



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature  
et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2023

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**Helal Chaima**

Le :dimanche 18 juin 2023

## Analyse du genre *Ectomyelois* par des approches bioinformatiques

---

### Jury :

|     |                   |     |  |            |
|-----|-------------------|-----|--|------------|
| Dr. | ATHAMNA Ahmed     | MCB | Université Mohamed Khider<br>de Biskra | Président  |
| Pr. | MOUSSI Abdelhamid | Pr  | Université Mohamed Khider<br>de Biskra | Rapporteur |
| Dr. | DERRADJI Yacine   | MAA | Université Mohamed Khider<br>de Biskra | Examineur  |

Année universitaire : 2022 /2023

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier " Dieu" le tout puissant et miséricordieux, qui ma a donné le courage et la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude envers le professeur MOUSSI

Abdelhamid qui a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ainsi que pour ses conseils, sa gentillesse et sa confiance qui ont permis la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier également HAMLAOUI AMIRA, titulaire d'un master en biochimie à l'université Mohammed Kheider de Biskra, pour sa contribution.

Je suis reconnaissant à l'ensemble du corps professoral de l'Université Mohamed Khider à Biskra, en particulier du Département des Sciences de la Nature et de la Vie, pour les connaissances et les expériences acquises pendant les deux années de mon programme de Master.

Je n'oublierai pas de remercier ma famille, mes parents, mes sœurs et frères ainsi que mes amis de la promotion 2022/2023 de Master.

## **Dédicace**

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour,  
leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de  
mes études,*

*A mes chères sœurs pour leurs encouragements permanents,  
et leur soutien moral,*

*A mes chers frères surtout Salah Eldine pour leur sacrifice,  
appui et leur encouragement,*

*A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon  
parcours universitaire,*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant  
allégués, et le fruit de votre soutien infailible,*

*Merci d'être toujours là pour moi.*

# Table des matières

|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| <b>Remerciements</b> .....          | I   |
| <b>Dédicace</b> .....               | II  |
| <b>Table des matières</b> .....     | III |
| <b>Liste des Tableaux</b> .....     | VII |
| <b>Liste des Figures</b> .....      | IX  |
| <b>Liste des abréviations</b> ..... | IX  |
| <b>Introduction générale</b> .....  | 1   |

## Première partie: Synthèse bibliographique

### Chapitre 01: Généralité sur la pyrale des dattes

|  |   |
|--|---|
| 1. Définition .....                              | 3 |
| 2. Position systématique .....                   | 3 |
| 3. Les plantes hôtes .....                       | 3 |
| 4. Cycle de vie.....                             | 3 |
| 5. Morphologie d' <i>Ectomyelois</i> .....       | 4 |
| 6. Répartition géographique.....                 | 5 |
| 7. Liste des espèces d' <i>Ectomyelois</i> ..... | 5 |

### Chapitre 02: Barcoding moléculaire

|   |   |
|---|---|
| 2. Barcode moléculaire .....  | 6 |
| 2.1. Définition .....   | 6 |
| 2.2. Principe .....   | 6 |
| 2.3. Utilisation de Barcode moléculaire .....                           | 6 |
| 2.3.1. Taxonomie et la phylogénie .....                                 | 7 |
| 2.3.2. Identifier les vecteurs de maladies.....                         | 7 |
| 2.3.3. Soutenir les ressources naturelles grâce au code-barres ADN..... | 7 |
| 2.3.4. Contrôle de la qualité d'eau .....                               | 7 |
| 3. Bibliothèque de référence .....                                      | 7 |
| 3.1. Définition de BOLDsystem.....                                      | 7 |
| 4. Outils de la bioinformatique .....                                   | 8 |
| 4.1. NGPhylogeny .....  | 8 |
| 4.1.1. Définition .....   | 8 |
| 4.1.2. Historique de NGPhylogeny .....                                  | 8 |
| 4.1.3. Alignement des séquences .....                                   | 8 |

|  |    |
|--|----|
| 4.1.3.1. Multiple Alignment « Alignement multiple » .....    | 9  |
| 4.1.4. Organisation d'alignement «Alignment Curation » ..... | 9  |
| 4.1.5. Construction d'un arbre phylogénétique .....          | 9  |
| 4.1.5.1. PhyML.....  | 9  |
| 4.1.5.2. MrBayes .....                                       | 10 |
| <b>Chapitre 03: Méthodes de Délimitation des espèces</b>     |    |
| 5. Méthodes de délimitation des espèces .....                | 11 |
| 5.1. BINs.....   | 11 |
| 5.2. Automatic Barcoding Gap Discovery (ABGD) .....          | 11 |
| 5.3. Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP).....  | 12 |
| 5.4. multirate Model the Poisson Tree Processes mPTP .....   | 12 |
| 5.5. Bayesian Poisson Tree Processes (bPTP) .....            | 13 |
| 5.6. Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC).....           | 13 |
| <b>Deuxième partie: Partie expérimentale</b>                 |    |
| <b>Chapitre 01: Matériel et méthodes</b>                     |    |
| 6. Matériel .....  | 14 |
| 6.1. Présentation du matériel.....                           | 14 |
| 6.2. Source des séquences.....                               | 14 |
| 7. Méthode utilisée .....                                    | 14 |
| 7.1. Outil de la bioinformatique .....                       | 14 |
| 7.1.1. Téléchargement des séquences.....                     | 14 |
| 7.1.1.1. Public Data .....                                   | 15 |
| 7.1.1.2. FASTA .....   | 15 |
| 7.1.2. Problèmes existants.....                              | 15 |
| 7.1.3. Identification des séquences .....                    | 15 |
| 7.1.3.1. BOLD Identification System(IDS) .....               | 16 |
| 7.1.3.2. GenBank.....  | 16 |
| 7.1.3.3. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) .....     | 16 |
| a) Principe .....  | 16 |
| 8. Exploitation des données .....                            | 17 |
| 8.1. Alignement des séquences .....                          | 17 |
| 8.1.2. Gblocks .....   | 18 |
| 9. Construction d'un arbre phylogénétiqueé.....              | 19 |
| 10. Délimitation des espèces.....                            | 19 |

---

**Chapitre 02: Résultats et Discussion**

|   |    |
|---|----|
| 11. Résultats.....  | 20 |
| 11.1. Analyse systématique .....  | 20 |
| 11.1.1. Collection et vérification des séquences .....                    | 21 |
| 12.2. Analyse phylogénétique.....   | 22 |
| 11.2.1. Construction de la phylogénie du genre <i>Ectomyeloides</i> ..... | 22 |
| 11.2.2.1. Résultat de la méthode mPTP .....                               | 24 |
| 11.2.2.2. Résultat de la méthode ASAP .....                               | 28 |
| 11.2.2.3 Résultat de la méthode ABGD .....                                | 33 |
| 11.2.2.4. Résultat de la méthode bPTP .....                               | 36 |
| 11.2.2.5. Résultat de la méthode BINs .....                               | 39 |
| 11.2.3. Comparaison entre les méthodes des délimitations et BINs .....    | 43 |
| 12. Discussion .....  | 45 |
| <b>Conclusion</b> .....   | 52 |
| <b>Bibliographie</b> .....  | 53 |
| <b>Annexes</b> .....  | 60 |
| <b>Résumé</b> .....   | 70 |

## Liste des Tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1:</b> Méthodes de la délimitation des espèces .....                           | 20 |
| <b>Tableau 2:</b> Le nombre des séquences avant et après l'identification sur BLAST ..... | 21 |
| <b>Tableau 3 :</b> Les différents résultats d'une méthode de délimitation ASAP .....      | 28 |
| <b>Tableau 4 :</b> Les différents résultats d'une méthode de délimitation ABGD .....      | 33 |

---

## Liste des Figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1:</b> Etapes de développement d' <i>Ectomyelois</i> .....  | 5  |
| <b>Figure 2:</b> Distribution géographique d' <i>Ectomyelois</i> .....  | 5  |
| <b>Figure 3:</b> Alignement multiple des séquences du genre <i>Ectomyelois</i> par la méthode Muscle par MEGA 11 .....  | 18 |
| <b>Figure 4:</b> Outil Gbloks et l'arbre PhyloML sur le service web NGphylogeny .....   | 19 |
| <b>Figure 5:</b> Analyse systématique du genre <i>Ectomyelois</i> dans la plateforme BOLDsystem.....  | 20 |
| <b>Figure 6:</b> Exemple sur le résultat d'outil d'identification sur BLAST .....   | 21 |
| <b>Figure 7:</b> Arbre du code-barres COI du genre <i>Ectomyelois</i> selon la méthode du maximum de vraisemblance ML. Les nombres sur les branches représentent le support bootstrap. L'arbre est enraciné sur <i>M.pectinicornella</i> comme out-groupe .....   | 23 |
| <b>Figure 8:</b> Analyse comparative de la délimitation des quatre espèces d' <i>Ectomyelois</i> à l'aide de quatre méthodes différentes et comparaison avec les BINs. L'arbre construit par maximum de vraisemblance (ML) sur le serveur web NGphylogeny (Junier et al., 2010 ; Guindon et al., 2010 ; Lemoine et al., 2018 ; Lemoine et al., 2019)..... | 44 |



## Liste des abréviations

ABGD: Automatic Barcode Gap Discovery

ASAP: Assemble Species by Automatic Partitioning

Bays: Bayesian

BINs: Barcode Index Number system

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

BMGE: Block Mapping and Gathering with Entropy

BOLD: Barcode Of Life Data base

bPTP: bayesian Poisson Tree Processes

COI: Cytochrome Oxidase I

DDBJ: DNA DataBank of Japan

ENA: European Nucleotide Archive

GMYC: Generalized Mixed Yule-Coalescent

IDS: The BOLD Identification System

MAFFT: Multiple Alignment using Fast Fourier Transform

MCMC: Markov Chain Monte Carlo

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

ML: Maximum Likelihood

UTOM / MOTU: UnitéTaxonomique Opérationnelle Moléculaire / Operational Taxonomic Unit

MP: Maximum Parsimony

mPTP: multirate Model the Poisson Tree Processes

MSA: Multiple Sequence Alignements

NCBI: National Centre for Biotechnology Information

NIG/CIB: National Institute of Genetics, Center for Information Biology

NIH: National Institutes of Health

NJ: Neighbors-joining

NLM: National Library of Medicine

PTP: Poisson Tree Processes

RbcL: RuBisCo L

SMS: Smart Model Selection.

TCS: Statistical Parsimony Analysis

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with ArithmeticMean

# **Introduction générale**

## Introduction générale

La pyrale des dattes est un insecte polyphagique ciblant les différents types de fruits. L'invasion des arbres des fruits menace la durabilité de l'écosystème oasien (Mahawa et *al.*, 2013). Le niveau d'infection varie d'une année à l'autre et principalement lié à l'état phytosanitaire des arbres et aux conditions climatiques. De nombreux auteurs ont étudié l'évolution de l'infection à différentes périodes et ont trouvé des taux variables. Il est connu dans le monde entier sous les noms de ruinier, grenadier, ver de la datte ou Caroub moth (Dowson, 1982). La relation entre les insectes et les plantes s'est développée et diversifiée au point que la moitié des espèces d'insectes sont aujourd'hui phytophages. Les plantes sont leur source de nourriture, leur abri et leur lieu de développement (Masson et Brossut, 1981; Darazy, 2002). *Ectomyelois* est un insecte polyphytophage qui endommage de nombreux arbres fruitiers (Warner, 1988). Il peut causer des dégâts qui peuvent parfois affecter 80% de la récolte (Doumandji, 1983). De plus, étant donné l'importance économique de cette culture d'exportation, le développement d'un historique de blessures et de sécheresse est le principal obstacle à sa conservation à long terme. La valeur marchande des dattes a chuté en raison de la perte de poids, de la fissuration et du brunissement du fruit. Le fruit devient fibreux et son goût et son odeur disparaissent (Domandji, 1981).

Le genre *Ectomyelois* de la famille des *Pyralidae* est l'un des ravageurs les plus graves des plantes dans le monde. Il affecte la production et le stockage, et peut causer des dégâts considérables. Pour une gestion efficace de ces ravageurs, une identification précise des espèces est importante. Les approches bioinformatiques telles que la phylogénie, la délimitation des espèces et le BIN peuvent résoudre ce problème. Dans cette étude, l'approche phylogénétique, la délimitation des espèces et la méthode BIN seront utilisées pour réviser le genre en utilisant les séquences COI de la plateforme BOLDsystems.

Dans le cadre de cette étude, les séquences COI des *Ectomyelois* seront récupérées sur la plateforme BOLDsystems. Les différentes séquences COI collectées seront analysées en utilisant l'approche phylogénétique pour construire un arbre phylogénétique et visualiser les relations entre les espèces. La délimitation des espèces sera effectuée à l'aide de la technique ABGD, ASAP, mPTP, bPTP et la méthode BINs sera utilisée pour identifier les espèces *Ectomyelois* à partir des séquences COI obtenues. L'analyse phylogénétique sera réalisée en utilisant l'algorithme du maximum de vraisemblance bayésien et la méthode du maximum de vraisemblance ML.

Le but de cette étude est d'estimer le genre *Ectomyelois* en utilisant l'approche phylogénétique, la délimitation des espèces et la méthode BIN. Plus précisément, cette étude vise à identifier et à délimiter les espèces *Ectomyelois* en utilisant le séquençage de l'ADN mitochondrial COI et les méthodes de délimitation des espèces, puis à construire une phylogénie du genre *Ectomyelois* à l'aide des séquences en utilisant le système Bold pour aider à identifier les spécimens *Ectomyelois* en comparant les séquences COI avec une base de données de référence.

Le manuscrit est divisé en deux parties, il s'agit d'une étude théorique résulte d'une recherche bibliographique en relation avec notre thématique recherchée et une partie expérimentale résulte d'une analyse des travaux en relation avec ce travail.

La première partie de cette étude bibliographique est constituée de trois chapitres complémentaires :

Chapitre 01 : consacré à une étude bibliographique dans laquelle nous avons résumé des généralités sur la pyrale des dattes et le genre *Ectomyelois* étudié.

Chapitre 02 : consacrée au codage à barres de l'ADN et à ses avantages pour la taxonomie, ainsi qu'à ses applications et à la construction d'un arbre phylogénétique.

Chapitre 03 : Le dernier chapitre présente les méthodes de détermination et leur utilisation.

Ensuite, la deuxième partie qui concerne l'étude expérimentale comprend deux chapitres :

Chapitre 01: matériel et méthodes décrivant les analyses phylogénétiques des séquences nucléotidiques en utilisant des méthodes bioinformatiques pour obtenir l'arbre phylogénétique.

Chapitre 02 : Résultats obtenus tels que les arbres génétiques issus par les analyses de génétique et des discussions sur les collections obtenues après l'identification des espèces étudiées.

**Première partie:**  
**Synthèse bibliographique**

**Chapitre 01:**  
**Généralité sur la pyrale**  
**des dattes**

## Chapitre 01: Généralité sur la pyrale des dattes

La pyrale des dattes est un insecte volatile qui porte le nom vernaculaire papillon, elle vit dans un environnement humide. Elle a été découverte en 1825 par Jacob Hübner. La polyphagie de cet insecte, et sa large répartition dans l'espace sur des hôtes variés, rendent difficile la mise au point d'une stratégie de lutte efficace (Doumandji, 1983).

### 1. Définition

La pyrale des dattes sont des arthropodes qui attaquent plusieurs types des fruits à cause de les facteurs d'affectant. Ces sont des vertébrés nuisibles car ils vivent sur le fruit mur ou proche de la maturité auquel ils causent des dégâts considérables (Balachowsky, 1972).

### 2. Position systématique

La Pyrale des dattes, appartenant au genre *Ectomyelois*, est un insecte de l'ordre des lépidoptères de la famille des *Pyralidae* et de la sous-famille des *Phycitinae*. Elle fait partie des espèces sauvages dont la biologie est mal connue. Sa position systématique se situe dans l'embranchement des Arthropodes et la classe des Insectes, avec une sous-classe *Pterygota* (Dhouibi, 1982).

### 3. Les plantes hôtes

*Ectomyelois* est un ravageur extrêmement polyphage. Sa chenille, se nourrissant de plusieurs fruits et causant d'énormes dégâts, s'attaque à une multitude de cultures et de plantes spontanées dans des zones bioclimatiques très différentes. Il existe 49 plantes hôtes reconnues dans le monde (Doumandji, 1981).

Le pourcentage de fruits infectés est souvent supérieur à 10%, au moment de la récolte, cette proportion peut même atteindre 80% (Munier, 1973).

### 4. Cycle de vie

La pyrale des dattes infeste à la fois le terrain, les plantes et la prolifération poursuit pendant le stockage (Jarraya et Vinson, 1980).

Les larves reprennent son activité au début du printemps. La femelle après accouplement cherche à pondre tout d'abord sur le grenadier. À partir du mois de Septembre



(maturité des fruits) Les femelles déposent ses œufs sur la surface de la datte de préférence à proximité de point d'attache du fruit et à l'éclosion les larves pénètrent à l'intérieur des fruits.

Les captures en relation avec la phénologie des palmiers ainsi que les infestations sont plus importantes dans la jeune palmeraie (Ratnasingham et *al.*, 2013).

*Ectomyelois* accomplit son cycle biologique annuel dans la plante hôte dont les larves peuvent s'alimenter grâce aux fruits sur pied depuis la nouaison jusqu'à la cueillette (Berre, 1978). Il est une espèce très polyphagie pouvant atteindre dans des bonnes conditions quatre générations qui se succèdent au cours de l'année, en effet ce nombre de génération varie de 1 à 4 en fonction des conditions climatiques et des plantes hôtes disponibles Doumandji, 1981 ; Wertheimer, 1958 montrent que trois générations importantes se succèdent au cours de l'année et une quatrième génération existe par fois.

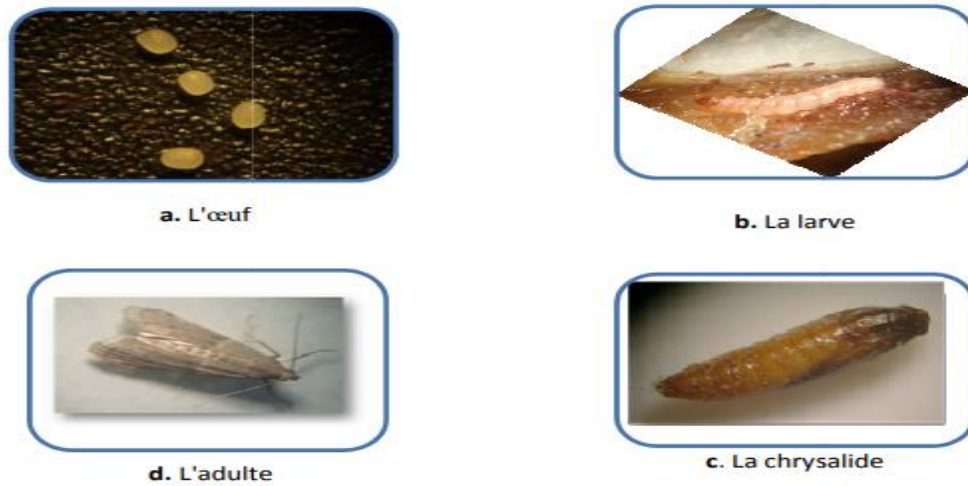
### **5. Morphologie d'*Ectomyelois***

**L'œuf** : présente une forme oblongue dont la plus grande dimension est de 0.6 à 0.8 mm. Initialement blanc, il devient rose après de 24 heures (Doumandji, 1981).

**La larve** : est décrite comme étant éruciforme avec une couleur rose ou blanc-jaunâtre et une tête brune, Idder (2008), Haddou (2005) et Saggou (2001). Cependant, la couleur du corps varie en fonction du fruit hôte (Doumandji, 1981). La croissance des larves se fait par des mues successives, et la longueur des chenilles augmente à chaque mue. Selon Le Berre (1978), la longueur de la larve varie de 18 mm avec une largeur comprise entre 0,1 et 3 mm (Doumandji, 1981).

**La nymphe**: mesure environ 8 mm de longueur et a un corps de forme cylindro-conique, Idder (2008), Haddou (2005) et Saggou (2001) (Doumandji, 1981).

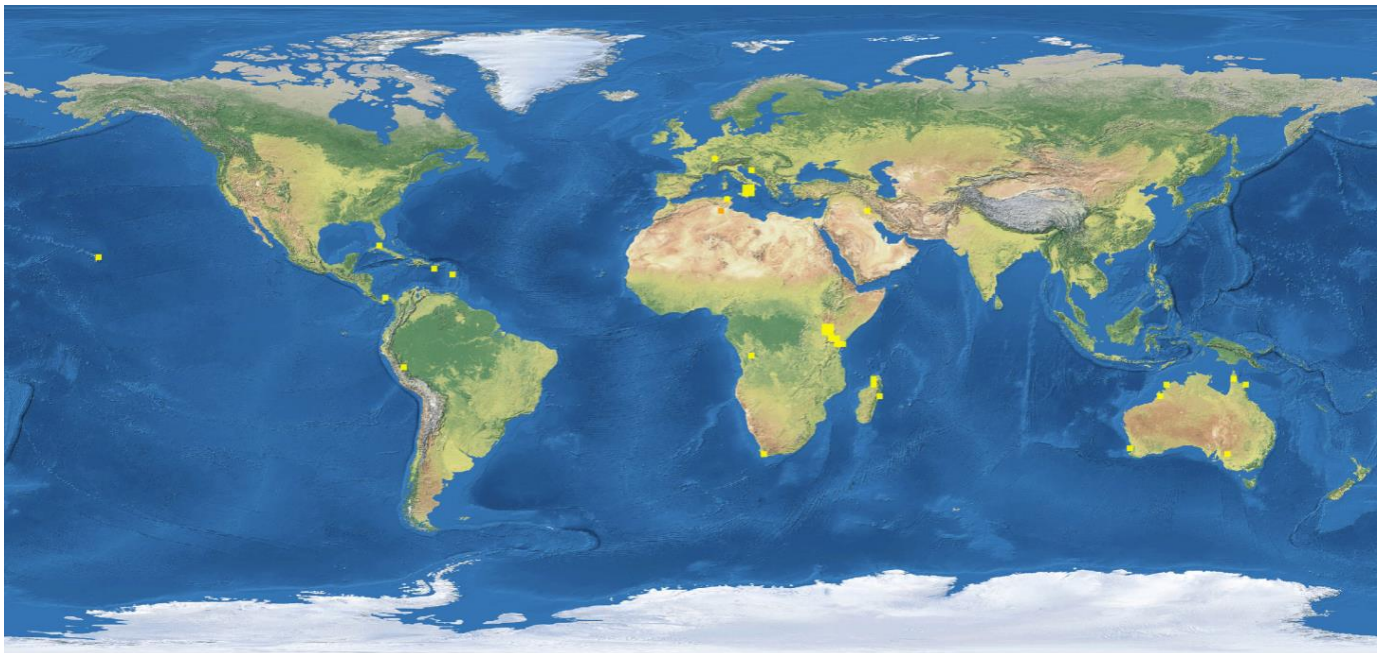
**L'adulte**: est un papillon de 6 à 14 mm de longueur et d'une envergure de 24 à 26 mm. En général, les mâles sont plus petits que les femelles, mesurant respectivement 9,32 mm et 10,35 mm (Doumandji, 1981), Idder (2008), Haddou (2005), Saggou (2001) et Haddad (2000).



**Figure 1:** Etapes de développement d'*Ectomyelois*

## 6. Répartition géographique

Ces insectes sont largement distribués dans le monde comme décrit dans la Figure 2  
*Ectomyelois* est une espèce répandue dans tout le bassin méditerranéen (Berre, 1978) :



**Figure 2 :** Distribution géographique d'*Ectomyelois*

## 7. Liste des espèces d'*Ectomyelois*

Selon Arif (2011), il y a actuellement 8 espèces connues dans ce genre, à savoir *E. ceratoniae* (Zeller, 1881), *E. muriscis* (Dyar, 1911), *E. zeteki* (Heinrich, 1956), *E. austrella* (Neunzig et Goodson, 1992), *E. bipectinalis* (Ren et Yang, 2016), *E. decolor* (Zeller, 1881), *E. furvidorsella* (Ragonot, 1888) et *E. furvivena* (Ren et Yang, 2016).

# **Chapitre 02:**

# **Barcoding moléculaire**

## Chapitre 02: Barcoding moléculaire

Le code-barres ADN est un nouveau système conçu pour fournir une identification rapide, précise et automatisée des espèces en utilisant de courtes régions génétiques standardisées comme marqueurs internes des espèces (étiquettes internes). Il rendra ainsi le système taxonomique plus accessible, ce qui sera bénéfique pour les écologistes, les défenseurs de l'environnement et les diverses agences responsables de la lutte contre les ravageurs. Le code à barres de l'ADN accélérera le rythme de la découverte d'espèces en permettant aux taxonomistes de trier rapidement les spécimens et en mettant en évidence les taxons divergents susceptibles de représenter de nouvelles espèces (Kaur, 2015).

### 2. Barcode moléculaire

#### 2.1. Définition

Une technique biologique qui utilise des séquences d'ADN pour identifier les espèces. L'identification de l'ADN permet aux gens utilisée pour la taxonomie, la phylo-géographie et la criminalistique, visant à l'identification automatique rapide des espèces en utilisant le processus de codage à barres de l'ADN comporte deux étapes de base : La première étape consiste à construire une bibliothèque de codes à barres des espèces identifiées, et la deuxième consiste à faire correspondre la séquence de codes à barres de l'échantillon inconnu avec la bibliothèque de codes à barres (appelée alignement de séquence) pour son identification (Hebert et *al.* 2003).

#### 2.2. Principe

Le code barre d'ADN désigne la technique de séquençage d'un fragment court du gène de la sous-unité I du COI, souvent une région d'environ 650 paires de bases le code-barre , à partir d'un spécimen taxonomiquement inconnu et à effectuer des comparaisons avec une bibliothèque de référence de codes à barres d'origine d'espèces connues pour établir une identification (Wilson, 2012).

#### 2.3. Utilisation de Barcode moléculaire

Le barcode moléculaire est une technique permettant de déterminer :

### **2.3.1. Taxonomie et la phylogénie**

L'identification moléculaire des espèces, et établir des relations phylogénétiques entre les espèces ou à distinguer les sous-espèces (Hebert, 2003; Hebert et Gregory, 2005).

### **2.3.2. Identifier les vecteurs de maladies**

Le code-barres de l'ADN permet aux non-écologistes d'identifier les espèces de vecteurs qui peuvent causer des maladies infectieuses graves chez les animaux et les humains, de comprendre ces maladies et de les traiter. Une initiative mondiale de code-barres pour les insectes consiste à créer une bibliothèque de codes-barres de référence qui peut aider les responsables de la santé publique à contrôler ces espèces vectrices de maladies plus efficacement et avec une utilisation très réduite d'insecticides (Kaur,2015).

### **2.3.3. Soutenir les ressources naturelles grâce au code-barres ADN**

Les gestionnaires des ressources naturelles peuvent surveiller le commerce illégal de produits fabriqués à partir de ressources naturelles (Kaur, 2015).

### **2.3.4. Contrôle de la qualité d'eau**

L'étude des organismes vivant dans les lacs, les rivières et les ruisseaux permet de mesurer ou de déterminer leur état de santé. Le codage à barres de l'ADN est utilisé pour créer une bibliothèque de ces espèces qui peuvent être difficiles à identifier. Le codage à barres peut être utilisé par les agences environnementales pour améliorer la détermination de la qualité et pour créer de meilleures politiques qui peuvent assurer un approvisionnement sûr en eau potable (Kaur, 2015).

## **3. Bibliothèque de référence**

### **3.1. Définition de BOLDsystem**

Est une plateforme Web qui offre un environnement intégré pour l'assemblage et l'utilisation de données de codes à barres ADN. Il fournit une base de données en ligne pour la collecte et la gestion de données sur les spécimens, la distribution et les molécules ainsi que des outils analytiques. Au cours des dernières années, BOLD est devenu un puissant banc de travail en ligne et le centre informatique central de la communauté du codage à barres ADN (Ratnasingham et *al.*, 2013).

## **4. Outils de la bioinformatique**

### **4.1. NGPhylogeny**

#### **4.1.1. Définition**

NGPhylogeny.fr est un service web dédié à l'analyse phylogénétique. Il offre un ensemble complet d'outils et de flux de travail adaptés à différents contextes et niveaux d'expertise des utilisateurs (LEMOINE et *a.,l* 2019). <https://ngphylogeny.fr/about>

#### **4.1.2. Historique de NGPhylogeny**

Créé en 2008, a été conçu pour faciliter l'exécution des flux de travail phylogénétiques, et est aujourd'hui largement utilisé. il développé pour être plus flexible en termes d'outils, de flux de travail, facilement installable et plus évolutif. Il intègre de nombreux outils dans leur version (par ex. TNT, FastME, MrBayes, etc.) ainsi que de nouveaux (par ex. PhyML, SMS, FastTree, trimAl, BOOSTER, etc.). Ces outils couvrent un large éventail d'utilisations : recherche de séquences, alignement de séquences multiples, sélection de modèles, inférence d'arbres et dessin d'arbres (LEMOINE et *a.,l* 2019).

L'inférence et l'interprétation des arbres phylogénétiques sont requises dans un grand nombre d'études couvrant un large éventail de domaines biologiques (génomique comparative, méta-génomique, identification des espèces, taxonomie, etc.). Phylogeny avait été conçu à l'origine pour faciliter les flux de travail des analyses phylogénétiques en fonction des étapes suivantes : recherche de séquences BLAST, alignement de séquences multiples, conservation de l'alignement, inférence de l'arbre phylogénétique et visualisation de l'arbre (LEMOINE et *a.,l* 2019).

#### **4.1.3. Alignement des séquences**

L'alignement des séquences est un processus qui consiste à comparer et à positionner de manière systématique les séquences d'acides nucléiques (ADN ou ARN) ou d'acides aminés afin d'identifier les similitudes et les différences entre elles. Cela permet de mettre en évidence les régions conservées et les variations entre les séquences, ce qui peut fournir des informations importantes sur l'évolution, la fonction et les relations entre les séquences étudiées (Pevzner,2006).

#### **4.1.3.1. Multiple Alignment « Alignement multiple »**

L'alignement des séquences peut être réalisé de différentes manières, mais la méthode la plus courante est l'alignement par paire, où deux séquences sont comparées et alignées les unes avec les autres. Il existe également des méthodes d'alignement multiple, où plusieurs séquences sont alignées simultanément.

Multiple Sequence Alignments (MSA) a été construit grâce à un algorithme visant à augmenter le nombre de rencontres entre nucléotides ou acides aminés pour différentes séquences. Les séquences de protéines sont organisées dans un tableau rectangulaire dans le but d'avoir les restes dans une colonne particulière identique (Pevzner, 2006). Il y a trois méthodes pour l'alignement : MAFFT, MUSCLE et clustalomega, la plus utilisée est : MUSCLE un nouveau programme pour créer de multiples alignements de séquences, donnant un bref résumé de l'algorithme et montrant pour atteindre les scores les plus élevés signalés à ce jour sur quatre repères de précision d'alignement (Batzoglou, 2006).

#### **4.1.4. Organisation d'alignement «Alignment Curation »**

Le nettoyage des séquences est une étape qui vise à éliminer les positions mal alignées et les régions divergentes ce qui permet de supprimer le bruit d'alignement. Après avoir terminé l'alignement multiple à l'aide de différentes méthodes : BMGE, Gblocks, Noisy et trimAL (Edgar, 2004).

#### **4.1.5. Construction d'un arbre phylogénétique**

Les arbres permettent de visualiser les relations de parenté et d'étudier l'évolution d'une ou de plusieurs espèces. Il existe plusieurs méthodes de génération d'arbres utilisant différents algorithmes (Antoine, 2011) :

La méthode UPGMA, la méthode du NJ, la méthode du maximum de vraisemblance et la méthode du maximum de parcimonie.

##### **4.1.5.1. PhyML**

Les méthodes utilisant le maximum de vraisemblance tiennent également compte de la longueur des branches de l'arbre phylogénétique, en plus d'être basées sur les caractères. Il s'agit, pour ces méthodes, de comparer un grand nombre d'arbres phylogénétiques possibles. L'arbre choisi sera celui qui maximise la probabilité d'observer les données utilisées, étant

donné un modèle de substitution de l'ADN. Cette probabilité est appelée « vraisemblance » de d'arbre phylogénétiques (Taguan, 2015).

Il ya d'autres méthodes apparaissent régulièrement comme celles basées sur de l'apprentissage artificiel ou encore de l'inférence bayésienne comme dans le logiciel MrBayes qui est très utilisé.

#### **4.1.5.2. MrBayes**

Un programme d'inférence bayésienne et de choix de modèles dans un large éventail de modèles phylogénétiques et évolutifs. MrBayes utilise les méthodes MCMC pour estimer la distribution postérieure des paramètres du modèle (Yoann, 2012).



**Chapitre 03:**  
**Méthodes de Délimitation**  
**des espèces**

## Chapitre 03: Méthodes de Délimitation des espèces

Les espèces jouent un rôle clé dans la recherche biologique et constituent l'unité de base pour mesurer la biodiversité. La délimitation des espèces est le processus d'identification des groupes d'organismes individuels qui forment différents groupes d'une espèce et qui forment différentes espèces. On estime que 80 à 90% des espèces sur la planète sont inconnues, et il est possible que de nombreuses espèces contemporaines soient déjà éteintes sans que les scientifiques documentent leur existence. Pour cette raison, les données génomiques peuvent jouer un rôle important dans la délimitation des espèces selon de nombreux concepts d'espèces existants (Yang, 2020).

### 5. Méthodes de délimitation des espèces

La délimitation des espèces est le processus qui consiste à déterminer quels groupes des organismes individuels constituent des populations différentes d'une même espèce et lesquels constituent des espèces différentes. Ces méthodes ont regroupé les séquences COI en unités taxonomiques opérationnel (OTUs) en fonction de la similarité des séquences (Yang, 2020).

#### 5.1. BINs

Le système de Numéro d'Identification par Code à Barres (Barcode Index Number - BIN) regroupe les séquences à l'aide d'algorithmes bien établis pour produire des unités taxonomiques opérationnelles qui correspondent étroitement aux espèces. Les BIN sont uniques en ce sens que les clusters sont indexés de manière régimentée, de sorte que des taxons génétiquement identiques rencontrés dans différentes études résident sous des identifiants partagés. Le regroupement est paramétré en utilisant des "données d'entraînement" provenant d'enregistrements taxonomiquement divers collectés par des efforts de codage à barres à ce jour. Les ensembles d'entraînement sont basés sur une taxonomie établie pour reconnaître les clusters de séquences qui sont susceptibles de correspondre à des espèces biologiques. Chaque nouveau cluster se voit attribuer un identifiant globalement unique qui est enregistré dans le système de données Barcode of Life (BOLD) (Ratnasingham et Hebert, 2017).

#### 5.2. Automatic Barcoding Gap Discovery (ABGD)

Une méthode basée sur la distance les premières études sur la divergence des séquences par paires entre les espèces et à l'intérieur de celles-ci visaient à identifier un « écart de code à barres » qui peut distinguer les différences à l'intérieur de l'espace des

différences causées par les divergences entre les espèces. Par exemple, une différence relative d'un ordre de grandeur (la règle des 10) entre les divergences intraspécifiques et interspécifiques a été proposée par (Hebert et *al.*2004) et un maximum de 3 % pour la divergence intraspécifiques (la règle des 3 %) a été proposé par Smith et al. (2005). Le programme de détection automatique des écarts de codes à barres (ABGD) (Puillandre et coll., 2012) vise à déterminer les seuils d'écarts de codes à barres dans un processus automatisé (Puillandre, 2011).

### **5.3. Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP)**

La mise en œuvre d'un algorithme de regroupement hiérarchique qui n'utilise que des distances génétiques par paires, évitant le fardeau de calcul de la reconstruction phylogénétique. Fait important, ASAP propose des partitions d'espèces classées par un nouveau système de notation qui n'utilise aucun aperçu biologique préalable de la diversité intraspécifiques. ASAP est un programme autonome qui peut être utilisé soit par une interface Web graphique ou qui peut être téléchargé et compilé pour un usage local (Puillandre , 2021).

Qui la puissance ASAP avec trois autres programmes (ABGD, PTP et GMYC) sur 10 ensembles de données de codes à barres COI réels représentant divers degrés de difficulté (de petits cas faciles à grands ensembles de données complexes). Avec Simulations Monte-Carlo d'un cadre coalescent multi-espèces pour évaluer les forces et les faiblesses de l'ASAP et les autres programmes. Au moyen de ces analyses, démontrer que le ASAP a le potentiel de devenir un outil important pour les taxonomistes, car il propose rapidement dans une interface exploratoire graphique complète l'hypothèse d'espèces pertinentes comme première étape du processus taxonomique intégratif (Nicolas, 2020).

### **5.4. multirate Model the Poisson Tree Processes mPTP**

Une méthode améliorée qui atténue les lacunes théoriques et techniques du PTP. Les résultats sur les données empiriques suggèrent que le mPTP est supérieur au PTP et aux méthodes populaires basées sur la distance, car il produit systématiquement des délimitations plus précises en ce qui concerne la taxonomie (Kapli et *al.*,2017).

Deux faiblesses de la PTP ont une incidence sur son exactitude et son caractère pratique lorsqu'elle est appliquée à de grands ensembles de données; elle ne tient pas compte des variations intraspécifiques divergentes et est lente pour un grand nombre de séquences. Le PTP multi-taux (mPTP), une méthode améliorée qui atténue les lacunes théoriques et

techniques du PTP. Il incorpore différents niveaux de diversité génétique intra-spécifique provenant de différences dans l'histoire évolutive ou l'échantillonnage de chaque espèce (Kapli et *al.*,2007).

PTP utilise directement des substitutions, il ne nécessite pas d'arbre d'entrée ultramétrique, dont l'inférence peut être chronophage et sujette aux erreurs. Ainsi, la PPT donne souvent des délimitations plus précises que GMYC (Tang et *al.*, 2014).

### **5.5. Bayesian Poisson Tree Processes (bPTP)**

Une version mise à jour de la PTP maximale de vraisemblance originale (le résultat de la recherche PTP maximale de vraisemblance fait partie des résultats bPTP), il ajoute des valeurs de BS aux espèces délimitées sur l'arbre d'entrée (méthodes basées sur un arbre phylogénétique). Une valeur BS plus élevée sur un nœud indique que tous les descendants de ce nœud sont plus susceptibles d'être d'une espèce. <https://species.h-its.org/>

### **5.6. Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC)**

Une méthode de vraisemblance basée sur un arbre phylogénétique pour délimiter les espèces en ajustant les modèles de ramification entre les espèces aux arbres géniques reconstruits (Barraclough, 2013).

**Deuxième partie:**  
**Partie expérimentale**

# **Chapitre 01:**

## **Matériel et Méthodes**

# Chapitre 01: Matériel et méthodes

Cette section fait l'objet d'une investigation scientifique qui consiste à collecter, sélectionner, vérifier, traiter et analyser une série de séquences nucléotidiques du genre *Ectomyelois*, puis à les synthétiser en un arbre phylogénétique et objectivement basé sur des preuves moléculaires pertinentes, et enfin à les délimiter.

## 6. Matériel

### 6.1. Présentation du matériel

Cette étude a été effectuée sur des outils en bioinformatiques sur des plateformes en ligne et des applications (installé), à partir d'un ordinateur sous le nom DESKTOP-T0QDHK3 , processeur Intel(R) Celeron(R) CPU N3060 @ 1.60GHz 1.60 GHz et version du Windows 22H2.

### 6.2. Source des séquences

Dans le cadre de cette étude, les espèces de genre *Ectomyelois* qui retenues dans cette étude sur la base de disponibilités de leurs séquences COI seront récupérées à partir de la plateforme Boldsystems. L'étude a été menée sur des séquences ADN de 4 espèces à partir d'un marqueur unique, nommé Barcode, constitué d'une séquence d'environ 660 Pb correspondant à l'extrémité 5' du gène du COI du génome mitochondrial.

## 7. Méthode utilisée

### 7.1. Outil de la bioinformatique

Par les outils de la bioinformatique les différentes séquences COI récoltées seront analysées à l'aide de l'approche phylogénétique pour construire un arbre et visualiser les relations entre les espèces.

#### 7.1.1. Téléchargement des séquences

Cette étude a été effectuée sur des outils en bioinformatiques sur des plateformes en ligne. Le portail de données publiques leur classification est basée sur la taxonomie (noms scientifiques), la disposition géographique, l'identification, les champs d'attribution (c'est-à-dire les collectionneurs et les taxonomistes), les dépositaires de spécimens, les codes de projet ou d'ensemble de données.

Dans la plateforme BOLDsystem, sélectionne Public Data pour la recherche sur le genre *Ectomyelois*

#### **7.1.1.1. Public Data**

Une base de données accessible au public de toutes les séquences publiques sur BOLD. Cette base de données utilisée pour accéder et télécharger les données et séquences d'échantillons associées (Ratnasingham et *al.*, 2013).

On a trouvé 116 séquences enregistrements publiés de genre *Ectomyelois*, formant 5 BIN (clusters), avec des spécimens de 12 pays, déposés dans 9 instituts. Parmi ces enregistrements, 116 ont des noms d'espèces représentés en 4 espèces, qui sont : *E. ceratoniae*, *E. muriscis*, *E. zeteki* et le dernière *Ectomyelois.sp.* Les séquences de gènes à fragmenter sont téléchargées au format FASTA.

#### **7.1.1.2. FASTA**

Ce format utilisé pour sauvegarder des séquences nucléiques ou protéiques, les séquences sont stockées en général sous forme de fichiers texte qui peuvent être soit des fichiers personnels (présents dans un espace personnel), soit des fichiers publics (séquences des banques) (Hamidechi et Djekoun, 2022).

#### **7.1.2. Problèmes existants**

Les séquences doivent être dans le sens (5'  $\longrightarrow$  3') mais parfois on retrouve les séquences inversées (3'  $\longrightarrow$  5').

L'ADN est converti en protéine afin de vérifier la séquence des nucléotides et les codes stop sont retirés du milieu de la chaîne protéique.

Lorsque nous téléchargeons des séquences depuis BOLDsystem, on trouve des manques dans les informations de quelque espèce telles que le pays, numéro d'accession, séquence nucléotidique ou le nom scientifique (remplacé par le nom de genre ou la famille) (Annexe 2).

#### **7.1.3. Identification des séquences**

Après la récupération des séquences, on passe à l'identification par des méthodes de vérification.



### 7.1.3.1. BOLD Identification System(IDS)

Le lien d'identification en BOLD permet d'accéder aux moteurs d'identification des animaux, des plantes et des champignons basés sur le COI, matK, rbcL et SES gènes. Cette ressource est disponible sans avoir besoin d'un compte d'utilisateur, bien que des fonctionnalités avancées soient disponibles pour ceux qui sont enregistrés auprès du système (Ratnasingham et *al.*, 2013).

### 7.1.3.2. GenBank

La base de données des séquences génétiques des NIH, une collection annotée de toutes les séquences d'ADN accessibles au public. GenBank fait partie de l'International Nucleotide Sequence Database Collaboration, qui comprend la Banque de données ADN ( DDBJ), Nucleotide Archive (ENA) et GenBank au NCBI. Ces trois organisations échangent quotidiennement des données <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>.

### 7.1.3.3. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

Outil de recherche trouve des régions de similarité locale entre les séquences. Le programme compare les séquences de nucléotides ou de protéines aux bases de données de séquences et calcule la signification statistique des correspondances. BLAST peut être utilisé pour déduire des relations fonctionnelles et évolutives entre les séquences ainsi que pour aider à identifier les membres des familles de gènes <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> .

#### a) Principe

BLAST se base sur une approche heuristique : les séquences de la base de données sont préalablement indexées dans un 'dictionnaire de mots', qui dresse la liste des séquences de la base de données contenant chaque oligomère (oligopeptide pour les bases de données de protéines, oligo-nucléotides pour les séquences nucléiques) d'une taille donnée : le principal critère pour qu'il reporte un alignement est qu'il arrive à trouver au moins un 'mot' de taille 11 (par défaut, mais on peut le changer) présent exactement dans la référence, puis il étend l'alignement autour de ce mot. Quand on lance une recherche, BLAST commence par analyser la séquence requête en dressant la liste de l'oligomère présente. Il consulte ensuite le dictionnaire pour extraire la liste des séquences de la base de données qui contiennent ces mots, et lance un alignement par paire avec ce sous-ensemble des séquences (Jian et *al.*, 2006).

- **Utilisation du BLAST**

Nous avons utilisé le programme BLAST pour vérifier les séquences et de trouver l'exogroupe qui est la racine de l'arbre phylogénétique à partir de l'identification des séquences et d'extraire le genre le plus proche du genre *Ectomyeloides*.

- **Exo-groupe (Out-group)**

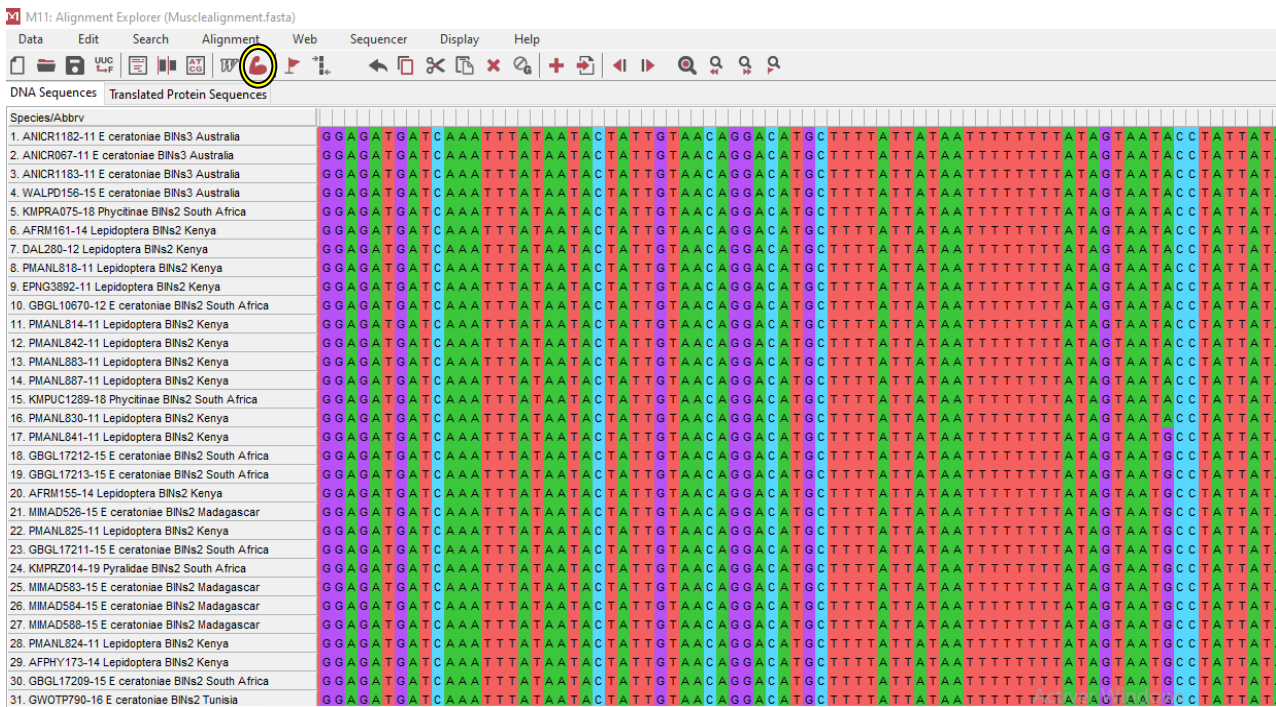
Un groupe de référence pour déterminer les relations évolutives d'un groupe interne. Son rôle est de servir de point de comparaison pour le groupe interne et permet ainsi de créer un arbre phylogénétique enraciné (enracinement). Parce que la polarité (direction) du changement des caractères ne peut être déterminée que sur une phylogénie enracinée, le choix du groupe externe est essentiel pour clarifier et comprendre le sens évolutif des organismes (Farris, 1982).

Se rendre au site <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, puis cliqué sur « Nucléotide Blast » pour télécharger les séquences du groupe interne (séquences *Ectomyeloides*) recherchée dans le champ en haut de la page qui donne les résultats. En retournant aux séquences, sélectionner la séquence présentant le plus de similitudes avec la séquence *Ectomyeloides*.

## **8. Exploitation des données**

### **8.1. Alignement des séquences**

Dans notre travail, la version 11 du logiciel Mega X a été utilisée sous le site <https://www.megasoftware.net/>, est qui revient au programme de création d'alignements multiples de séquences *Ectomyeloides* par la méthode MUSCLE (figure 3).



**Figure 3 :** Alignement multiple des séquences du genre *Ectomyelois* par la méthode Muscle par MEGA 11.

### 8.1.1. MEGA

Logiciel d'analyse contient une grande collection de méthodes et d'outils d'évolution moléculaire computationnelle, il comporte de nouveaux ajouts qui font de MEGA un outil plus complet pour créer des arbres d'espèces, en utilisant des méthodes rapides d'horloge détendue (Koichiro, 2021).

Ensuite, on passe à le nettoyage de séquence manuellement dans le logiciel MEGA ou par Gblocks pour éliminé les gaps et maintenir des séquences similaire.

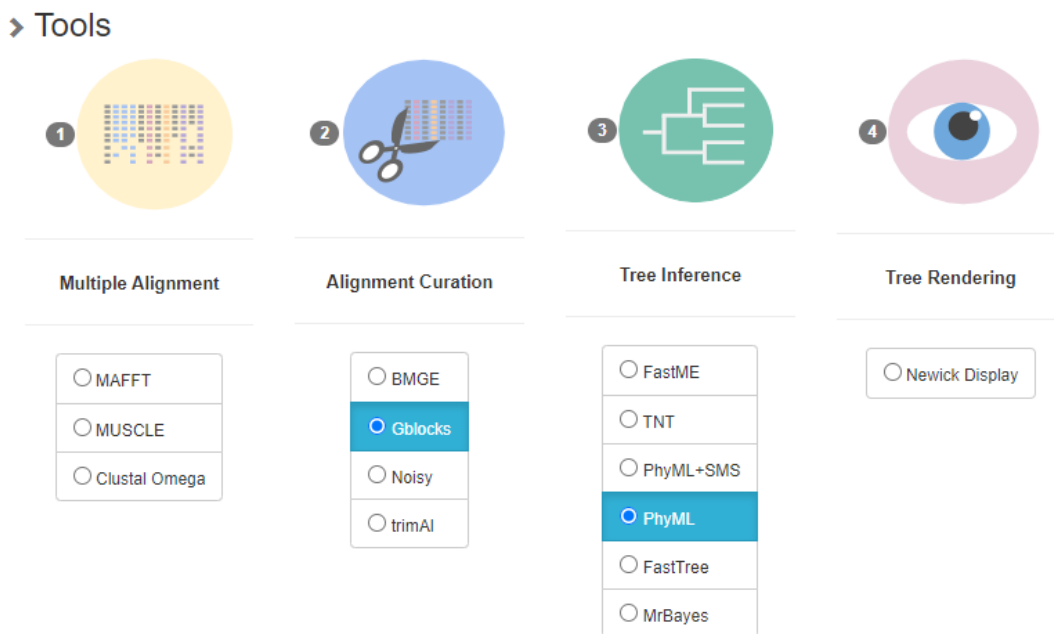
### 8.1.2. Gblocks

Un programme informatique qui élimine les positions mal alignées et les régions divergentes d'un alignement de séquences d'ADN ou de protéines. Ces positions peuvent ne pas être homologues ou avoir été saturées par de multiples substitutions et il est commode de les éliminer avant l'analyse phylogénétique. L'utilisation d'un programme Gblocks rend l'automatisation de l'analyse phylogénétique de grands ensembles de données et, facilite la reproduction des alignements et l'analyse phylogénétique subséquente par d'autres chercheurs. Le programme est disponible gratuitement pour Macintosh, Windows et certains ordinateurs <https://ngphylogeny.fr>.

## 9. Construction d'un arbre phylogénétique

Après l'alignement des séquences ont été téléchargées sur la plateforme NGphylogeny, doit être nettoyé les séquences par Gblocks, c'est une méthode le plus utilisée dans l'alignement des séquences nucléotidiques qui éliminé les résidus excès et convertie l'ADN à protéine pour supprimé les codants stop situé au centre de la chaîne protéique.

Ensuit, la construction de l'arbre, choisir deux formes d'inférence de l'arbre (par exemple : phyML et MrBayes), et l'ensemble des séquences est lancé pour construire un arbre phylogénétique (Figure 4).



**Figure 4:** Outil Gblocks et l'arbre PhyloML sur le service web NGphylogeny

## 10. Délimitation des espèces

La délimitation des espèces moléculaires a été réalisée par plusieurs méthodes différentes :

**Tableau 1:** Méthodes de la délimitation des espèces

| <b>Méthode de la délimitation</b> | <b>Caractéristique</b>   |
|-----------------------------------|--|
| BINs                              | Outil sur le serveur BOLDsystem<br>Faire une délimitation morphologique                |
| ABGD                              | Basée sur la distance (Puillandre et al., 2012).<br>Utilisation des séquences alignées |
| ASAP                              | Basée sur la distance (Puillandre et al., 2021).<br>Utilisation des séquences alignées |
| bPTP                              | Basée sur un arbre phylogénétique PhylBays<br>(Zhang et al., 2013).                    |
| mPTP                              | Basée sur un arbre phylogénétique PhylML<br>(Kapli et al., 2017).                      |

# **Chapitre 02:**

## **Résultats et Discussion**

## Chapitre 02: Résultats et Discussion

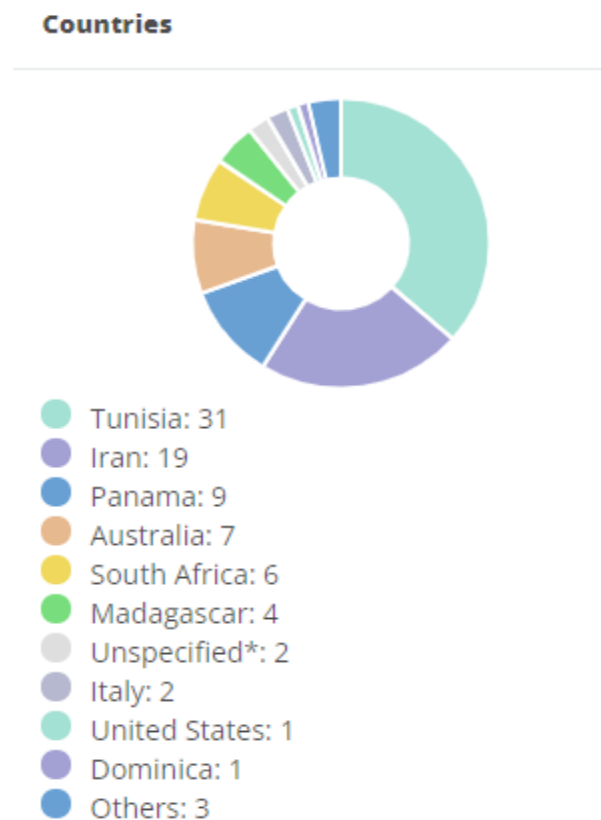
Ce chapitre présente les résultats et les discussions de l'étude, qui visent à estimer le genre *Ectomyelois* en utilisant une approche phylogénétique et à délimiter les espèces à l'aide de méthodes de délimitation.

### 11. Résultats

Les séquences d'ADN du genre *Ectomyelois* téléchargées à partir de bases de données ont été étudiées à l'aide d'outils bioinformatiques.

#### 11.1. Analyse systématique

Au total, 85 séquences appartenant à 4 espèces de divers pays ont été collectées dans les bases de données (BOLDsystem). Le résultat est le suivant (Figure 5) :



**Figure 5** : Analyse systématique du genre *Ectomyelois* dans la plateforme BOLDsystem

Après avoir téléchargé les séquences à partir du système BOLD par le biais des données publiques, 85 séquences ont été identifiées. Cependant, dans les BIN, 116 séquences ont été trouvées, ce qui suggère la possibilité d'une erreur dans l'étude morphologique de certaines séquences.

### 11.1.1. Collection et vérification des séquences

L'identification des toutes les 116 séquences de genre *Ectomyelois* sur BLAST, nous avons trouvé qu'il y a des séquences mal identifiées. Par exemple, Il convient de noter ici que nous avons trouvé une séquence enregistrée comme espèce sous le nom de l'ordre des *Lepidoptera*, alors qu'après la vérification dans l'outil d'identification sur BLAST, nous avons confirmé qu'il s'agit d'une espèce très loin qui est *E. muriscis* 98.78% (Figure 6).

| Description  | Scientific Name      | Max Score | Total Score | Query Cover | E value | Per Ident | Acc. Len | Accession  |
|--|----------------------|-----------|-------------|-------------|---------|-----------|----------|------------|
| Lepidoptera sp. BOLD:AAH5480 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial                 | Lepidoptera sp...    | 1171      | 1171        | 100%        | 0.0     | 98.78%    | 658      | GU700626.1 |
| Ectomyelois muriscis voucher SG-BCISP-8040 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial   | Ectomyelois muriscis | 1166      | 1166        | 100%        | 0.0     | 98.63%    | 658      | MK768535.1 |
| Ectomyelois muriscis voucher SG-BCISP-8177 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial   | Ectomyelois muriscis | 1160      | 1160        | 100%        | 0.0     | 98.48%    | 658      | MK759268.1 |
| Lepidoptera sp. BOLD:AAH5480 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial                 | Lepidoptera sp...    | 1160      | 1160        | 100%        | 0.0     | 98.48%    | 658      | GU700245.1 |
| Ectomyelois muriscis voucher SG-BCISP-8209 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial   | Ectomyelois muriscis | 1155      | 1155        | 100%        | 0.0     | 98.33%    | 658      | MK758309.1 |
| Pyralidae sp. SG-BCISP-475 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial                   | Pyralidae sp. SG...  | 944       | 944         | 100%        | 0.0     | 92.55%    | 658      | MK767193.1 |
| Pyralidae sp. SG-BCISP-6858 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial                  | Pyralidae sp. SG...  | 944       | 944         | 100%        | 0.0     | 92.55%    | 658      | MK767156.1 |
| Monochroa lucidella voucher TLMF Lep 22246 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial   | Monochroa lucidella  | 893       | 893         | 99%         | 0.0     | 91.17%    | 658      | MN805655.1 |
| Monochroa lucidella voucher BC ZSM Lep 61902 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds, mitochondrial | Monochroa lucidella  | 889       | 889         | 99%         | 0.0     | 91.02%    | 658      | MN805393.1 |

**Figure 6 :** Exemple sur le résultat d'outil d'identification sur BLAST

Afin de confirmer l'identification des 116 séquences du genre *Ectomyelois*, trois séquences suspectes ont été éliminées, ne laissant que 113 séquences qui semblent clairement identifiées. Ces séquences sont présentées dans le tableau ci-dessous avec leur taxonomie (Tableau 2).

**Tableau 2:** Le nombre des séquences avant et après l'identification sur BLAST

| Les espèces           | BOLDsystem | BLAST |
|-----------------------|------------|-------|
| <i>E. ceratoniae</i>  | 101        | 100   |
| <i>E. muriscis</i>    | 11         | 11    |
| <i>E. sp. RD-2016</i> | 1          | 1     |
| <i>E. zeteki</i>      | 4          | 2     |



Une seule séquence a été choisie comme out-group d'un genre déférent de la famille des *Pyralidae*, à savoir *M. pectinicornella* du genre *Mussidia*. Ce genre est le plus proche du genre *Ectomyelois*, pour enraciner l'arbre.

L'alignement multiple et l'affinement ont montré que les séquences diffèrent dans leur structure primaire et dans leur longueur. Ces résultats indiquent la présence de lacunes dans les différentes séquences alignées.

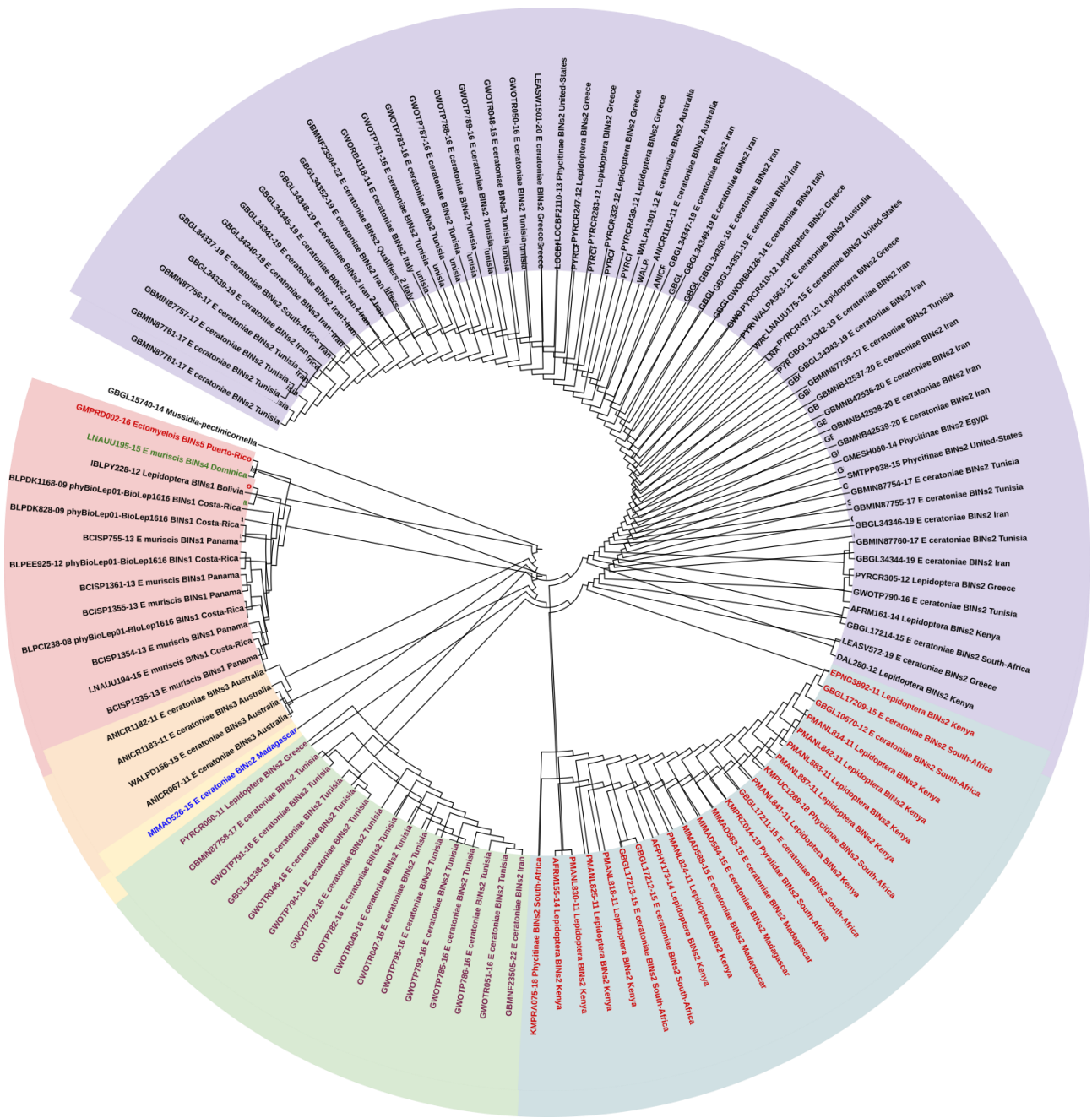
## **12.2. Analyse phylogénétique**

### **11.2.1. Construction de la phylogénie du genre *Ectomyelois***

L'analyse des séquences COI par l'approche phylogénétique permettra de construire un arbre phylogénétique qui pourrait aider à comprendre les relations évolutives entre les différentes espèces d'*Ectomyelois*. En particulier, cet arbre pourrait révéler les relations entre les espèces qui ne sont pas évidentes à partir de la morphologie des organismes.

La construction d'un arbre phylogénétique dérivé de toutes les données nucléiques collectées après confirmation sur l'outil d'identification BLAST.

L'arbre phylogénétique ML et MrBayes a été reconstruit par le site web NGphylogeny (Junier et al., 2010 ; Guindon et al., 2010 ; Lemoine et al., 2018 ; Lemoine et al., 2019). L'arbre phylogénétique est réalisé avec l'algorithme ML avec le site NGphylogeny (Figure 7) on a constaté que les clades sont différents à l'arbre phylogénétique est réalisé avec l'algorithme MrBayes ( Annexe 5) .



**Figure 7:** Arbre du code-barres COI du genre *Ectomyelois* selon la méthode du maximum de vraisemblanceML. Les nombres sur les branches représentent le support bootstrap. L'arbre est en raciné sur *M. pectinicornella* comme out-groupe.

### 1.2.2. Résultat de la délimitation

Les résultats attendus pour l'étude de la révision du genre *Ectomyelois* morphologiquement et génétiquement en utilisant les différentes approches bioinformatiques (BINs disponibles sur BOLDsystems, mPTP, ASAP, ABGD, bPTP) sont les suivants :

Les 113 séquences de 4 espèces ciblées dans cette étude et la méthode de délimitation des espèces mPTP montrent que l'arbre est divisé en 6 groupes principaux. En revanche, la méthode de délimitation des espèces proposée par la base de données BOLD montre une division des séquences en 5 groupes (BIN), et la méthode de délimitation des espèces ASAP a regroupé les séquences en 10 partitions selon les scores (Annexe 6), nous avons choisi les trois scores faibles, le premier donne 3 groupes, le deuxième donne 2 groupes et le troisième donne 4 groupes. La méthode de délimitation des espèces ABGD a ensuite regroupé les séquences en 10 partitions (Annexe 4), on a choisie 2 partitions, la première collecté les séquences en 3 groupes et la deuxième collecté en 4 groupes.

Par contre, la méthode de délimitation des espèces bPTP montrent que l'arbre est divisé les séquences en 5 groupes.

#### 11.2.2.1. Résultat du la méthode mPTP

##### Species 1:

GMPRD002-16\_Ectomyelois\_BINs5\_Puerto-Rico

##### Species 2:

LNAUU195-15\_E\_muriscis\_BINs4\_Dominica

##### Species 3:

ANICR1183-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

ANICR067-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

WALPD156-15\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

##### Species 4:

ANICR1182-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

##### Species 5:

KMPRA075-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa

DAL280-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

LEASV572-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece

PYRCR060-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece

GWOTP792-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia

GWOTP782-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR049-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR047-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP795-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP793-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP785-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP786-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMNF23505-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GWOTR051-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP791-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87758-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP794-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR046-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34338-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
AFRM161-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
GBGL17214-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GWOTP790-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
PYRCR305-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GBMIN87760-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34344-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87755-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87754-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
SMTTP038-15\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
GMESH060-14\_Phycitinae\_BINs2\_Egypt  
GBMNB42539-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42538-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42536-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42537-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87759-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34343-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34342-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
PYRCR437-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LNAUU175-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_United-States  
WALPA563-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia

PYRCR410-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GWORB4126-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBGL34351-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34350-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34349-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34347-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
ANICR1181-11\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
WALPA1901-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
PYRCR439-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR332-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR283-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR247-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LOCBF2110-13\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
LEASW1501-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece  
GWOTR050-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR048-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP789-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP788-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP787-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP783-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP781-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWORB4118-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBMNF23504-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Qualifiers  
GBGL34352-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34348-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34345-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34341-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34340-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34337-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL34339-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87756-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87761-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87757-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34346-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran

MIMAD526-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
PMANL825-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL830-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
AFRM155-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL818-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
AFPHY173-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL824-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
MIMAD588-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
MIMAD584-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
MIMAD583-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
KMPRZ014-19\_Pyralidae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17211-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
PMANL841-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
KMPUC1289-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa  
PMANL887-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL883-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL842-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL814-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
GBGL10670-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
EPNG3892-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
GBGL17209-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17212-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17213-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

**Species 6:**

IBLPY228-12\_Lepidoptera\_BINs1\_Bolivia  
BLPDK1168-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BCISP755-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
BLPDK828-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BLPCI238-08\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BCISP1354-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
BCISP1335-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
LNAUU194-15\_E\_muriscis\_BINs1\_Costa-Rica  
BLPEE925-12\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BCISP1355-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

BCISP1361-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

**11.2.2.2. Résultat du la méthode ASAP**

Parmi les dix partitions analysées, nous avons trouvé trois partitions ayant le même score (Tableau 3).

**Tableau 3** : Les différents résultats d'une méthode de délimitation ASAP

| <b>Partition ASAP 1</b>            | <b>Partition ASAP 2</b>            | <b>Partition ASAP 3</b>          |
|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| <b>Groupe [ 1 ] n: 100</b>         | <b>Groupe [ 1 ] n: 100</b>         | <b>Groupe [ 1 ] n: 4</b>         |
| ANICR1182-                         | ANICR1182-                         | ANICR1182-                       |
| 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia  |
| ANICR067-                          | ANICR067-                          | ANICR067-                        |
| 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia  |
| ANICR1183-                         | ANICR1183-                         | ANICR1183-                       |
| 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 11_E_ceratoniae_BINs3_Australia  |
| WALPD156-                          | WALPD156-                          | WALPD156-                        |
| 15_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 15_E_ceratoniae_BINs3_Australia    | 15_E_ceratoniae_BINs3_Australia  |
| KMPRA075-                          | KMPRA075-                          | <b>Groupe [ 2 ] n: 11</b>        |
| 18_Phycitinae_BINs2_South Africa   | 18_Phycitinae_BINs2_South Africa   | IBLPY228-                        |
| AFRM161-                           | AFRM161-                           | 12_Lepidoptera_BINs1_Bolivia     |
| 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | BCISP755-                        |
| DAL280-12_Lepidoptera_BINs2_Kenya  | DAL280-12_Lepidoptera_BINs2_Kenya  | 13_E_muriscis_BINs1_Panama       |
| PMANL818-                          | PMANL818-                          | BLPDK828-09_phyBioLep01          |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | BioLep1616_BINs1_Costa Rica      |
| EPNG3892-                          | EPNG3892-                          | BLPDK1168-09_phyBioLep01         |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | BioLep1616_BINs1_Costa Rica      |
| GBGL10670-                         | GBGL10670-                         | BCISP1335-                       |
| 12_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | 12_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | 13_E_muriscis_BINs1_Panama       |
| PMANL814-                          | PMANL814-                          | BCISP1354-                       |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 13_E_muriscis_BINs1_Panama       |
| PMANL842-                          | PMANL842-                          | BLPCI238-08_phyBioLep01          |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | BioLep1616_BINs1_Costa Rica      |
| PMANL883-                          | PMANL883-                          | LNAUU194-                        |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 15_E_muriscis_BINs1_Costa Rica   |
| PMANL887-                          | PMANL887-                          | BCISP1355-                       |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 13_E_muriscis_BINs1_Panama       |
| KMPUC1289-                         | KMPUC1289-                         | BLPEE925-12_phyBioLep01          |
| 18_Phycitinae_BINs2_South Africa   | 18_Phycitinae_BINs2_South Africa   | BioLep1616_BINs1_Costa Rica      |
| PMANL830-                          | PMANL830-                          | BCISP1361-                       |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 13_E_muriscis_BINs1_Panama       |
| PMANL841-                          | PMANL841-                          | <b>Groupe [ 3 ] n: 96</b>        |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya         | KMPRA075-                        |
| GBGL17212-                         | GBGL17212-                         | 18_Phycitinae_BINs2_South Africa |

|  |  |  |
|--|--|--|
| 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GBGL17213-                               | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GBGL17213-                               | AFRM161-   |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>AFRM155-                                 | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>AFRM155-                                 | 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>DAL280-12_Lepidoptera_BINs2_Kenya                |
| 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>MIMAD526-  | 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>MIMAD526-  | PMANL818-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL825-                                  | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL825-                                  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>EPNG3892-  |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17211-                                       | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17211-                                       | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL10670-                                       |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>KMPRZ014-19_Pyralidae_BINs2_South Africa | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>KMPRZ014-19_Pyralidae_BINs2_South Africa | 12_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>PMANL814-                                |
| MIMAD583-  | MIMAD583-  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>PMANL842-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD584-                                  | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD584-                                  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>PMANL883-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD588-                                  | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD588-                                  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>PMANL887-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL824-                                  | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL824-                                  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>KMPUC1289-                                       |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>AFPHY173-  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>AFPHY173-  | 18_Phycitinae_BINs2_South Africa<br>PMANL830-                                  |
| 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17209-                                       | 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17209-                                       | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>PMANL841-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GWOTP790-                                | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GWOTP790-                                | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17212-                                       |
| 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>PYRCR060-                                     | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>PYRCR060-                                     | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GBGL17213-                               |
| 11_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>LEASV572-                                       | 11_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>LEASV572-                                       | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>AFRM155-                                 |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Greece<br>GBGL17214-                                     | 19_E_ceratoniae_BINs2_Greece<br>GBGL17214-                                     | 14_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>MIMAD526-  |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GBMIN87760-                              | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>GBMIN87760-                              | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL825-                                  |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>PYRCR305-                                     | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>PYRCR305-                                     | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya<br>GBGL17211-                                       |
| 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>GBGL34344-                                      | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>GBGL34344-                                      | 15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa<br>KMPRZ014-19_Pyralidae_BINs2_South Africa |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34346-                                       | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34346-                                       | Africa<br>MIMAD583-  |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMIN87761-                                      | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMIN87761-                                      | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD584-                                  |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87756-                                   | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87756-                                   | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>MIMAD588-                                  |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia  | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia  | 15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar<br>PMANL824-                                  |
|  |  | 11_Lepidoptera_BINs2_Kenya   |



|  |  |  |
|--|--|--|
| GBGL34339-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34339-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | AFPHY173-<br>14_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| GBGL34337-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GBGL34337-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GBGL17209-<br>15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL34340-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34340-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GWOTP790-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GBGL34341-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34341-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | PYRCR060-<br>11_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| GBGL34345-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34345-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | LEASV572-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Greece        |
| GBGL34348-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34348-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL17214-<br>15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL34352-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34352-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBMIN87760-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMNF23504-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Qualifiers  | GBMNF23504-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Qualifiers  | PYRCR305-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| GWORB4118-<br>14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        | GWORB4118-<br>14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        | GBGL34344-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GWOTP781-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP781-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34346-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GWOTP783-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP783-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBMIN87761-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GWOTP787-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP787-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBMIN87756-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GWOTP788-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP788-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34339-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GWOTP789-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP789-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34337-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GWOTR048-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTR048-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34340-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GWOTR050-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTR050-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34341-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| LEASW1501-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Greece       | LEASW1501-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Greece       | GBGL34345-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| LOCBF2110-<br>13_Phycitinae_BINs2_United States  | LOCBF2110-<br>13_Phycitinae_BINs2_United States  | GBGL34348-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| PYRCR247-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR247-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GBGL34352-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| PYRCR283-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR283-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GBMNF23504-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Qualifiers  |
| PYRCR332-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR332-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GWORB4118-<br>14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        |
| PYRCR439-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR439-<br>12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GWOTP781-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| WALPA1901-                                       | WALPA1901-                                       | GWOTP783-  |

|  |  |  |
|--|--|--|
| 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>ANICR1181-    | 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>ANICR1181-    | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP787-       |
| 11_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>GBGL34347-    | 11_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>GBGL34347-    | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP788-       |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34349-         | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34349-         | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP789-       |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34350-         | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34350-         | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR048-       |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34351-         | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34351-         | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR050-       |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWORB4126-         | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWORB4126-         | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>LEASW1501-      |
| 14_E_ceratoniae_BINs2_Italy<br>PYRCR410-         | 14_E_ceratoniae_BINs2_Italy<br>PYRCR410-         | 20_E_ceratoniae_BINs2_Greece<br>LOCBF2110-       |
| 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>WALPA563-         | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>WALPA563-         | 13_Phycitinae_BINs2_United States<br>PYRCR247-   |
| 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>LNAUU175-     | 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>LNAUU175-     | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>PYRCR283-         |
| 15_E_ceratoniae_BINs2_United States<br>PYRCR437- | 15_E_ceratoniae_BINs2_United States<br>PYRCR437- | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>PYRCR332-         |
| 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>GBGL34342-        | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>GBGL34342-        | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>PYRCR439-         |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34343-         | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34343-         | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>WALPA1901-        |
| 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMIN87759-        | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMIN87759-        | 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>ANICR1181-    |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMNB42537-     | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMNB42537-     | 11_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>GBGL34347-    |
| 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42536-        | 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42536-        | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34349-         |
| 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42538-        | 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42538-        | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34350-         |
| 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42539-        | 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42539-        | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34351-         |
| 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GMESH060-          | 20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GMESH060-          | 19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWORB4126-         |
| 14_Phycitinae_BINs2_Egypt<br>SMTTP038-           | 14_Phycitinae_BINs2_Egypt<br>SMTTP038-           | 14_E_ceratoniae_BINs2_Italy<br>PYRCR410-         |
| 15_Phycitinae_BINs2_United States<br>GBMIN87754- | 15_Phycitinae_BINs2_United States<br>GBMIN87754- | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece<br>WALPA563-         |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87755-     | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87755-     | 12_E_ceratoniae_BINs2_Australia<br>LNAUU175-     |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87757-     | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87757-     | 15_E_ceratoniae_BINs2_United States<br>PYRCR437- |
| 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia                    | 17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia                    | 12_Lepidoptera_BINs2_Greece                      |

|  |  |   |
|--|--|---|
| GBMNF23505-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWOTP786-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBGL34338-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP791-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87758-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP794-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR046-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP785-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP793-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP795-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR047-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR049-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP782-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP792-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR051-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br><b>Groupe [ 2 ] n: 11</b><br>IBLPY228-<br>12_Lepidoptera_BINs1_Bolivia<br>BCISP755-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPDK828-09_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BLPDK1168-09_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1335-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BCISP1354-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPCI238-08_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica | GBMNF23505-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWOTP786-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBGL34338-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP791-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87758-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP794-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR046-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP785-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP793-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP795-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR047-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR049-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP782-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP792-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR051-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br><b>Groupe [ 2 ] n: 11</b><br>IBLPY228-<br>12_Lepidoptera_BINs1_Bolivia<br>BCISP755-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPDK828-09_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BLPDK1168-09_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1335-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BCISP1354-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPCI238-08_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica | GBGL34342-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBGL34343-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMIN87759-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMNB42537-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42536-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42538-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GBMNB42539-<br>20_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GMESH060-<br>14_Phycitinae_BINs2_Egypt<br>SMTTP038-<br>15_Phycitinae_BINs2_United States<br>GBMIN87754-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87755-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87757-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMNF23505-<br>22_E_ceratoniae_BINs2_Iran<br>GWOTP786-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBGL34338-<br>19_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP791-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GBMIN87758-<br>17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP794-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR046-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP785-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP793-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP795-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR047- |
|--|--|---|

|   |   |   |
|---|---|---|
| LNAUU194-<br>15_E_muriscis_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1355-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPEE925-12_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1361-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br><b>Groupe [ 3 ] n: 2</b><br>LNAUU195-<br>15_E_muriscis_BINs4_Dominica<br>GMPRD002-<br>16_Ectomyeloides_BINs5_Puerto Rico | LNAUU194-<br>15_E_muriscis_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1355-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPEE925-12_phyBioLep01<br>BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1361-<br>13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>LNAUU195-<br>15_E_muriscis_BINs4_Dominica<br>GMPRD002-<br>16_Ectomyeloides_BINs5_Puerto Rico | 16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR049-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP782-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTP792-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br>GWOTR051-<br>16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia<br><b>Groupe [ 4 ] n: 2</b><br>LNAUU195-<br>15_E_muriscis_BINs4_Dominica<br>GMPRD002-<br>16_Ectomyeloides_BINs5_Puerto Rico |
|---|---|---|

### 11.2.2.3 Résultat de la méthode ABGD

Parmi les dix partitions analysées, nous avons trouvé deux partitions ayant le même score (Tableau 4).

**Tableau 4 :** Les différents résultats d'une méthode de délimitation ABGD

| Partition ABGD 1   | Partition ABGD 2   |
|--|--|
| <b>Groupe [ 1 ] n: 4</b><br>ANICR1182-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>ANICR067-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>ANICR1183-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>WALPD156-15_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br><b>Groupe [ 2 ] n: 11</b><br>IBLPY228-12_Lepidoptera_BINs1_Bolivia<br>BCISP755-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPDK828-09_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BLPDK1168-09_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1335-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BCISP1354-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPCI238-08_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>LNAUU194-15_E_muriscis_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1355-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPEE925-12_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1361-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br><b>Groupe [ 3 ] n: 96</b> | <b>Groupe [ 1 ] n: 11</b><br>IBLPY228-12_Lepidoptera_BINs1_Bolivia<br>BCISP755-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPDK828-09_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BLPDK1168-09_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1335-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BCISP1354-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPCI238-08_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>LNAUU194-15_E_muriscis_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1355-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br>BLPEE925-12_phyBioLep01 BioLep1616_BINs1_Costa Rica<br>BCISP1361-13_E_muriscis_BINs1_Panama<br><b>Groupe [ 2 ] n: 100</b><br>ANICR1182-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>ANICR067-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>ANICR1183-11_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>WALPD156-15_E_ceratoniae_BINs3_Australia<br>KMPRA075-18_Phycitinae_BINs2_South Africa |

|  |  |
|--|--|
| KMPRA075-18_Phycitinae_BINs2_South Africa    | AFRM161-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya           |
| AFRM161-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya           | DAL280-12_Lepidoptera_BINs2_Kenya            |
| DAL280-12_Lepidoptera_BINs2_Kenya            | PMANL818-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL818-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | EPNG3892-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| EPNG3892-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | GBGL10670-12_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL10670-12_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | PMANL814-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL814-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | PMANL842-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL842-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | PMANL883-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL883-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | PMANL887-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL887-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | KMPUC1289-18_Phycitinae_BINs2_South Africa   |
| KMPUC1289-18_Phycitinae_BINs2_South Africa   | PMANL830-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL830-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | PMANL841-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL841-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | GBGL17212-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL17212-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GBGL17213-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL17213-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | AFRM155-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya           |
| AFRM155-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya           | MIMAD526-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    |
| MIMAD526-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    | PMANL825-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL825-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | GBGL17211-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL17211-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | KMPRZ014-19_Pyalidae_BINs2_South Africa      |
| KMPRZ014-19_Pyalidae_BINs2_South Africa      | MIMAD583-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    |
| MIMAD583-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    | MIMAD584-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    |
| MIMAD584-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    | MIMAD588-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    |
| MIMAD588-15_E_ceratoniae_BINs2_Madagascar    | PMANL824-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| PMANL824-11_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | AFPHY173-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya          |
| AFPHY173-14_Lepidoptera_BINs2_Kenya          | GBGL17209-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL17209-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GWOTP790-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP790-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | PYRCR060-11_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR060-11_Lepidoptera_BINs2_Greece         | LEASV572-19_E_ceratoniae_BINs2_Greece        |
| LEASV572-19_E_ceratoniae_BINs2_Greece        | GBGL17214-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL17214-15_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GBMIN87760-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87760-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | PYRCR305-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR305-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GBGL34344-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34344-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34346-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34346-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBMIN87761-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87761-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBMIN87756-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87756-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBGL34339-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34339-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34337-19_E_ceratoniae_BINs2_South Africa |
| GBGL34337-19_E_ceratoniae_BINs2_South Africa | GBGL34340-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34340-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34341-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34341-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34345-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34345-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34348-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34348-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34352-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34352-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBMNF23504-22_E_ceratoniae_BINs2_Qualifiers  |
| GBMNF23504-22_E_ceratoniae_BINs2_Qualifiers  | GWORB4118-14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        |
| GWORB4118-14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        | GWOTP781-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |

|  |  |
|--|--|
| GWOTP781-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP783-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP783-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP787-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP787-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP788-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP788-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP789-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP789-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTR048-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTR048-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTR050-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTR050-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | LEASW1501-20_E_ceratoniae_BINs2_Greece       |
| LEASW1501-20_E_ceratoniae_BINs2_Greece       | LOCBF2110-13_Phycitinae_BINs2_United States  |
| LOCBF2110-13_Phycitinae_BINs2_United States  | PYRCR247-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR247-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR283-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR283-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR332-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR332-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | PYRCR439-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR439-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | WALPA1901-12_E_ceratoniae_BINs2_Australia    |
| WALPA1901-12_E_ceratoniae_BINs2_Australia    | ANICR1181-11_E_ceratoniae_BINs2_Australia    |
| ANICR1181-11_E_ceratoniae_BINs2_Australia    | GBGL34347-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34347-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34349-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34349-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34350-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34350-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34351-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34351-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GWORB4126-14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        |
| GWORB4126-14_E_ceratoniae_BINs2_Italy        | PYRCR410-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR410-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | WALPA563-12_E_ceratoniae_BINs2_Australia     |
| WALPA563-12_E_ceratoniae_BINs2_Australia     | LNAUU175-15_E_ceratoniae_BINs2_United States |
| LNAUU175-15_E_ceratoniae_BINs2_United States | PYRCR437-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         |
| PYRCR437-12_Lepidoptera_BINs2_Greece         | GBGL34342-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34342-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBGL34343-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         |
| GBGL34343-19_E_ceratoniae_BINs2_Iran         | GBMIN87759-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87759-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBMNB42537-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        |
| GBMNB42537-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        | GBMNB42536-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        |
| GBMNB42536-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        | GBMNB42538-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        |
| GBMNB42538-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        | GBMNB42539-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        |
| GBMNB42539-20_E_ceratoniae_BINs2_Iran        | GMESH060-14_Phycitinae_BINs2_Egypt           |
| GMESH060-14_Phycitinae_BINs2_Egypt           | SMTTP038-15_Phycitinae_BINs2_United States   |
| SMTTP038-15_Phycitinae_BINs2_United States   | GBMIN87754-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87754-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBMIN87755-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87755-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBMIN87757-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87757-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GBMNF23505-22_E_ceratoniae_BINs2_Iran        |
| GBMNF23505-22_E_ceratoniae_BINs2_Iran        | GWOTP786-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP786-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBGL34338-19_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GBGL34338-19_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTP791-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP791-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GBMIN87758-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     |
| GBMIN87758-17_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia     | GWOTP794-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP794-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTR046-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTR046-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP785-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP785-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP793-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP793-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       | GWOTP795-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |
| GWOTP795-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia       |  |

|   |   |
|---|---|
| GWOTP795-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTR047-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GWOTR047-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTR049-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GWOTR049-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTP782-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GWOTP782-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTP792-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GWOTP792-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | GWOTR051-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      |
| GWOTR051-16_E_ceratoniae_BINs2_Tunisia      | <b>Groupe [ 3 ] n: 2</b>                    |
| <b>Groupe [ 4 ] n: 2</b>                    | LNAUU195-15_E_muriscis_BINs4_Dominica       |
| LNAUU195-15_E_muriscis_BINs4_Dominica       | GMPRD002-16_Ectomyeloides_BINs5_Puerto Rico |
| GMPRD002-16_Ectomyeloides_BINs5_Puerto Rico |   |
| Ns5_Puerto Rico                             |   |

#### 11.2.2.4. Résultat de la méthode bPTP

##### Species 1 :

IBLPY228-12\_Lepidoptera\_BINs1\_Bolivia  
 BLPDK1168-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
 BLPDK828-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
 BCISP755-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
 BLPEE925-12\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
 BCISP1361-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
 BCISP1355-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
 BLPCI238-08\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
 BCISP1354-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama  
 LNAUU194-15\_E\_muriscis\_BINs1\_Costa-Rica  
 BCISP1335-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

##### Species 2:

GMPRD002-16\_Ectomyeloides\_BINs5\_Puerto-Rico

##### Species 3:

LNAUU195-15\_E\_muriscis\_BINs4\_Dominica

##### Species 4:

ANICR1182-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

##### Species 5:

KMPRA075-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa  
 MIMAD526-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
 PMANL825-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
 AFRM155-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
 PMANL830-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL818-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
GBGL17213-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17212-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
AFPHY173-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL824-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
MIMAD588-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
MIMAD584-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
MIMAD583-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar  
KMPRZ014-19\_Pyralidae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17211-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
PMANL841-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
KMPUC1289-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa  
PMANL887-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL883-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL842-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PMANL814-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
GBGL10670-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL17209-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
EPNG3892-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
DAL280-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
LEASV572-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece  
GBGL17214-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
AFRM161-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PYRCR060-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GBMIN87758-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP791-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34338-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR046-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP794-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP792-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP782-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR049-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR047-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP795-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia



GWOTP793-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP785-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP786-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR051-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMNF23505-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GWOTP790-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
PYRCR305-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GBGL34344-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87760-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34346-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87755-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87754-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
SMTTP038-15\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
GMESH060-14\_Phycitinae\_BINs2\_Egypt  
GBMNB42539-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42538-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42536-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42537-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87759-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34343-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34342-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
PYRCR437-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LNAUU175-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_United-States  
WALPA563-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
PYRCR410-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GWORB4126-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBGL34351-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34350-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34349-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34347-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
ANICR1181-11\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
WALPA1901-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
PYRCR439-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR332-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece

PYRCR283-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR247-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LOCBF2110-13\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
LEASW1501-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece  
GWOTR050-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR048-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP789-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP788-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP787-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP783-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP781-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWORB4118-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBMNF23504-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Qualifiers  
GBGL34352-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34348-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34345-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34341-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34340-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34337-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
GBGL34339-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87756-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87757-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87761-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia

**Species 6:**

ANICR1183-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia  
WALPD156-15\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia  
ANICR067-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

**11.2.2.5. Résultat de la méthode BINs** (Résultats modifiables pour la poursuite des études scientifiques) :

**Species 1:**

IBLPY228-12\_Lepidoptera\_BINs1\_Bolivia  
BLPDK1168-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BLPDK828-09\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica  
BCISP755-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

BLPEE925-12\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica

BCISP1361-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

BCISP1355-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

BLPCI238-08\_phyBioLep01-BioLep1616\_BINs1\_Costa-Rica

BCISP1354-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

LNAUU194-15\_E\_muriscis\_BINs1\_Costa-Rica

BCISP1335-13\_E\_muriscis\_BINs1\_Panama

**Species 2:**

GMPRD002-16\_Ectomyeloides\_BINs5\_Puerto-Rico

**Species 3:**

LNAUU195-15\_E\_muriscis\_BINs4\_Dominica

**Species 4:**

KMPRA075-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa

MIMAD526-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar

PMANL825-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

AFRM155-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL830-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL818-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

GBGL17213-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

GBGL17212-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

AFPHY173-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL824-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

MIMAD588-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar

MIMAD584-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar

MIMAD583-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar

KMPRZ014-19\_Pyalidae\_BINs2\_South-Africa

GBGL17211-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

PMANL841-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

KMPUC1289-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa

PMANL887-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL883-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL842-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

PMANL814-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya

GBGL10670-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

GBGL17209-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
EPNG3892-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
DAL280-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
LEASV572-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece  
GBGL17214-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa  
AFRM161-14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya  
PYRCR060-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GBMIN87758-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP791-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34338-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR046-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP794-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP792-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP782-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR049-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR047-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP795-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP793-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP785-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP786-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR051-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMNF23505-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GWOTP790-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
PYRCR305-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GBGL34344-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87760-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34346-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87755-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBMIN87754-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
SMTTP038-15\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
GMESH060-14\_Phycitinae\_BINs2\_Egypt  
GBMNB42539-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42538-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMNB42536-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran

GBMNB42537-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBMIN87759-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GBGL34343-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34342-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
PYRCR437-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LNAUU175-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_United-States  
WALPA563-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
PYRCR410-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
GWORB4126-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBGL34351-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34350-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34349-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34347-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
ANICR1181-11\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
WALPA1901-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia  
PYRCR439-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR332-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR283-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
PYRCR247-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece  
LOCBF2110-13\_Phycitinae\_BINs2\_United-States  
LEASW1501-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece  
GWOTR050-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTR048-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP789-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP788-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP787-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP783-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWOTP781-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia  
GWORB4118-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy  
GBMNF23504-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Qualifiers  
GBGL34352-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34348-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34345-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran  
GBGL34341-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran

GBGL34340-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran

GBGL34337-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa

GBGL34339-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran

GBMIN87756-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia

GBMIN87757-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia

GBMIN87761-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia

**Species 5:**

ANICR1182-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

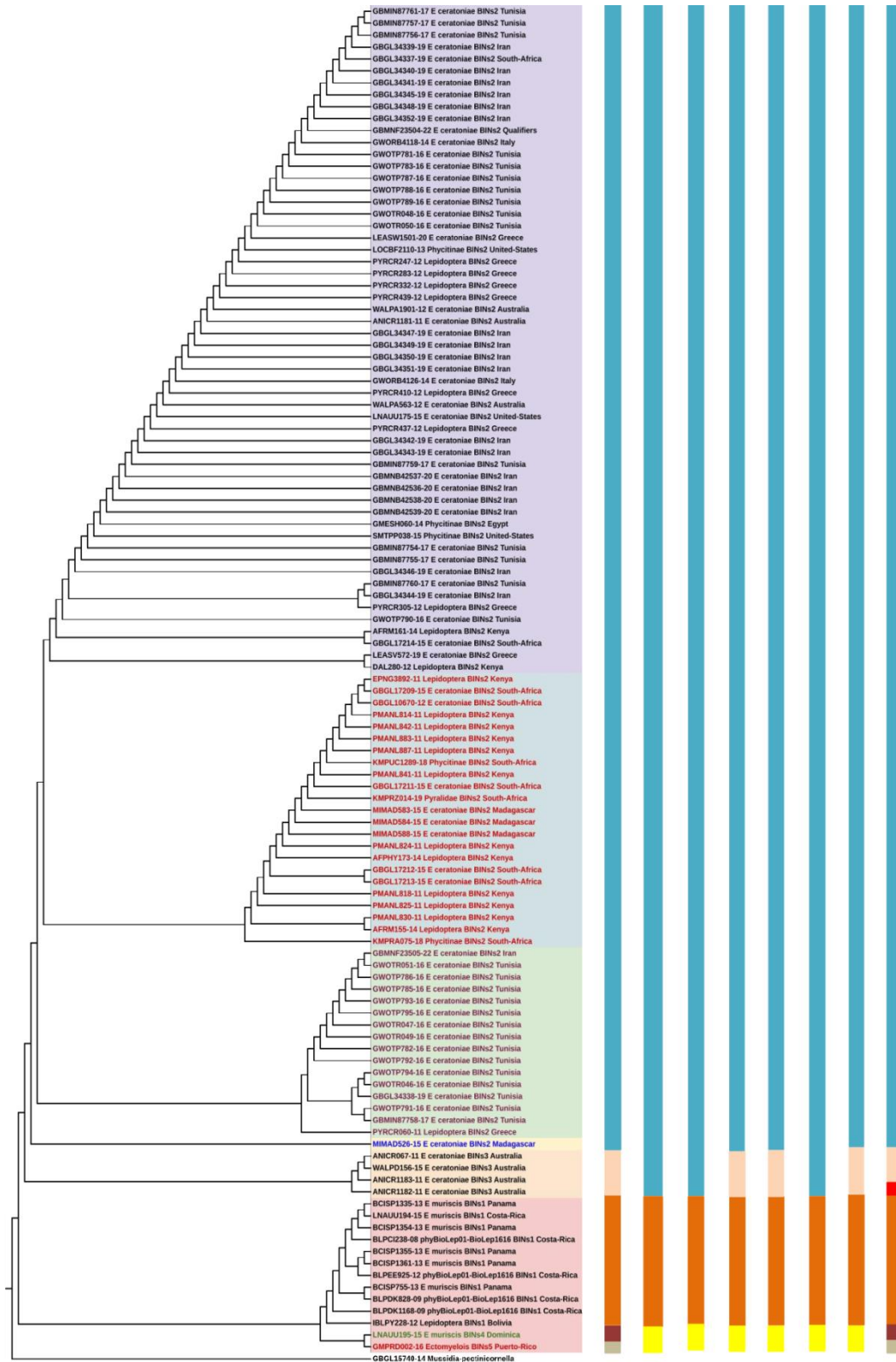
ANICR1183-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

WALPD156-15\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

ANICR067-11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia

**11.2.3. Comparaison entre les méthodes des délimitations et BINs**

Cette étude permettra d'identifier et de délimiter précisément les espèces d'*Ectomyeosis*. Les résultats obtenus pourraient aider à clarifier les limites entre les différentes espèces et à corriger les confusions taxonomiques existantes. Après avoir obtenu les résultats, nous les avons comparés les uns aux autres (Figure 8) :



**Figure 8 :** Analyse comparative de la délimitation des quatre espèces d'Ectomyelois à l'aide de quatre méthodes différentes et comparaison avec les BINs. L'arbre construit par maximum de vraisemblance (ML) sur le serveur web NGphylogeny (Junier et al., 2010 ; Guindon et al., 2010 ; Lemoine et al., 2018 ; Lemoine et al., 2019).

## 12. Discussion

Les analyses bioinformatiques réalisées ont permis d'examiner la richesse spécifique du genre *Ectomyelois* à partir des séquences téléchargées. Les résultats de ces analyses sont discutés ci-dessous.

Cette étude a révélé un nombre important d'espèces putatives non identifiées ayant une importance moléculaire au sein du genre *Ectomyelois*, qui sont positionnées sous différents noms d'ordre ou de famille.

L'apparition de l'espèce *M. pectinicornella*, qui appartient au genre *Mussidia* dans un clade distinct dans toutes les méthodes de délimitation des espèces utilisées (ABGD, mPTP, BINs, bPTP et ASAP), confirme le choix approprié de cette espèce en tant qu'out-group pour l'enracinement des arbres phylogénétiques.

En ce qui concerne les quatre espèces analysées, la délimitation moléculaire a permis de estimer, d'identifier et de délimiter précisément les séquences d'Ectomyelois, corrigeant ainsi l'analyse morphologique précédente.

Concernant mPTP, tout comme dans l'analyse phylogénétique, le premier clade (Groupe 1) est regroupé en un petit groupe de deux séquences représentant une série de deux espèces, *E.muriscis* et une autre inconnue, largement distribuées à Porto Rico et en Dominique. Il est donc possible que ces deux séquences représentent la même espèce en raison de la proximité géographique entre les deux pays. ASAP et ABGD regroupent les séquences de la même manière, tandis que BINs et bPTP divisent le clade en deux groupes distincts.

En ce qui concerne le deuxième clade (Groupe 2), qui comprend 11 séquences représentant une série d'espèces *E.muriscis* et cinq séquences inconnues, largement distribuées au Costa Rica, au Panama et en Bolivie, les mêmes résultats ont été obtenus dans les cinq méthodes de délimitation (mPTP, bPTP, ABGD, ASAP) et les BINs. Il est donc possible que l'espèce inconnue soit également *E.muriscis*.

Enfin, le troisième clade, identifié par mPTP, ASAP 3, ABGD 1 et BINs de *E.ceratoniae* (Groupe 3) représente 4 séquences d'une même espèce réparties en Australie, Cependant, la méthode de délimitation bPTP divise ce clade en deux groupes distincts, ce qui suggère qu'il pourrait y avoir une mutation dans la séquence.



Alors que le ASAP (1 et 2) et ABGD 2 ont montré que le 3ème clade (Groupe 3) regroupait 100 séquences d'*E.ceratoniae*, ainsi que d'autres séquences *Ectomyeloides sp.* réparties dans différents pays (Australie, Madagascar, Grèce, Italie, Tunisie, Kenya, Iran, Afrique du Sud, Égypte et États-Unis).

En fin de compte, les cinq méthodes (mPTP, ASAP 3, ABGD 1, BINs et bPTP) ont montré que les espèces (*E.ceratoniae* et d'autres séquences inconnues) sont regroupées dans un clade (Groupe 4), représentant une série de 96 séquences sœurs. Ces espèces sont réparties dans différentes régions géographiques (Madagascar, Grèce, Italie, Tunisie, Kenya, Iran, Afrique du Sud, Égypte et États-Unis).

Dans l'ensemble des résultats obtenus, les données phylogénétiques et géographiques dans les clades ont montré la présence de différentes lignées génétiques dans plusieurs régions géographiques

Les marqueurs mitochondriaux COI sont un outil précieux pour déterminer l'identité, la structure des populations et l'évolution des espèces. Ils sont donc est efficace pour l'identification moléculaire. Cependant, il est proposé d'utiliser d'autres marqueurs génétiques pour améliorer l'efficacité du code-barre moléculaire dans l'identification et résoudre des problèmes de classification similaires.

# **Conclusion**

---

## Conclusion

L'objectif de cette étude est la mise en évidence de l'effet de la Barcoding moléculaire sur l'amélioration de l'identification moléculaire des espèces et de réviser le genre *Ectomyelois* en utilisant l'approche phylogénétique, la délimitation des espèces et la méthode BIN.

Notre travail a été mené dans le but de construire de l'arbre phylogénétique du genre *Ectomyelois* pour l'identification moléculaire contribuer à la construction d'une base de données (code-barres d'ADN) des 4 espèces qui sont : *E. ceratoniae*, *E. muriscis*, *E. sp. RD-2016* et *E. zeteki*.

Nous avons fait les inférences phylogénétiques, à partir des séquences collectées à BOLDsystems et vérifier et identifier sur BLAST.

Les séquences génétiques ont été alignées à l'aide du programme Muscle dans le logiciel MEGA 11, et nous avons utilisées Gbloks disponible sur site NGphylogeny pour éliminer les positions mal alignées et nettoyées les séquences. L'arbre phylogénétique a été reconstruit à l'aide de site NGphylogeny, grâce à la méthode du PhylML et MrBayes.

En effet, bien que les collectes de ce genre fussent réalisées à cinq méthodes de délimitations des espèces. Ils ont été effectués en ligne via mPTP, bPTP, ABGD, ASAP, et la méthode de délimitations des espèces BINs proposée par la base de données BOLD, les résultats de la délimitation des espèces ASAP (1/2) et ABGD (1) sont presque identiques. Par contre les résultats de la délimitation des espèces BIN, ASAP (3), ABGD (2), mPTP et bPTP sont presque identiques mais différents à les autres méthodes. Cela confirme l'efficacité de ces méthodes et que cet arbre est bien correct.

Le DNA Barcoding permet d'identifier les organismes rapidement qui donnent des résultats faibles des espèces, son utilisation pour limiter les espaces de conservation de la biodiversité, en écologie et en surveillance des écosystèmes, cela nécessite l'utilisation de plusieurs marqueurs moléculaires pour avoir des résultats plus exacts.

Ainsi, cette étude nous a permis de caractériser la richesse spécifique de genre *Ectomyelois* en montrant notamment des résultats un peu différents entre la taxonomie traditionnelle et la taxonomie moléculaire.

La pyrale des dattes nuit à la production fruitière et à la valeur économique car elle réduit la qualité des fruits, mais malheureusement elle n'est pas traitée dans notre pays, bien qu'il existe de nombreux types de pyrale des dattes qui existe en Algérie, nous avons remarqué l'absence de séquences algériennes dans la plateforme BOLDsystem, ce qui signifie qu'aucune étude génétique n'a été menée à ce sujet au niveau de ce genre *Ectomyelois*.

Nous considérons les nouvelles données comme une ressource importante pour les futures études sur ce genre de *Ectomyelois* qui causent des dommages économiques et alimentaires, cela indique que les travaux similaires sont nécessaires pour aborder pleinement la diversité au sein de ce genre d'espèce.

# **Bibliographie**

---

## Bibliographie

**Antoine Harfouche, Richard Meilan, Arie Altman**, 2011, Tree genetic engineering and applications to sustainable forestry and biomass production, Trends in Biotechnology, Volume 29, pp9-17,

**Arif Y.**, 2011. Etude de l'interaction entre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae*

**Balachowsky A.S.** 1972. Entomologie appliquée à l'agriculture. Traité, Tome II - Lépidoptères. (Eds) Massie et Cie, Paris. Pp 1199-1200.

**Barraclough, Tomochika Fujisawa and Timothy G.**, 2013, Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets .pp 1-5

**Bruce Rannala and Ziheng Yang**, 2020, Species Delimitation. In Scornavacca, C., Delsuc, F., and Galtier, N., editors, Phylogenetics in the Genomic Era, chapter No. 5.5, pp. 5.5:1–5.5:18. No commercial publisher | Authors open access book.

**Dhouibi M. H.**, 1989, Biologie et écologie d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) dans deux biotopes différents au sud de la Tunisie et recherches de méthodes alternatives de lutte. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, France.

**Dhouibi M.H.**, 1982, Etude bioécologique d'*ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) dans les zones présahariennes de la Tunisie. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, 164p.

**Doumandji S.**, 1981, Biologie et écologie de la pyrale des caroubes dans de l'Algérie *ectomyelois ceratonia zeller* (lepidoptera, pyralidae). Thèse doctorat d'état. Science, Nature, Université Pierre Et Marie Curie, Paris VI, 145 p.

**Doumandji-mitiche B.**, 1983, Contribution à l'étude bio-écologique des parasites et prédateurs de la pyrale des caroubes *Ectomyeloisceratoniae* en Algérie en vue d'une éventuelle lutte biologique contre ce ravageur. Thèse Doc., Paris, 253 p.

**Dowson W.**, 1982 , Date production, with special reference to North Africa and the Near

**Dubost D.**, 1990, Mutation du système de production oasien en Algérie. Ed CRSTRA. Alger.

- Dyar H. G.**, 1911, Two species of Phycitinae new to our fauna (Lepidoptera; Pyralidae). - Proceedings of the Entomological Society of Washington 13(1):30. East. FAO plant production and protection paper, n°35. FAO. Rome. 245p.
- Edgar, R.C.**, 2004, MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics 5, 11.
- Farris**, 1982, Outgroups And Parsimony », Systematic Biology,, P. 328–334 (Issn 1063-5157, Doi 10.1093/Sysbio/31.3.328)
- Fred ericLemoine ,Damien Correia, Vincent Lefort, Olivia Doppelt-Azeroual,Fabien Mareuil, Sarah Cohen-Boulakia and Olivier Gascuel**, 2019, NGPhylogeny.fr: new generation phylogeneticservices for non-specialists pp:260-265
- Haddou L.**, 2005, Etude comparative enter quinze variétés de dattes et leurs taux infestation par *Ectomylois ceratonie* zeller (lipidopetra : pyralide) dans la région de ouargla. Mémoire d'ingénieur, Agr.sah,Université ,kasdi Mebah,ouragla,70 p.
- Hadjeb, Ayoub &Seghir, Mehaoua& Kamel, Ben Salah &Ismahane, Lebbouz&Ouakid, Mohammed.Laid**, 2017, Effects of The Allelochemical Compounds of the DegletNour Date on The Attractiveness of the Caterpillars of Ectomyelois Ceratoniae (Lepidoptera:Pyralidae). World Journal of Environmental Biosciences. 6. 7-12.
- Hamidechi M. Djekoun A**, 2022, Www.Umc.Edu.Dz. Consulté Le 2022, Sur <https://www.ump.edu.dz/images/docs/20de%20phylogenie%20molculaire.pdf>
- Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemplak TS, Francis CM**, 2004, Identification of birds through DNA barcodes. PLoS Biology
- Idder-Ighili H.**, 2008, Interactions entre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera-Pyralidae) et quelques cultivars de dattes dans les palmeraies de Ouargla (Sud-Est algerien).Thèse de magister,Gestion des agro-systèmes sahariens,univ Kasdi merbah-Ouergla,Algerie,112p.
- Jarraya A., et Vinson G.**, 1980, Contribution à l'étude de l'entomofaune du pistachier. IV.Observations biologiques et écologiques sur *Ectomyelois ceratoniae* Zeller. (Pyralidae). Ann. INRAT, 53 : 1 - 42.

- 
- Kapli, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A., &Flouri, T.,** 2017, Multi-rate Poisson Tree Processes for single-locus species delimitation under Maximum Likelihood and Markov Chain Monte Carlo. *Bioinformatics*, btx025.pp 1630-1636
- Koichiro Tamura, G.,** 2021, MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. 3022-3023.
- Le Berre M.,** 1978, Mise au point le problème du ver de la date, *Myelois ceratoniae* Zeller. *Bull. Agr. Sahar. I.* (4): 1 -35.
- Lebbouz Ismahane , Ibrahim Merabti , Mohamed Seghir Mehaoua , Ayoub Hajab , Mohamed Laid Ouakid,** 2018, Relationship between adult's flight-eggs laying and infestation . pp 200-201.
- M. K. Bensalah, M. L. Ouakid, M. S. Mehaoua,** 2018, Effet De La Thermo-Desinsectisation Sur Les Differentes Stades Larvaires De La Pyrale Des Dattes *Ectomyelois Ceratoniae* Dans Les Conditions Controlees ;Pp 09-14
- M.S. Mehaoua, A. Hadjeb, M. Lagha, M.K. Bensalah and M.L.Ouakid,** 2013, Study of the Toxicity of Azadirachtinon Larval Mortalityand Fertility of Carob Moth's Female *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) Under Controlled Conditions
- Masson C., Brossut R.,** 1981, La communication chimique chez les insectes. Ed. CNRS. Paris.
- Mehaoua MS, Hadjeb A, Lagha M, Bensalah MK, Ouakid ML,** 2013, Study of the Toxicity of Azadirachtin on Larval Mortality and Fertility of Carob Moth's Female *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) Under Controlled Conditions. *American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 7(1): 1-9,
- Meyer K.,** 1991, Estimating variances and covariances for multivariate animal models by restricted maximum likelihood. *Genet SelEvol.* Mar 15;23(1):67–83. doi: 10.1186/1297-9686-23-1-67. PMID: PMC2711130.
- Mitiche B.,** 1983, Contribution à l'étude bio-écologique des parasites et prédateurs de la pyrale des caroubes *Ectomyelois ceratoniae* en Algérie en vue d'une éventuelle lutte biologique contre ce ravageur. Thèse Doctorat ès Science, Univ. Paris VI, 1983, 253 p.



**Munier P.**, 1973. Le Palmier dattier. Techniques agricoles et productions tropicales. Paris, XXIV, Ed. Maisonneuve et Larose, 221p.

**Nicolas Puillandre, Sophie Brouillet, Guillaume Achaz**, 2020, ASAP: assembles species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources*. 21(2), 10.1111/1755-0998.13281. hal-03039819

**Pevzner, P. A.**, 2006, Alignement multiple. *Bio-informatique moléculaire* , 125-135.

**Puillandre N, Brouillet S, Achaz G.**, 2021, ASAP: assemble species by automatic partitioning. *MolEcol Resour.*;21:609–620

**Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., & Achaz, G.**, 2011, ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, 21(8), 1864–1877. doi:10.1111/j.1365294x.2011.05239.x pp

**Ren Y, Yang L (2016) Ectomyelois Heinrich**, 1956 in China, with descriptions of two new species and a key (Lepidoptera, Pyralidae, Phycitinae). *ZooKeys* 559: 125-137.

**Robert C Edgar, Serafim Batzoglou**, 2006, Multiple sequence alignment, *Current Opinion in Structural Biology*, Volume 16, Issue 3, pp368-373, ISSN 0959-440X,

**Saggou H.**, 2001 -Relations entre les taux d'infestation par la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera- Pyralidae) et les différentes variétés de dattes dans la région d'Ouargla. Mémoire. Ing. ITAS. Ouargla. 70p.

**Smith MA, Fisher BL, Hebert PDN** , 2005, DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*.

**Sujevan Ratnasingham et Paul D. N. Hebert**, 2007, BOLD: The Barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org))

**Sukhamrit K.**, 2015. DNA Barcoding and Its Applications *International Journal of Engineering Research and General Science* Volume 3, Issue 2, Part 2, March-April, 2015. ISSN 2091-2730. pp

**Taguan**, 2015, Les arbres phylogénétiques ;Catégories : Programmation et algorithmique et Biologie

**Talavera, G., and Castresana, J.,** 2007, Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology* 56, 564-577.

Tang,C.Q. et al. (2014) Effects of phylogenetic reconstruction method on the robustness of species delimitation using single-locus data. *Methods Ecol. Evol.*, 5, 1086–1094

**Warner R.L.,** 1988 - Contribution to the biology and the management of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) in 'Deglet Noor' date gardens in the Coachella Valley of California. Ph.D. dissertation, Univ. Of California, Riverside. 98p.

**Wei Shen S. L.,** 2016. SeqKit: A Cross-Platform and Ultrafast Toolkit for FASTA/Q File Manipulation.

**Wertheimer M.,** 1958, Un des principaux parasites du palmier dattier : Le Myelois decolor. *Fruit*, 13 (8): 109-128.

**Wilson, J. J.,** 2012 -DNA Barcodes for Insects . 17-18.

**Yeosu korea,** 2012. Fish experts invite you to become a professional by using barcode inside body of fish.

**Yoann M.,** 2012, Les arbres phylogénétiques : construction et interprétation

**Zellerella Sorhagen,** 1881, *Phycis ceratoniella* Fischer von Röslerstamm

### **Les liens**

Site web 1: <https://www.bioutils.ch/protocoles/27-dna-barcoding>

Site web 2: <https://www.sccwrp.org/about/research-areas/bioassessment/dna-barcoding/>.

Site web 3: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>

Site web 4: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Site web 5: <https://www.boldsystems.org/>

Site web 6: <https://ngphylogeny.fr/>

Site web 7: <https://mptp.h-its.org/#/tree>

Site web 8: <https://species.h-its.org/>

Site web 9: [https://home.cc.umanitoba.ca/~psgendb/doc/Castresana/Gblocks\\_documentation.html](https://home.cc.umanitoba.ca/~psgendb/doc/Castresana/Gblocks_documentation.html)

Site web 10: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore>

### **Les livres**

Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2013). BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). Barcode Of Life Data Systems Handbook . disponible [https://v3.boldsystems.org/libhtml\\_v3/static/BOLD\\_Handbook\\_Oct2013.pdf](https://v3.boldsystems.org/libhtml_v3/static/BOLD_Handbook_Oct2013.pdf)

# **Annexes**

## Annexes

### Annexe 1

#### Photos d'*Ectomyelois* de deux espèces différents



### Annexe 2

| BINs            | Espèce             | Pays    | Numéro d'accession |
|-----------------|--------------------|---------|--------------------|
| BINs1           | <i>Muriscis</i>    | Panama  | MK768535           |
|                 | <i>Muriscis</i>    |         | MK770053           |
|                 | <i>Muriscis</i>    |         | MK759268           |
|                 | <i>Muriscis</i>    |         | MK758309           |
|                 | <i>Muriscis</i>    |         | MK758148           |
|                 | <i>phyBioLep01</i> | Inconnu | Inconnu            |
|                 | <i>BioLep1616</i>  |         |                    |
|                 | <i>phyBioLep01</i> | Inconnu | GU700626           |
|                 | <i>BioLep1616</i>  |         |                    |
|                 | <i>phyBioLep01</i> | Inconnu | GU700245           |
|                 | <i>BioLep1616</i>  |         |                    |
|                 | <i>phyBioLep01</i> | Inconnu | Inconnu            |
|                 | <i>BioLep1616</i>  |         |                    |
|                 | <i>Lepidoptera</i> | Inconnu | Inconnu            |
| <i>Muriscis</i> | Costa Rica         | Inconnu |                    |
| BINs2           | <i>Lepidoptera</i> | Inconnu | Inconnu            |
|                 |                    |         | Inconnu            |





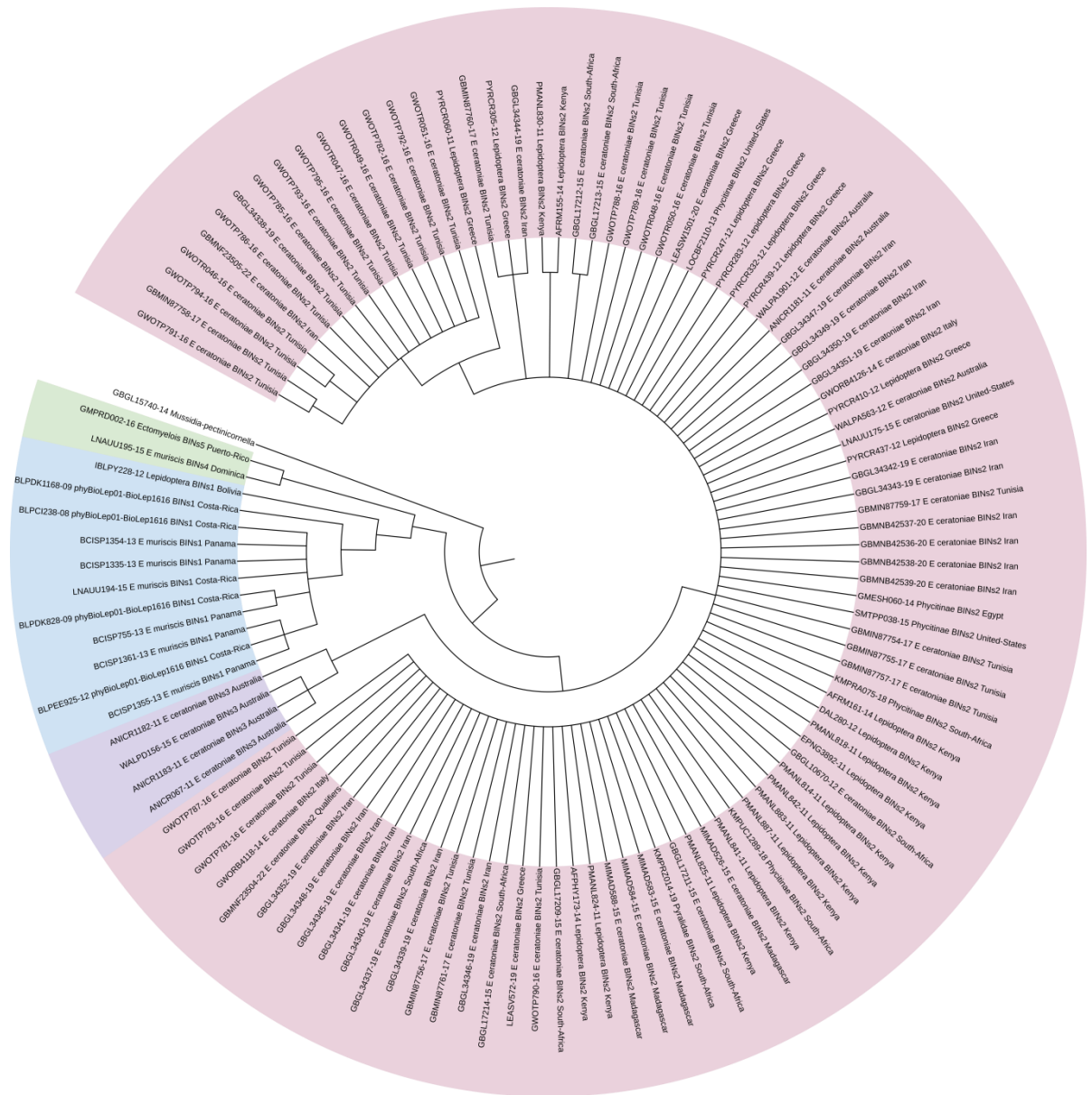




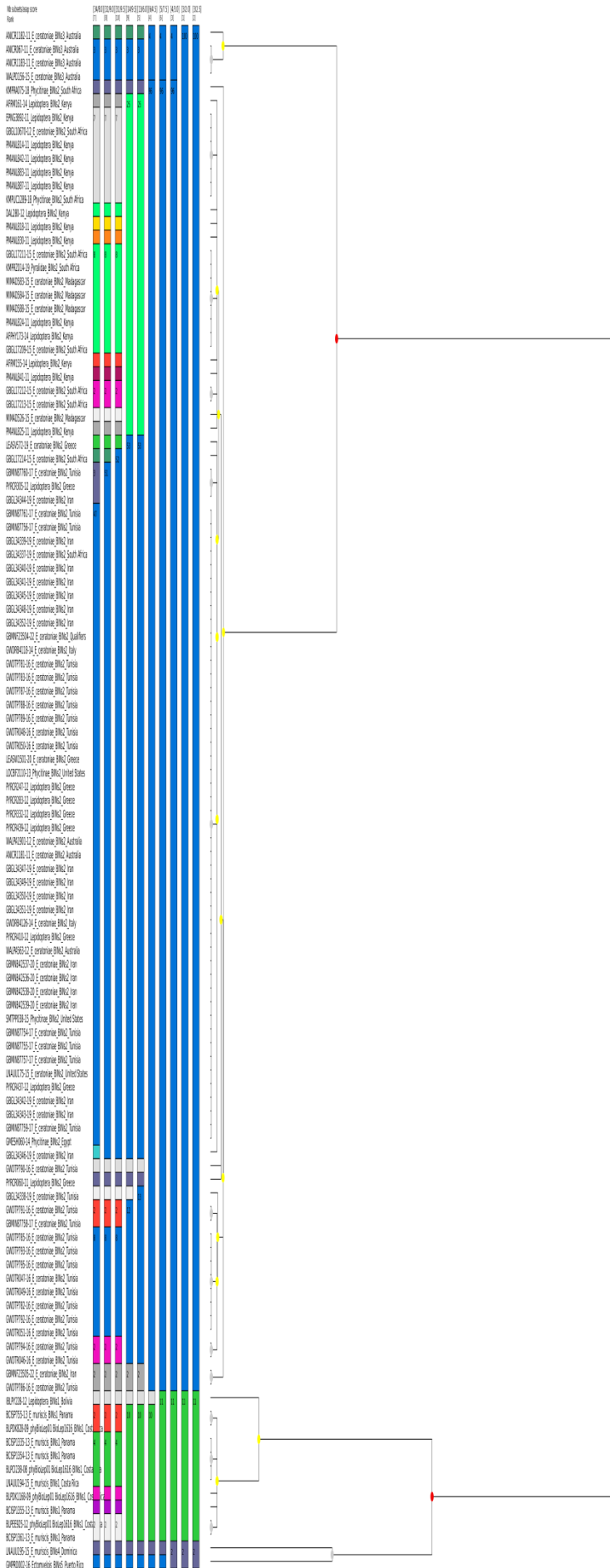
001):0.00355912):0.01104291):0.02871139,((ANICR1183-  
 11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia:0.00000001,(WALPD156-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia:0.00000001,ANICR067-  
 11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia:0.00000001):0.00000001):0.00000001,(ANICR1182-  
 11\_E\_ceratoniae\_BINs3\_Australia:0.00000001,(KMPRA075-18\_Phycitinae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,((MIMAD526-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar:0.00345903,((PMANL825-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00345903,(AFRM155-  
 14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,PMANL830-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001):0.00345842):0.00000001,(PMANL818-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00341793,((GBGL17213-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,GBGL17212-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001):0.00343325,(AFPHY173-  
 14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(PMANL824-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(MIMAD588-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar:0.00000001,(MIMAD584-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar:0.00000001,(MIMAD583-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Madagascar:0.00000001,(KMPRZ014-19\_Pyalidae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,(GBGL17211-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,(PMANL841-11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(KMPUC1289-  
 18\_Phycitinae\_BINs2\_South-Africa:0.00000001,(PMANL887-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(PMANL883-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(PMANL842-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(PMANL814-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(GBGL10670-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,(GBGL17209-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-  
 Africa:0.00000001,EPNG3892-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000  
 001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000  
 001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000  
 001):0.00000001,(DAL280-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00000001,(LEASV572-  
 19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece:0.00000001,(((GBGL17214-  
 15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa:0.00000001,AFRM161-  
 14\_Lepidoptera\_BINs2\_Kenya:0.00346049):0.00346249,(PYRCR060-  
 11\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(((GBMIN87758-  
 17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,GWOTP791-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001):0.00344384,(GBGL34338-  
 19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00345764,(GWOTR046-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,GWOTP794-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001):0.00345764):0.00000001):0.00000001,(GWO  
 TP792-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP782-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTR049-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTR047-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP795-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP793-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP785-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP786-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTR051-  
 16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,GBMNF23505-  
 22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.000000

01):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00000001):0.00348137):0.00348083):0.00000001,(GWOTP790-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00364055,(PYRCR305-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(GBGL34344-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,GBMIN87760-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001):0.00000001):0.00348086,(GBGL34346-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00344277,(GBMIN87755-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GBMIN87754-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(SMTTP038-15\_Phycitinae\_BINs2\_United-States:0.00000001,(GMESH060-14\_Phycitinae\_BINs2\_Egypt:0.00000001,(GBMNB42539-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBMNB42538-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBMNB42536-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBMNB42537-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBMIN87759-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GBGL34343-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34342-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(PYRCR437-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(LNAUU175-15\_E\_ceratoniae\_BINs2\_United-States:0.00000001,(WALPA563-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia:0.00000001,(PYRCR410-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(GWORB4126-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy:0.00000001,(GBGL34351-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34350-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34349-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34347-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(ANICR1181-11\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia:0.00000001,(WALPA1901-12\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Australia:0.00000001,(PYRCR439-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(PYRCR332-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(PYRCR283-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(PYRCR247-12\_Lepidoptera\_BINs2\_Greece:0.00000001,(LOCBF2110-13\_Phycitinae\_BINs2\_United-States:0.00000001,(LEASW1501-20\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Greece:0.00000001,(GWOTR050-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTR048-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP789-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP788-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP787-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP783-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWOTP781-16\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GWORB4118-14\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Italy:0.00000001,(GBMNF23504-22\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Qualifiers:0.00000001,(GBGL34352-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34348-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34345-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34341-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34340-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBGL34337-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_South-Africa:0.00000001,(GBGL34339-19\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Iran:0.00000001,(GBMIN87756-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,(GBMIN87757-17\_E\_ceratoniae\_BINs2\_Tunisia:0.00000001,GBMIN87761-





**Annexe 6:**  
**Résultat de l'ASAP :**



# Résumé

## Résumé

Le genre *Ectomyelois*, appartenant à la famille des Pyralidae, fait partie des genres présentant un danger écologique et économique. La diversité génétique au sein de ce genre est très peu connue. Le développement de la systématique moléculaire et l'exploitation des données issues de l'ADN et des codes-barres, ainsi que l'amélioration des outils bioinformatiques, ont été appliqués pour améliorer la connaissance de la biodiversité de différents organismes et préciser le statut taxonomique de diverses espèces.

Ce projet scientifique vise à tester la faisabilité de l'utilisation d'un code-barres ADN basé sur un marqueur mitochondrial COI spécifique pour identifier les espèces du genre *Ectomyelois*. Au total, 116 séquences du gène COI ont été collectées pour 4 espèces du genre *Ectomyelois* identifiées morphologiquement et phylogénétiquement par les chercheuses. Les données sont présentées sous la forme d'un arbre phylogénétique qui permet d'étudier morphologiquement les espèces en les regroupant en clades. Ce nouvel ensemble de données a permis de générer une liste mise à jour des mOTUs (unités taxonomiques opérationnelles moléculaires) pour ces séquences. Cette classification a été confirmée par différentes méthodes de délimitation des espèces (mPTP, ASAP, ABGD, bPTP et BIN).

**Mot clé :** *Ectomyelois*; Code-barres ADN; COI mitochondrial; Arbre phylogénétique.

## Abstract

The genus *Ectomyelois*, belonging to the family Pyralidae, is among the genera that pose an ecological and economic threat. The genetic diversity within this genus is poorly known. Molecular systematic development and the utilization of DNA and barcode data, along with improvements in bioinformatics tools, have been applied to enhance biodiversity understanding across various organisms and refine the taxonomic status of different species.

This scientific project aims to test the feasibility of using a DNA barcode based on a specific mitochondrial COI marker to identify species within the genus *Ectomyelois*. A total of 116 COI gene sequences have been collected for four morphologically and phylogenetically identified species within the *Ectomyelois* genus by the researchers. The data is presented in the form of a phylogenetic tree, allowing for morphological examination of the species by grouping them into clades. This new dataset has generated an updated list of molecular operational taxonomic units (mOTUs) for these sequences. This classification has been confirmed through various species delimitation methods (mPTP, ASAP, ABGD, bPTP, and BIN).

**Key word:** *Ectomyelois*; DNA barcode; mitochondrial COI; phylogenetic tree.

## ملخص

جنس *Ectomyelois* ، الذي ينتمي إلى عائلة *Pyralidae* ، هو أحد الأجناس التي تشكل تهديداً بيئياً واقتصادياً. التنوع الوراثي داخل هذا الجنس غير معروف بشكل جيد. تم تطبيق تطور النظام الجزيئي واستخدام بيانات الحمض النووي والباركود، جنباً إلى جنب مع تحسين أدوات البيوانفورماتيكس، لتعزيز فهم التنوع البيولوجي في الكائنات المختلفة وتحسين الوضع التصنيفي للأنواع المختلفة.

الميتوكوندريال COI يهدف هذا المشروع العلمي إلى اختبار إمكانية استخدام باركود حمض الادي إن إي المستند إلى علامة لأربعة أنواع تم COI تم جمع مجموعة من 116 تسلسل لجين *Ectomyelois* محددة لتحديد الأنواع ضمن جنس من قبل الباحثين. تُعرض البيانات على شكل شجرة جينية *Ectomyelois* تحديدها مورفولوجياً وفيلوجينياً ضمن جنس تسمح بفحص المظهر المورفولوجي للأنواع عن طريق تجميعها في فروع. أنشأت هذه المجموعة الجديدة قائمة محدثة لهذه التسلسلات. تم تأكيد هذا التصنيف من خلال طرق مختلفة لتحديد (mOTUs) لوحدات التصنيف الضريبي الجزيئية (BIN ، bPTP ، ASAP ، ABGD ، mPTP) الأنواع

الكلمات المفتاحية : الرمز الشريطي للحمض النووي , سيتوكرم اوكسيداز 1 , شجرة النشوء و التطور , اکتوميلوان