

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Biologiques de l'environnement  
Filière: Sciences Biologiques  
Option: biodiversité et sécurité alimentaire

Mémoire de Fin de cycle  
En vue de l'obtention du diplôme  
**MASTER**

## *Thème*

Etude phylogénétique des espèces du genre *Salvia*  
présentes dans le Nord algérien

Présenté par : M<sup>lle</sup> AGGOUNE Imene  
Soutenu le : 20 juin 2018

Devant le jury composé de :

Melle BENMOUHOU B Hassina  
Mr MERABET Khaled  
Mr SAHNOUNE Mohamed  
Mr MAHDJOU B Malik

MAA UAMB  
MAB UAMB  
Pr UAMB  
Doctorant

Présidente  
Examineur  
Encadreur  
Invité

Année universitaire : 2017/2018

## *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à Mes parents :*

*Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.*

*Mon frère "AMINE" et ma sœur "NIHAD" qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de courage et de générosité.*

*Imene.*

## Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu Tout Puissant de nous avoir accordé la force et Les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

J'ai eu la chance d'effectuer ce travail de recherche dans le Laboratoire d'écologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, je remercie mon promoteur **Mr SAHNOUNE M.**, Professeur à l'Université Abderrahmane Mira de Bejaia pour son aide, sa disponibilité, sa patience, ses conseils, et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je remercie vivement **Mr. MAHDJOUB M. M.**, d'avoir accepté d'être mon Co-encadreur. Je le remercie pour ses précieux conseils et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.

Je remercie très sincèrement **Mme BENMOUHOUB H.** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury, pour ses précieux conseils, ses encouragements, son aide qu'elle m'a prodiguée, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et gratitude.

Un grand merci aussi pour **Mr MERABET Khaled** pour avoir accepté de participer à mon jury et d'avoir examinée mon travail, pour le temps qu'il a consacré à ma recherche.

Je tiens également à remercier les membres du laboratoire d'écologie en commençant par les ingénieurs Mr ZEMMOURI M. et Mme BOUDERSA S. Et les doctorants Melle ZEMMOURI T., Mme BELKACEM F., Mr KARAR M., et Melle MESBAH M., A vous tous, nous reformulons nos remerciements les plus vifs, et nous vous dédions aussi ce Modeste travail.

Enfin nous remercions, toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, afin que ce Travail puisse arriver à terme.

<b>Sommaire</b> .....	<b>pages</b>
Introduction .....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique .....	2
I .1. Phylogénie .....	2
I.1.1. Aperçu historique sur la phylogénie .....	2
I.1.2. Les arbres phylogénétiques .....	3
I.1.2.1. Les groupes taxonomiques .....	4
I.1.2.2. Notions de racine et de groupe externe .....	5
I.1.2.3. Différentes représentations graphiques pour les arbres .....	5
I.1.3. Les différents types de caractères moléculaires utilisés en phylogénie.....	6
I.1.4. Alignements multiples.....	7
I.1.5. Modèles d'évolution moléculaire.....	7
I.1.6. Les méthodes de reconstruction phylogénétique.....	8
I.1.6.1. Les Méthodes de distances.....	8
I.1.6.1.1. La méthode de Neighbor-joining .....	8
I.1.6.1.2. La méthode de l'UPGMA .....	8
I.1.6.2. La méthode de parcimonie .....	9
I.1.6.3. La méthode du maximum de vraisemblance.....	9
I.1.7. Evaluation de la robustesse des phylogénies par Bootstrap .....	9
I.2. Famille des Lamiaceae (Labiées) .....	10
I.2.1. Caractéristiques générales de la famille des Lamiaceae.....	10
I.3. Le genre <i>Salvia</i> L. ....	11
I.3.1. Systématique. ....	11
I.3.2. Description morphologique de <i>Salvia</i> L.....	12
I.3.3. La distribution du genre <i>Salvia</i> L. ....	13
I.3.4. Histoire taxonomique de <i>Salvia</i> .....	14
I.3.5. La phylogénétique de genre <i>Salvia</i> L. ....	15
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	19
II.1. Choix des taxons à analyser .....	19
II.2. Choix des marqueurs.....	19
II.3. Alignement multiple des séquences .....	20
II.4. Construction des arbres phylogénétiques.....	22
II.4.1. La Méthodes de la distance .....	22
II.4.2 La Méthodes de parcimonie .....	23
II.4.3. La méthode de maximum de vraisemblance .....	23
II.4.4. Fiabilité et visualisation des arbres .....	23
Chapitre III: Résultats et discussion.....	25
III.1. Résultats.....	25
III.2. Discussion.....	34
Conclusion.....	37
Références bibliographiques .....	38
Annexes	

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tab I</b>	Nombre d'espèces et d'accessions par marqueur. Le 'in-group' comprend <i>Salvia</i> s.l. et les cinq genres <i>Dorystaechas</i> , <i>Meriandra</i> , <i>Perovskia</i> , <i>Rosmarinus</i> et <i>Zhumeria</i> ; NW= New World ; OW = Old World ; le nombre d'espèces de <i>Salvia</i> séquencées pour la première fois entre parenthèses	15
<b>Tab II</b>	L'origine géographique des espèces de <i>Salvia</i> utilisées dans notre étude et leurs numéros d'accès GenBank	20

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Les trois domaines du vivant (Woese <i>et al.</i> , 1990).	3
<b>Figure 2</b>	Schéma illustrant les différentes notions de la représentation d'un arbre phylogénétique (Taguan, 2015).	4
<b>Figure 3</b>	Schéma illustré des notions des différents types de groupe taxonomique.	4
<b>Figure 4</b>	Schéma représente les différents types de dendrogrammes <a href="http://slideplayer.fr/slide/3330472/">http://slideplayer.fr/slide/3330472/</a>	5
<b>Figure 5</b>	Structure de la région de l'ADNr dans les plantes (Edger <i>et al.</i> , 2014).	7
<b>Figure 6</b>	Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacées <a href="https://www.sfakia-crete.com/sfakia-crete/herbs-plants-flora-crete.html">https://www.sfakia-crete.com/sfakia-crete/herbs-plants-flora-crete.html</a>	11
<b>Figure 7</b>	Fleur de <i>Salvia pratensis</i> (corolle en partie ouvert) <a href="http://www.svtaclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur_salvia.htm">http://www.svtaclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur_salvia.htm</a>	12
<b>Figure 8</b>	Centres de diversité pour le genre <i>Salvia</i> . Le nombre approximatif d'espèces dans chaque région est indiqué à l'intérieur de chaque zone.	13
<b>Figure 9</b>	Distribution de <i>Salvia</i> s.l. sur le continent africain d'après Hedge (1974) & Codd (1985); Santos & Fernández (1986); Thulin (1993, 2009) et Van Jaarsveld (1999). (1) Les Iles Canaries ; (2) de l'Europe du Sud/Afrique du Nord à l'Asie du Sud-Ouest ; (3) l'Afrique de l'Est/Péninsule arabique ; (4) l'Afrique australe et (5) Madagascar.	14
<b>Figure 10</b>	Arbre phylogénétique de <i>Salvia</i> s.s. (Clade I) basé sur les données ITS. Seules les valeurs de soutien P>70% (BS) et P>0,95 (PP) sont illustrées	16
<b>Figure 11</b>	Arbre phylogénétique de <i>Salvia</i> s.l. basé sur des données rpl32-trnL. Les genres autres que <i>Salvia</i> sont mis en évidence (en gras) ; seules les valeurs de soutien P>70% (BS) et P>0,95 (PP) sont illustrées.	17
<b>Figure 12</b>	Capture d'écran de l'interface du logiciel ClustalX montrant l'alignement multiple de séquences des espèces <i>Salvia</i> et Outgroup	21

<b>Figure 13</b>	Capture d'écran de l'interface du fichier Excel montrant les 24 modèles d'évolution obtenu par le logiciel MEGA pour l'alignement multiple des ITS des espèces de <i>Salvia</i> et Outgroup.	22
<b>Figure 14</b>	Phénogramme Neighbor-joining basé sur les données ITS reconstruisant les relations phylogénétiques des espèces de genre <i>Salvia</i> . Les chiffres sur les branches indiquent les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement	26
<b>Figure 15</b>	Phénogramme UPGMA basé sur les données ITS reconstruisant les relations phylogénétiques des espèces de genre <i>Salvia</i> . Les chiffres sur l'arbre indiquent les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement.	28
<b>Figure 16</b>	Arbre consensus le plus parcimonieux basé sur des ITS reconstruisant les relations phylogénétiques de 29 espèces de genre <i>Salvia</i> et Outgroup. Les nombres sur les branches indiquent les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement	30
<b>Figure 17</b>	Arbre Maximum de vraisemblance basé sur des séquences ITS, reconstruisant les relations phylogénétiques de 29 espèces de genre <i>Salvia</i> . Les nombres sur les branches indiquant les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement.	32

# Introduction

## Introduction

L'Algérie est l'un des pays du bassin méditerranéen parmi les plus riches par sa biodiversité floristique à intérêts divers (aromatique, médicinal et autres) (Mokkadem, 1999). La phylogénie est la branche de la biologie qui étudie les relations évolutives entre les êtres vivants. Ces relations sont représentées à l'aide d'arbres phylogénétiques, construits à partir de données moléculaires (aujourd'hui) ou morphologiques (avant l'avènement de la biologie moléculaire).

Grâce aux progrès technologiques récents, de plus en plus d'espèces voient leur ADN complètement séquencé, et le nombre de séquences disponibles dans les bases de données scientifiques publiques croît de manière exponentielle. En parallèle, les ordinateurs voient leur puissance de calcul augmenter. Il est donc de plus en plus facile de construire des arbres phylogénétiques (Taguan, 2015).

Ainsi, il existe de nombreuses méthodes pour déduire l'arbre phylogénétique, et de nombreux programmes pour chaque méthode sont disponibles. Ce travail montre ce modèle général de l'analyse phylogénétique et explique certaines méthodes représentatives (méthode d'assemblage des voisins, méthode de la parcimonie, méthode du maximum de vraisemblance). Dans l'analyse phylogénétique, la caractéristique la plus importante est l'interprétation de l'arbre phylogénétique (Horiike, 2016).

Le travail qui nous a été confié est une initiation aux principales méthodes utilisées en phylogénie moléculaire. Il consiste à étudier les relations phylogénétiques de 29 espèces du genre *Salvia* dans le Nord de l'Afrique et la région méditerranéenne et 2 espèces du genre *Melissa* prises comme extra-groupe. En plus de la construction d'arbres phylogénétiques, ce travail vise aussi à comparer la fiabilité de quatre méthodes de reconstructions phylogénétiques.

Dans ce mémoire, nous présentons d'abord une synthèse bibliographique sur la phylogénie, les différentes méthodes de reconstruction phylogénétique et les espèces étudiées. La deuxième partie est une partie expérimentale consacrée aux différents logiciels utilisés dans la reconstruction phylogénétique. Dans la troisième partie nous exposons les résultats obtenus et leurs interprétations. Nous terminons par une conclusion et perspective.

# Chapitre I : Synthèse Bibliographique

## 1.1 Phylogénie

### 1.1.1 Aperçu historique sur la phylogénie

Le terme phylogénie (en grec *phulon* « race, tribu » et *genesis* « genèse, formation ») inventé par Ernst Haeckel en 1866 pour définir l'enchaînement des espèces animales et végétales au cours de temps. Elle consiste à trouver l'histoire évolutive des organismes reposant sur la connaissance des relations phylogénétiques.

La pensée phylogénétique trouve ses racines dans les célèbres arbres évolutifs dressés dans la seconde moitié du XIX siècle par Darwin et Haeckel. et c'est seulement avec Hennig dans les années 1950 que la pensée « phylogénétique » s'est largement répandue à travers sa mise en pratique dans la systématique éponyme (Thomas *et al.*, 2016). Pendant un siècle, la phylogénie est basée sur l'utilisation des caractères morphologique, physiologiques et métaboliques. Le début de la phylogénie moléculaire remonte aux années 60, aux travaux de Zuckerkandl et Pauling (1965) et Fitch et Margoliash (1967) basés sur les séquences protéiques du cytochrome C et de la globine chez les Vertébrés. L'objectif de la phylogénie moléculaire est la reconstruction des arbres phylogénétiques par comparaison de l'information génétique présente dans les génomes des êtres vivants. Elle a pour but de classer les espèces selon leurs liens de parenté. La phylogénie postule que toutes les espèces proviennent d'un ancêtre commun hypothétique (Judd *et al.*, 2002). Mais la véritable révolution moléculaire en phylogénie commence au début des années 1990 suite à l'invention de la PCR (Polymerase Chain Reaction) et au développement des techniques de séquençage. C'est grâce à l'utilisation de ces séquences qu'il a été possible pour la première fois d'effectuer une véritable classification phylogénétique des microorganismes « les archées », le troisième domaine du vivant ont été découvert en se basant sur l'analyse des fragments de l'ARN ribosomique 16S (Figure 1) (Woese *et al.*, 1990).

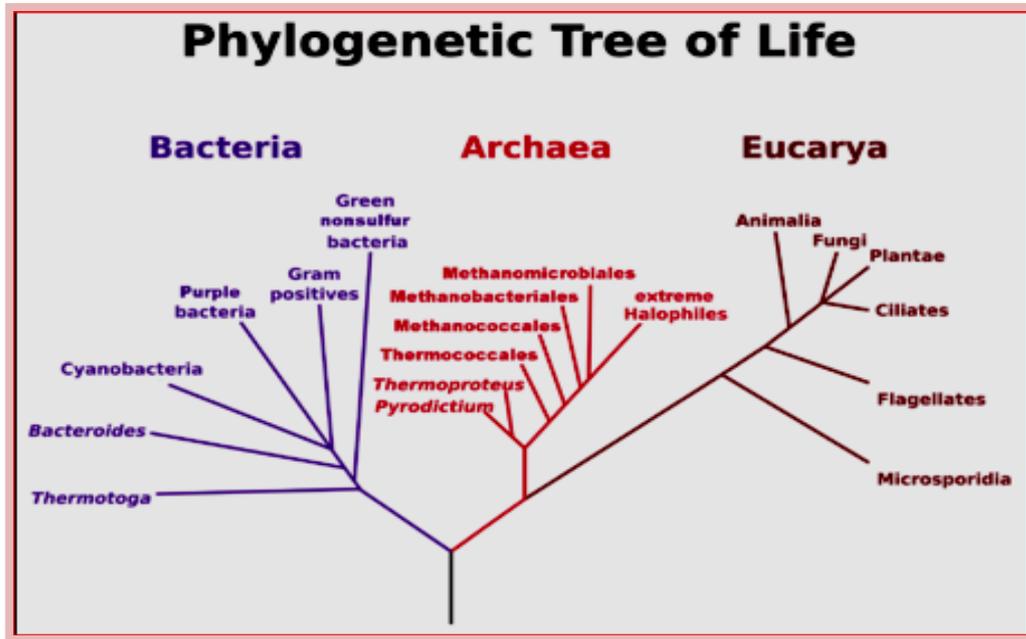


Figure 1: Les trois domaines du vivant (Woese *et al.*, 1990)

### 1.1.2. Les arbres phylogénétiques

Un arbre phylogénétique ou dendrogramme est une représentation graphique d'origine biologique, mathématique et informatique d'un groupe de taxon, qui répond à la question : « qui est plus proche parent de qui » (Figure 2) (Darlu et Tassy, 1993). Du point de vue mathématique, un arbre est composé de quatre éléments principaux (Perrière & Brochier-Armanet, 2010) :

- **Les sommets externes degré 1:** sont appelés **les feuilles** qui représentent les unités taxonomiques opérationnelles (UTOs) comme les organismes ou séquences ;
- **Les sommets internes:** sont appelés **les nœuds** représentant les unités taxonomiques hypothétiques (UTHs) ;
- **Les arêtes :** sont appelées **les branches** de l'arbre, elles représentent les lignées évolutives connectant deux UTHs ou une UTH et une UTO ;
- **Le sommet degré 2:** est appelé **racine**, il représente l'ancêtre commun à tous les objets de l'arbre.

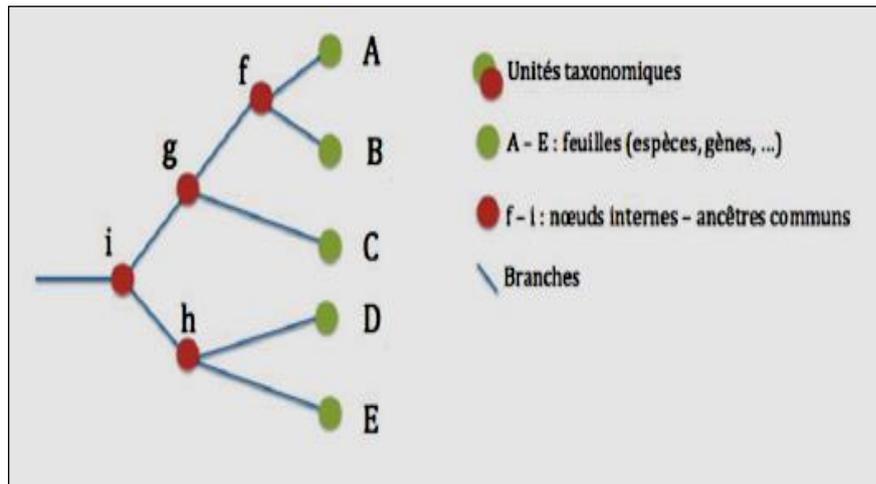


Figure.2 : Schéma illustrant les différentes notions de la représentation d'un arbre phylogénétique (Taguan, 2015).

### 1.1.2.1. Les groupes taxonomiques

Il existe trois types de groupes taxonomiques. La figure 3 illustre ces types. Ces groupements n'ont pas la même signification biologique (Thomas *et al.*, 2016).

- a) **Groupe monophylétique** : un ensemble de taxon incluant un ancêtre hypothétique et l'intégralité de ses descendants.
- b) **Groupe paraphylétique**: un groupe incluant un ancêtre hypothétique et certains de ses descendants.
- c) **Groupe polyphylétique** : un groupement non apparenté présentant des ressemblances.

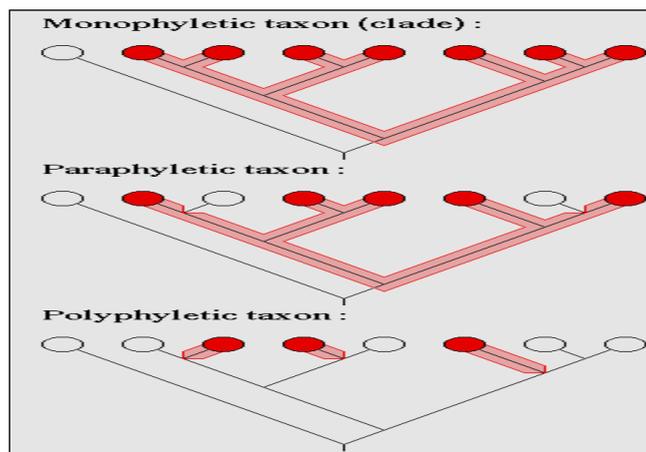


Figure 3: Schéma illustrant les notions des différents types de groupes taxonomiques.

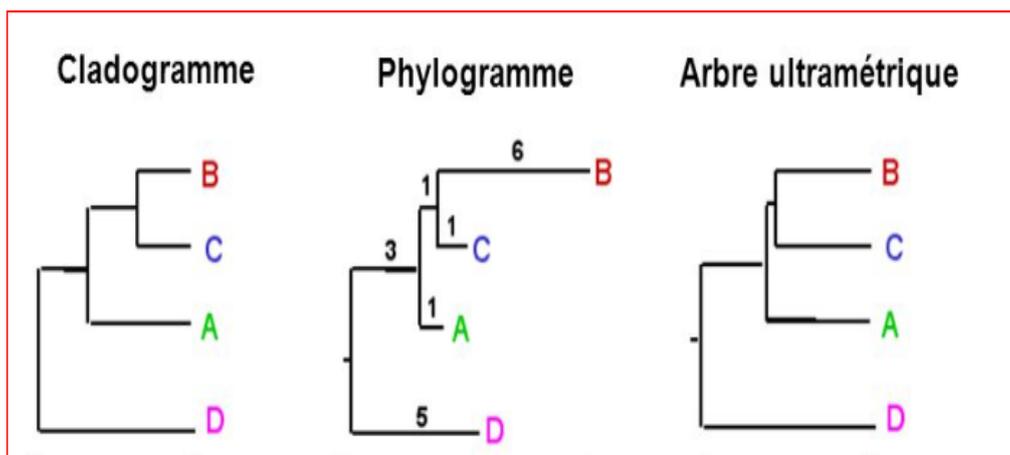
### 1.1.2.2. Notions de racine et de groupe externe

La racine désigne le nœud le plus ancien d'une reconstruction phylogénétique, c'est une représentation de l'ancêtre de l'ensemble de taxons étudiés. C'est également la reconnaissance de l'origine et l'orientation. Une analyse phylogénétique ne peut pas résoudre la position du nœud racine sans l'aide d'un groupe externe qui signifie un groupe de taxons extérieurs. Toutefois, pour enraciner un arbre, il faut que le groupe externe ne soit pas trop éloigné sur le plan évolutif pour permettre de détecter les caractères homologues. La représentation la plus courante des phylogénies utilise la convention de la trifurcation, trois branches partent de la base d'un arbre : La première conduit au groupe externe et les deux autres constituent la première bifurcation au sein de groupe interne (Thomas *et al.*, 2016).

### 1.1.2.3. Différentes représentations graphiques pour les arbres

Selon la représentation graphique, il est possible de reconnaître le type d'arbre et le type d'information véhiculée (Thomas *et al.*, 2016).

**Le Dendrogramme :** appliqué à tous les types graphiques arborés (les cladogrammes, les phénogrammes, les phylogrammes ou les arbres ultramétriques tels que les chronogrammes) (Figure 4).



**Figure 4 :** Schéma représentant les différents types de dendrogrammes

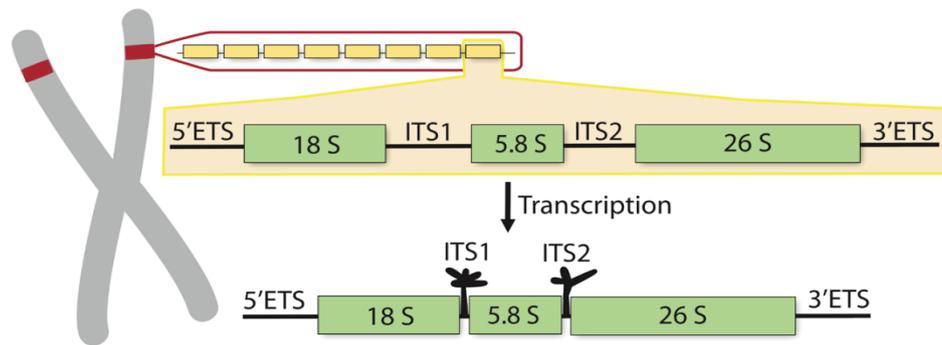
<http://slideplayer.fr/slide/3330472/>

- a) **Le cladogramme** : présentation sous forme de « cladogramme rectangulaire » issu de l'école cladiste (Hennig, 1966). Les taxons terminaux sont équidistants de la racine de l'arbre qui ne représente que les relations de parenté.
- b) **Le phylogramme** : représente sur un même graphe les relations de parenté et le degré de différence entre les nœuds et les taxons terminaux qui ne sont pas tous équidistants de la racine de l'arbre. Les longueurs de branches sont les nombres de changements évolutifs par le temps intervenu entre deux taxons.
- c) **L'arbre ultramétrique** : représente des relations de parenté et des changements évolutifs. Les taxons terminaux sont tous à égale distance de la racine. Les liens entre des nœuds internes n'ont pas nécessairement la même longueur.
- d) **Le phénogramme** : est le produit d'une étude phénétique. Graphiquement, c'est arbre ultramétrique, mais ne représente pas les relations de parenté et regroupe les taxons montrant une plus forte similitude globale (Sneath & Sokal, 1973).

### 1.1.3. Les différents types de caractères moléculaires utilisés en phylogénie

Les données utilisées en phylogénie moléculaire sont les séquences d'ADN et de protéines (Perrière & Brochier-Armanet, 2010). Plusieurs régions du génome sont proposées pour l'utilisation en phylogénie chez les plantes. Il s'agit notamment de Ribulose bisphosphate carboxylase large chain (*rbcL*), Megakaryocyte-Associated Tyrosine Kinase (*matK*) et des régions d'espaces intergéniques ribosomiques (ITS) (Chase *et al.*, 2005; Kress & Erickson, 2007; Lahaye *et al.*, 2008).

L'ADNr (représenté par des rectangles jaunes sur la figure 5), se compose de sept composants principaux dont deux *internal transcribed spacers* (ITS1 et ITS2) (Figure 5). Les ITS sont des régions variables, relativement courtes et faciles à séquencer. Elles sont utiles pour l'identification des plantes (Baldwin *et al.*, 1995). Une étude récente a montré qu'il s'agit d'un outil à double tranchant pour les comparaisons évolutives chez les eucaryotes (Coleman, 2003). De plus, les régions ITS sont des régions les plus fréquemment utilisées pour les analyses phylogénétiques au niveau des genres et des espèces (Coleman, 2003).



**Figure 5 :** Structure de la région de l'ADNr chez les plantes (Edger *et al.*, 2014).

#### 1.1.4. Alignements multiples

En pratique, la reconstruction phylogénétique nécessite l'alignement de plusieurs séquences (Guindon, 2003). Dans ce cas en utilisant un alignement multiple heuristique. Mais l'alignement de certaines régions peut être difficile et des fois impossible à cause d'un trop grand nombre d'événement mutationnels de substitution et/ou d'insertion-délétion. L'alignement multiple permet de produire un alignement optimal qui a pour but de faire correspondre les positions homologues de diverses séquences et aussi l'ordre des séquences qui est un facteur crucial qui joue sur la qualité de l'alignement final (Perrière & Brochier-Armanet, 2010). L'algorithme le plus couramment utilisé pour effectuer des alignements multiples est celui de l'alignement progressif (Corpet, 1988).

#### 1.1.5. Modèles d'évolution moléculaire

Les modèles évolutifs occupent une place centrale en phylogénie moléculaire. La distance évolutive séparant deux séquences est définie comme le nombre moyen de substitutions par site. La construction d'une matrice de distances nécessite le calcul des distances évolutives pour chaque paire de séquences, ces distances sont estimées au moyen de modèles différents pour les séquences nucléotidiques. Parmi ces modèles, on trouve le modèle de Kimura à deux paramètres (Kimura, 1980) où la fréquence des transitions est souvent plus élevée que celle des transversions. L'estimation des distances évolutives est à la

base de la plupart des méthodes de reconstruction phylogénétique à l'exception de la parcimonie (Perrière & Brochier-Armanet, 2010).

### **1.1.6. Les méthodes de reconstruction phylogénétique**

Parallèlement à l'accroissement des technologies (PCR, séquençage automatisé, capacité de calcul et de stockage des machines), la collaboration entre biologistes, mathématiciens et informaticiens nous permettent la construction d'arbres phylogénétiques et l'évaluation de leurs fiabilités (Perrière & Brochier-Armanet, 2010).

#### **1.1.6.1. Les Méthodes de distances**

Dans ces méthodes, comme leur nom l'indique, une distance entre chaque paire de séquences est calculée. Et la matrice de distance est utilisée pour la construction des arbres. Les méthodes basées sur la distance utilisent des modèles de substitution de bases. Il existe deux méthodes basées sur la distance (Choudhuri, 2014) :

##### **1.1.6.1.1. La méthode de Neighbor-joining**

Neighbor-joining (la jointure voisine) a été proposée par Saitou et Nei (1987). C'est une méthode de construction d'un arbre phylogénétique sans racine, à partir d'un indice d'écart (distance ou dissimilarité entre séquences). Elle est basée sur la recherche d'une paire d'UTOs (unités taxonomiques opérationnelles) qui minimisent la longueur totale des branches de l'arbre et ceci à chaque étape de regroupement (Saitou et Nei, 1987).

##### **1.1.6.1.2. La méthode de l'UPGMA**

L'UPGMA est appelée (Méthode des groupes de paires non pondérées avec la moyenne arithmétique) a été proposé par Sokal et Michener (1958), c'est une approche directe de la construction d'un arbre phylogénétique à partir d'une matrice de distances. Cette méthode est la seule où les arbres résultants sont enracinés. Elle suppose un taux de substitution constant au fil du temps et des lignées phylogénétiques (connu sous le nom d'hypothèse de l'horloge moléculaire) (Kurtzman *et al*, 2010).

### **1.1.6.2. La méthode de parcimonie**

Les méthodes de maximum de parcimonie ont été initialement développées pour être utilisées sur des données morphologiques (Hennig, 1966). La parcimonie, à la différence des méthodes de distances, considère chaque site individuellement pour l'ensemble des séquences. Elle est basée sur la théorie de *rasoir d'Occam*, qui spécifie que la meilleure hypothèse pour expliquer un processus est celle qui fait appel au plus petit nombre d'évènements (calculer le nombre minimal de substitutions) (Perrière & Brochier-Armanet, 2010).

### **1.1.6.3. La méthode du maximum de vraisemblance**

Le maximum de vraisemblance a été introduit par Neyman, cependant c'est Felsenstein qui, le premier, a développé un algorithme efficace applicable aux séquences nucléotidiques (Perrière & Brochier-Armanet, 2010). L'analyse du maximum de vraisemblance se compose de trois parties, premièrement un modèle de changement évolutif est spécifié. À partir de ce modèle, différentes hypothèses sur l'histoire de l'évolution sont évaluées en termes de probabilité. Enfin, on choisit l'hypothèse qui présente la probabilité la plus élevée. Le maximum de vraisemblance est la méthode d'estimation la moins affectée par l'erreur d'échantillonnage (Swofford *et al.*, 1996), et donne de meilleurs résultats que les méthodes de distances et de parcimonie, permettant ainsi de comparer facilement les hypothèses. La contrepartie de cela étant bien sûr un temps de calcul bien plus élevé que ces deux méthodes (Strimmer, 1997).

### **1.1.7. Evaluation de la robustesse des phylogénies par Bootstrap**

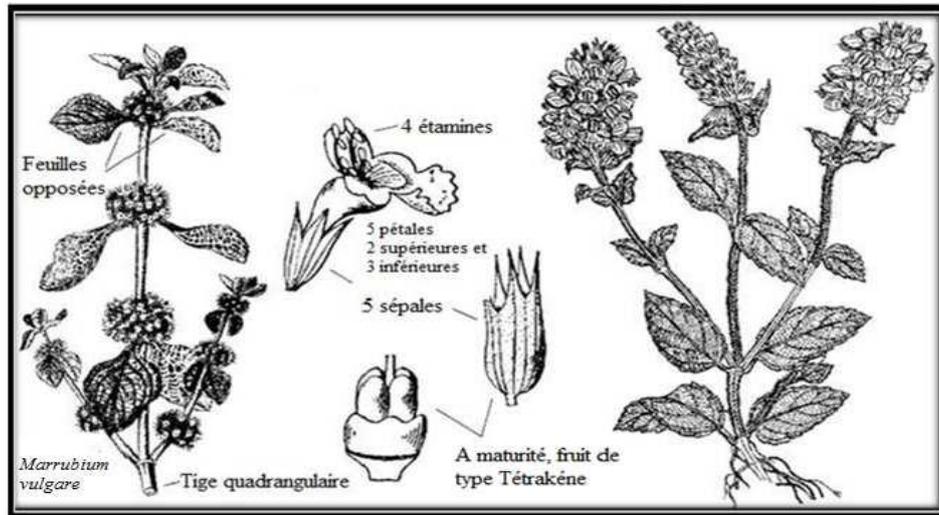
En 1985, Felsenstein a introduit l'utilisation du bootstrap dans l'estimation des arbres phylogénétiques. Sa technique fournit des évaluations de « confiance » pour chaque « Clade » d'un arbre observé, basé sur la proportion d'arbres bootstrap montrant ce même clade. (Efron *et al.*, 1996).

## 1.2. Famille des Lamiaceae (Labiées)

La famille des Lamiaceae a été une des premières distinguées par les botanistes (Deysson, 1979). Nommée d'après le genre *Lamium*, aussi connue sous le nom Labiées qui provient du latin "*labia*" lèvre car les fleurs (calice et corolle) ont une forme caractéristique à deux lèvres (Couplan, 2012). Les Lamiaceae sont l'une des plus grandes familles d'Angiospermes ; elle comprend environ 240 genres et plus de 7000 espèces/taxons répartis dans le monde entier (Harley, 2003). Elle renferme de nombreuses plantes aromatiques, elle est répandue dans le monde entier, particulièrement dans la région méditerranéenne et dans les régions tempérées (Deysson, 1979). Les Lamiacées sont considérées comme une famille très importante dans la flore de l'Algérie, elle comprend 29 genres et 140 espèces se développant aussi bien dans les zones méditerranéennes que sahariennes, certains genres de cette famille sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces. (Quézel & Santa, 1963 ; Nouioua, 2012).

### 1.2.1. Caractéristiques générales de la famille des Lamiaceae

Ce sont des plantes généralement herbacées, constituées de tiges quadrangulaires, les feuilles sont opposées, l'inflorescence à axe à rameaux latéraux déterminés (ramifiés en cymes), la fleur composée de 5 sépales et 5 pétales généralement soudés, une corolle bilabée constituée de 4 étamines, parfois réduites à 2 avec un filet généralement court et connectif excessivement développé. Les grains de pollen sont tricolpés ou hexacolpés. Ovaire supère, entier ou profondément 4-lobé, deux ovules (2 par carpelle). Le style généralement gynobasique est à stigmate à 2 branches, Fruits constitués par 4 akènes plus ou moins soudés par leurs faces internes et diversement ornés (Judd *et al.*, 2002) (Figure 6). La formule florale est : (5)S + (5)P + (4)E + (2)C. Un disque nectarifère est toujours présent indiquant une adaptation très étroite à la pollinisation par les insectes (Deysson, 1979).



**Figure 6:** Les caractéristiques morphologiques d'une Lamiacée  
<https://www.sfakia-crete.com/sfakia-crete/herbs-plants-flora-crete.html>

### 1.3. Le genre *Salvia* L.

Le mot *Salvia* est dérivé du latin *salvere*, qui signifie sauver, en référence aux propriétés curatives de la plante, qui était dans les temps anciens, connue comme une herbe médicinale. Ce nom a été populairement modifié en Sauja et Sauge (Grieve, 1984)

#### 1.3.1. Systématique

Règne: Plantae

Embranchement: Spermatophyta

Sous-embranchement: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Asteridae

Ordre: Lamiales

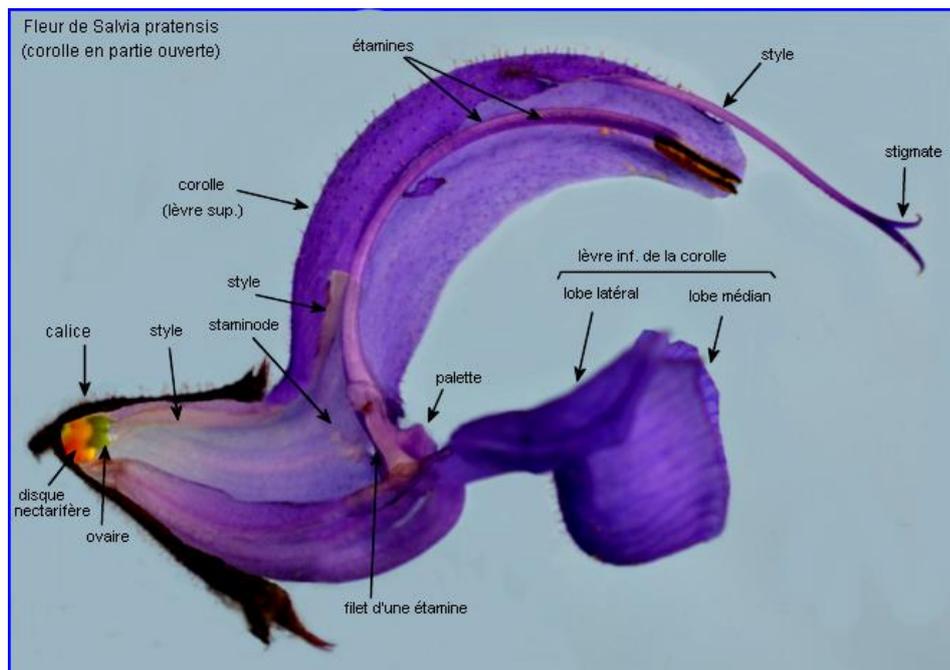
Famille: Lamiaceae

Genre: *Salvia*

### 1.3.2. Description morphologique de *Salvia L.*

Les espèces de *Salvia* sont des herbacées ou arbustes. Les herbacées peuvent être annuelles, bisannuelles ou vivaces selon l'espèce. La tige de 20 à 30 cm est très rameuse, feuilles opposées. Le calice de la fleur est bilabié, variable, à lèvre supérieure tridentée et l'inférieure bidentée. Corolle est bilabée également, elle comporte 2 étamines à filet court surmonté d'un long connectif à 2 branches inégales l'une portant une loge de l'anthere et l'autre, la plus courte, une écaille, ou bien terminée en pointe (Marc-Antoine-Louis, 1796 ; Quézel & Santa, 1963; Kabouche, 2005).

La caractéristique principale qui soutient ce genre est la modification particulière de ses étamines. Ces dernières disposent d'une modification d'un sac pollinique en forme de levier, caractéristique considérée comme une innovation clé pour le genre (Claßen-Bockhoff *et al.*, 2004b). Avec le calice et la morphologie de la corolle, les " types d'étamines " ont toujours été utilisés pour séparer le genre *Salvia* des autres genres (Harley *et al.*, 2004) (Figure 7).



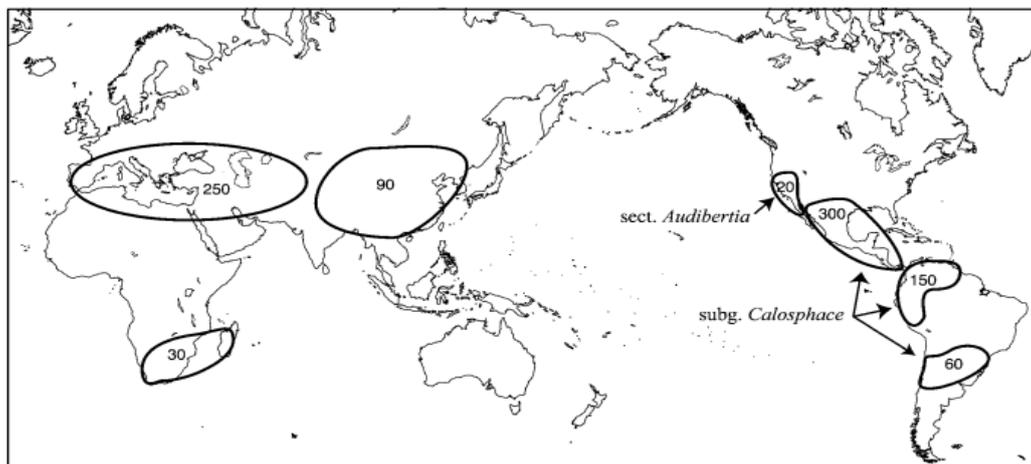
**Figure 7 :** Fleur de *Salvia pratensis* (corolle en partie ouvert)

[http://www.svtclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur\\_salvia.htm](http://www.svtclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur_salvia.htm)

### 1.3.3. La distribution du genre *Salvia* L.

#### a) Dans le monde

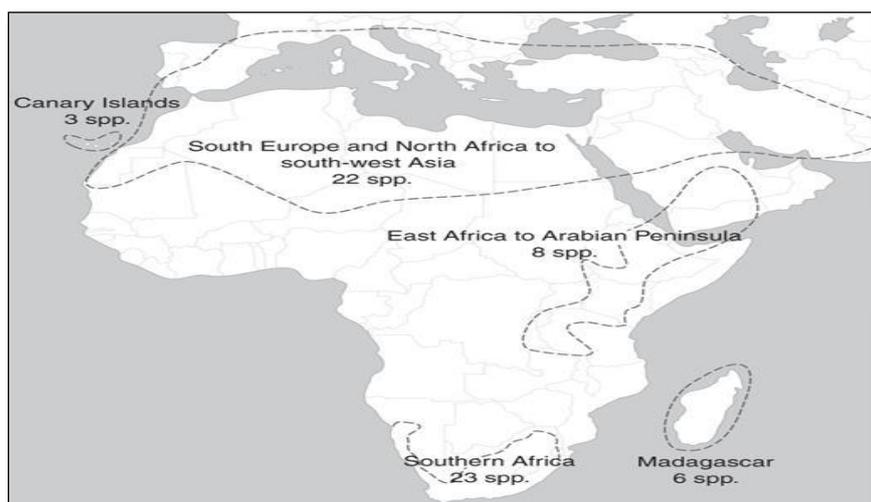
Le genre *Salvia* est le plus grand genre de la famille des Lamiaceae ; il comprend environ 1000 espèces présentant une gamme remarquable de variation. *Salvia* a subi des radiations d'espèces marquées dans trois régions du monde : 530 espèces en Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (Figure 8). distribués dans la plupart des régions du monde dont les forêts tropicales humides (Walker *et al.*, 2004).



**Figure 8 :** Centres de diversité pour le genre *Salvia* Le nombre approximatif d'espèces dans chaque région est indiqué à l'intérieur de chaque zone (WALKER *et al.*, 2004)

#### b) En l'Afrique

Il existe 62 espèces du genre *Salvia* en Afrique et les zones adjacentes (Figure 9) dont 25 sont des endémiques répartis en Afrique du Nord (Iles Canaries non incluses). Il y a 23 espèces en Algérie (Quézel & Santa, 1963), 23 espèces en Afrique australe, 6 espèces au Madagascar, et 8 espèces en Afrique de l'Est et dans la Péninsule arabique (Hedge, 1974; Santos et Fernández, 1986; Van Jaarsveld, 1999).



**Figure 9 :** Distribution de *Salvia* s.l. sur le continent africain d'après Hedge (1974) & Codd (1985) ; Santos & Fernández (1986) ; Thulin (1993, 2009) et Van Jaarsveld (1999). (1) Les Iles Canaries ; (2) de l'Europe du Sud/Afrique du Nord à l'Asie du Sud-Ouest ; (3) l'Afrique de l'Est/Péninsule arabique ; (4) l'Afrique australe et (5) Madagascar.

### 1.3.4. Histoire taxonomique de *Salvia*

Au début de XIX siècle, plusieurs tentatives ont été faites pour réaliser la classification du genre *Salvia*, avec l'introduction de différents sous-genre et sections (Bentham, 1832-36, 1848, 1876; Bunge, 1873).

Bentham (1832-36) proposa 14 sections basées sur la morphologie et la distribution. Mais plus tard en 1848, ce même auteur le réorganisa en 12 sections. Et en 1876, il a inclus *Salvia* dans la tribu des Monardeae et établit quatre sous-genres (*Salvia*, *Sclarea*, *Calosphace* et *Lonia*) pour classer les 12 sections en se basant sur la répartition géographique et la morphologie du calice, de la corolle et des étamines.

En 1873, Bunge a révisé les sections asiatiques du sud-ouest et fait une classification comparable à celle de Bentham. Briquet (1897) fournit la classification sous-générique et organisa les 500 espèces de *Salvia* en 17 sections et 8 sous-genres.

Hedge, en 1974, s'est référé aux sections de Bentham et a introduit des groupes d'espèces fondés sur la morphologie de l'étamine et la distribution. Il s'est concentré sur les disjonctions entre l'Afrique du nord et l'Asie du sud-ouest (Davis & Hedge, 1971 ; Hedge, 1974a). Le concept de groupe d'espèces de Hedge contribua une meilleure compréhension

des relations des *Salvia* de l'ancien monde et fournit la classification infragénérique la plus récente.

### 1.3.5. La phylogénétique de genre *Salvia* L.

Le genre *Salvia* a été établi sur la base de la structure de l'androcée en deux étamines et la formation du levier. Cependant, les données phylogénétiques indiquent que ce caractère floral et d'autres caractères morphologiques ont évolué en parallèle (Will & Claßen-Bockhoff, 2017) et ne constitue donc un caractère hérité d'un ancêtre commun.

Will & Claßen-Bockhoff (2017) ont utilisé les séquences nucléaires ITS et les séquences de chloroplastes *rpl32* pour étudier les relations phylogénétiques entre les espèces *Salvia* et celles de dix genres proches (*Dorystaechas*, *Meriandra*, *Perovskia*, *Rosmarinus*, *Zhumeria*) en échantillonnant dans différentes régions du monde (Tableau I).

**Tableau I :** Nombre d'espèces et d'accessions par marqueur. Le 'in-group' comprend *Salvia* s.l. et les cinq genres *Dorystaechas*, *Meriandra*, *Perovskia*, *Rosmarinus* et *Zhumeria* ; NW= New World ; OW = Old World ; le nombre d'espèces de *Salvia* séquencées pour la première fois entre parenthèses.

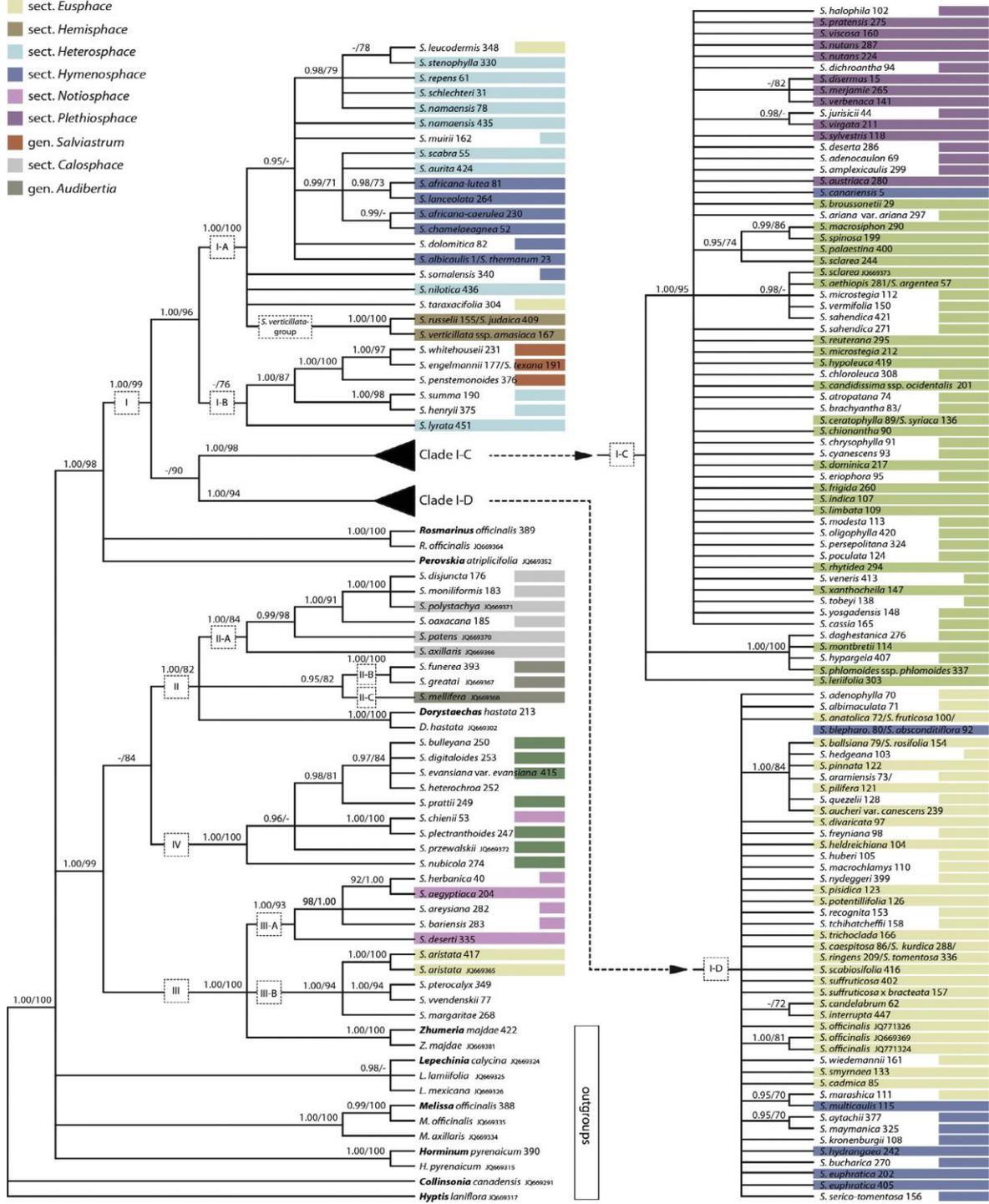
	<i>nrITS</i>			<i>rpl32-trnL</i>		
	Genera	Species	Accs.	Genera	Species [new]	Accs.
Outgroups	5	8	13	5	7	10
Ingroup	6	222	343	5	165	176
Non- <i>Salvia</i>	5	5	11	4	4	7
Former <i>Salvia</i>	1	217	[86] 332	1	161	[100] 169
NW	-	19	[4] 25	-	15	[5] 15
OW	-	198	[82] 307	-	146	[95] 154
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>230</b>	<b>356</b>	<b>10</b>	<b>172</b>	<b>186</b>

Les résultats de l'étude sont illustrés par des arbres phylogénétiques de maximum de vraisemblance, bayésienne et évalués par Bootstrap, montrant les principaux clades identifiés et les relations phylogénétiques entre les espèces du genre *Salvia* (Figure 10) et (Figure 11).



Classification sensu Bentham (1848)

- sect. *Aethiopsis*
- sect. *Drymosphace*
- sect. *Eusphace*
- sect. *Hemisphace*
- sect. *Heterosphace*
- sect. *Hymenosphace*
- sect. *Notiosphace*
- sect. *Plethiosphace*
- gen. *Salviastrum*
- sect. *Calosphace*
- gen. *Audibertia*



**Figure 11:** Arbre phylogénétique de *Salvia* s.l. basé sur des données rpl32-trnL. Les genres autres que *Salvia* sont mis en évidence (en gras) ; seules les valeurs de soutien P>70% (BS) et P>0,95 (PP) sont illustrées (Will & Claßen-Bockhoff, 2017).

Il ressort des résultats de Will et Claßen-Bockhoff (2017) que les espèces du genre *Salvia* ne constituent pas un groupe monophylétique à côté des autres groupes proches. Il constitue donc un groupe polyphylétique dans lequel la structure en deux étalines avec levier est apparu indépendamment plusieurs fois. Quatre lignées évolutives distinctes (Clade I-IV), de *Salvia* s.l ont été reconnus et ces clades ou lignées évolutives reflètent la répartition géographique : Clade IV (Asie de l'Est), Clade III (de l'Asie du Sud-Ouest à l'Afrique du Nord) et Clade II (Amérique). L'origine de *Salvia* s.s. (Clade I) est très probablement l'Asie du Sud-Ouest (Will & Claßen-Bockhoff, 2017).

# Chapitre II : Matériel et méthodes

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Choix des taxons à analyser

Pour réaliser notre analyse phylogénétique, nous avons choisi 29 espèces du genre *Salvia* dans le site web GenBank le 07 mai 2018 réparties dans le nord de l'Afrique et la région méditerranéenne dont 7 sont présentes en Algérie, identifiés sur la base de la Flore Quézel & Santa (1963).

Le genre *Melissa* (*M. officinalis*, *M. Axillaris*) est choisi comme Outgroup, Ces espèces appartiennent à un genre considéré comme le plus proche du genre *Salvia*. Il va nous servir à l'enracinement de nos arbres phylogénétiques. La liste complète des espèces est présentée dans le (Tableau II).

L'objet de cette étude est d'analyser les espèces de genre *Salvia* en se basant sur les espèces présentes dans le nord de l'Algérie (le bassin méditerranéen) avec les différentes méthodes d'analyses phylogénétique.

### 2.2. Choix des marqueurs

Les données moléculaires des espèces que nous avons utilisées sont les ITS (internal transcribed spacer) 1 et 2. ITS1, qui est situé entre les petits sous-unités (SSU) et les gènes rRNA 5.8S, et ITS2, qui sépare les gènes ARNr 5.8S et les gènes ARNr des grandes sous-unités (LSU). ITS2 est une région variable qui est relativement courte (200-300 pb de long) et facile à utiliser séquencé. Il a été démontré qu'il est utile dans la mesure du possible. Source de polymorphismes pour l'identification des plantes (Baldwin *et al*, 1995). Les régions ITS sont intercalées parmi les gènes de l'ARNr (Miao *et al.*, 2008) et subdivisées en deux régions (ITS1, ITS2). Les ITS sont utiles pour les analyses phylogénétiques au niveau du genre et de l'espèce (Coleman, 2003).

Toutes les séquences nucléotidiques utilisées dans notre étude et leur localité ont été récupérées dans le site web GenBank le 07 mai 2018 (Tableau II).

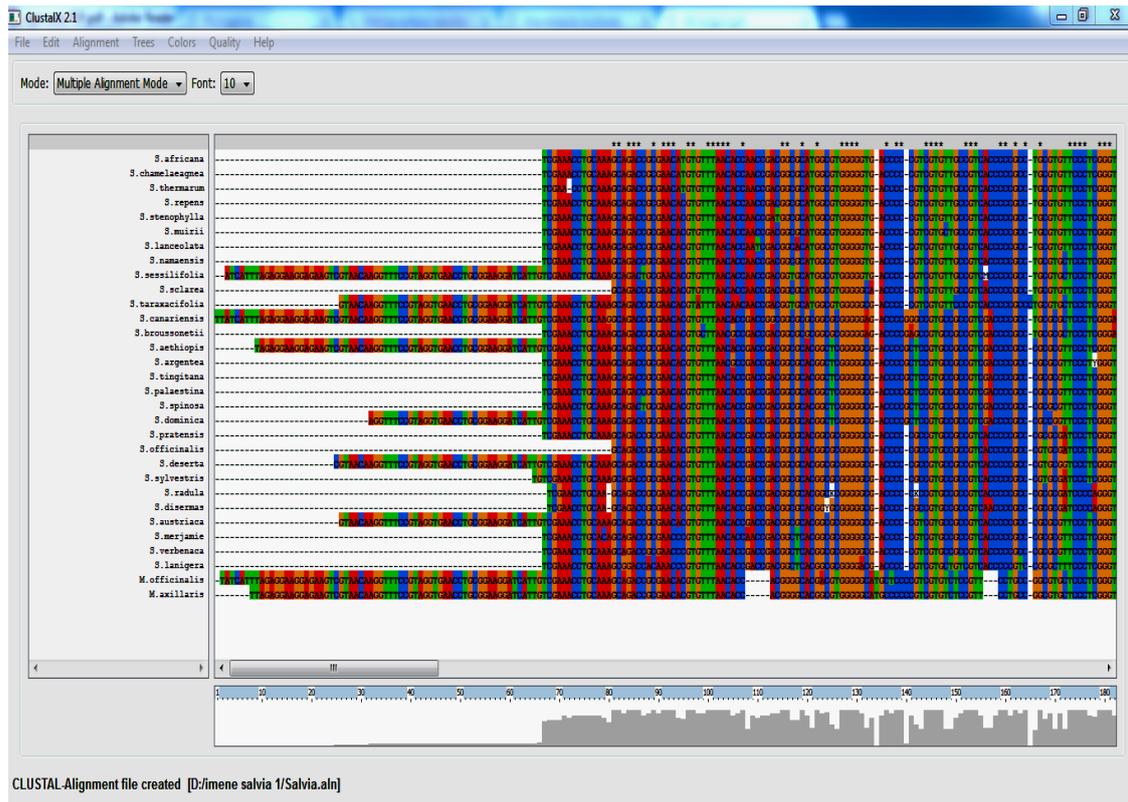
Une étude plus récente a montré qu'il s'agit d'une outil à double tranchant pour les comparaisons évolutives eucaryotes (Coleman, 2003).

**Tableau II:** L'origine géographique des espèces de *Salvia* utilisées dans notre étude et leurs numéros d'accès GenBank de leurs séquences ITS.

Taxon	Source	Localité	Numéro d'accès GenBank (ITS sequence)
<i>Salvia aethiopis</i>	Walker & Sytsma, (2007)	Arménie	DQ667272
<i>Salvia Africana</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Cap-Occidental (Afrique)	KJ584203
<i>Salvia argentea</i>	Will & Classen-Bockhoff,(2014)	Italie	KJ584164
<i>Salvia austriaca</i>	Walker & Sytsma,(2007)	allemand	DQ667323
<i>Salvia broussonetii</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	ile d'Espagne	KJ584226
<i>Salvia canariensis</i>	Walker & Sytsma, (2007)	Édimbourg	DQ667256
<i>Salvia chamelaeagnea</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du sud	KJ584212
<i>Salvia deserta</i>	Xu & Wang & Hu, (2005)	Afrique du l'Est	DQ132865
<i>Salvia disermas</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du sud	KJ584179
<i>Salvia dominica</i>	Omar & Saqer, (2014)	île de Chypre (méditerrané)	KJ864961
<i>Salvia lanceolata</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du sud	KJ584202
<i>Salvia lanigera</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du nord	KJ584185
<i>Salvia merjamie</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Yémen	KJ584184
<i>Salvia muirii</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique de sud	KJ584209
<i>Salvia namaensis</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Sud oust d'Afrique	KJ584200
<i>Salvia officinalis</i>	Li & Cui & Li, (2012)	Asie occidentale	JQ934138
<i>Salvia palaestina</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Anatolie	KJ584175
<i>Salvia pratensis</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Russie	KU563835
<i>Salvia radula</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du Sud	KJ584180
<i>Salvia repens</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Sud Est d'Afrique	KJ584232
<i>Salvia sclarea</i>	Li & Cui & Li, (2012)	Anatolie	JQ934158
<i>Salvia sessilifolia</i>	Walker & Sytsma, (2007)	Madagascar	DQ667282
<i>Salvia spinosa</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Égypte	KJ584173
<i>Salvia stenophylla</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du sud	KJ584238
<i>Salvia sylvestris</i>	Zhang & Wang & Li, (2007)	Anatolie	EU169485
<i>Salvia taraxacifolia</i>	Walker & Sytsma, (2007)	Maroc	DQ667209
<i>Salvia thermarum</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Afrique du sud	KJ584239
<i>Salvia tingitana</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Maroc	KJ584169
<i>Salvia verbenaca</i>	Will & Classen-Bockhoff, (2014)	Syrie	KJ584183
<i>Melissa officinalis</i>	Walker & Sytsma, (2007)	USA	DQ667291
<i>Melissa axillaris</i>	Drew & Sytsma, (2012)	Méditerranéenne	JQ669114

### 2.3. Alignement multiple des séquences

Les séquences nucléotidiques ont été alignées à l'aide du logiciel ClustalX version 2 (Larkin *et al.*, 2007). Ce logiciel a été utilisé pour l'alignement multiple des séquences homologues. L'alignement permettra de choisir les sites qui seront utilisés dans les analyses phylogénétiques (Figure 12).



**Figure 12 :** Capture d'écran de l'interface du logiciel ClustalX montrant l'alignement multiple de séquences des espèces *Salvia* et Outgroup

La plupart des méthodes de reconstruction phylogénétique ne prennent en compte que les substitutions, Et pour cela nous avons été obligés d'utiliser le logiciel MEGA version 5 (Tamura *et al.*, 2011) qui contient des installations pour évaluer l'ajustement des principaux modèles de substitutions de nucléotides (Figure 13).

Le logiciel MEGA nous a servi à calculer, en plus du modèle le plus adéquat à notre alignement, les valeurs estimées du biais de transition/transversion ( $R$ ) pour chaque modèle, les fréquences nucléotidiques ( $f$ ) et les taux de substitutions de base ( $r$ ) pour chaque paire de nucléotides.

L'analyse a porté sur 31 séquences de nucléotides des espèces *Salvia* et deux espèces Outgroup de genre *Melissa* où tous les sites comportant des lacunes et des données manquantes sont automatiquement éliminés. Le modèle évolutif le plus adéquat parmi les quatre proposés par le paquet Phylip 3.69.

Model	#Param	BIC	AICc	InL	Invariant	Gamma	R	Freq A	Freq T	Freq C	Freq G	A->T	A->C	A->G	T->A	T->C	T->G	C->A	C->T	C->G	G->A	G->T	G->C		
1	T92H	62	4855.2	4373.7	-2124.6	0.60641	n/a	2.766	0.1822	0.1822	0.3178	0.3178	0.02	0.04	0.24	0.02	0.24	0.04	0.02	0.14	0.04	0.14	0.02	0.04	
2	T92+G	62	4857.3	4375.8	-2125.7	n/a	0.34238	2.794	0.1822	0.1822	0.3178	0.3178	0.02	0.04	0.24	0.02	0.24	0.04	0.02	0.14	0.04	0.14	0.02	0.04	
3	T92+G+I	63	4864.4	4375.2	-2124.3	0.571892	6.04877	2.7803	0.1822	0.1822	0.3178	0.3178	0.02	0.04	0.24	0.02	0.24	0.04	0.02	0.14	0.04	0.14	0.02	0.04	
4	K2+H	61	4870	4396.3	-2136.9	0.605918	n/a	2.6843	0.25	0.25	0.25	0.25	0.03	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.03
5	K2+G	61	4871.3	4397.6	-2137.6	n/a	0.34883	2.7127	0.25	0.25	0.25	0.25	0.03	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.03	0.03
6	HKY+I	64	4874.6	4377.7	-2124.6	0.605966	n/a	2.7585	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.23	0.02	0.25	0.04	0.02	0.13	0.04	0.14	0.02	0.04	
7	TN93+H	65	4874.8	4370	-2119.8	0.591537	n/a	2.7545	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.16	0.02	0.32	0.04	0.02	0.17	0.04	0.1	0.02	0.04	
8	HKY+G	64	4876.5	4379.5	-2125.5	n/a	0.34236	2.7869	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.23	0.02	0.25	0.04	0.02	0.13	0.04	0.14	0.02	0.04	
9	K2+G+I	62	4878.9	4397.4	-2136.5	0.559787	4.67669	2.6992	0.25	0.25	0.25	0.25	0.03	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.03	0.18	0.03	0.18	0.03	0.03	
10	HKY+G+I	65	4883.6	4378.9	-2124.2	0.570983	5.91048	2.7731	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.23	0.02	0.25	0.04	0.02	0.13	0.04	0.14	0.02	0.04	
11	TN93+G+I	66	4883.8	4371.3	-2119.4	0.553681	5.54778	2.7773	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.16	0.02	0.32	0.04	0.02	0.17	0.04	0.1	0.02	0.04	
12	TN93+G	65	4887.1	4382.4	-2126	n/a	0.68201	2.714	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.16	0.02	0.32	0.04	0.02	0.17	0.04	0.1	0.02	0.04	
13	GTR+H	68	4887.9	4359.9	-2111.7	0.589612	n/a	2.6733	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.05	0.05	0.16	0.05	0.31	0.04	0.03	0.16	0.02	0.1	0.02	0.02	
14	GTR+G	68	4888.9	4360.9	-2112.2	n/a	0.35519	2.7211	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.05	0.05	0.15	0.05	0.31	0.04	0.03	0.17	0.02	0.09	0.02	0.02	
15	GTR+G+I	69	4898.7	4362.9	-2112.2	0	0.3552	2.721	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.05	0.05	0.15	0.05	0.31	0.04	0.03	0.17	0.02	0.09	0.02	0.02	
16	T92	61	4936.3	4462.6	-2170.1	n/a	n/a	2.5232	0.1822	0.1822	0.3178	0.3178	0.02	0.04	0.23	0.02	0.23	0.04	0.02	0.13	0.04	0.13	0.02	0.04	
17	K2	60	4946.6	4480.7	-2180.1	n/a	n/a	2.5138	0.25	0.25	0.25	0.25	0.04	0.04	0.18	0.04	0.18	0.04	0.04	0.18	0.04	0.18	0.04	0.04	0.04
18	TN93	64	4951	4454	-2162.8	n/a	n/a	2.5302	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.16	0.03	0.31	0.04	0.03	0.17	0.04	0.1	0.02	0.04	
19	HKY	63	4955.5	4466.3	-2169.9	n/a	n/a	2.5236	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.02	0.04	0.22	0.03	0.24	0.04	0.03	0.13	0.04	0.14	0.02	0.04	
20	GTR	67	4968.2	4448	-2156.7	n/a	n/a	2.5286	0.1871	0.1772	0.3311	0.3045	0.04	0.05	0.15	0.05	0.3	0.04	0.03	0.16	0.02	0.09	0.02	0.02	
21	K2+G+I	61	5016.6	4542.9	-2210.2	0.566861	7.24316	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
22	JC+G	60	5017.3	4551.4	-2215.5	n/a	0.68201	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
23	JC+H	60	5056.8	4590.9	-2235.2	0.211846	n/a	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
24	JC	59	5079.2	4621	-2251.3	n/a	n/a	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08

**Figure 13 :** Capture d'écran de l'interface du fichier Excel montrant les 24 modèles d'évolution obtenu par le logiciel MEGA pour l'alignement multiple des ITS des espèces de *Salvia* et Outgroup.

## 2.4. Construction des arbres phylogénétiques

Il existe plusieurs méthodes pour construire un arbre phylogénétique, parmi ces méthodes nous en avons utilisées quatre : deux méthodes de distance, UPGMA et Neighbor-joining, la méthode de parcimonie et la méthode de maximum de vraisemblance. Toutes les quatre ont été évaluées par le test bootstrap.

Tous les programmes utilisés dans ces méthodes sont disponibles dans le logiciel complet d'analyse phylogénétique Phylip version 3.69 (Felsenstein, 2009).

### 2.4.1. La Méthodes de la distance

Pour calculer les mesures de distance par paire entre toutes les séquences alignées nous avons utilisé le programme DNAdist.exe. Et nous avons modifié ses paramètres en choisissant le deuxième modèle d'évolution Kimura à 2 paramètres, qui est le plus classée parmi les 24 modèles d'évolution (K2+ I) obtenu par le logiciel MEGA présenté dans (Tableau III).

Ensuite nous avons mentionné la valeur du rapport (transition/transversion)  $R=2.68$  que nous avons déjà obtenu par logiciel MEGA (Tableau III) pour enfin lancer le calcul des distances évolutives. Nous avons ensuite exécuté le programme Neighbor.exe et choisit les deux paramètres UPGMA et Neighbor-joining.

### 2.4.2 La Méthodes de parcimonie

La construction de l'arbre phylogénétique selon la méthode de parcimonie a été réalisée à l'aide de programme DNAPars.exe. Nous l'avons utilisée pour rechercher l'arbre le plus parcimonieux par un algorithme heuristique, cette analyse peut produire de nombreux arbres tous aussi parcimonieux. Après l'analyse de programme DNAPars.exe nous avons obtenu dans notre cas quatre arbres plus parcimonieux, ce qui nous a obligés à utiliser un deuxième logiciel CONSENSE.exe pour résumer ces arbres et construire un arbre consensus.

### 2.4.3. La méthode de maximum de vraisemblance

La méthode de maximum de vraisemblance a été réalisée à l'aide de programme DNAML.exe, qui sert à déterminer en termes de probabilités l'ordre des branchements et la longueur des branches d'un arbre sous un modèle évolutif donné.

Nous avons lancé le programme DNAML.exe et rentrer la valeur de (transition /transversion)  $R=2.68$  du modèle évolutif.

Cette méthode construit un arbre en partant de l'alignement multiple de ClustalX sans passer par les matrices de distances.

### 2.4.4. Fiabilité et visualisation des arbres

La fiabilité d'un arbre produit a été réalisée à l'aide de logiciel SEQBOOT.exe à partir de l'alignement multiple de ClustalX.

Pour la génération de bootstrap on utilise le programme SEQBOOT.exe qui nous sert à créer un nombre de 1000 répliques aléatoires du lot de données de l'alignement multiple.

1000 matrices de distances sont calculées pour les 1000 alignements aléatoires avec les mêmes options à l'aide de programme DNADIST.exe. et ensuite nous avons exécuté le programme NEIGHBOR.exe pour calculer 1000 arbres par les méthodes UPGMA et Neighbor-joining. Les 1000 alignements ont aussi été utilisés pour inférer 1000 arbres par DNAPars.exe et DNAML.exe. Les arbres consensus des 1000 arbres inférés par chacune des 4 méthodes ont produit en utilisant le programme CONSENSE.exe. Sur les arbres consensus seront précisées les valeurs bootstrap pour tous les nœuds internes.

Enfin, les topologies des arbres obtenues par différentes méthodes ont été visualisées et modifiées avec le logiciel TreeView (Win32, version 1.6.6, 2001).

# Chapitre III : Résultats et Discussions

### 3. Résultats

Les quatre méthodes d'analyse phylogénétique qui sont la méthode de Distances (Neighbor-Joining et UPGMA), de la Parcimonie et de Maximum de Vraisemblance nous ont donné quatre arbres phylogénétiques.

La matrice des distances calculée pour les 31 séquences de nucléotides est représentée dans Tableau III, avec un total de 566 positions de l'ensemble de données finales.

Deux arbres sont inférés à partir de cette matrice en se basant sur la valeur de Ration  $R=2.68$  selon la méthode UPGMA et Neighbor-Joining qui sont présentés dans les Figures 14 et 15 respectivement.

La méthode de parcimonie a donné 4 arbres les plus parcimonieux, L'arbre consensus pour ces arbres est présenté dans la Figure 16.

La méthode maximum de vraisemblance a donné un arbre directement présenté dans la Figure 17.

Nos arbres sont présentés en comparant avec la classification de Bentham 1848 et les phylogénies de Will & Claßen-Bockhoff, (2017) en précisant pour chaque espèce la section selon Bentham et le sous-clade selon Will & Claßen-Bockhoff, (2017) :

**Sous clade I-A :** comprend toutes les espèces des Section (*Heterosphace*, et *Hymenosphace*) et les espèces (*S. sessilifolia*, *S. taraxacifolia*) de la Section (*Eusphace*).

**Sous clade I-C :** représente toutes les espèces des Sect. *Aethiopsis* et Sect. *Plethiosphace*, avec *S. canariensis* de la Sect. *Hymenosphace*.

**Sous clade I-D :** représente uniquement une seule espèce *S. officinalis* de la Sect. *Eusphace*.

**Outgroup :** représenté par deux espèces du genre *Melissa* (*M. officinalis* et *M. axillaris*) qui a servi à l'enracinement de nos arbres phylogénétiques.

**Les espèces Algériennes :** au nombre de 7 espèces *S. aethiopsis*, *S. tingitata*, *S. officinalis*, *S. argentea*, *S. sclarea*, *S. verbenaca*, *S. sylvestris*. Elles ne forment pas un groupe monophylétique sur nos arbres (Figures 14-17).



Les résultats obtenus par la méthode de Neighbor-joining concernant les espèces du genre *Salvia* présentes en Algérie et leurs degrés de rapprochement sont comme suit :

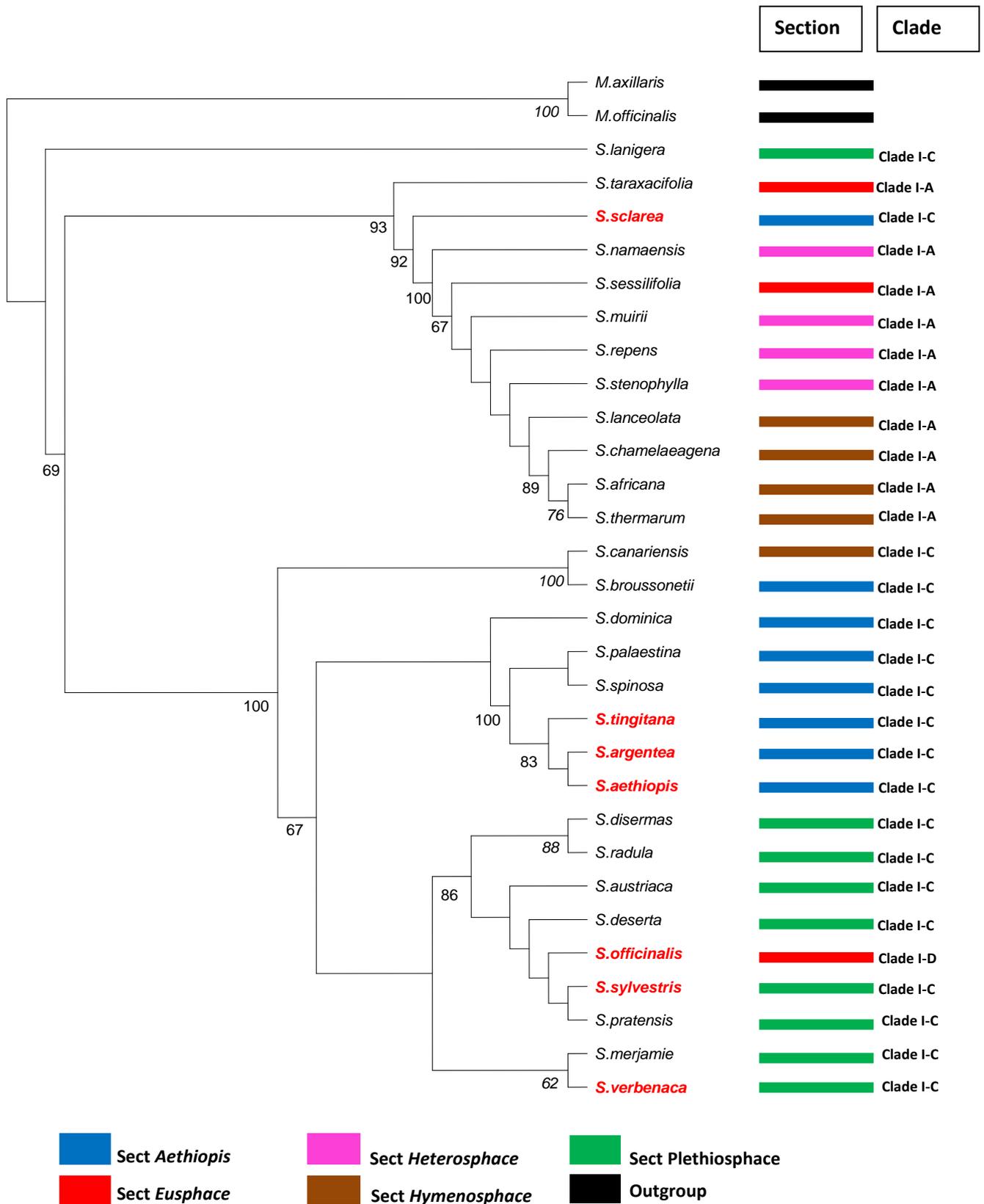
Les espèces de *S. officinalis*, *S. radula*, *S. disermas* forment un groupe monophylétique avec une valeur de 63% BS (Figure 14) et que l'espèce *S. officinalis* est paraphylétique au reste des espèces. Il faut noter que *S. officinalis* appartient au clade I-D de la Sect. *Eusphace* et les deux autres espèces *S. radula* et *S. disermas*, elles, appartiennent au Clade I-C de la Sect. *Plethiosphace*.

Les deux espèces *S. sylvestris* et *S. deserta* sont des espèces sœurs avec 58% BS (Figure 14) et constituent un groupe monophylétique. Ces espèces appartiennent au même sous-clade I-C et de Sect. *Plethiosphace*.

Les deux espèces *S. verbenaca* et *S. merjamies* rassemblent avec 70% BS sur la base des données ITS (Figure 14) et forment un groupe monophylétique. Ces deux espèces appartiennent au même Clade I-C et même Section *Plethiosphace*.

Les espèces de *S. tingitana*, *S. aethiopsis*, *S. argentea* constituent un groupe monophylétique (56% BS ; Figure 14) et que les deux espèces de *S. tingitana* et *S. aethiopsis*, forment un groupe paraphylétique. Toutes ces espèces appartiennent au même sous-clade I-C et même Section *Aethiopsis*.

Les résultats de l'arbre inféré par la méthode de Neighbor-joining basé sur les données ITS ont révélé que le taxon *S. sclarea* partage un ancêtre commun très éloigné avec le reste des espèces algériennes du genre *Salvia* même si elle est de la même section *aethiopsis* avec *S. tingitana*, *S. aethiopsis*, *S. argentea*.



**Figure 15 :** Phénogramme UPGMA basé sur les données ITS reconstruisant les relations phylogénétiques des espèces de genre *Salvia*. Les chiffres sur l'arbre indiquent les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham (1848) et Will & Claßen-Bockhoff 2017) respectivement.



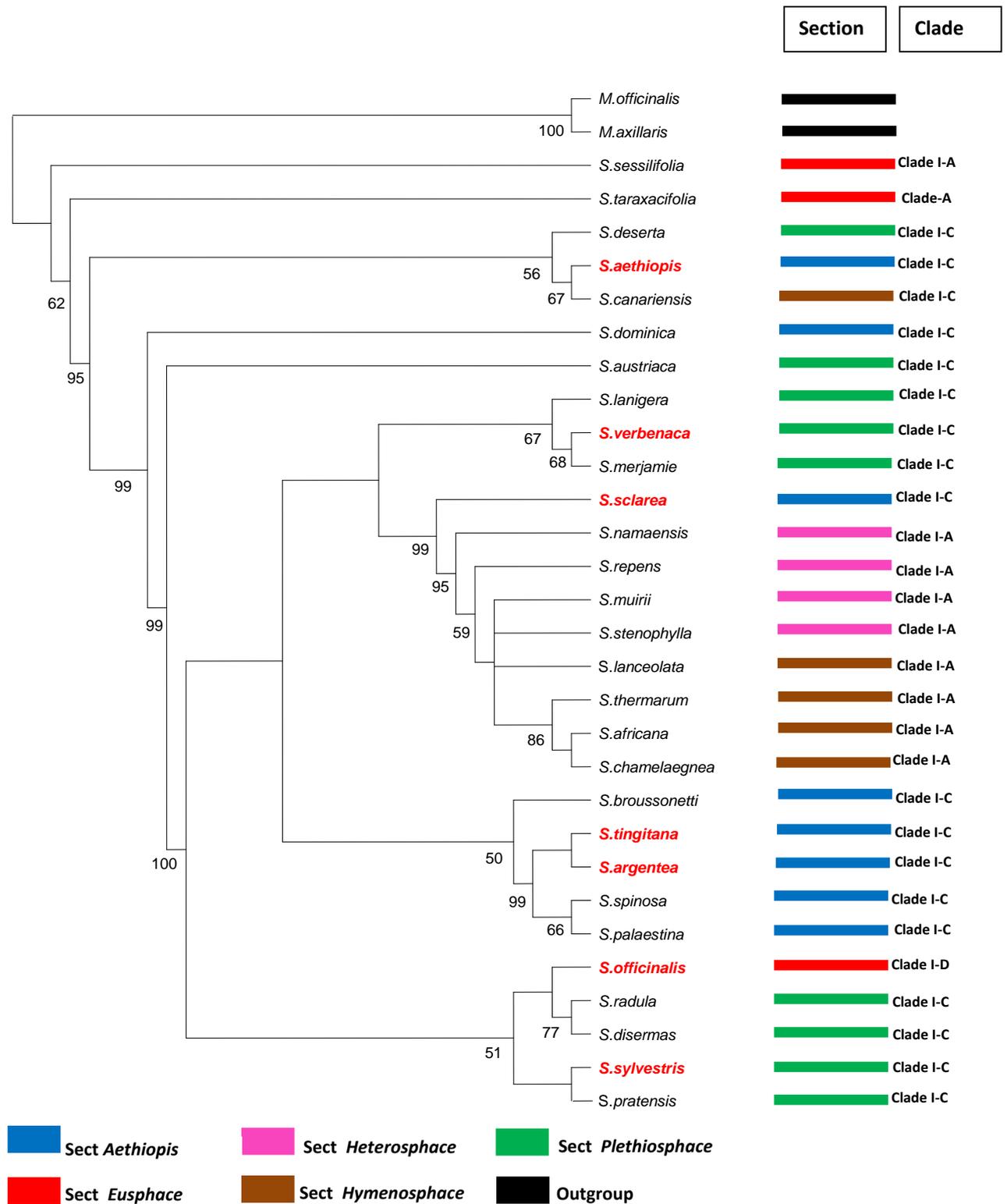
Les résultats obtenus par la méthode d'UPGMA concernant les espèces de genre *Salvia* présentes en Algérie et leurs degrés de rapprochement sont comme suit :

Les deux espèces *S. verbenaca* et *S. merjamie* se rassemblent avec 62% BS sur la base des données ITS (Figure 15) et forment un groupe monophylétique. Ces deux espèces appartiennent au même Clade I-C et même Sect. *Plethiosphace*.

Les espèces de *S. sylevestris*, *S. pratensis*, *S. officinalis* forment un groupe monophylétique avec une valeur BS <50% BS (Figure 15). L'espèce *S. officinalis* est paraphylétique au reste des espèces. *S. officinalis*, elle appartient au clade I-D et Sect. *Eusphace* et les deux autres espèces, *S. sylevestris* et *S. pratensis*, appartiennent au clade I-C et sect. *Plethiosphace*.

Les espèces *S. tingitana*, *S. argentea* et *S. aethiopis* constituent un groupe monophylétique avec 83% BS (Figure 15) et les deux espèces *S. tingitana* et *S. argentea* forment un groupe paraphylétique. Toutes ces espèces appartiennent au même sous clade I-C et même Sect. *Aethiopis*.

Les résultats de l'arbre inféré par la méthode d'UPGMA basé sur les données ITS ont révélé que le taxon *S. sclarea* partage un ancêtre commun très éloigné avec le reste des espèces algériennes du genre *Salvia* même si elle est de la même section *aethiopis* avec *S. tingitana*, *S. aethiopis*, *S. argentea*.



**Figure 16 :** Arbre consensus le plus parcimonieux basé sur des ITS reconstruisant les relations phylogénétiques de 29 espèces de genre *Salvia* et Outgroup. Les nombres sur les branches indiquent les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham (1848) et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement.

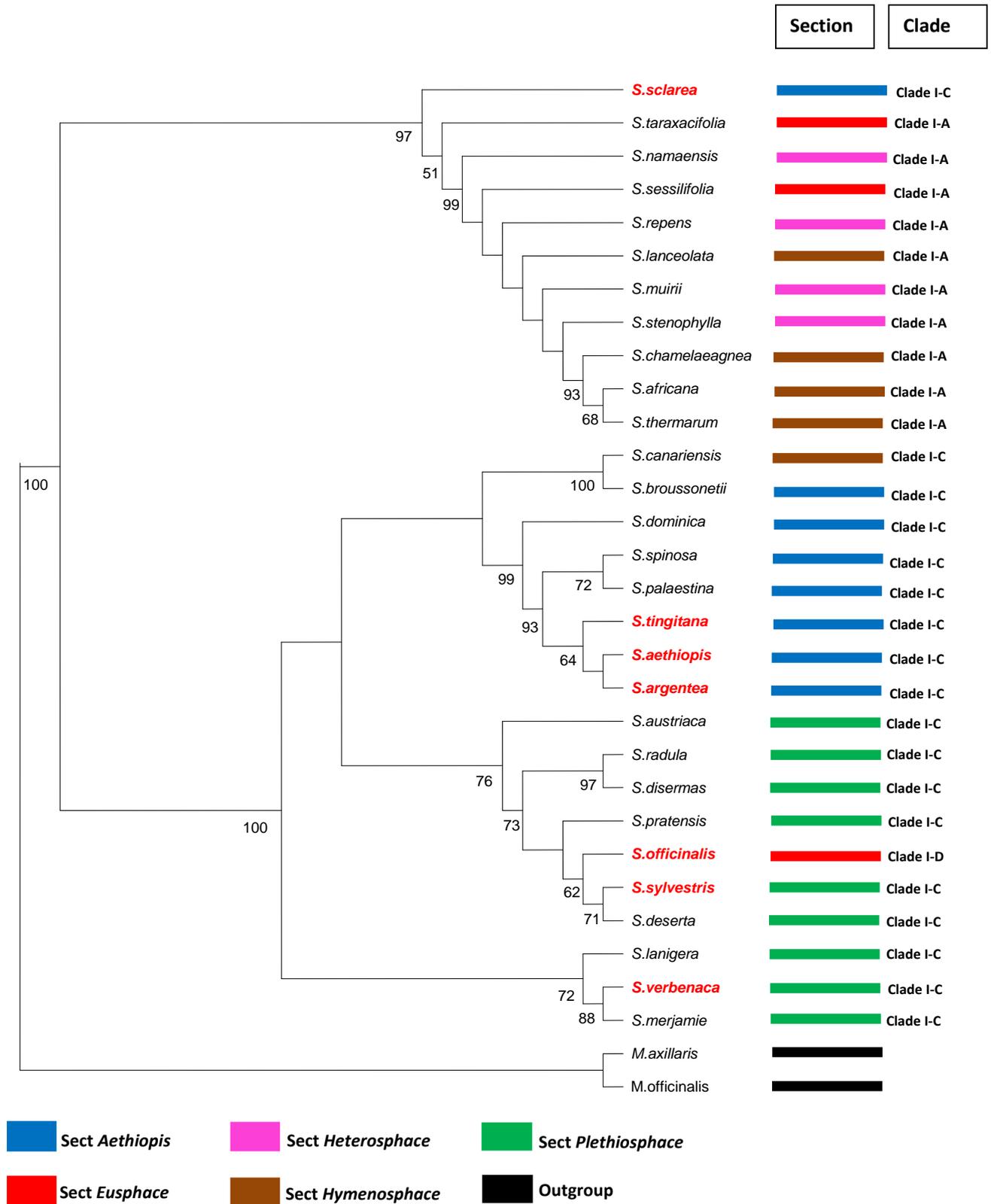
Les résultats obtenus par la méthode de Parcimonie concernant les espèces de genre *Salvia* présentes en Algérie et leurs degrés de rapprochement sont comme suit :

Les espèces *S. officinalis*, *S. radula*, *S. disermas* forment un groupe monophylétique avec une valeur BS <50% (Figure 16) et l'espèce *S. officinalis* est paraphylétique au reste des espèces. L'espèce *S. officinalis* appartient au clade I-D de la Sect. *Eusphace* et les deux autres espèces *S. radula* et *S. disermas* appartiennent au Clade I-C de la Sect. *Plethiosphace*.

Les deux espèces *S. verbenaca* et *S. merjamie* se rassemblent avec un BS de 68% (Figure 16) sur la base des données ITS et forment un group monophylétique. Ces deux espèces appartiennent au même Clade I-C et sont de même Sect. *Plethiosphace*.

Les espèces *S. deserta*, *S. aethiopsis* et *S. canariensis* forment un groupe monophylétique avec une valeur BS de 56% (Figure 16). Les deux espèces *S. aethiopsis* et *S. canariensis* forment un autre groupe monophylétique avec une valeur BS de 67% (Figure 16). Les deux espèces *S. deserta* et *S. aethiopsis* appartiennent au clade I-C et des sections (sect. *Plethiosphace* et sect. *aethiopsis*) ; *S. canariensis* appartient au clade I-C et la section *Hymenosphace*.

Les résultats de l'arbre inféré par la méthode de parcimonie basé sur les données ITS ont révélé que le taxon *S. sclarea* partage un ancêtre commun très éloigné avec le reste des espèces algériennes du genre *Salvia* même si elle est de la même section *aethiopsis* avec *S. tingitana*, *S. aethiopsis*, *S. argentea*.



**Figure 17 :** Arbre Maximum de vraisemblance basé sur des séquences ITS, reconstruisant les relations phylogénétiques de 29 espèces de genre *Salvia*. Les nombres sur les branches indiquant les valeurs bootstrap (%) > 50 pour 1000 répliques. Les sections et les clades sont selon Bentham (1848) et Will & Claßen-Bockhoff (2017) respectivement.

Les résultats obtenus par la méthode du maximum de vraisemblance concernant les espèces de genre *Salvia* présentes en Algérie et leurs degrés de rapprochement sont comme suit :

Les deux espèces *S. verbenaca* et *S. merjamie* se rassemblent avec un BS de 88% B (Figure 17) sur la base des données ITS et forment un groupe monophylétique. Ces deux espèces appartiennent au Clade I-C et Sect. *Plethiosphace*.

Les espèces *S. officinalis*, *S. sylvestris* et *S. deserta* forment un groupe monophylétique avec une valeur BS de 62% (Figure 17). Les deux espèces *S. officinalis* et *S. sylvestris* forment un groupe paraphylétique. Les deux espèces *S. sylvestris* et *S. deserta* appartiennent au clade I-C et section *Plethiosphace*. *S. officinalis*, elle, appartient au clade I-D et Sect. *Eusphac*).

Les espèces *S. tingitana*, *S. aethiopsis*, *S. argentea* constituent un groupe monophylétique avec une valeur BS de 64% (Figure 17). Les deux espèces *S. tingitana* et *S. aethiopsis* forment un groupe paraphylétique. Toutes ces espèces appartiennent au clade I-C et Sect. *Aethiopsis*.

Les résultats de l'arbre inféré par la méthode du maximum de vraisemblance basé sur les données ITS ont révélé que le taxon *S. sclarea* partage un ancêtre commun très éloigné avec le reste des espèces algériennes du genre *Salvia* même si elle est de la même section *aethiopsis* avec *S. tingitana*, *S. aethiopsis*, *S. argentea*.

#### 4/Discussion

D'après les résultats que nous avons obtenus sous forme d'arbres phylogénétiques construits par les 4 différentes méthodes, nous pouvons constater que presque les mêmes regroupements d'espèces apparaissent dans les arbres Neighbor-joining (**Figure 14**), UPGMA (**Figure 15**) et Maximum de Vraisemblance (**Figure 17**), à l'exception de l'arbre de parcimonie qui présente quelques différences.

Les espèces de *M. axillaris* et *M. officinalis* du genre *Melissa* ont formé un groupe monophylétique à part dans tous les arbres construits, ce qui confirme notre bon choix comme de ces espèces comme Outgroup pour enraciner nos arbres.

Les espèces de *S. verbenaca* et *S. merjamie* de la Section *Plethiosphaces* se sont regroupées pour constituer un groupe monophylétique avec un BS > 60% dans tous les arbres construits (Figures 14-17). Ces résultats sont en accord avec les travaux de Will & Claßen-Bockhoff (2017). Cette relation est confirmée dans la classification de Hedge (1974) car il a regroupé ces espèces dans le « groupe T » en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques et leur localisation géographique.

Nous avons trouvé que les espèces *S. aethiopsis*, *S. tingitana*, *S. argentea*, de la Section *aethiopsis* se sont rassemblées pour former un groupe monophylétique avec un BS de 64% (Figure 17). Dans toutes les méthodes utilisées, à l'exception de la méthode de parcimonie qui rassemble juste les deux espèces *S. tingitana* et *S. argentea*, quant à *S. aethiopsis*, elle est séparée avec *S. deserta* et *S. canariensis* pour constituer un groupe très éloigné des deux premières (Figures 14-17). En comparaison avec les résultats de Will & Claßen-Bockhoff (2017) et ceux de Drew *et al.* (2017), il est confirmé que ces trois espèces sont monophylétiques et partagent un même ancêtre commun. Cette relation est confirmée aussi dans la classification de Hedge (1974) qui regroupe ces espèces dans le « groupe R » en se basant sur les caractéristiques morphologiques et la distribution géographique.

L'espèce *S. sclarea* du Sous-Clade I-C s'est toujours rapprochée des espèces du sous-Clade I-A dans tous les arbres que nous avons obtenus, ce qui est en contradiction avec les résultats de Will & Claßen-Bockhoff (2017). La séquence utilisée est à vérifier pour voir s'il n'y a pas de confusion.

Les espèces *S. radula* et *S. disermas* se sont rassemblées dans tous les arbres phylogénétiques que nous avons obtenus utilisée avec un BS de 97% pour celui du maximum de vraisemblance (Figure 17). Cela suggère un lien de parenté étroit entre ces deux espèces. Nos résultats sont en accord Will & Claßen-Bockhoff (2017). Cette relation est confirmée aussi dans la classification de Hedge (1974) qui a regroupé ces deux espèces dans le « groupe Q » en ce basant sur les caractéristiques morphologiques et la distribution géographique.

Les deux espèces *S. broussoneti* et *S. canariensis* sont rassemblées dans tous les arbres phylogénétiques avec un BS de 100% (Figure 17) à l'exception de la méthode de parcimonie (Figure 16). Cela suggère un lien de parenté très étroit entre ces deux espèces. Ces résultats sont aussi identiques à ceux de Will & Claßen-Bockhoff (2017) et Drew *et al.* (2017).

Les deux espèces *S. spinosa* et *S. palestina* de sect. *aethiopsis* sont rassemblées dans tous les arbres phylogénétiques avec un BS > 60% (Figures 14-17). Cela suggère que ces deux espèces sont sœurs. Ces résultats sont aussi en accord avec Will & Claßen-Bockhoff (2017) et Drew *et al.* (2017). Cette relation est également en accord avec la classification de Hedge (1974) qui a regroupé ces espèces dans le « groupe Q » en se basant sur les caractéristiques morphologiques et la distribution géographique.

## 4 .Conclusion

L'utilisation des différentes méthodes de reconstruction phylogénétique présente des avantages et inconvénients. Grâce à la fiabilité de la méthode du maximum de vraisemblance sur les séquences d'ADN, cette dernière a été favorisée dans notre cas pour tenter de comprendre les relations phylogénétiques entre les espèces du genre *Salvia* algériennes avec leurs congénères repartis sur le continent africain. Cette Méthode donne aussi des meilleurs résultats que les méthodes de distances et de la parcimonie, néanmoins elle possède un temps de calcul plus élevé que les autres méthodes.

Suite à cette présente étude, nous avons pu étudier la phylogénétique de genre *Salvia* dans le Nord de l'Algérie. Les résultats de cette étude phylogénétique montrent l'ensemble des espèces algériennes de genre *Salvia* à savoir ; *S. sclarea*, *S. tingitana*, *S. argentea*, *S. aethiopsis*, *S. verbenaca*, *S. officinalis*, *S. sylvestriset*, qu'elles sont clairement polyphylétiques car elles sont issues de différents ancêtres.

Malgré les progrès technologiques récents des programmes informatiques phylogénétiques et le nombre de séquences disponibles dans les bases de données scientifiques publiques « GenBank », nous avons observé une lacune dans les données génétiques des espèces algériennes, ce qui incite à laisser ça comme perspective pour les prochaines études pour un éventuel séquençage qui se fera sur un large nombre d'espèces.

## Références bibliographiques

- Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M., Wojciechowski M.F., Campbell C.S. & Donoghue M.J. (1995).** The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. *Ann Mo Bot Gard* 82: 247.
- Bentham G. (1848).** Labiatae. In: De Candolle, A.P. (Ed.), *Prodromus*, vol. 12. Treuttel & Würtz, Paris, pp. 262–358.
- Bentham G. (1876).** Labiatae. In: Bentham, G., Hooker, J.D. (Eds.), *Gen. Pl.* 2. Reeve & Co., London, pp. 1160–1196.
- Bentham G. (1832-1836).** *Salvia*. In: Bentham, G. (Ed.), *Labiatae*. Gen. J. Ridgway & Sons Picadilli, London, pp. 190–312.
- Briquet J. (1897).** Labiatae. In: Engler, H.G.A., Prantl, K.A.E. (Eds.), *Nat. Pflanzenfam.*
- Bunge A. (1873).** Labiatae Persicae. *Mem. Acad. Sci. Petersb. Ser. 7* (21), 40–53.
- Campbell C.S., Donoghue M.J. (1995).** The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on Angiosperm phylogeny. *Ann Mo Bot Gard* 82: 247.
- Chase M.W., Salamin N., Wilkinson M., Dunwell J.M., Kesanakurthi R.P., Haidar N. & Savolainen V. (2005).** Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 360: 1889-1895.
- Choudhuri S. (2014).** *Bioinformatics for beginners: genes, genomes, molecular evolution, databases and analytical tools.* Elsevier. P238.
- Claßen-Bockhoff R., Speck T., Tweraser E., Wester., Thimm S. & Reith M. (2004 b).** The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): a key innovation for adaptive radiation? *Org. Divers. Evol.* 4, 189–205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ode.2004.01.004>.
- Codd L.E. (1985).** *Salvia*. In: Leistner O.A., editor. *Flora of Southern Africa. Lamiaceae.* Pretoria: Botanical Research Institute, Department of Agriculture and Water Supply; pp. 79–101.
- Coleman A.W. (2003).** ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. *Trends Genet* 19: 370-375.

- Corpet F. (1988).** Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic acids research*, 16(22), 10881-10890.
- Couplan F. (2012).** Les plantes et leurs noms: histoires insolites. Editions Quae.
- Darlu P., & Tassy P. (1993).** La reconstruction phylogénétique. Concepts et méthodes. Paris, France.
- Davis P. H., & Hedge I. C. (1971).** Floristic links between NW Africa and SW Asia. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 43-57.
- Deysson G. (1979).** Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II.
- Drew B. T., González-Gallegos J. G., Xiang C. L., Kriebel R., Drummond C. P., Walker J. B., & Sytsma K. J. (2017).** *Salvia* united: The greatest good for the greatest number. *Taxon*, 66(1), 133-145.
- Edger P. P., Tang M., Bird K. A., Mayfield D. R., Conant G., Mummenhoff K., & Pires, J.C. (2014).** Secondary structure analyses of the nuclear rRNA internal transcribed spacers and assessment of its phylogenetic utility across the Brassicaceae (Mustards). *PLoS One*, 9(7), e101341.
- Efron B., Halloran E. & Holmes S. (1996).** Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees . National Academy of Sciences Etas-Unis .PMID : 8917608  
Engelmann, Leipzig, pp. 182–286.
- Felsenstein J. (2009).** PHYLIP Phylogeny Inference Package. Version 3.69. Department of Genome Sciences and Department of biology *University of Washington*. Box 355065 Seattle, WA 98195-5065 USA.
- Felsenstein J. (1981).** Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.*, 17, 368-376.
- Felsenstein, J. (1985).** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.

- Fitch W. M. & Margoliash E. (1967).** A method for estimating the number of invariant amino acid coding positions in a gene using cytochrome c as a model case. *Biochemical Genetics*, 1(1), 65-71.
- Grieve M. (1984).** *A Modern Herbal*. Savvas Publishing. ISBN unknown.
- Guindon S. (2003).** Méthode et algorithmes pour l'approche statistique en phylogénie, Thèse de Doctorat en biologie. Dir. Thèse : O Gascuel. Univ. Montpellier II, 9-50. 155p
- Haeckel E. (1866).** *bd. Allgemeine entwicklungsgeschichte der organismen* (Vol. 2). G. Reimer
- Harley R. M. (2003).** Validation of the Name Lamioideae (Labiatae). *Kew Bull.* 58(3):765-766.
- Harley R.M., Atkins S., Budantsev A.L., Cantino P.D., Conn B.J., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales R., Paton A.J., Ryding O. & Upson T., (2004).** Labiatae. In: Kadereit, J.W. (Ed.), *Families and Genera of Vascular Plants*, vol. VII. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 167–275.
- Hedge IC. (1974).** A revision of *Salvia* in Africa including Madagascar and the Canary Islands. *Notes from the Royal Botanical Garden, Edinburgh*; 33:1–121.
- Hennig W. (1966).** *Phylogenetic systematic*. University of Illinois Press, Urbana
- Horiike T. (2016).** An introduction to molecular phylogenetic analysis. *Reviews in Agricultural Science*, 4, 36-45.
- Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A. & Stevens P. (2002).** *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*. De Boeck Supérieur. p466.
- Kabouche A. (2005).** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine.389p.
- Kimura M. (1980).** A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences.*J.Mol.Evol.* 16, 111-120

- Kress W.J. & Erickson D.L. (2007).** A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. *PLoS one* 2(6): 1-10.
- Kurtzman C.P., Boekhout T., Fell, J.W. (2010).** The Yeasts, A Taxonomic Study. 5th Edition. Copyright Elsevier B.V. All rights reserved. Elsevier science: 2354p
- Lahaye R, van der Bank M, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, Gigot G, Maurin O, Duthoit S., Barraclough TG. & Savolainen V. (2008).** DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 2923.
- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J. & Higgins D.G. (2007).** Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23:2947-2948.
- Marc-Antoine-Louis Claret DE LA TOURRETTE ; Rozier, F CHEZ BRUYSET A. C. (1796).** Démonstrations élémentaires de botanique, Tom1. p498.
- Miao M., Warren A., Song W., Wang S., Shang H. & Chen Z. (2008).** Analysis of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) region of Scuticociliates and related taxon (Ciliophora, Oligohymenophorea) to infer their evolution and phylogeny. *Protist* 159: 519-533.
- Mokkadem A. (1999).** Cause de dégradation des plantes médicinales aromatiques d'Algérie. *Vie et Nature*, 7, 24–26.
- Neyman J. (1971).** Molecular studies of evolution: a source of novel statistical problems. In *Statistical decision theory and related topics* Gupta, S.S et Yackel, J. (eds.), Academic Press, New York, pp. 1-17
- Nouioua W. (2012).** Biodiversité et Ressources Phylogénétiques d'un écosystème forestier « Paeonia mascula (L.) Mill. ». Magister, BVE.UNIV.F.ABBES de Sétif. P65
- Perrière G. & Brochier-Armanet C. (2010).** Concepts et méthodes en phylogénie moléculaire. Springer-Verlag France : p250
- Quézel P. & Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- Saitou N. & Nei M. (1987).** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406-425

- Santos A. & Fernandez M. (1988).** *Salvia herbanica* spec. nova (Labiatae) en la flora de Fuerteventura (I. Canarias).(*Salvia herbanica* spec. nova (Labiatae) from the island of Fuerteventura (I. Canarias).). *Lazaroa*, 9, 51-54.
- Skafia-Crete.com, site internet** <http://www.sfakia-crete.com/sfakia-crete/herbs-plants-flora-crete.html>, consulté le 9avril 2018.
- slideplayer.fr, site internet** <http://slideplayer.fr/slide/3330472/> consulté le 15 mai 2018
- Sneath P. H. & Sokal R. R. (1973).** Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification.
- Sneath P.H.A. & Sokal, R.R. (1973).** Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco.
- Sokal R.R. & Michener C.D. (1958)** A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Scientific Bulletin* 28, 1409–1438
- Strimmer K. S. (1997).** Maximum likelihood methods in molecular phylogenetics. Herbert Utz Verlag.
- Svtaclairjj.fr, site internet** [http://www.svtaclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur\\_salvia.htm](http://www.svtaclairjj.fr/coevolution/sauge/fleur_salvia.htm)  
**Consulté le 21mai 2018.**
- Swofford D. L., Olsen G. J., Wadell P. J. & Hillis D. M. (1996).** Chapter 11: Phylogenetic inference. In: *Systematic Biology* (Hillis, D. M., Moritz, C., and Mable, B. K., eds.). Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts.
- Taguan (2015).** Cours : Les arbres phylogénétiques. Zeste de savoir. P29. <https://zestedesavoir.com/articles/pdf/223/les-arbres-phylogenetiques.pdf>
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. & Kumar S. (2011).** MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Thomas F., Lefèvre T. & Raymond M. (2016).** Biologie évolutive, 2<sup>é</sup>édition. De Boeck supérieur: P 959.
- Thulin M. (1993).** *Salvia* (Labiatae) in the mountains of northern Somalia. *Opera Botanica.*; 121:145–148.

- Van Jaarsveld E.J. (1999).** *Salvia* thermara, a new species from the Western Cape, South Africa. *Bothalia*.; 29:100–102.
- Walker J. B., Sytsma K. J., Treutlein J. & Wink M. (2004).** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91(7), 1115-1125.
- Will M. & Claßen-Bockhoff R. (2017).** Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae)—New insights from Old World *Salvia* phylogeny. *Molecular phylogenetics and evolution*, 109, 33-58.
- Woes C.R., Kandler O. & Wheelis M.L. (1990).** Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 87, 4576-4579.
- Zuckermandl E. & Pauling L. (1965).** Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: *Evolving Genes and Proteins* (Eds Bryson V, Vogek HJ), pp. 97–166. Academic Press, New York.

**Annexe 1: Exemple d'une séquence nucléotidique au Format GenBank**

```

LOCUS           KJ584164                617 bp    DNA        linear     PLN 25-JAN-
2017
DEFINITION     Salvia argentea isolate 57 internal transcribed spacer 1,
partial
                sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and
internal
                transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION      KJ584164
VERSION        KJ584164.1
KEYWORDS        .
SOURCE         Salvia argentea
ORGANISM       Salvia argentea
                Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta;
Tracheophyta;
                Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; Gunneridae;
                Pentapetalae; asterids; lamiids; Lamiales; Lamiaceae;
Nepetoideae;
                Mentheae; Salvia.
REFERENCE      1 (bases 1 to 617)
AUTHORS        Will,M. and Classen-Bockhoff,R.
TITLE          Why Africa matters: evolution of Old World Salvia (Lamiaceae)
in
                Africa
JOURNAL         Ann. Bot. 114 (1), 61-83 (2014)
PUBMED         24966353
REFERENCE      2 (bases 1 to 617)
AUTHORS        Will,M. and Classen-Bockhoff,R.
TITLE          Time to split Salvia s.l. (Lamiaceae) - New insights from Old
World
                Salvia phylogeny
JOURNAL         Mol. Phylogenet. Evol. 109, 33-58 (2017)
PUBMED         28057553
REMARK         Publication Status: Available-Online prior to print
REFERENCE      3 (bases 1 to 617)
AUTHORS        Will,M. and Classen-Bockhoff,R.
TITLE          Direct Submission
JOURNAL         Submitted (14-MAR-2014) Institut fuer Spezielle Botanik und
                Botanischer Garten, Johannes Gutenberg-University,
                Anselm-Franz-von-Bentzelweg 9a, Mainz, Rhineland Palatinate
                D-55099, Germany
FEATURES        Location/Qualifiers
                source                1..617
                                        /organism="Salvia argentea"
                                        /mol_type="genomic DNA"
                                        /isolate="57"
                                        /specimen_voucher="R.Classen-Bockhoff s.n.Mai 2002
(MJG) "
                misc_RNA              <1..231
                                        /db_xref="taxon:49208"
                                        /product="internal transcribed spacer 1"
                rRNA                   232..399
                                        /product="5.8S ribosomal RNA"
                misc_RNA              400..>617
                                        /product="internal transcribed spacer 2"
ORIGIN
1 tcgaaacctg caaagcagac cgcgaaacacg tgtttaacgc cgaccgacgg cgcacggctc
61 gggggcgacc ccgctccgtg ccgccgtcga ccccgccgc gcgttcccty gggtcgcgcg
121 gcgcgggcta acgaaccccg gcgcggaatg cgccaaggaa aactaaacga agcgtcctcc
181 cccccgcgcc ccgttcgcgg agtgcgcggg ggggtgcgga cgtctatcaa atgtcataac
241 gactctcggc aacggatatc tcggctctcg catcgatgaa gaacgtagca aaatgcgata
301 cttggtgtga attgcagaat cccgtgaacc atcgagtctt tgaacgcaag ttgcgcccga

```

**Annexe 2 : Exemple d'une séquence nucléotidique au format FASTA**

FASTA ▾

Send to: ▾

**Salvia argentea isolate 57 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence**

GenBank: KJ584164.1

[GenBank](#) [Graphics](#) [PopSet](#)

>KJ584164.1 *Salvia argentea* isolate 57 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence

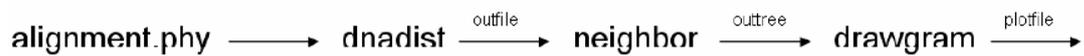
```
TCGAAACCTGCAAAGCAGACCGCGAACACGTGTTTAAACGCCGACCGACGGCGCACGGCTCGGGGGCGACC
CCGCTCCGTGCCGCCGTCGACCCCGCCCGCGCGTTCCTYGGGTGCGCGCGCGCGGGTAACGAACCCCG
GCGCGGAATGCGCCAAGGAAAATAAACGAAGCGTCTCCCCCGCGCCCGTTCGCGGAGTGCGCGGG
GGGTGTCGGACGTCTATCAAATGTCATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAA
GAACGTAGCAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAG
TTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCACGTCTGCCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCGCCACCAT
GTGCGGGGGCGGATACTGGCTCCCGTGGCGCCCGCGCGCGGCTGGCCCAAATGCGATCCCTCGGCGAC
TCATGTACGACAAGTGGTGGTTGAAATCTCAATCTCTTGGCGCGTGTGCCGCTGCGTGTCCGTAAGG
GCATCCATCAACGACCCAACGGCCGGTGGCGCTCGCGGCGCCCGACCTTCGACCGC
```

**Annexe 3 :** Les diagrammes de flux de données décrivent les méthodes phylogénétiques.

**A**



**B**



**C**



**L'organigramme A** décrit une analyse de vraisemblance maximale pour les séquences d'ADNr.

**L'organigramme B** décrit une analyse à l'aide des éléments suivants Méthode de Neighbor-joining pour les séquences d'ADNr.

**L'organigramme C** décrit un bootstrap.

Ici, nous avons utilisé le programme Dnaml pour les analyses de vraisemblance maximale, mais il peut être remplacé par, par exemple, Dnapars pour l'analyse de parcimonie ou (Dnadist + Neighbor) pour l'analyse à distance. Notez que dans l'analyse bootstrap en utilisant Dnaml, Dnapars etc.

## Résumé

### Etude phylogénétique des espèces du genre *Salvia* présentes dans le Nord algérien

*Salvia* est le plus grand genre de Lamiaceae et il a récemment été prouvé qu'il est non monophylétique en se basant sur des données moléculaires. Dans cette étude, nous présentons des données concernant les espèces de *Salvia* en Afrique en incluant 7 espèces présentes en Algérie, en utilisant 4 méthodes phylogénétiques, UPGMA, Neighbor-joinnig, la parcimonie et le maximum de vraisemblance qui ont été utilisées pour la reconstruction phylogénétique. Les analyses ont été faites sur la base de deux marqueurs nucléaires ITS (internal transcribed spacer) 1 et 2. Des données séquentielles ont été générées pour 31 espèces africaines dont sept disponibles en Algérie. Nos résultats ont clairement montré que les 7 espèces algériennes du genre *Salvia* ne forment pas un groupe monophylétique et que la méthode de maximum de vraisemblance est la plus fiable a utilisée.

**Mots clés :** Lamiaceae, *Salvia*, ITS, reconstruction phylogénétique, Afrique, Algérie, maximum de vraisemblance

### Phylogenetic study of species of the genus *Salvia* present in Northern Algeria

*Salvia* is the largest genus of Lamiaceae and has recently been found to be non-monophyletic based on molecular data. In this study, we present data concerning *Salvia* species in Africa including 7 species present in Algeria, using 4 phylogenetic methods, UPGMA, Neighbor-joinnig, parsimony and Maximum Likelihood that were used for phylogenetic reconstruction. The analyzes were made on the basis of two internal transcribed spacer (ITS) nuclear markers 1 and 2. Sequential data were generated for 31 African species, seven of which are available in Algeria. Our results clearly showed that the 7 Algerian species of the genus *Salvia* do not form a monophyletic group and that the Maximum Likelihood method is the most reliable used.

**Keywords:** Lamiaceae, *Salvia*, ITS, phylogenetic reconstruction, Africa , Algeria, Maximum Likelihood

### دراسة تطورية لأنواع سالفيا الموجودة في شمال الجزائر

سالفيا هو أكبر جنس من Lamiaceae وقد ثبت مؤخرا أنه غير monophylétique على أساس البيانات الجزيئية. في هذه الدراسة ، نقدم بيانات تتعلق بأنواع سالفيا في أفريقيا بما في ذلك 7 أنواع موجودة في الجزائر ، باستخدام 4 طرق للتطور ، UPGMA ، Neighbor-joinnig ، parcimonie و maximum de vraisemblance الذي استخدم لإعادة الإعمار التطوري. وقد أجريت التحليلات على أساس مؤشرين جغرافيين منفصلين داخلين ITS 1 و 2. تم إنشاء بيانات متسلسلة لـ 31 نوعًا أفريقيًا، سبعة منها متوفرة في الجزائر. أظهرت نتائجنا بوضوح أن الأنواع الجزائرية السبعة من جنس سالفيا لا تشكل مجموعة أحادية وأن طريقة maximum de vraisemblance من الاحتمالية هي الأكثر استخدامًا.

**الكلمات المفتاحية :** Lamiaceae ، سالفيا ، ITS ، إعادة البناء النسجي ، إفريقيا ، الجزائر ، maximum de vraisemblance