were randomly sampled.



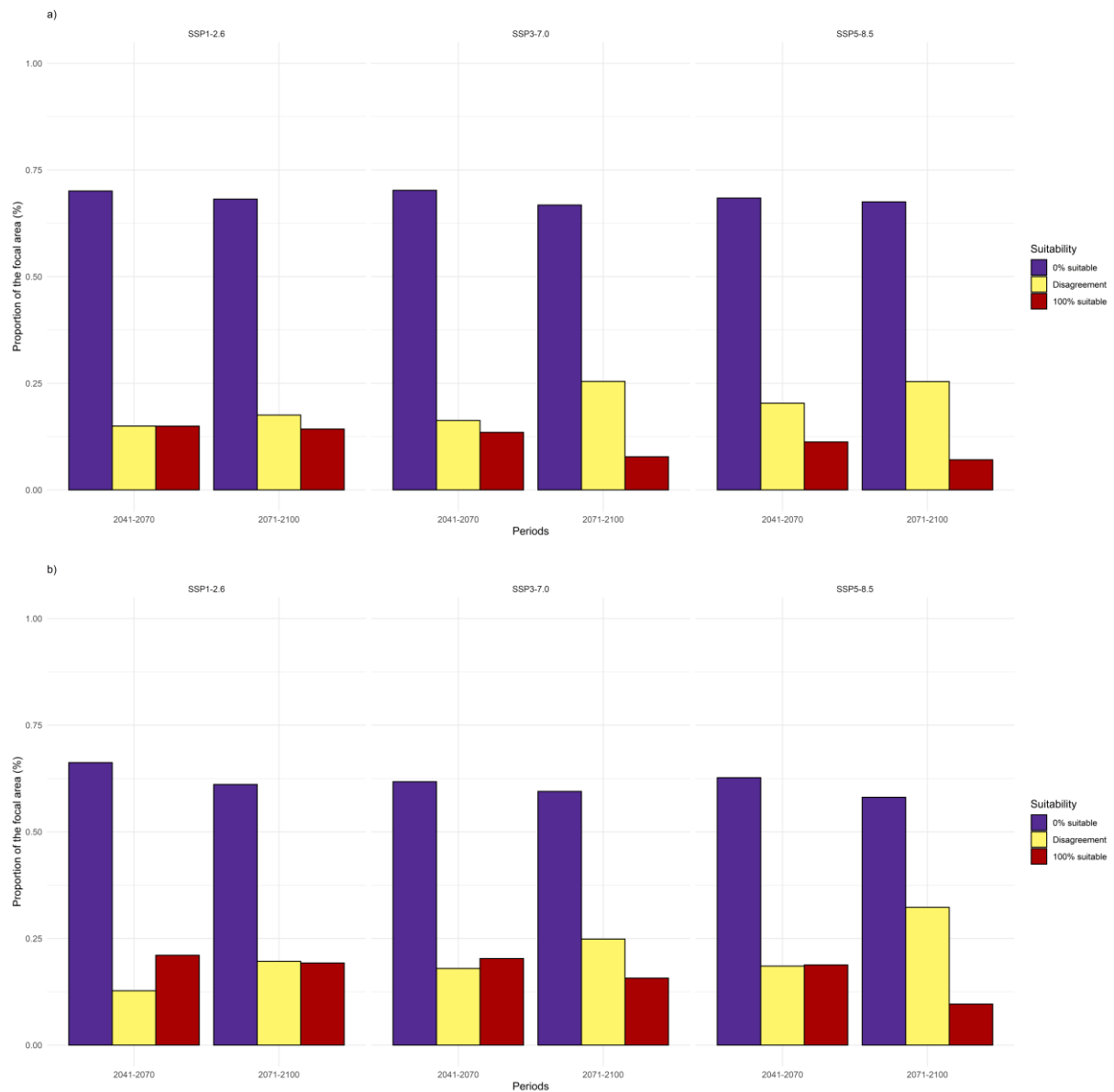
Supplementary Figure 5: Map representing the areas in which background points used in the species distribution modelling of Cluster 2 were randomly sampled.



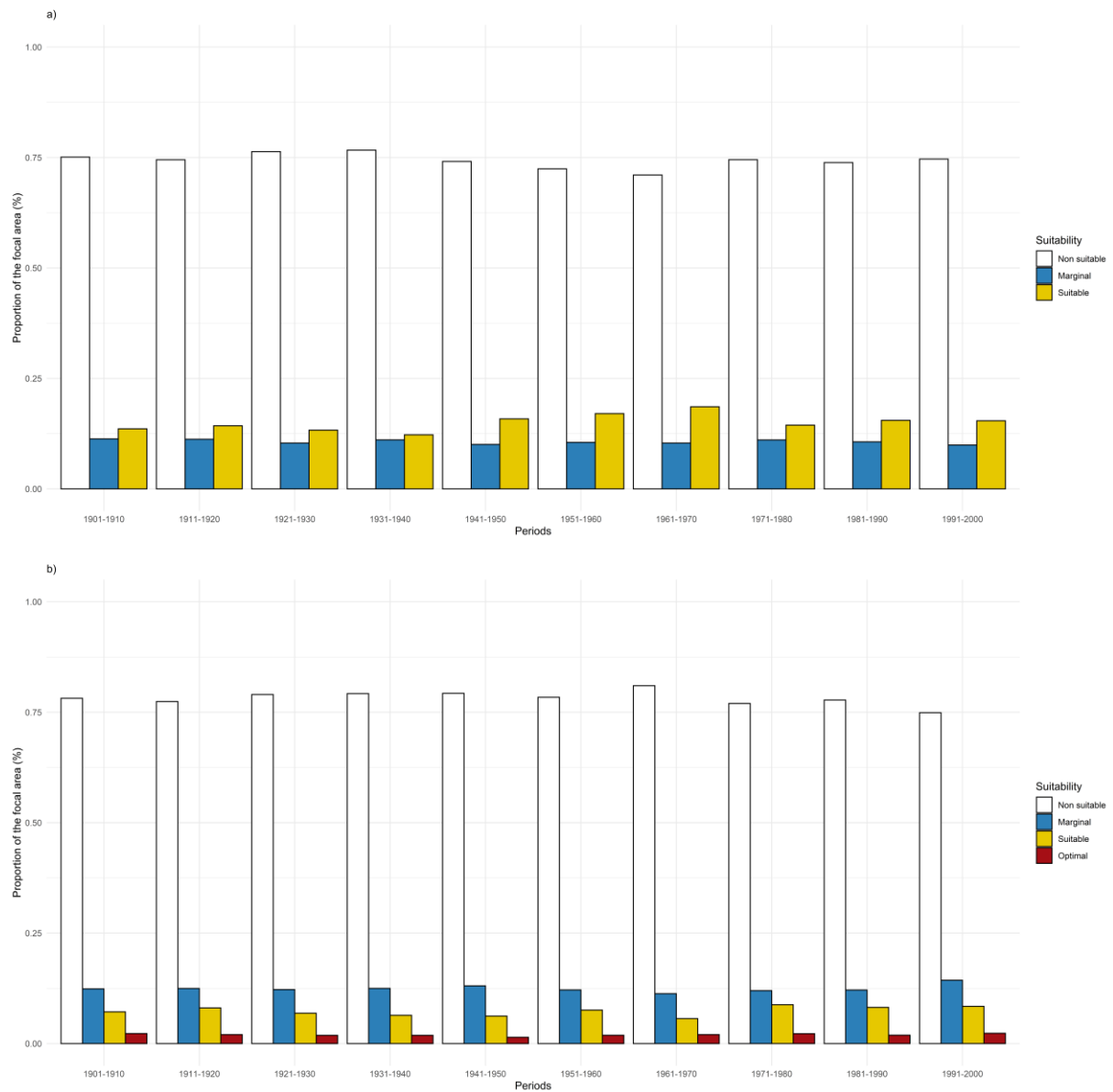
Supplementary Figure 6: Histograms of the distribution of Schoener's D (left) and Hellinger's based I indices (right). The top histograms were based on the seven environmental variables selected a priori (bio5, bio6, bio8, bio9, bio11, bio11 and bio15) (top), and the two histograms at the bottom were based on the four environmental variables retained in the models (bio5, bio9, bio11 and bio15).



Supplementary Figure 7: Barplots showing the proportion of each suitability category worldwide and in the focal area for a) cluster 1 and b) cluster 2.



**Supplementary Figure 8: Barplots showing the proportion of each suitability category for the six future conditions in the focal area for a) cluster 1 and b) cluster 2.**



**Supplementary Figure 9: Barplots showing the proportion of each suitability category for the decade of the XXth century in the focal area for a) cluster 1 and 2) cluster 2.**

## 6) ARTICLE SOUMIS À THE COLEOPTERISTS BULLETIN

### **RECOGNITION OF THE PSEUDOCRYPTIC SPECIES *XYLOSANDRUS DECLIVIGRANULATUS* (SCHEDL) AS DISTINCT FROM *X. CRASSIUSCULUS* (MOTSCHULSKY) (CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE: XYLEBORINI)**

SARAH M. SMITH

Department of Entomology, Michigan State University  
288 Farm Lane, 243 Natural Science Bldg.  
East Lansing, MI 48824, USA  
smith462@msu.edu  
<https://orcid.org/0000-0002-5173-3736>

TEDDY URVOIS

Centre de Biologie et de Gestion des Populations  
Avenue du Campus Agropolis  
34980 Montferrier-sur-Lez, France

INRAE Val de Loire

2163 Avenue de la pomme de pin  
45075 Ardon, France  
teddy.urvois@inrae.fr  
<http://orcid.org/0000-0001-8520-7550>

ALAIN ROQUES

INRAE Val de Loire  
2163 Avenue de la pomme de pin  
45075 Ardon, France  
alain.roques@inra.fr  
<http://orcid.org/0000-0002-3734-3918>

ANTHONY I. COGNATO\*

Department of Entomology, Michigan State University  
288 Farm Lane, 243 Natural Science Bldg.  
East Lansing, MI 48824, USA  
cognato@msu.edu  
<https://orcid.org/0000-0001-6436-2447>  
\*corresponding author

---

## ABSTRACT

*Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky, 1866) occupies worldwide temperate to tropical forests and suburban areas within their natural and non-native range as a result of human introductions. Given their pest status, several studies of population genetics have been conducted. As a result of an ongoing study, several smaller individuals from southern Thailand were molecularly dissimilar to the remaining individuals thus questioning the species status of these individuals. We performed a phylogenetic analysis of *X. crassiusculus* individuals from widely dispersed locations, including an individual from southern Thailand, and a robust sampling of other *Xylosandrus* Reitter, 1913 species using xyleborine diagnostic genes mtDNA COI and nucDNA CAD. The smaller individual from southern Thailand was sister to the remaining *X. crassiusculus* individuals and demonstrated >13% and >3% nucleotide difference in COI and CAD sequences, respectively. Given the examination of type specimens, we confirmed that these smaller *X. crassiusculus* individuals were indeed *X. declivigranulatus* (Schedl, 1936) **stat. res.** which we resurrect. Its smaller size and pronotum as long as wide diagnose this pseudocryptic species from *X. crassiusculus*.

Key Words: ambrosia beetles, granulate ambrosia beetle, Indomalayan region, taxonomy, Thailand

The xyleborine ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky, 1866), described 155 years ago from Ceylon, is morphologically distinct with a densely granulate elytral declivity and is commonly known as the granulate ambrosia beetle. Minor differences in size and granulation among specimens from other disjunct localities lead to description of seven similar species which several taxonomists later considered the same species as *X. crassiusculus* (Wood 1977; Dole and Cognato 2010; Smith *et al.* 2020). This species is endemic to Asia ranging from the Philippines, Indo-Malaya and Japan west to India and Sri Lanka occurring in tropical to temperate forests. Like all xyleborines, this species produces broods with a skewed female to male ratio (e.g., a mean of 13:1 for xyleborines, Cognato *et al.* 2020). Within the brood, the few haploid flightless males mate with their diploid sisters. These inseminated females provisioned with nutritional symbiotic fungal hyphae are excellent colonizers – one female can begin a new population. As a consequence, the species is established in worldwide natural and managed forests and suburban areas through accidental human introduction and likely natural dispersal (Ito and Kajimura 2009; Dole and Cognato 2010; Flechtmann and

Atkinson 2016; Gohli *et al.* 2016; Gallego *et al.* 2017; Landi *et al.* 2017; Nel *et al.* 2020). Large genetic differences occur among worldwide *X. crassiusculus* populations which are the result of numerous dispersal events and several large founding populations (Dole *et al.* 2010; Storer *et al.* 2017; Nel *et al.* 2020). In an effort to further examine the invasion history of *X. crassiusculus*, a larger sample size including native and introduced populations was included in a mitochondrial (mtDNA) and nuclear DNA population genetics study (Urvois, unpublished). Preliminary data showed that one clade sister to the remaining *X. crassiusculus* individuals exhibited ~13% mtDNA nucleotide difference. Most morphologically distinguishable xyleborine species exhibit more than 10% mtDNA nucleotide difference thus these results suggested that this clade represented a potentially unrecognized species (Cognato *et al.* 2020). Given that pseudocryptic xyleborine species (i.e., species that lack conspicuous diagnostic morphology) are likely common (Smith and Cognato, in review) and the economic importance of *X. crassiusculus* (Browne 1961; Kühnholz *et al.* 2003; Reding *et al.* 2010), we further investigate the identity of this clade through phylogenetic analysis of *Xylosandrus* Reitter, 1913 species with a dense sampling of *X. crassiusculus* individuals using mtDNA cytochrome oxidase I and nuclear CAD genes and morphological examination of type specimens of species synonymized with *X. crassiusculus*.

## MATERIALS AND METHODS

Specimens were compared to type material for identification. Specimens were examined using Leica (Wetzlar, Germany) MZ6 and MZ16 stereomicroscopes and illuminated with an Ikea Jansjö LED work lamp (Delft, Netherlands). Total length was measured from apex of the pronotum to the apex of the elytra and width was measured at the widest point of the specimen. Pronotal length was measured from the apex to base and width from the widest point. Pronotal types are derived from Hulcr *et al.* (2007) and elaborated upon by Smith *et al.* (2020). Specimens examined were from the following institutions: Forest Research Institute, Dehradun, India (FRI), Albert J. Cook Arthropod Research Collection, Michigan State University, East Lansing, USA (MSUC), Naturhistorisches Museum Wien, Austria (NHMW) and Zoological Museum at Moscow State University, Moscow, Russia (ZMMU).

Specimens were photographed with a Visionary Digital Passport II system (Dun Inc., Palmyra, VA) using a Canon EOS 5D Mark II, 65.0 mm Canon Macro photo lens, two Dynalite (Union, NJ) MH2015 road flash heads, Dynalite RoadMax MP8 power pack and a Stack Shot (Cognisys, Inc, Traverse City, MI). Montage images were assembled using Helicon Focus Mac Pro 6.7.1

(Helicon Soft, Kharkov, Ukraine) and improved in Adobe Photoshop 2020 v. 21.2.6 (San Jose, CA).

DNA was extracted from a specimen identified as *X. crassiusculus* collected from southern Thailand (Table 1). Following the protocols of Cognato *et al.* (2020), DNA was sequenced for the xyleborine species diagnostic genes, COI and CAD. The voucher specimen was pinned and deposited in MSUC and the DNA sequences were deposited in GenBank (Table 1). Alignment of the protein coding DNA sequences was trivial and software-aided alignment was unnecessary. These sequences and previously published *Cnestus* (Sampson, 1911) spp. (outgroup) and *Xylosandrus* species sequences (Table 1) were compiled into a NEXUS file. Phylogenies based on these data were reconstructed with parsimony (PAUP\*, Swofford 2002) and maximum likelihood using Bayesian estimation (Mr. Bayes 3.2.6, Ronquist *et al.* 2012). The parsimony analysis consisted of a heuristic with 100 random stepwise additions. Bootstrap proportions consisted of 500 pseudo-replications with simple addition. For the Bayesian analysis, the data were partitioned by gene and codon position resulting in six divisions and were independently analyzed under a general time reversible model (GTR+ $\Gamma$ +I). Four Metropolis-Coupled Markov Chain Monte Carlo searches (one cold, three heated) were run in two simultaneous analyses for 3 million generations. Each analysis was sampled every 100th iteration. All parameters reached stability within 3 million generations and the split distribution between analyses reached a mean standard deviation of 0.015 suggesting little variation among the runs. Bayesian posterior probabilities of clades were calculated by a majority-rule consensus of those trees after a 25% burn-in (60,002 trees—the total of both runs). The average estimated sample size for run parameters was greater than 100. Percent COI and CAD nucleotide difference measure as p-distance was calculated for the *X. crassiusculus* individuals.

## RESULTS

Parsimony analysis of 49 *Xylosandrus* specimens including 14 *X. crassiusculus* individuals resulted in 35 most parsimonious trees. The strict consensus of these trees generally agreed with the Bayesian analysis (Fig. 1). Many of the nodes within the tree had high posterior probabilities (>0.9) and high bootstrap values (> 90%) except for the internal relationships among *Xylosandrus* species which were unresolved. In general, the tree topology agreed with prior phylogenetic analysis of *Xylosandrus* species based on additional DNA data (Cognato *et al.* 2011). The individual *X. crassiusculus* from southern Thailand was sister to the remaining *X.*

*crassiusculus* individuals with a posterior probability of 1.0 and a bootstrap value of 97% (Fig. 1). This lineage differed by a mean of 13.4% (13–14%) COI and 3.7% (3.1–5.3%) CAD interspecific nucleotide difference which did not overlap with *X. crassiusculus* intraspecific mean and range of nucleotide differences, COI 6% (0.3 – 10%) and CAD 0.5% (0.2 – 1.3%). The interspecific nucleotide difference is greater than 10% COI and 2% CAD nucleotide difference, the proposed species limits for xyleborines (Cognato *et al.* 2020). This specimen and others collected from the same southern Thailand locality had consistent subtle morphological differences to support species status. We recognized this lineage as *X. declivigranulatus* (Schedl, 1936) given the specimen's similarity to the lectotype and paralectotype specimens.

## TAXONOMY

### *Xylosandrus declivigranulatus* (Schedl, 1936) status restored

Figs. 2–5

*Xyleborus declivigranulatus* Schedl, 1936: 30.

*Xylosandrus declivigranulatus* (Schedl, 1936): Wood 1977 (as a synonym of *X. crassiusculus*)

**Type material.** Lectotype (NHMW), paralectotype (FRI).

**Diagnosis.** This species can be distinguished from other *Xylosandrus* species by the following combination of characters: 2.1 mm long (n = 3); 2.0× as long as wide; elytral disc gradually curving toward declivity, elytra rounded; posterolateral margins of elytra carinate to interstriae 7; declivital face with six striae; interstriae and striae granulate, interstitial granules strongly confused, striae granules subseriate, declivity appearing dull, with erect hair-like setae longer than the width of two interstriae; pronotum as long as wide pronotum from dorsal view rounded (type 1) and lateral view basic (type 0), summit at midpoint, basal 1/2 smooth, shiny, sparsely minutely punctate; and dense mycangial tuft on the pronotal base.

The species can be distinguished from *X. crassiusculus* by the following combination of characters (*X. declivigranulatus* given first): 2.1 mm long vs. 2.3–2.9 mm long (Smith *et al.* 2020); 2.0× as long as wide vs. 2.17–2.42× as long as wide (Smith *et al.* 2020); pronotum as long as wide vs. 0.73–0.93 times as long as wide; declivity densely granulate, granules spaced by less than one diameter of a granule, surface of declivital face difficult to discern between granules, granules comparatively larger vs. declivity sparsely to moderately granulate, granules

spaced 2–5 diameters of a granule, surface of declivital face apparent, granules comparative smaller, often minute.

**Material examined.** Thailand: Phatthalung Province, Srinagarindra District, Khao Banthat Wildlife Sanctuary, vi.2105, S. Steininger (3, MSUC).

**Distribution.** West Malaysia (Selangor) and Thailand (Phatthalung) (new record).

**Hosts.** *Dipterocarpus baudi* (Dipterocarpaceae), *Sandoricum* sp (Meliaceae) (Schedl 1936).

**Remarks.** The *X. declivigranulatus* lectotype and images of a paralectotype were compared to images of lectotype and two paralectotypes (ZMMU) of *Phloeotrogus crassiusculus* Motschulsky, 1866 provided by Alexander Petrov by SMS and AIC and were found not to be conspecific.

Schedl (1936) described *X. declivigranulatus* for specimens from Selangor, Malaysia and distinguished it from the closely allied Sumatran species *X. semigranosus* Blandford, 1896 (now a synonym of *Xylosandrus crassiusculus*) by the smaller size, stouter form and more abruptly convex declivity. Schedl (1959) produced a checklist of the Scolytidae of Ceylon and placed *X. semigranosus*, *X. declivigranulatus* and the African species *X. okoumeensis* Schedl, 1935 in synonymy with the Japanese species *X. semiopacus* Eichhoff, 1878 without comment. Later Wood (1969) placed *X. semiopacus* in synonymy with *X. crassiusculus*. Despite *X. declivigranulatus*' designation as a synonym, Browne (1961) continued to recognize the species as a smaller variety of *X. semiopacus* in Malaysia and noted that it could be distinguished by its smaller body length of 1.9–2.2 mm although our specimens were 2.1 mm. We did not observe any differences in the slope of the elytral declivity.

## DISCUSSION

This study underscores the importance of using DNA-based phylogenies as means to uncover pseudocryptic xyleborine species. Recent studies demonstrate that economically important xyleborine genera, which are often introduced to non-native locations, likely harbor many unrecognized species (Cognato *et al.* 2011; Smith *et al.* 2019; Smith and Cognato in review). Adhering to guidelines for the recognition of pseudo- or truly cryptic species among wide ranging species with minor morphological variation is necessary for a stable xyleborine taxonomy (Cognato *et al.* 2020). Recognition of species without morphological diagnostic characters, lack of monophyly, and percent DNA differences below 10% and 3% for COI and CAD, respectively, would cause an inflation of species with suspect evolutionary relevance. In this case, *X. declivigranulatus* is diagnosable with morphology, DNA sequences, and the species represents a lineage distinct from *X. crassiusculus*. Heightened vigilance for *X.*

*declivigranulatus* is recommended when identifying *X. crassiusculus* specimens as part of surveys for non-native xyleborines (Rabaglia *et al.* 2019).

#### ACKNOWLEDGEMENTS

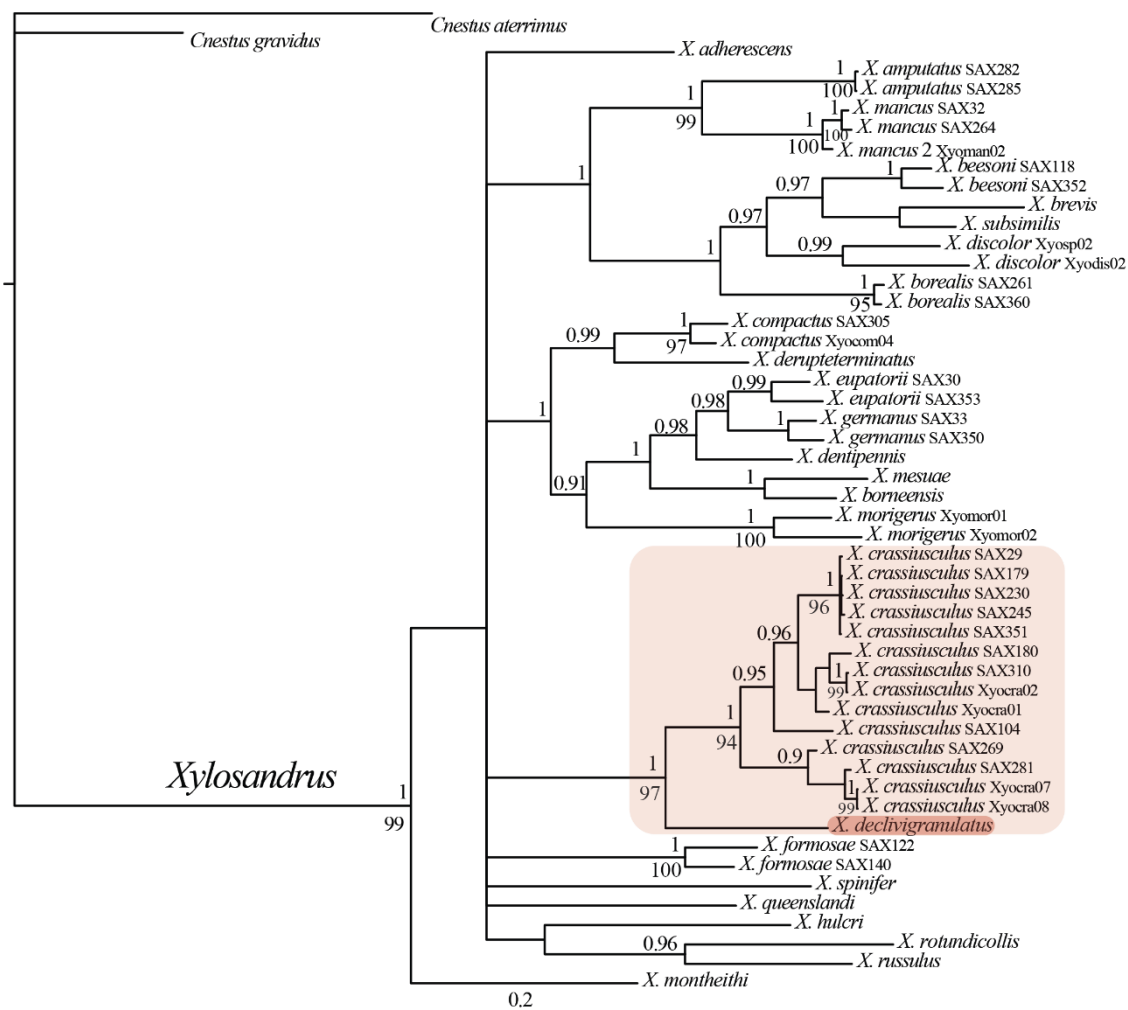
The following individuals are thanked for their contributions of specimens: Alexander Petrov generously cleaned and imaged the type series of *P. crassiusculus*, Harald Schillhammer (NHMW), Sudhir Singh (Forest Research Institute). This study was made possible, in part, by a Cooperative Agreement (IP00533923 to AIC) from the United States Department of Agriculture's Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). It may not necessarily express APHIS' views.

#### REFERENCES CITED

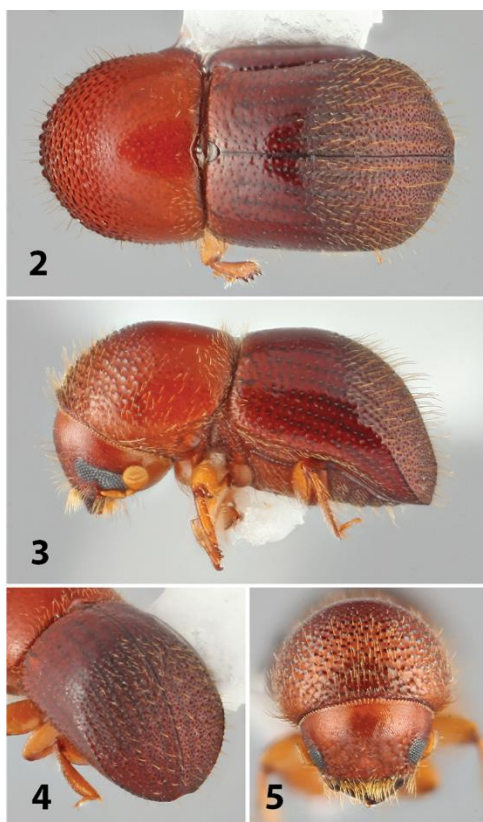
- Browne F. G. 1961.** The biology of Malayan Scolytidae and Platypodidae. Malayan Forest Records 22: 1–255.
- Cognato, A. I., J. Hulcr, S. A. Dole, and B. H. Jordal. 2011.** Phylogeny of haplo–diploid, fungus-growing ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) inferred from molecular and morphological data. Zoologica Scripta 40: 174–186.  
<https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2010.00466.x>
- Cognato, A. I., G. Sari, S. M. Smith, R. A. Beaver, Y. Li, J. Hulcr, B. H. Jordal, H. Kajimura, C-S. Lin, T. H. Pham, S. Singh, and W. Sittichaya. 2020.** The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian ambrosia beetle species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini). Frontiers in Ecology and Evolution 8: 27.  
<https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00027>
- Dole, S. A., and A. I. Cognato. 2010.** Revision of *Xylosandrus* Reitter (Curculionidae: Scolytinae). Proceedings of the California of Science 61: 451–545.
- Dole, S. A., B. H. Jordal, and A. I. Cognato. 2010.** Polyphyly of *Xylosandrus* Reitter inferred from nuclear and mitochondrial genes (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Molecular Phylogenetics and Evolution 54: 773–782.
- Eichhoff, W. J. 1878.** Ratio, descriptio, emendatio eorum Tomicinorum qui sunt in Dr medic. Chapuisii et autoris ipsius collectionibus et quos praeterea recognovit scriptor. Mémoires de la Société Royale des Sciences de Liège, Série 2e, 8: 1–531, pls. I–V.

- Flechtmann, C. A. H. and T.H. Atkinson. 2016.** First records of *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) from South America, with notes on its distribution and spread in the New World. *The Coleopterists Bulletin* 70(1): 79–83.
- Gallego, D., J. L. Lencina, H. Mas, J. Ceveró, and M. Faccoli 2017.** First record of the granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera:Curculionidae, Scolytinae), in the Iberian Peninsula. *Zootaxa* 4273: 431–434. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4273.3.7>
- Gohli, J., T. Selvarajah, L. R. Kirkendall, and B. H. Jordal 2016.** Globally distributed *Xyleborus* species reveal recurrent intercontinental dispersal in a landscape of ancient worldwide distributions. *BMC Evolutionary Biology* 16: 1–37. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0610-7>
- Hulcr, J., S. A. Dole, R. A. Beaver, and A. I. Cognato. 2007.** Cladistic review of generic taxonomic characters in Xyleborini (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Systematic Entomology* 32: 568–584. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2007.00386.x>
- Ito, M., and H. Kajimura. 2009.** Phylogeography of an ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), in Japan. *Applied Entomology and Zoology* 44: 549–559.
- Kühnholz, S., J. H. Borden, and A. Uzunovic. 2003.** Secondary ambrosia beetles in apparently healthy trees: Adaptations, potential causes and suggested research. *Integrated Pest Management Reviews* 6: 209–219.
- Landi, L., D. Gómez, C. L. Braccini, V. A. Pereyra, S. M. Smith, and A. E. Marvaldi. 2017.** Morphological and molecular identification of the invasive *Xylosandrus crassiusculus* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) and its South American range extending into Argentina and Uruguay. *Annals of the Entomological Society of America* 110: 344–349.  
<https://doi.org/10.1093/aesa/sax032>
- Motschulsky, V. 1866.** Essai d'un catalogue des insectes de l'île de Ceylan. (Supplément). *Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou* 39: 393–446
- Nel, W. J., W. De Beer, W. J. Wingfield, and T. A. Duong. 2020.** The granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), and its fungal symbiont found in South Africa. *Zootaxa* 4838: 427–435. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4838.3.7>
- Smith, S. M., D. F. Gomez, R. A. Beaver, J. Hulcr, and A. I. Cognato. 2019.** Reassessment of the species in the *Euwallacea fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) complex after the rediscovery of the 'lost' type specimen. *Insects*. 10, 261. doi:10.3390/insects10090261

- Rabaglia, R. J., A. I. Cognato, E. R. Hoebeke, C. W. Johnson, J. R. LaBonte, M. E. Carter, J. J. Vlach. 2019.** Early Detection and Rapid Response: A Ten-Year Summary of the U.S. Forest Service Program of Surveillance for Non-Native Bark and Ambrosia Beetles. *American Entomologist* 65, 29-42.
- Reding, M. E., P. B. Schultz, C. M. Ranger, J. B. Oliver. 2010.** Optimizing ethanol-baited traps for monitoring damaging ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) in ornamental nurseries. *Journal of Economic Entomology* 104: 2017–2024.
- Reitter, E. 1913.** Bestimmungs-Tabelle der Borkenkäfer (Scolytidae) aus Europa und den angrenzenden Ländern. *Wiener Entomologische Zeitung*, 32, Beiheft, 1–116.
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard, and J. P. Huelsenbeck. 2012.** MRBAYES 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Systematic Biology* 61, 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Schedl, K. E. 1936.** Some new Scolytidae and Platypodidae from the Malay Peninsula. *Journal of the Federated Malay States Museums* 18: 19–35.
- Schedl, K. E. 1959.** A checklist of the Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera) of Ceylon with descriptions of new species and biological notes. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 111: 469–534. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1959.tb02874.x>
- Smith, S. M., R. A. Beaver, and A. I. Cognato. 2020.** A monograph of the Xyleborini (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) of the Indochinese Peninsula (except Malaysia) and China. *ZooKeys* 983: 1–442. <https://doi.org/10.3897/zookeys.983.52630>
- Smith, S. M., and A. I. Cognato. In review.** New exotic beetles found in the United States among pseudocryptic *Cyclorhipidion* species (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini) revealed via a multigene phylogeny. *Insect Systematics and Diversity*.
- Storer, C., A. Payton, S. McDaniel, B. Jordal, and J. Hulcr. 2017.** Cryptic genetic variation in an inbreeding and cosmopolitan pest, *Xylosandrus crassiusculus*, revealed using ddRADseq. *Ecology and Evolution* 7:10974-10986. <https://doi.org/10.1002/ece3.3625>
- Swofford, D. L. 2002.** PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and Other Methods), 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland.
- Wood, S. L. 1969.** New synonymy and records of Platypodidae and Scolytidae (Coleoptera). *The Great Basin Naturalist* 29: 113–128. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.17054>
- Wood, S. L. 1977.** Introduced and exported American Scolytidae (Coleoptera). *The Great Basin Naturalist* 37: 67–74.



**Figure 1.** Bayesian phylogeny of *Xylosandrus* species and *Cnestus* (outgroup). Numbers above line = posterior probabilities; numbers below the line = bootstrap values. Only values above 0.9 and 90% are shown. *Xylosandrus crassiusculus* and *X. declivigranulatus* are highlighted in shades of red.



**Figs. 2–5.** *Xylosandrus declivigranulatus* female, 2.1 mm. **2)** Dorsal habitus; **3)** Lateral habitus; **4)** Elytral declivity; **5)** Head anterior.

**Table 1.** *Xylosandrus* and *Cnestus* (outgroup) specimens, extraction name, collection location, and GenBank numbers. N/A = not available. (Blank cells = Genbank numbers will be entered after acceptance)

| Genus       | Species           | DNA<br>extraction # | Localities                      | COI<br>Genbank | CAD<br>Genbank |
|-------------|-------------------|---------------------|---------------------------------|----------------|----------------|
| Cnestus     | aterrimus         | SAX50               | Japan: Okinawa                  | MN619868       | MN620159       |
| Cnestus     | gravidus          | SAX16               | Vietnam: Cao Bang Prov.         | MN619873       | MN620162       |
| Xylosandrus | adherescens       | SAX178              | Vietnam: Dong Nai Prov.         | MN620056       | MN620324       |
| Xylosandrus | amputatus         | SAX282              | China: Shanghai                 | MN620059       | MN620326       |
| Xylosandrus | amputatus         | SAX285              | Vietnam: Cao Bang Prov. Lan Son | MN620060       | MN620327       |
| Xylosandrus | beesoni           | SAX118              | China: Yunnan                   | MN620061       | MN620328       |
| Xylosandrus | beesoni           | SAX352              | Vietnam: Ninh Binh Prov.        | MN620062       | N/A            |
| Xylosandrus | borealis          | SAX261              | China: Hong Kong                | MN620063       | N/A            |
| Xylosandrus | borealis          | SAX360              | China: Guizhou                  | MN620064       | MN620329       |
| Xylosandrus | borneensis        | Xyo466              | Borneo                          | GU808726       | GU808648       |
| Xylosandrus | brevis            | SAX228              | Taiwan                          | MN620066       | N/A            |
| Xylosandrus | compactus         | SAX305              | Japan: Okinawa                  | MN620069       | N/A            |
| Xylosandrus | compactus         | Xyocom04            | Ghana                           | GU808707       | GU808629       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX29               | Vietnam: Cao Bang Prov.         | MN620070       | MN620331       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX104              | India: Dehra Dun                | MN620071       | MN620332       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX179              | Vietnam: Thua Thien-Hue Prov.   | MN620072       | MN620333       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX180              | Vietnam: Dong Nai Prov.         | MN620073       | MN620334       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX230              | Taiwan                          | MN620074       | N/A            |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX245              | China: Hong Kong                | MN620075       | MN620335       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX269              | China: Nanjing                  | N/A            | MN620336       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX281              | China: Shanghai                 | MN620076       | MN620338       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX310              | Japan: Okinawa                  | MN620077       | MN620339       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | SAX351              | Vietnam: Ninh Binh Prov.        | MN620078       | MN620340       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | Xyocra01            | Thailand                        | GU808708       | GU808630       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | Xyocra02            | Madagascar                      | GU808709       | GU808631       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | Xyocra07            | USA: Maryland                   | GU808710       | GU808632       |
| Xylosandrus | crassiusculus     | Xyocra08            | USA: North Carolina             | GU808711       | GU808633       |
| Xylosandrus | declivigranulatus | SAX403              | Thailand                        |                |                |
| Xylosandrus | dentipennis       | SAX115              | China: Guizhou                  | MN620103       | MN620360       |
| Xylosandrus | derupteterminatus | SAX355              | Vietnam: Ninh Binh Prov.        | MN620079       | N/A            |
| Xylosandrus | discolor          | Xyosp02             | Thailand                        | GU808721       | GU808643       |
| Xylosandrus | discolor          | Xyodis02            | Thailand                        | GU808712       | N/A            |
| Xylosandrus | eupatorii         | SAX30               | Vietnam: Cao Bang Prov.         | MN620081       | MN620341       |
| Xylosandrus | eupatorii         | SAX353              | Vietnam: Ninh Binh Prov.        | MN620085       | N/A            |
| Xylosandrus | germanus          | SAX33               | USA: Pennsylvania               | MN620089       | MN620346       |
| Xylosandrus | germanus          | SAX350              | Vietnam: Ninh Binh Prov.        | MN620093       | MN620351       |
| Xylosandrus | formosae          | SAX122              | Vietnam: Cao Bang Prov.         | MN620087       | MN620344       |
| Xylosandrus | formosae          | SAX140              | Vietnam: Thua Thien-Hue Prov.   | MN620088       | MN620345       |
| Xylosandrus | hulcri            | Xyo342              | Papua New Guinea                | GU808725       | GU808647       |
| Xylosandrus | mancus            | SAX31               | Vietnam: Cao Bang Prov.         | MN620094       | MN620352       |
| Xylosandrus | mancus            | SAX264              | China: Hong Kong                | MN620097       | N/A            |
| Xylosandrus | mancus            | Xyoman02            | Thailand                        | GU808716       | GU808637       |
| Xylosandrus | mesuae            | SAX234              | Taiwan                          | MN620101       | MN620357       |
| Xylosandrus | monthethi         | XyoA17              | Australia: Queensland           | GU808724       | GU808646       |
| Xylosandrus | morigerus         | Xyomor01            | Papua New Guinea                | GU808717       | GU808638       |
| Xylosandrus | morigerus         | Xyomor02            | Ecuador                         | GU808718       | GU808639       |
| Xylosandrus | spinifer          | SAX201              | China: Hong Kong                | MN620104       | MN620361       |
| Xylosandrus | subsimilis        | SAX274              | India                           | N/A            | MN620359       |
| Xylosandrus | queenslandi       | SAX368              | Australia: Queensland           | MN620106       | MN620363       |
| Xylosandrus | rotundicollis     | Xylrot              | Papua New Guinea                | GU808703       | GU808625       |
| Xylosandrus | russulus          | Xylcfrot            | Papua New Guinea                | GU808698       | N/A            |





**Structure génétique et modélisation de la distribution des populations de deux espèces invasives de *Xylosandrus* (Scolytinae: Xyleborini) : deux espèces proches aux histoires d'invasion différentes**

Résumé :

*Xylosandrus compactus* et *X. crassiusculus* sont deux scolytes originaires d'Asie du Sud-Est et invasifs sur plusieurs continents, dont la biologie et l'écologie atypiques favorisent l'invasion.

Une approche pluridisciplinaire a été utilisée au cours de cette thèse afin (i) d'identifier l'origine des populations invasives et leurs routes d'invasion, et (ii) de déterminer les zones dans lesquelles elles pourraient s'étendre et s'établir. Les routes d'invasion ont été retracées à l'aide d'un marqueur mitochondrial et de marqueurs génomiques, et les zones favorables à l'établissement de chaque espèce ont été déterminées à l'aide de modèles de distribution d'espèces (SDM).

Malgré leur proximité écologique et phylogénétique, les deux espèces ont une histoire d'invasion différente. Deux lignées ont été identifiées chez *X. compactus*, l'une originaire d'Inde ou du Vietnam ayant envahi l'Afrique et l'autre originaire de la région de Shanghai et ayant envahi indépendamment les Amériques et les îles du Pacifique, puis l'Europe. *X. crassiusculus* est composé de deux clusters très divergents, majoritairement allopatriques et possédant des niches écologiques différentes. Le cluster 1 a envahi indépendamment les îles du Pacifique et l'Afrique. Le cluster 2 est responsable de l'invasion en Amérique, en Europe, en Afrique et en Océanie, avec plusieurs invasions indépendantes de multiples origines (dont des événements dits "tête de pont") suivies de dispersion intra-continentale. Les SDM ont montré pour les deux espèces l'existence de zones favorables où elles ne sont pas encore présentes et qui sont donc susceptibles d'être envahies secondairement. Nous anticipons également un impact du changement climatique sur leurs potentielles distributions futures. A l'inverse, l'évolution récente du climat n'est pas responsable de l'invasion récente de l'Europe, ce continent étant favorable depuis plusieurs décennies.

Mots clés : *Xylosandrus*, Biologie des invasions, Phylogéographie, Modélisation de distribution d'espèces, Changement climatique

**Genetic structure and distribution modelling of populations of two invasive species of *Xylosandrus* (Scolytinae: Xyleborini): two close species with different invasion histories**

Summary:

*Xylosandrus compactus* and *X. crassiusculus* are two ambrosia beetles originating from Southeastern Asia and invasive on several continents, whose atypical biology and ecology favour invasion.

During this thesis, a multidisciplinary approach was used to (i) identify the origin of invasive populations and their invasion routes and (ii) determine the areas in which they could spread and establish. Invasion routes were traced using a mitochondrial marker and genomic markers, and the suitable areas for each species were identified using species distribution models (SDM).

Despite their ecological and phylogenetic proximity, the two species have different invasion histories. Two lineages were identified in *X. compactus*, one originating from India or Vietnam, who invaded Africa, and the other from the Shanghai area, who independently invaded the American-Pacific and Europe. *X. crassiusculus* comprises two very diverging clusters, mostly allopatric and with different ecological niches. Cluster 1 independently invaded Pacific islands and Africa. Cluster 2 is responsible for the invasion in the Americas, Europe, Africa and Oceania, with several independent introductions from multiple sources (including bridgehead, where an invasion occurs from an area already invaded) followed by intra-continental dispersion. For both species, SDM showed suitable areas where the pests are not present yet and which could be invaded. We expect an impact of climate change on their future potential distributions. Conversely, the recent evolution of climate is not responsible for their recent invasion in Europe, which has already been suitable for decades.

Keywords: *Xylosandrus*, Invasion biology, Phylogeography, Species distribution modelling, Climate change