



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Khider 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

Laboratoire de Génétique, Biotechnologie et Valorisation des Bioressources

N° d'ordre:.....

Série :.....

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD

En Sciences Biologiques

Option: Valorisation et Conservation des Ressources Naturelles

Présentée par: ZEKRI Wissame

Thème

**Étude de la diversité génétique des
scorpions (Scorpiones) dans le Sud des
Aurès. Algérie**

Soutenue le : .../.../2023

Devant le jury :

| | | |
|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| Prof. Houhamdi Moussa | Université de Guelma | Président |
| Prof. Moussi Abdelhamid | Université de Biskra | Directeur de la thèse |
| Dr. Sadine Salah Eddine | Université de Ghardaïa | Examineur |
| Dr. Zeroual Samir | Université de Biskra | Examineur |
| Dr. Lebbouz Ismahane | Université de Biskra | Examineur |

Année universitaire : 2022/2023

Dédicaces

Je dédiais ce modeste travail :

À mes très chers parents

*Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard.
Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit, votre
présence à mes côtés a été toujours ma source de force
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection*

À mon cher mari

*Pour tout l'encouragement, le respect et l'amour que tu m'as offert.
Quelle chance j'ai de t'avoir ! J'espère te rendre toujours heureux.
Avec toute mon affection et mon amour.*

À mon petit prince Abdelwadoud

À mes chers : sœurs Nawel, Roôya et Farah et frères Bilal, Naim et Mouâd

*À ma belle famille en particulier, ma belle mère et mes belles sœurs : Aicha, Leila, Samira et
Bouchra.*

Puisse Dieu vous protège et vous donne santé, bonheur et réussite

*À l'âme de mon beau père qui m'a collecté le premier scorpion.
Que Dieu ait pitié de vous*

*À mes chers grands parents
Qui je souhaite une bonne santé*

À toute ma famille, pour son soutien qui m'a été fort précieux.

Zekri. W

Remerciements

Avant tout, j'exprime ma profonde gratitude au Dieu le tout-puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude aux respectables membres de jury qui ont accepté de donner le temps de lire et d'évaluer ce modeste travail à savoir:

Prof. Houhamdi de l'université de Guelma

Dr. Sadine Salah Eddine de l'université de Ghardaïa

Dr. Zeroual Samir de l'université de Biskra

Dr. Lebbouz Ismahane de l'université de Biskra

Ce travail a été dirigé par Prof. Moussi Abdelhamid, je tiens à vous exprimer mes remerciements chaleureux pour votre présence et votre soutien tout au long de ce parcours. Je vous assure de mes sincères remerciements de la confiance que vous m'a témoignée durant ces années que j'ai passées.

Je dois particulièrement remercier les responsables du Laboratoire de Génétique, Biotechnologie et Valorisation des Bioressources (LGBVB): Pr. LAIADI Ziane, Pr. Mehaoua Mohamed Seghir, Pr. Merabti Ibrahim, Dr. Titaouine Mohamed et Dr. Ben Meddour Tarek.

Je voudrais également remercier l'équipe de formation doctorale (CFD) Valorisation et conservation des ressources naturelles.

Je me dois absolument être reconnaissante à lui ainsi qu'au Dr. Sadine Salah Eddine de leurs conseils avisés et si intéressants. À chaque étape du travail, vous m'avez guidé avec beaucoup de patience.

Mes remerciements vont aussi au Pr. Moustafa Sarhan, et au Dr. Hamdy Ali, département de zoologie, université d'Al-Azhar, Assiut Égypte, de leur accueil chaleureux, conditions de travail privilégiées qui m'ont été offertes et leurs remarques constructives.

Aussi je tiens à exprimer ma gratitude au personnel de la bibliothèque, de l'administration et aux enseignants de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, en particulier Dr. Trabsa Hayat et Dr. Moukrani Djamil.

Je dois remercier tout le personnel du Laboratoire campus El Hadjeb en particulier Mme. Saliha Bacha et Walid Aidi et son oublié Mme. Nehili Mouna, l'ingénieure du laboratoire LGBVB. Et du laboratoire Diversité des Écosystèmes et Dynamiques de Production Agricoles en Zones Arides (DEDSPAZA).

J'adresse aussi ma gratitude aux responsables de la plateforme financière IBTIKAR. Votre soutien a été crucial pour moi et ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'aide de votre financement.

Je dois remercier également:

Mme. Bengueraichi Fatihal et Mme. Hafayed Rachida, de leur orientation et leurs conseils au début de ma carrière doctorale.

M. Ben Dahman Abdelhafed, Équipe de la Bioinformatique, université de Contantine-1 de ses informations et son aide en bioinformatique.

Mes remerciements vont aussi:

À mes chères amies Asma Makhoulf, Khadidja Messaoudi, Karima Guerrouf, Khawla Amamri, Imen Sakri, et Rezezgui Sabrin, à Dr. Kenza Mohamedi et Mme. Rima Rechid, merci de votre aide, encouragement et soutien.

À tous ceux qui m'ont aidé à recueillir les échantillons en particulier mes cousins Dandani Abdelaziz et Dandani Fares.

À tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici ma haute considération.

Zekri. W

Résumé

Ce travail constitue la première combinaison entre l'analyse morphologique, morphométrique, phylogénétique et la délimitation des espèces des scorpions dans le Sud des Aurès et le Nord du Sahara Algérienne. Ceci dans le but de comprendre les relations phylogénétiques et de définir les limites entre les espèces.

L'analyse morphologique et morphométrique appliquées sur 587 scorpions a permis d'identifier sept espèces: *Androctonus australis*, *Androctonus aeneas*, *Buthus tunetanus*, *Buthus saharicus*, *Buthus aures*, *Scorpio maurus* et *Scorpio punicus*. De telles variations morphologiques intraspécifiques suggèrent l'existence de possibles taxons putatifs et cryptiques au sein des espèces *B. aures* et *S. punicus*.

Les résultats de l'analyse phylogénétique montrent que le *DNA barcoding* est un outil très efficace et utile pour confirmer l'identité des espèces des scorpions, ils ont été bien appuyés par l'authentification morphologique et les résultats de la délimitation. Les arbres finaux résultant de l'analyse ML et BI pour chaque genre ont révélé: l'existence d'un fractionnement excessif au sein du group *australis* en fonction de la distribution géographique nécessitant le traitement de chaque groupe comme espèce putative. La région de Sud des Aurès pourrait abriter au moins neuf espèces du genre *Buthus*, dont six sont non décrites. La position taxonomique de *B. aures* est douteuse, et l'analyse phylogénétique confirme l'identification morphologique de *B. saharicus*. Un nouveau signalement possible d'une espèce endémique marocaine *B. boumalenii* en Algérie est attendu. Pour le genre *Scorpio*, l'analyse phylogénétique montre que les séquences de l'Afrique du Nord et de l'Asie occidentale sont génétiquement divergentes et forment deux groupes distants supportant que *S. maurus* comme un complexe d'espèces. De plus, *S. maurus* et *S. punicus* sont morphologiquement et phylogénétiquement distinctes.

Au total, ces résultats appellent une évaluation critique et révision taxonomique des scorpions dans le futur.

Mots clés : Taxonomie; Morphométrie; Buthidae; Scorpionidae; *Barcoding*; Phylogénie ; Délimitation.

الملخص

يشكل هذا العمل أول توليفة بين التحليل الشكلي ، القياسات ، التطور الوراثي ، و ترسيم الحدود بين أنواع العقارب في منطقة جنوب الأوراس و شمال الصحراء الجزائرية. و ذلك من أجل فهم علاقات نشأة وتطور و الحدود بين الأنواع.

مكننت الدراسة الشكلية و اخذ القياسات التي أجريت على 587 عقرب من تعريف 7 أنواع من العقارب: *Buthus saharicus* ، *Buthus tunetanus* ، *Androctonus aeneas* ، *Androctonus australis aures* ، *Scorpio maurus* و *Scorpio punicus*. تشير الاختلافات الشكلية الموجودة بين أفراد نفس النوع إلى احتمال وجود مجموعات تصنيفية جديدة ضمن أنواع *B. aures* و *S. punicus*.

تظهر نتائج التحليل الوراثي أن الترميز الشريطي للحمض النووي هو أداة فعالة ومفيدة للغاية لتأكيد هوية أنواع العقارب ، وقد تم دعمها بشكل جيد من خلال التصنيف الشكلي ونتائج ترسيم الحدود بين الأنواع. و قد تدعم نتائج الأشجار الوراثية الناتجة عن تحليل ML و BI لكل جنس: وجود انقسام داخل مجموعة *australis* وفقا للتوزيع الجغرافي الذي يتطلب معالجة كل مجموعة كأنواع مفترضة. يمكن أن تأوي منطقة جنوب الأوراس تسعة أنواع على الأقل من جنس *Buthus* ، ستة منها غير معروفة من قبل. من خلال النتائج المتحصل عليها يمكن القول أن تصنيف *B. aures* غير أكيد ويحتاج إلى مراجعة، من جهة أخرى، يؤكد تحليل التطور الوراثي التصنيف الشكلي لـ *B. saharicus*. كما تشير نتائج التطور الوراثي المتحصل عليها إلى وجود نوع جديد من العقارب المغربية *B. boumalenii* إلى جانب العقارب الجزائرية. بالنسبة إلى نوع *Scorpio*، يُظهر تحليل التطور الوراثي أن سلسلة الحمض النووي (COI) لعقارب شمال إفريقيا وغرب آسيا متباعدان وراثيًا ويشكلان مجموعتين بعيدتين تدعمان نظرية *S. maurus* ليس نوع واحد إنما هو مجموعة من الأنواع. بالإضافة إلى ذلك، *S. maurus* و *S. punicus* هما نوعين مختلفين شكليًا ووراثيًا. إجمالاً، تدعوا هذه النتائج إلى تقييم نقدي ومراجعة تصنيفية للعقارب في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: التصنيف; مورفومتري; الترميز الشريطي; الفيلوجينيا; ترسيم الحدود ; Buthidae ; Scorpionidae

Abstract

This work constitutes the first combination between morphological, Morphometric, phylogenetic analysis and the delimitation of scorpion species in the southern part of Aures region and the Algerian North Sahara. This is in order to understand the phylogenetic relationships and to define the boundaries between species.

The morphological and Morphometric analysis applied on 587 scorpions have identified seven species namely: *A. australis*, *A. aeneas*, *B. tunetanus*, *B. saharicus*, *B. aures*, *S. maurus* and *S. punicus*. Where morphological intraspecific variations suggest the existence of possible putative and cryptic taxa within *B. aures* and *S. punicus* species.

The results of the phylogenetic analysis show that DNA barcoding is a very efficient and useful tool to confirm the species identity of scorpions; they were well supported by the morphological authentication and the delimitation results.

The final trees resulting from the ML and BI analysis for each genus revealed: The existence of an excessive fractionation within the *australis* group according to the geographical distribution requiring treatment of each group as putative species. The South of the Aures region could harbor at least nine species of the genus *Buthus*, six of which are not described. The taxonomic position of *B. aures* is dubious and still not confirmed; furthermore, phylogenetic analysis confirms the morphological identification of *B. saharicus*. Additionally, a possible new report of Moroccan endemic species *B. boumalenii* in Algeria is awaited.

For the genus *Scorpio*, phylogenetic analysis reveal that the North African and West Asian sequences are genetically divergent and form two distant groups supporting *S. maurus* as a species complex, it also supports that *S. maurus* and *S. punicus* are morphologically and phylogenetically distinct.

In all, these results call for a critical assessment and Taxonomic revision of scorpions in the future.

Keywords: Taxonomy; morphometry; Buthidae; Scorpionidae; *Barcoding*; Phylogeny; Delimitation.

Table des matières

| | |
|--|------|
| Liste des tableaux | IX |
| Liste des figures | X |
| Liste des Abréviations et d'Acronymes | XII |
| Liste des plateformes | XIII |
| Introduction | 1 |
| Synthèse Bibliographique | 3 |
| I. Généralités sur les Scorpions..... | 3 |
| I.1. Origine et évolution..... | 3 |
| I.2. Classification..... | 4 |
| I.3. Distribution géographique..... | 4 |
| I.4. Scorpions en Algérie..... | 5 |
| I.5. Envenimation scorpionique..... | 7 |
| I.6. Importance médicale | 7 |
| II. Diversité génétique et phylogénie..... | 9 |
| II.1. Variation intra spécifique et Taxonomie..... | 9 |
| II.2. DNA Barcoding..... | 9 |
| II.2.1. Principe..... | 9 |
| II.2.2. Cytochrome oxydase I..... | 10 |
| II.3. Base de référence..... | 11 |
| II.4. Outils de la Bioinformatique..... | 11 |
| II.4.1. Phylogénie moléculaire..... | 12 |
| II.4.2. Délimitation des espèces..... | 13 |
| II.5. Phylogénie des Scorpions..... | 14 |
| Matériel et méthodes | 16 |
| I. Étude sur terrain..... | 16 |
| I.1. Délimitation de la zone d'étude..... | 16 |
| I.2. Échantillonnage..... | 17 |
| I.2.1. Collecte diurne..... | 18 |
| I.2.2. Collecte nocturne..... | 18 |
| I.3. Conservation des spécimens..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| II. Analyse en laboratoire..... | 20 |
| II.1. Analyse morphologique..... | 20 |
| II.2. Analyse morphométriques..... | 22 |
| II.3. Analyse moléculaire..... | 23 |
| II.3.1. Extraction d'ADN..... | 23 |
| II.3.2. Amplification..... | 23 |
| II.3.3. Purification de l'ADN amplifié..... | 24 |
| II.3.4. Séquençage..... | 24 |
| II.4. Analyse phylogénétique..... | 25 |
| II.4.1. Construction phylogénétique..... | 25 |
| II.4.2. Délimitation moléculaire des espèces..... | 26 |
| II.4.2.1. Délimitation des espèces par l'ASAP..... | 26 |
| II.4.2.2. Délimitation des espèces par mPTP..... | 27 |
| Résultats et Discussion..... | 29 |
| I. Bilan systématique..... | 29 |
| II. Famille des Buthidae..... | 30 |
| II.1. Genre <i>Androctonus</i> Ehrenberg, 1828..... | 30 |
| II.1.1. Analyse systématique..... | 31 |
| II.1.2. Analyse morphométrique..... | 32 |
| II.1.3. Analyse phylogénétique..... | 33 |
| II.2. Genre <i>Buthus</i> Leach, 1815..... | 40 |
| II.2.1. Analyse systématique..... | 40 |
| II.2.2. Analyse morphométrique..... | 42 |
| II.2.3. Analyse phylogénétique..... | 43 |
| III. Famille des Scorpionidae..... | 49 |
| III.1. Genre <i>Scorpio</i> Linnaeus, 1758..... | 49 |
| III.1.1. Analyse systématique..... | 50 |
| III.1.2. Analyse morphométrique..... | 51 |
| III.1.3. Analyse phylogénétique..... | 51 |
| Conclusion générale et perspectives..... | 56 |
| Références Bibliographiques..... | 58 |
| Annexes | |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Liste des espèces de scorpions en Algérie | 5 |
| 2 | Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage | 17 |
| 3 | Profil thermique de la PCR et la séquence des amorces utilisées dans la PCR et le séquençage | 24 |
| 4 | Répartition des espèces identifiées dans les 12 localités d'échantillonnage | 29 |
| 5 | Données sur les séquences du genre <i>Androctonus</i> et <i>Leiurus</i> incorporées dans la construction de l'arbre bayésien. *signifie les séquences générées dans cette étude | 33 |
| 6 | Valeurs morphométriques (Taille) et mèristiques (nombre des séries de granules sur les doigts et dents des peignes) des males et des femelles des trois espèces du genre <i>Buthus</i> | 42 |
| 7 | Données sur les séquences du genre <i>Buthus</i> incorporées dans la construction de l'arbre bayésien. * = Non inclus dans l'étude de Klessner <i>et al.</i> (2021). | 43 |
| 8 | Séquences des scorpions du genre <i>Scorpio</i> et <i>Heterometrus</i> utilisés dans l'analyse Bayésienne (le tableau détaillé est dans l'annexe 8) | 52 |

Liste des figures

| Numéro | Intitulé | page |
|--------|--|------|
| 1 | Vue dorsal d'un Eurypterid (par Stockmann and Ythier, 2010). P (1, 2, 3, 4 et 5) : Pates; P5: pate de natation; Œ: œil latéral; Sb: segments branchial; T: telson; Met: metasome; Mes: mesosome; Op: opisthosome; Pr: prosome | 3 |
| 2 | Évolution du nombre des espèces scorpionique | 4 |
| 3 | Arbre phylogénétique Maximum Likelihood (ML) de 17 genres appartenant à la famille des <i>Buthidae</i> basant sur le gène mitochondrial 16S (Fet <i>et al.</i> , 2003). | 14 |
| 4 | Cladogramme présente l'évolution de la théorie de la relation entre les familles des scorpions (Sharma <i>et al.</i> , 2015) | 15 |
| 5 | Carte administrative représente la zone d'étude | 16 |
| 6 | Habitat d'un scorpion (<i>Buthus aures</i>) dans un trou dans le sol | 18 |
| 7 | Habitat d'un scorpion : <i>Buthus aures</i> dévoilée d'une pierre | 18 |
| 8 | <i>Androctonus australis</i> : A: sous la lumière normale, B: sous la lumière UV (Par Sadine Salah Eddine, 2012) | 19 |
| 9 | Orthobothriotaxie: Exemple des <i>Buthidae</i> (type A). A, B, C : Modèle des 15 trichobothries de la pince, D : Modèle des 11 trichobothries du fémur. E, F : Modèle des 13 trichobothries du tibia, G : La face ventrale du tibia ne porte jamais de trichobothries d'après (Vachon, 1974). | 20 |
| 10 | Disposition des carènes céphalothoracique sous forme de lyre d'un <i>Buthus aures</i> | 21 |
| 11 | Arrangement des granules sur le doigt mobile d'un pédipalpe | 21 |
| 12 | Dent des deux peignes d'un <i>Buthus aures</i> | 21 |
| 13 | Mensuration d'après (Polis, 1990). LCa : longueur da la carapace, Lmes : longueur de la mésosome, Lmt: longueur de la metasome, LT : longueur totale. LaF : Largeur de la Fémur, LoF : Longueur de la Fémur, LaP : Largeur de la Pré-fémur, LoP : Longueur de la pré-fémur, La.Pé : Largeur du pédipalpe, Lo.Pé : Longueur du pédipalpe, LoD : Longueur du doigt mobil, LoSm : Longueur du segment metasomal, LaSm : Largeur du segment metasomal, HSm : Hauteur du segment metasomal, LoV : Longueur de la vésicule, LaV : Largeur de la vésicule, LaC : Largeur de la carapace | 22 |
| 14 | Schéma du <i>Barcoding Gap</i> : écart entre la divergence intraspécifique et les distances interspécifiques | 27 |
| 15 | Estimation bayésienne de la relation phylogénétique entre les séquences des espèces du genre <i>Androctonus</i> .les valeurs des bootstrap sont motionnées sur les branches. Couleurs : représentent les clades et les mOTUs groupant les quatre groupes de séquences d' <i>Androctonus</i> ; les trois groupes de <i>A. bicolor</i> | 39 |

| | | |
|----|---|----|
| | et <i>A. hoggarensis</i> de l'Algérie. Au : <i>australis</i> ; B : <i>bicolor</i> . Les barres : représentent les mOTUs obtenus par les méthodes de délimitation ASAP et mPTP (les partitions obtenus par l'ASAP sont totalement compatible avec les BINs du system BOLD. Les mOTUs détaillés sont dans l'annexe 2 et3) | |
| 16 | Arbre Bayésien (BI) montre la position des séquences des espèces du genre <i>Buthus</i> algérienne. L'analyse était basée sur 1 seul locus (COI). Couleurs signifient les séquences des <i>Buthus</i> Algérienne, vert : Séquences générées dans cette étude; rouge; Séquences obtenus à partir des études antérieures | 49 |
| 17 | Arbre Bayésienne (BI) basée sur les séquences partielles du gène mitochondriale COI montre la position des séquences Algériennes ALG13 et ALG18 de <i>S. punicus</i> et ALG14 de <i>S. maurus</i> (couleur vert). L'arbre détaillé sur l'annexe 9 | 55 |

Liste d'Abréviation et d'Acronyme

| | |
|----------------|--|
| ABGD: | Automatic Barcode Gap Discovery |
| ASAP: | Assemble Species by Automatic Partitioning |
| BFD: | Bayes Factor Delimitation of Species |
| BI: | Bayesian Inference |
| BINs: | Barcode Index Numbers |
| BPP: | Bayesian Phylogenetic and Phylogeography |
| BOLD: | Barcode of life data system |
| iTOL: | Interactive Tree Of Life |
| GMYC: | General Mixed Yule-Coalescent model |
| MCMC: | Analyse bayésienne avec Chaîne de Markov |
| MEGA X: | Molecular Evolutionary Genetics Analysis 10 |
| ML: | Maximum Likelihood |
| mOTUs: | Molecular operational taxonomic units |
| mPTP: | Molecular Poisson Tree Processes |
| MUSCL: | Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation |
| NJ: | Neighbor Joining |
| PTP: | Poisson Tree Process |
| UPGMA: | Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means |

Liste des Plateformes

| | |
|--------------|---|
| ASAP: | https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/asapweb.html |
| Blast: | https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi |
| BOLD: | https://v4.boldsystems.org |
| GenBank: | https://www.ncbi.nlm.nih.gov |
| iTOL | https://itol.embl.de/ |
| NJPhylogeny: | https://ngphylogeny.fr/ |
| mPTP: | https://mptp.h-its.org |
| MUSCL: | https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/ |
| ORFfinder: | https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/ |
| Pfam: | http://pfam.xfam.org/ |

Introduction

Introduction

Dans le monde, les scorpions comptent plus de 2732 espèces distribuées sur tous les continents avec une distribution partiellement importante dans les régions arides et désertiques (Lourenço et Duhem., 2009). Dont 126 espèces ont une importance médicale (Rein, 2022). Chaque année, environ de 1,2 à 1,5 million de personnes sont piquées par des scorpions et causant environ de 2600 décès (Alhamoud *et al.*, 2021).

La diversité géographique, climatique et écologique en l'Algérie est propice à la présence d'un grand nombre d'espèces de scorpions avec un nombre important d'endémisme (58% d'espèces sont endémique à l'Algérie) (Sadine *et al.*, 2020; Abidi *et al.*, 2021; Ythier *et al.*, 2021; Rein, 2022). Pas moins de 50 espèces ont été répertoriées en Algérie où le Sahara septentrionale abrite plus de 36 % de la richesse nationale (Sadine, 2018), ce nombre d'espèces ne soit pas exhaustif (Sadine *et al.*, 2018; Zekri *et al.*, 2022) . Parmi celles-ci, au moins 7 espèces sont potentiellement dangereuses pour l'homme et surtout celles appartenant aux genres de la famille des Buthidae à savoir: *Androctonus*; *Buthus*; *Buthicus* et *Leiurus* (Polis, 1990; Fet *et al.*, 2000; Fet *et al.*, 2003; Al-Asmari *et al.*, 2007; Sadine *et al.*, 2020; Rein, 2022).

Au cours des deux dernières décennies, le nombre d'espèce a augmenté à un rythme exponentiel, de sorte que le statut taxonomique de plusieurs espèces est incertain et douteux. Cette augmentation due à (1) l'absence d'une clé dichotomique exhaustive et actualisée pour déterminer les déférentes espèces où la majorité des espèces ont été décrites sur la base de certain critères morphologique; (2) la description de certaines espèces par un ou deux individus et (3) le manque de spécialistes taxonomiques (Lourenço, 2002; Sousa *et al.*, 2012; Pedroso *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2017; Klessner *et al.*, 2021; Zekri *et al.*, 2022).

Le progrès des innovations en matière de séquençage de l'ADN, les avancées de la biotechnologie et la crise de la classification scientifique elle-même ont joué un rôle important et significatif dans la création du code-barres ADN. Il s'agit d'un nouvel outil proposé en réponse aux profondes lacunes de la taxonomie conventionnelle, par laquelle l'identification des espèces peu constituer un véritable défi, notamment face à la perte constante de la biodiversité (Krishnamurthy et Francis, 2012).

L'échantillonnage et la recherche dans la littérature au cours de ces études fournissent également de donner des informations sur la faunistique de ces taxons. Pour cette raison, il est nécessaire d'élaborer une stratégie d'identification facultative et précise que les non-experts

peuvent utiliser. Dans laquelle l'intégration des données moléculaires (séquences nucléotidiques) dans les analyses phylogénétiques, s'est avérée essentielle pour la clarification de l'histoire évolutive des taxons étudiés.

Malgré leur importance médicale, socioéconomique et de santé publique, la faune Algérienne des scorpions n'est pas complètement connue. À ce jour, il est possible que la situation actuelle ne soit que le reflet d'enquêtes incomplètes. Les premières explorations de la faune scorpionique d'Algérie ont été faites par des explorateurs au XIXe siècle, et les résultats de ces expéditions scientifiques ont fait l'objet de la publication de Vachon (1952). Par la suite, les recherches sur la faune scorpionique algérienne s'intensifient avec de nombreuses études publiées (Lourenço, 2002; Lourenço et Leguin, 2011; Sadine *et al.*, 2011; Sadine, 2012; Sadine *et al.*, 2014; Meddour *et al.*, 2017; Sadine, 2018; Sadine *et al.*, 2018; Ouici *et al.*, 2020; Touati *et al.*, 2021; Mekahlia *et al.*, 2021; Chedad *et al.*, 2022).

Actuellement, la faune Algérienne des scorpions compte 51 espèces issues de 14 genres appartenant à 3 familles (Sadine *et al.*, 2020; Khammassi *et al.*, 2023) Cependant, le statut taxonomique d'un grand nombre de ces espèces n'est pas clair et douteux et il a nécessité un examen et une vérification plus approfondis. En outre, une plus grande diversité est à soupçonner, en particulier chez genre *Buthus* Leach, 1815, qui est peu étudié et morphologiquement très controversé (Klessner *et al.*, 2021; Zekri *et al.*, 2022).

La majorité des contributions sur les scorpions de l'Algérie sont orientées vers la systématique et la révision des espèces. Ainsi, le travail présenté dans cette thèse représente une combinaison de données morphologiques, morphométrique, phylogénétiques et la délimitation des espèces scorpionique de la région des Aurès et du Nord de Sahara en Algérie. Pour cela, nous avons visé trois objectifs principaux:

Premièrement, nous avons voulu initier une base de données de codes à barres d'ADN pour les scorpions de sud des Aurès et du Nord de Sahara Algérienne,

Deuxièmement, nous avons utilisé ces données ainsi que les données de la littérature pour construire et accomplir la liste des espèces des scorpions de la région.

Troisièmement, nous avons étudié la relation phylogénétique entre les différents taxons et cherché la présence des espèces cryptiques au sein des espèces étudiées.

Synthèse Bibliographique

I. Généralités sur les scorpions

I.1. Origine et évolution

Les scorpions forment un groupe d'animaux très anciens. Plus de 120 fossiles ont été découverts (Dunlop *et al.*, 2012), dont leur première apparition comme arthropodes aquatiques (Eurypterida), a été datée au milieu silurien (408 à 421 millions d'années (MA)) (Fig. 1. A et B) (Polis, 1990; Stockmann et Ythier, 2010). Les Eurypteridae ont passés vers le milieu estuaire en fin de silurien puis ils font leur transition en milieu terrestre à partir de la fin du Dévonien et au début du Carbonifère (entre 380 millions et 350 millions d'années). Actuellement toutes les espèces sont terrestres (Briggs, 1987; Polis, 1990; Cloudsley-Thompson, 1992; Dunlop et Webster, 1999; Dunlop *et al.*, 2012; Brianna *et al.*, 2005; Lourenço, 2018). Depuis 400 MA, ces arthropodes thermophiles ont franchi le cap de toutes les ères géologiques avec une morphologie extrêmement conservatrice. Par conséquence, ils sont considérés par plusieurs auteurs comme "fossiles vivants"(Bradley, 1988).

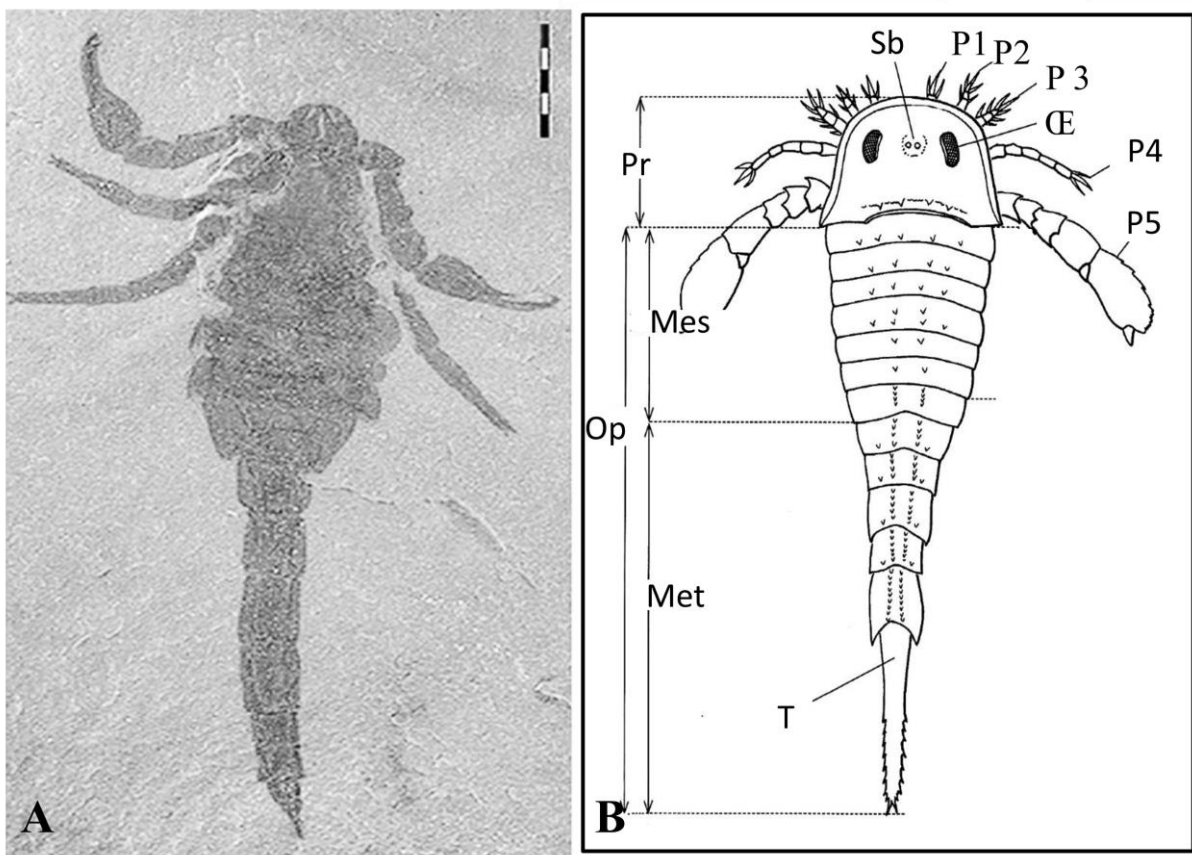


Figure 1: Vue dorsale d'un Eurypterid (par Stockmann and Ythier, 2010).

P (1, 2, 3, 4 et 5) : Pates; P5: pate de natation; Œ: œil latéral; Sb: segments branchial; T: telson;
Met: metasome; Mes: mesosome; Op: opisthosome; Pr: prosome

I.2. Classification

De point de vue systématique, les scorpions sont des chélicérates d'arthropodes constituant l'ordre des Scorpiones, ce sont un membre dans la classe des arachnides. L'ordre des Scorpiones est composé de plus de 2732 espèces (Reine, 2022). Selon Werner (1935); Petrunkevitch (1960); Savory (1964) et Polis (1990), le nombre des espèces est augmenté d'une façon exponentielle (Fig. 2) où le nombre est évolué de 536 espèces en 1935 à plus de 2732 espèces en 2022.

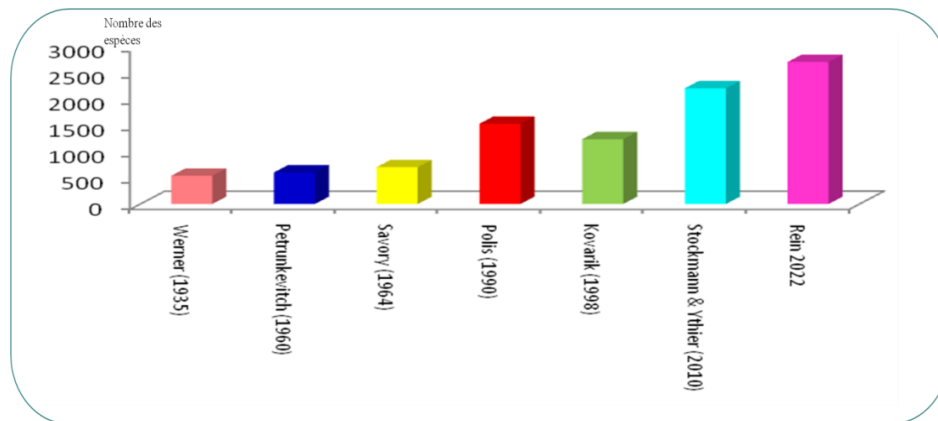


Figure 2: Évolution du nombre des espèces scorpionique.

I.3. Distribution géographique

L'activité des scorpions est très réduite où ils se déplacent très lentement. Ces animaux sont très attachés des biotopes (Vachon, 1952; Sadine, 2012). Les scorpions se caractérisent par son grande faculté d'adaptation aux conditions climatiques extrêmes, la sécheresse comme le froid rigoureux. Ils ont une abondance très significative dans les désert et les semi désert, mais aussi ils présentent une large distribution à une variété d'environnements où ils peuvent occuper divers types d'habitats : plaines, plateaux et hautes montagnes jusqu'à 5000m d'altitude (les chaînes de l'Himalaya), allons des diserts les arides aux forêts tropicales humides (Levy et Amitai, 1980; Anderson, 1983).

Par son activité nocturne et son distribution non aléatoire, ces petits arthropodes préfèrent les endroits obscurs pour se cacher, ils se vivent soit sur le sol ou bien dans le terriers: les dunes, le sol argileux et sous les pierres, soit dans la végétation : sous l'écorce, dans les trous d'arbres, à la base de grandes feuilles et branches, et aux habitations humaines (Vachon, 1952; Stahnke, 1966; Levy et Amitai, 1980; Polis, 1990; Goyffon et El Ayeb, 2002).

En Algérie, plus de 23 espèces occupent le Sahara algérienne où les palmeraies abritent le plus grand nombre d'espèces (Dupré, 2012; Sadine, 2018).

I.4. Scorpions en Algérie

Après la description de certaines espèces scorpionique en Algérie par Koch (1839) et Vachon (1952) dans sa monographie a contribué à l'étude de la systématique et de la distribution de la faune scorpionique de l'Afrique du Nord incluant les scorpions de l'Algérie, dans son travail, il enrichit les connaissances sur la composition de cette faune et liste un nombre important atteint à 24 espèces et sous espèces, ce nombre d'espèce est confirmé dans le catalogue d'El-Hennawy (1992). L'évolution du nombre d'espèce arrive jusqu'à 26 espèces dans le catalogue de Fet *et al.* (2000) et 29 espèces (Dupré, 2012). Par la suit, dans la dernière décennie, plusieurs études ont été menés pour élucider la composition de la faune scorpionique dans déférents territoires du payé (Sadine *et al.*, 2011; Sadine, 2012; Sadine *et al.*, 2014; Chichi, 2015; Hasnaoui *et al.*, 2018; Sadine *et al.*, 2018; Bousmaha *et al.*, 2019; Ouici *et al.*, 2020; Touati *et al.*, 2021; Chedad *et al.*, 2022).

La liste actualisée des espèces scorpionique de l'Algérie compte 51 espèces et sous espèces qui appartiennent à 14 genres et trois familles : Buthidae Koch, 1837; Euscorpiidae Laurie, 1896 et Scorpionidae Latreille, 1802 (Tab. 1). La majorité des espèces (86%) des espèces sont appartiennent à la famille des Buthidae. Lourenço et Sadine sont les auteurs les plus contributeurs, ils ont une grande tache dans la description et la révision de la plus part des espèces (Sousa *et al.*, 2017; Sadine *et al.*, 2020; Mekahlia *et al.*, 2021 ; Zekri *et al.*, 2022; Rein, 2022).

Tableau 1. Liste des espèces de scorpions en Algérie.

| Famille | Genre | Espèce |
|----------------------------------|------------------------------------|--|
| Buthidae (Koch, 1857) | <i>Androctonus</i> Ehrenberg, 1828 | <i>Androctonus amoreuxi</i> (Audouin, 1826) |
| | | <i>Androctonus australis</i> (Linnaeus, 1758) |
| | | <i>Androctonus aeneas</i> Koch, 1839 |
| | | <i>Androctonus hoggarensis</i> (Pallary, 1929) |
| | | <i>Androctonus eburneus</i> Pallary, 1928 |
| | <i>Buthacus</i> Birula, 1908 | <i>Buthacus ahaggar</i> Lourenço, Kourim et Sadine, 2017* |
| | | <i>Buthacus algérienus</i> Lourenço, 2006 |
| | | <i>Buthacus arenicola</i> (Simon, 1885) |
| | | <i>Buthacus armasi</i> Lourenço, 2013b* |

Généralités sur les scorpions

| | | |
|--|--|--|
| | | <i>Buthacus birulai</i> Lourenço, 2006 |
| | | <i>Buthacus elmenia</i> Lourenço et Sadine, 2017* |
| | | <i>Buthacus foleyi</i> Vachon, 1948 |
| | | <i>Buthacus samiae</i> Lourenço et Sadine, 2015* |
| | | <i>Buthacus sadinie</i> Ythier 2022* |
| | | <i>Buthacus spinatus</i> Lourenço, Bissati et Sadine, 2016* |
| | <i>Butheoloides</i> Hirst, 1925 | <i>Butheoloides schwendingeri</i> Lourenço, 2002a |
| | <i>Buthiscus</i> Birula, 1905 | <i>Buthiscus bicalcaratus</i> Birula, 1905 |
| | <i>Buthus</i> Leach, 1815 | <i>Buthus aures</i> Lourenço et Sadine 2016* |
| | | <i>Buthus paris</i> (C. L. Koch, 1839) |
| | | <i>Buthus oudjanii</i> Lourenço, 2017 |
| | | <i>Buthus pusillus</i> Lourenço, 2013a* |
| | | <i>Buthus tunetanus</i> (Herbst, 1800) |
| | | <i>Buthus tassili</i> Lourenço, 2002 |
| | | <i>Buthus saharicus</i> Sadine, Bissati et Lourenço, 2016* |
| | | <i>Buthus boussaadi</i> Lourenço, Chichi et Sadine, 2018* |
| | | <i>Buthus apiatus</i> Lourenço, El Bouhissi et Sadine, 2020* |
| | | <i>Buthus goyffoni</i> Abidi, Sadine et Lourenço, 2021* |
| | <i>Buthus ahaggar</i> Ythier, Sadine et Lourenço, 2021* | |
| | <i>Cicileus</i> Vachon, 1948 | <i>Cicileus exilis</i> (Pallary, 1928) |
| | | <i>Cicileus hoggarensis</i> Lourenço et Rossi, 2015* |
| | | <i>Cicileus montanus</i> Lourenço et Rossi, 2015* |
| | <i>Compsobuthus</i> Vachon 1948 | <i>Compsobuthus tassili</i> Lourenço, 2010 |
| | | <i>Compsobuthus berlandi</i> (Vachon, 1950) |
| | <i>Hottentotta</i> Birula, 1908 | <i>Hottentotta franzwernerii</i> (Birula, 1914) |
| | | <i>Hottentotta gentili</i> (Pallary, 1924) |
| | | <i>Hottentotta hoggarensis</i> Lourenço et Leguin, 2014* |
| | <i>Lissothus</i> Vachon 1948 | <i>Lissothus chaambi</i> Lourenço et Sadine, 2014* |
| | <i>Leiurus</i> Ehrenberg 1828 | <i>Leiurus hoggarensis</i> Lourenço, Kourim And Sadine, 2018* |
| | | <i>Leiurus quinquestriatus</i> (Ehrenberg, 1828)* |
| | <i>Orthochirus</i> Krasch 1891 | <i>Orthochirus innesi</i> (Simon, 1910) |
| | | <i>Orthochirus tassili</i> Lourenço et Leguin, 2011 |
| | | <i>Orthochirus soufiensis</i> Lourenço et Sadine, 2021* |

Généralités sur les scorpions

| | | |
|---|--|--|
| | <i>Pseudolissothus</i> Lourenço, 2001 | <i>Pseudolissothus pusillus</i> Lourenço, 2001 |
| Euscorpiidae Laurie, 1896 | <i>Euscorpius</i> Thorell 1876 | <i>Euscorpius italicus</i> (Herbst, 1800) |
| | | <i>Euscorpius flavicaudis</i> (De Geer, 1778) |
| | | <i>Euscorpius galitae</i> Caporiacco, 1950 |
| Scorpionidae | <i>Scorpio</i> (Linnaeus 1758) | <i>Scorpio maurus</i> (Linnaeus, 1758) |
| | | <i>Scorpio maurus trarasensis</i> (Bouisset et Larrouy, 1962) |
| | | <i>Scorpio punicus</i> (Fet, 2000) |
| | | <i>Scorpio tassili</i> Lourenço et Rossi, 2016* |
| | | <i>Scorpio atlasensis</i> Khammessi <i>et al.</i>, 2023 |
| Totale | 14 | 51 |
| * : espèce décrit après Dupré (2012) Gras : espèces endémiques à l'Algérie | | |

I.5. Envenimation scorpionique

Lorsqu'on parle de la venimosité, les scorpions sont des arthropodes prédateurs venimeux, mais ils ne sont pas tout mortels (Polis, 1990). Ils utilisent le venin pour la prédation lorsqu'il s'agit de vertébrés, et pour la défonce lorsqu'il s'agit d'invertébré comme les insectes et les araignées.

Par sa morbidité et mortalité, l'envenimation scorpionique constitue un véritable problème de la santé publique. L'augmentation des incidences par les piqures des scorpions est fortement touché les zones à forte densité de scorpions comme d'Afrique du Nord et le Maghreb (Chippaux et Goyffon, 2008 ; Coelho *et al.*, 2015).

Avec 96 genres et 1312 espèces, la famille des Buthidae (C.L. Koch, 1837) représente la plus grande et diverse famille dans l'ordre des Scorpionales, elle inclut la majorité des espèces dangereuses pour l'homme qui a donc une importance médicale (Fet *et al.*, 2000; Fet *et al.*, 2003; Sadine *et al.*, 2020; Rein, 2022), où ils ont répartis au Nord d'Afrique et le moyen orient (*Androctonus*, *Buthacus*, *Buthus*, *Hottentotta* et *Leiurus*), Amérique de sud (*Tityus*), Inde (*MesoButhus*), et le Mexique (*Centruroides*) (Brownell et Polis, 2001).

En Algérie, 20% des espèces scorpionique sont potentiellement dangereuses pour l'homme, essentiellement celles qui appartiennent aux genres suivants : *Androctonus*, *Buthacus*, *Buthus* et *Leiurus* (Sadine *et al.*, 2020) causant selon la Direction Générale de la

Prévention et de la Promotion de la Santé (2020), 50000 cas de piqûres et environ de 50 décès surtout chez les enfants.

I.6. Importance médicale

Le venin des scorpions est un mélange complexe de protéines hautement spécifiques et de toxines et d'autres composés, synthétisé dans la glande à venin situé sur le telson où chaque scorpion a son mélange. L'injection du venin et son quantité sont fortement contrôlées et peuvent dépendre sur différents variant tel que la taille de la proie et le genre du scorpion (Brownell et Polis, 2001; Stockmann et Ythier, 2010).

Le venin des scorpions est une riche source de composés bioactifs avec des potentiels thérapeutiques. Il est principalement exploité dans la production d'antisérum (Todd, 1909; Lattifi et Tabatabai, 1979; Mousli *et al.*, 1999). De plus, il contient plusieurs peptides de petit poids moléculaire ayant de larges activités pharmacologiques telles que le blocage antiépileptique, anticancéreuse, antimicrobien, antivirale et même dans le traitements de certain cas d'infertilité (Zhou *et al.*, 1989; Yokata *et al.*, 1992; Ehret-Sabatier *et al.*, 1996; Meki et Omar, 1997; Joseph et George, 2012).

II. Diversité génétique et la systématique phylogénétique

II.1. Variation intra spécifique et Taxonomie

L'étude des variations génétiques et morphologiques intra spécifiques parmi des populations géographiquement isolées est utilisé pour mieux clarifier l'un des processus évolutifs, qui est considéré comme le stade précoce de la spéciation allopatrique (Ben Othmen *et al.*, 2009 ; Coelho *et al.*, 2014 ; Klessner *et al.*, 2021). Dans certains cas, la distribution d'une espèce dans des emplacements géographiquement différents peut contribuer des variations sur la morphologie, la génétique et même sur la composition de venin dans le cas des scorpions (El Ayeb et Rochat, 1985; Polis, 1990; Smertenko *et al.*, 2001; Devaux *et al.*, 2004; Newton *et al.*, 2007). Cependant il est nécessaire de noter que les variations morphologiques intraspécifiques observées ne sont pas toujours exprimé au niveau moléculaire. L'absence de l'association entre la morphologie et les données allozymatiques, par exemple, a été observée et attribuée aux effets environnementaux sur la morphologie (Yoshiyama et Sassaman, 1983).

II.2. DNA Barcoding

On sait aujourd'hui que l'ADN, est la source de l'information génétique et de la transmission héréditaire. Cette source est donc, à l'évidence, la plus importante pour la reconstruction phylogénétique. La découverte du modèle de la structure de l'ADN par Watson et Crick (1953) et le mécanisme de la réplication et l'expression des gènes par Lunardi (2003) étaient considérées comme l'amorce et le pivot à l'établissement de la biologie moléculaire.

L'incapacité de la taxonomie conventionnelle, par laquelle l'identification des espèces peu constituer un véritable défi, notamment face à la perte constante de la biodiversité. Le *DNA Barcoding* est une nouvelle approche moléculaire proposée par Herbert (2003), c'est un outil taxonomique des espèces basé sur les séquences d'ADN de réponse très prometteur qui viendrait compléter l'accès à l'identification du monde vivant. Il a ainsi contribué à accélérer la description de la biodiversité encore inconnue. Il s'agit d'obtenir des données génétiques standardisées à partir de spécimens référencés dans des collections et identifiés par des taxonomistes, pour identifier par la suite de façon fiable et rapide les espèces dont sont issus des individus prélevés dans leur environnement.

II.2.1. Principe

Chez les métazoaires, l'ADN mt présente une structure conservée (Gissi *et al.* 2008). Il porte des caractères qui représentent la séquence historique présumée des événements de mutation accompagnant la différenciation des lignées maternelles (Avisé *et al.*, 1987; Ballard et Rand, 2005; Ballard et Whitlock, 2004). Il comprend 13 gènes codant des protéines essentiels pour les cellules Productrices d'ATP par phosphorylation oxydative, parmi ces gènes le cytochrome c oxydase sous-unités I (COI). En comparaison avec l'ADN nucléaire, l'ADN mt est utilisé comme marqueur génétique pour comprendre l'histoire évolutive de nombreux taxons (Zhang et Hewitt, 1996; Sunnocks, 2000). Le choix de ce matériel est pour plusieurs raisons : (i) Il est présent sous forme de plusieurs copies par cellule, (ii) à l'exception de certains cas, ce n'est un ADN recombinant, (iii) de plus, est un ADN haploïde à faible taux de mutations.

En biologie moléculaire évolutive, la découverte de la PCR (polymerase chain reaction), les techniques de séquençage automatisées et l'amélioration des algorithmes et des logiciels potentiels d'analyse des séquences, permettent d'accumuler et de traiter les données d'une manière plus précise et dans un temps réduit (Caterino *et al.*, 2000).

Le *DNA barcoding* utilise un fragment standard du matériel génétique mitochondriale (ADN mt) de 400 à 800 paires de bases, ce fragment est une partie du gène qui code pour la sous-unité I du Cytochrome oxydase. Il correspond à une protéine impliquée dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie. Ce gène est présent chez tous les organismes, en principe, il devrait être facilement généré et caractérisé pour toutes les espèces sur la planète, pour déterminer la position taxonomique unitaire «espèce» d'un organisme. La variabilité nucléotidique de ce fragment constitue des combinaisons uniques qui permettent d'identifier les espèces (Takeyama *et al.*, 2001; Savolainen *et al.*, 2005). Où ces code-barres doivent présenter une séquence variable entre espèces mais très conservée au sein d'une même espèce, afin d'avoir un fort pouvoir discriminant. La précision de cette approche permet même d'identifier les espèces présentes dans un milieu alors même que les individus n'y sont pas facilement accessibles.

II.2.2. Cytochrome oxydase I

Récemment, l'utilisation des marqueurs moléculaires devient essentielle où ils offrent un immense outil populaire pour une variété d'applications, y compris la construction des cartes génétiques (Bonierbale *et al.*, 1988), l'étude de la variabilité et la diversité génétique,

les analyses phylogénétiques et la relations entre les individus et les lignées (Jena et Kochert, 1991), ainsi, utilisé dans les enquêtes médico-légales (Schulman, 2007; Griveret Sharma; 2016).

Au sein du gène du COI, une séquence constitué d'environ de 650 pb est utilisé comme un code à barres primaire pour les éléments du règne animal, et donc, pour assigner spécimens non identifiés d'une espèce connue (Arabi *et al.*, 2012). L'utilisation du COI comme marqueur pour le code à barres d'ADN des membres du règne animale est pour plusieurs raisons (Herbert *et al.*, 2003) :

- Sa vitesse évolutive et son taux de divergence permettent de discriminer les espèces, voire même discriminer des populations au sein d'une même espèce (sous espèces) (Cox et Hebert, 2001; Wares et Cunningham, 2001).
- La présence de l'ADN mt sous forme de plusieurs copies fournit une très grande quantité du COI ce qui facilite énormément son séquençage.
- les amorces décrites par Folmer *et al.* (1994) pour le séquençage de ce gène sont très robustes au sein d'une grande population d'organismes.

Au cours de la dernière décennie, le projet du *DNA barcoding* (Ratnasingham et Hebert, 2007) donnent lieu à des publications à un rythme rapide où le nombre des séquences du COI disponibles dans les bases de données a augmenté de façon exponentielle.

II.3. Base de références

Afin d'arriver à la position taxonomique d'un organisme, il suffit d'obtenir sa séquence d'ADN et la comparée avec d'autres séquences disponibles sur des bases de données en ligne telles que BOLD (Ratnasingham et Hebert, 2007 : www.boldsystems.org) et GenBank (Benson *et al.*, 2016 : www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Ces bases de données sont construit pour la première fois par des séquences du COI des organismes déjà connus pour élaborer une bibliothèque de références. Les séquences de COI de plus de 370000 et 342622 espèces sont disponibles sur GenBank et BOLD respectivement, ces séquences sont obtenues principalement par le biais de soumissions individuels de laboratoires et de soumissions par lots de projets de séquençage à grande échelle. De plus à l'identification de la séquence d'un individu inconnu, les bases de données Genbank et BOLD fournissent d'autres informations connexes : séquences et structures de protéines, taxonomie, photographie, écologie et distribution.

II.4. Outils de la bioinformatique

Comme nous avons déjà mentionné ci-dessus, le *DNA barcoding* est un outil moléculaire utilisé pour évaluer la phylogénie de nombreux organismes. Il a fourni un outil puissant pour analyser les modèles de variation génétique au sein et entre les populations (Gantenbein *et al.*, 1999; Gantenbein et Largiadèr, 2003). L'efficacité du *DNA barcoding* est lorsque la diversité génétique intraspécifique du gène COI est inférieure à la diversité interspécifique. Mais ça n'empêche pas la présence des lacune dans la crédibilité de la méthode (Puillandre *et al.*, 2012).

II.4.1. Phylogénie moléculaire

Les relations phylogénétiques réelles entre les différents éléments d'un échantillon donné peuvent être illustrées sur un arbre phylogénétique par leur présentation sous forme des clusters et en fonction de la topologie générale et la longueur de branches obtenues (Mäser *et al.*, 2001). Chaque cluster sera composé par les séquences des individus appartenant à la même espèce ou son architecture est en fonction du taux de divergence du gène COI présent entre les espèces. Les méthodes de reconstruction phylogénétique sont classées en deux catégories basant sur le concept de calcul : (1) les méthodes de distance (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means : UPGMA; Neighbor Joining : NJ) basant sur le taux de divergence où l'arbre phylogénétique est construit à partir de la matrice de distance calculé (basé sur le pourcentage de différence entre les séquences d'ADN). (2) les méthodes probabilistes (Analyse bayésienne avec Chaîne de Markov : MCMC; Maximum Likelihood : ML) calculent des probabilités de changement aux nœuds sous un modèle d'évolution des séquences (Saitou et Imanishi, 1989; Peng, 2007; Rizzo et Rouchka, 2007). Plus à BOLD et GenBank, plusieurs sites servent la construction phylogénétique :

[http:// NJGPhylogeny.fr](http://NJGPhylogeny.fr)

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/software.html>

<http://bioweb.pasteur.fr/seqanal/phylogeny/>

<http://pbil.univ-lyon1.fr/ird/IRD.html>

<http://bioweb2.pasteur.fr/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/CommonTree/wwwcmt.cgi>

II.4.2.Délimitation des espèces

La délimitation des espèces est une nouvelle approche moléculaire et bioinformatique qui conduit à classer, identifier, quantifier et établir les limites entre les espèces (Carstens *et al.*, 2013; Rannala et Yang, 2020). Les groupes prédéterminé par le *DNA barcoding*, seront utilisés comme première hypothèse pour délimiter les éléments de la population étudiée (Puillandre *et al.*, 2012). Cette approche suggère de combiner différents critères: morphologique, phylogénétique et même écologique dans certain cas, par conséquence, d'obtenir une vue plus proche à la réalité. La délimitation moléculaire des espèces réside dans le pourcentage de différences observées entre des séquences de référence et la séquence observée. Donc, ce pourcentage se diffère entre les espèces pour le locus considéré peut fortement varier en fonction du groupe d'organismes pris en compte.

La quantité de données issues du barcoding ayant rapidement augmenté, différentes méthodes d'analyses de ces données ont été élaborées pour définir des groupes ou clusters génétiques, utilisés comme unités taxonomiques moléculaires opérationnelles (mOTU) afin de délimiter les hypothèses d'espèces. Ces méthodes sont classées en deux catégories. Les méthodes de la première catégorie telle que Bayesian Phylogenetics and Phylogeography (BPP) (Yang et Rannala, 2014) et Bayes factor (BFD) (Leaché *et al.*, 2014) ont été conçus pour des données multi locus, en termes de calcul, elles sont extrêmement exigeantes. Elles calculent la probabilité de partitions concurrentes d'hypothèses d'espèces dans le cadre dit coalescent multi-espèces. En conséquence, ils ont été principalement appliqués à des ensembles de données avec un nombre limité de séquences et d'espèces, et à des groupes bien étudiés, pour lesquels des partitions concurrentes d'espèces ont été proposées dans la littérature (De Queiroz, 2005). La deuxième catégorie comporte les méthodes qui agissent sur un ensemble de données d'un seul locus de type DNA Barcode et proposent des partitions d'espèces de novo. En terme de calcul, ces méthodes ne sont pas exigeantes, faciles à appliquées même sur des données volumineux et ne nécessite pas la théorie d'espèce prédéfinies. Les méthodes les plus répons de cette catégorie sont : General Mixed Yule-Coalescent model (GMYC) (Pons *et al.*, 2006), Poisson Tree Process (PTP) (Zhang *et al.*, 2013), Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) (Puillandre *et al.*, 2012) et Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP) (Puillandre *et al.*, 2021). Les deux premières méthodes (GMYC et PTP) ont d'abord été développées dans un cadre de maximum de vraisemblance, puis étendus à un cadre bayésien (Reid et Carstens, 2012). En outre ABGD n'utilise que des distances génétiques par paires (aucun arbre n'est déduit) et identifie

automatiquement dans leur distribution ce que l'on appelle le "barcode gap". Cet écart marque la limite entre les plus petites distances intra-spécifiques et les plus grandes distances interspécifiques (Puillandre *et al.*, 2012; Puillandre *et al.*, 2020).

II.5. Phylogénie des scorpions

La résolution de la systématique des scorpions reste difficile depuis longtemps. La majorité des études phylogénétiques moléculaires choisissent le COI comme marqueur pour analyser la phylogénie moléculaire des différentes familles et par conséquent, une base de données complète d'ADN mt est construite. En 1994, Fet et Vezzetti élaborèrent une méthode d'amplification d'ADN à partir d'un scorpion conservé. Cette technique est utilisée par la suite par Gantenbein *et al.* (1999) pour construire le premier arbre phylogénétique de quatre espèces des Scorpions.

La première étude moléculaire sur les scorpions a été réalisée par Fet *et al.* (2003), où ils ont publié le premier article sur la phylogénie de 17 genres appartenant à la famille des Buthidae en se basant sur le marqueur mitochondrial 16S (Fig. 3).

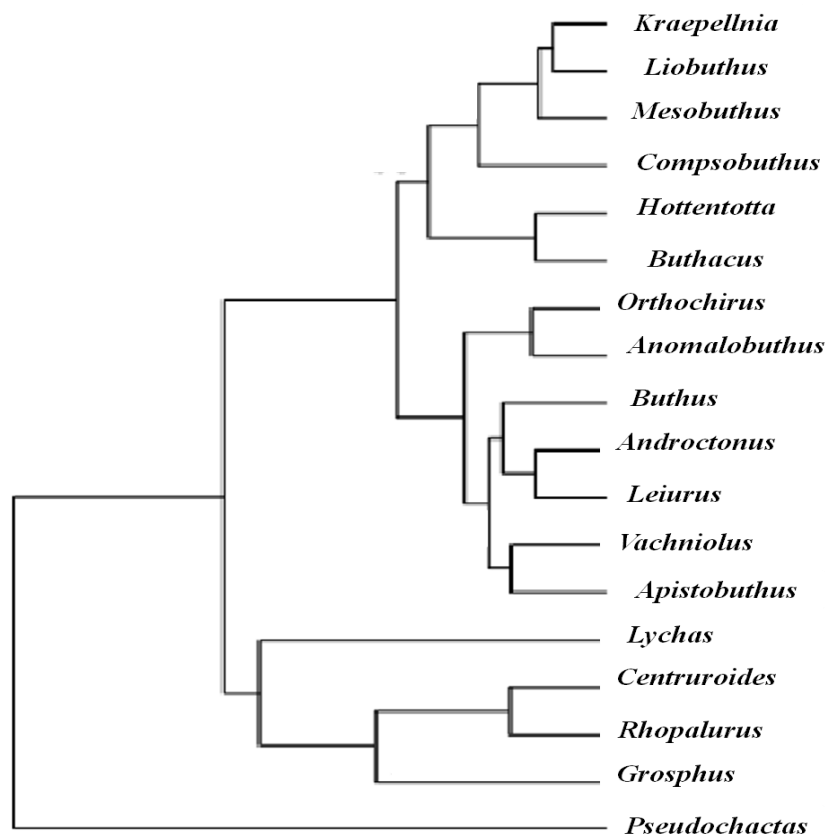


Figure 3. Arbre phylogénétique Maximum Likelihood (ML) de 17 genres appartenant à la famille des Buthidae basant sur le gène mitochondrial 16S (Fet *et al.*, 2003).

Diversité génétique et la systématique phylogénétique

L'étude de la phylogénie moléculaire de l'ordre des Scorpiones entier par Sharma et ses collaborateurs (2015), a résolu cet ordre en tant que clade monophylétique niché dans la classe des Arachnides (Fig. 4). En outre, au niveau du genre et de l'espèce, la taxonomie n'est pas encore résolue et si nous allons plus loin dans les niveaux taxonomiques, la matière est encore plus cryptique. Du coup, l'exploitation des outils moléculaires et autres marqueurs devient essentielle pour obtenir des estimations précises pour les phylogénies et afin de clarifier l'évolution des scorpions (Lourenço, 2002; Sousa *et al.*, 2012; Pedroso *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2017; Klessner *et al.*, 2021, Zekri *et al.*, 2022).

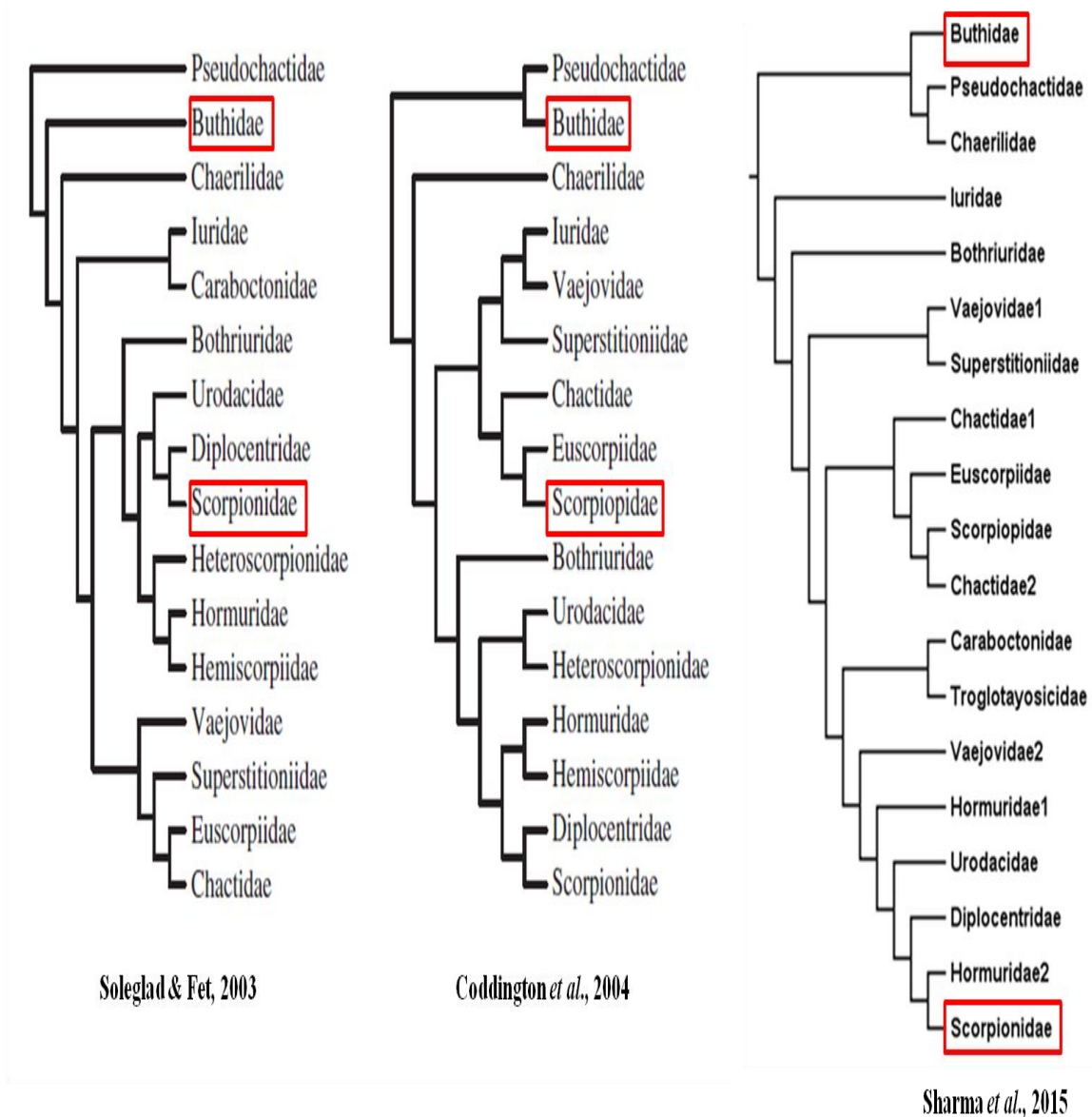


Figure 4. Cladogramme présente l'évolution de la théorie de la relation entre les familles des Scorpiones (Sharma *et al.*, 2015).

Matériel et Méthodes

I. Étude sur terrain

I.1. Délimitation de la zone d'étude

Cette étude a été réalisée dans le Sud-est du massif des Aurès qui se situe dans la partie orientale de l'Atlas Saharien algérien et au Nord du Sahara Algérienne (Fig. 5). L'Aurès forme un ensemble de hautes montagnes, continues et puissantes, avec des reliefs très contrastés, allant dans élévation de 50 m à 2300 m (Besnier, 1899; Lafitte, 1939; Ballais, 1989). Notre région d'étude qui se place sur le versant sud des Aurès et aux confins septentrionaux du Grand Erg Oriental, est beaucoup plus influencée beaucoup plus par le climat saharien, avec une végétation plus ou moins xérophile et d'affinité saharienne (Desanges et Riser, 1989).

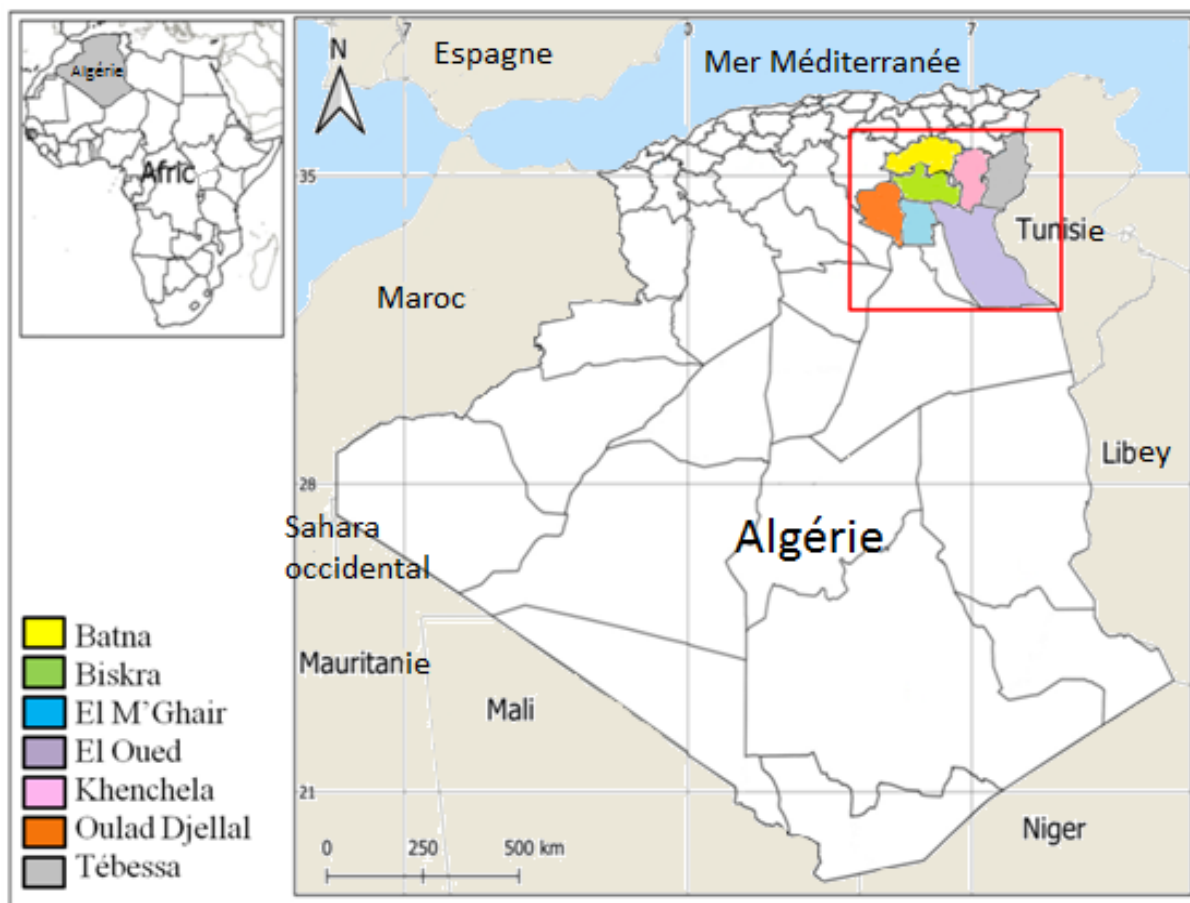


Figure 5: Carte administrative représente la zone d'étude.

Les scorpions ont été collectés dans 12 localités appartenant à 7 wilayas. La majorité d'entre elles sont situées sur le sillon Sud de l'Aurès. Le nom de chaque site, les coordonnées géographiques et l'altitude sont mentionnés dans le tableau 2.

Tableau 2. Coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage.

| Wilaya | Site | Coordonnées géographiques | Altitude (m) |
|---------------|---------------|---------------------------|--------------|
| Batna | Aïn Beïda | 35°05' N.; 06°23' E. | 1731 |
| | Aïn Touta | 35° 23' N., 05° 54' E | 940 |
| | Laksar | 35° 08'N.; 006° 18' E. | 1000 |
| Biskra | El Hadjeb | 34° 47'N.; 5°35' E. | 160 |
| | Filiache | 34° 50'N.; 5°44' E. | 100 |
| | El-Ouelladja | 34°36' N., 6°39' E. | 39 |
| | Lioua | 34° 38'N.; 5°23' E. | 100 |
| El M'Ghair | Tendla | 34°15' N., 5° 57' E. | 00 |
| El Oued | Hassi Khalifa | 33° 36' N., 6° 01' E. | 45 |
| Khenchela | Al Amra | 34° 55' N., 7° 02' E | 730 |
| Ouled Djellal | Bir Naam | 34° 45'N.; 5°06' E. | 230 |
| Tébessa | El Hammamet | 35' 27 N., 07' 55' E. | 841 |

I.2. Échantillonnage

Durant une période de 5 ans (2018-2022), les scorpions ont été collectés dans 12 sites appartenant aux 7 wilayas d'Algérie.

Les trois sites, Aïn Beïda, Laksar (Batna) et El-Ouelladja (Biskra) représentent la région d'étude effective où le niveau de sorties est élevé et le nombre de scorpions collectés est important. Pour le reste des sites, les scorpions sont recueillis occasionnellement et utilisé dans les analyses moléculaires et phylogénétiques.

Les scorpions ont été capturés avec précaution pour éviter d'endommager l'individu ou de détériorer son corps, car chaque partie a un rôle essentiel dans l'identification et la détermination du taxon du scorpion (Vachon, 1952).

La méthode de collecte des scorpions se faisait de deux façons : Soit par capture collective avec un groupe de personnes, soit par des personnes spécialisées dans la collecte de scorpions, et dans certains cas (Notamment les scorpions de Tbessa, Khanchela et El-Oued) sont collecté d'après une société spécialisée dans la collecte et l'étude des scorpions. Des sorties aléatoires ont été effectuées, où les sites de capture ont été choisis au hasard, où suspectés d'héberger des scorpions, tels que les ordures, les troncs d'arbres tombés, sur l'herbe et principalement sous les pierres qui sont l'habitat préféré de la majorité des scorpions. L'échantillonnage a été réalisé en deux périodes :

I.2.1. Collecte diurne

La collecte commence tôt le matin, en recherchant des scorpions dans leurs cachettes. Pour les sites proches des maisons et des habitations humaines (Laksar par exemple), la recherche des scorpions a été généralement effectuée à proximité des ordures, dans les déchets de construction, sous ou dans les vieilles chaussures et vêtements abandonnés, sous les vieux matelas et bois de meuble endommagés, et même, dans les terres plantés où ils trouent le sol pour se cacher (Fig. 6) et tout autre abri susceptible d'abriter des scorpions.



Figure 6. Habitat de *Buthus aures* dans un terrier. (Photos ©: W. Zekri).

Pour les sites qui sont loin des zones urbaines (Aïn Beïda par exemple), la plupart des scorpions sont collectés sous les pierres (Fig. 7) et les troncs d'arbres coupés ou bien sur la végétation.



Figure 7. Habitat de *Buthus aures* dévoilée d'une pierre. (Photos ©: W. Zekri).

I.2.2. Collète nocturne

Parmi les nombreuses caractéristiques remarquables que présentent les scorpions on peut citer leur capacité à être fluorescents sous la lumière ultraviolette (UV). Cette caractéristique est presque unique, en particulier parmi les organismes terrestres (la fluorescence été observé chez certains organismes des eaux profondes où elle est utilisée

comme signale de communication entre les organismes en absence de la lumière solaire (Fasel *et al.*, 1996; Stachel *et al.*, 1999), et est très utile sur le terrain. Les composés aromatiques de la cuticule absorbent la lumière dans la longueur d'onde 400 nm, proche de l'ultraviolet, et la fluorescence dans les fréquences plus élevées, environ 500-550 nm, allant du bleu-vert au jaune. Cette fluorescence peut jouer un rôle actif dans la détection du scorpion durant la nuit (Stahnke, 1972; Koehler, 1979; Low *et al.*, 2003; Volschenk, 2005; Gaffin *et al.*, 2012). Selon Stahnke (1972), la capture des scorpions se déroule le plus souvent à partir de neuf heures du soir, c'est la période propice à l'activité des scorpions. La caractéristique fluorescente des scorpions sous la lumière ultraviolette, facilite son détection à environ de 15 m de distance où la couleur du scorpion sous la lumière UV devient jaune verdâtre indépendamment de sa couleur naturelle (Fig. 8).

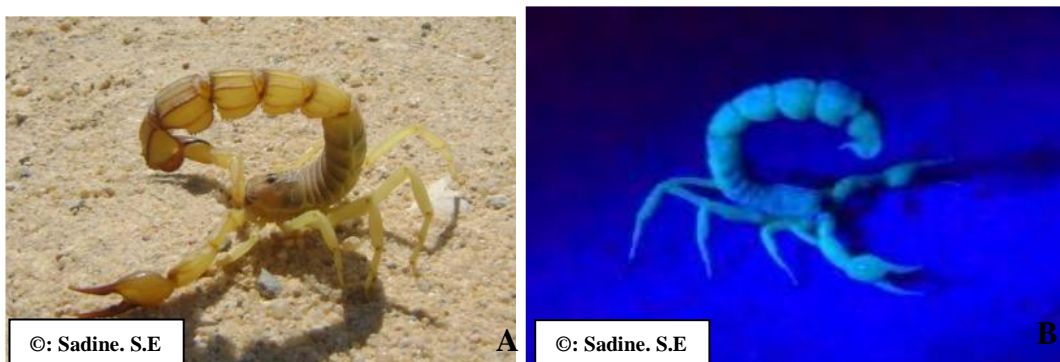


Figure 8. *Androctonus australis*: **A**: sous la lumière blanche, **B**: sous la lumière UV (Par Sadine Salah Eddine, 2012).

I.3. Conservation des spécimens

Après la collecte des scorpions, chaque individu a été isolé dans un tube à part contenant de l'éthanol absolu avec une étiquette indiquant le numéro du tube, le site et la date de la collecte. Les tubes ont été conservés dans un congélateur à -20°C. La collection est disposés au niveau du laboratoire de la Génétique, Biotechnologie et Valorisation des Bioressources (GBVB), Université de Biskra, Algérie.

II. Analyses au laboratoire

II.1. Analyse morphologique

Les spécimens ont été examinés avec une loupe binoculaire stéréoscopique à lumière froide et photographiés avec un appareil photo numérique. Seuls les scorpions adultes ont été considérés lors de l'identification. Les scorpions collectés ont été identifiés sur la base des caractères morphologiques simples tels que: (1) La disposition des trichobothries sur la préfumure, la fumure, main, et les doigts (Figure 9),

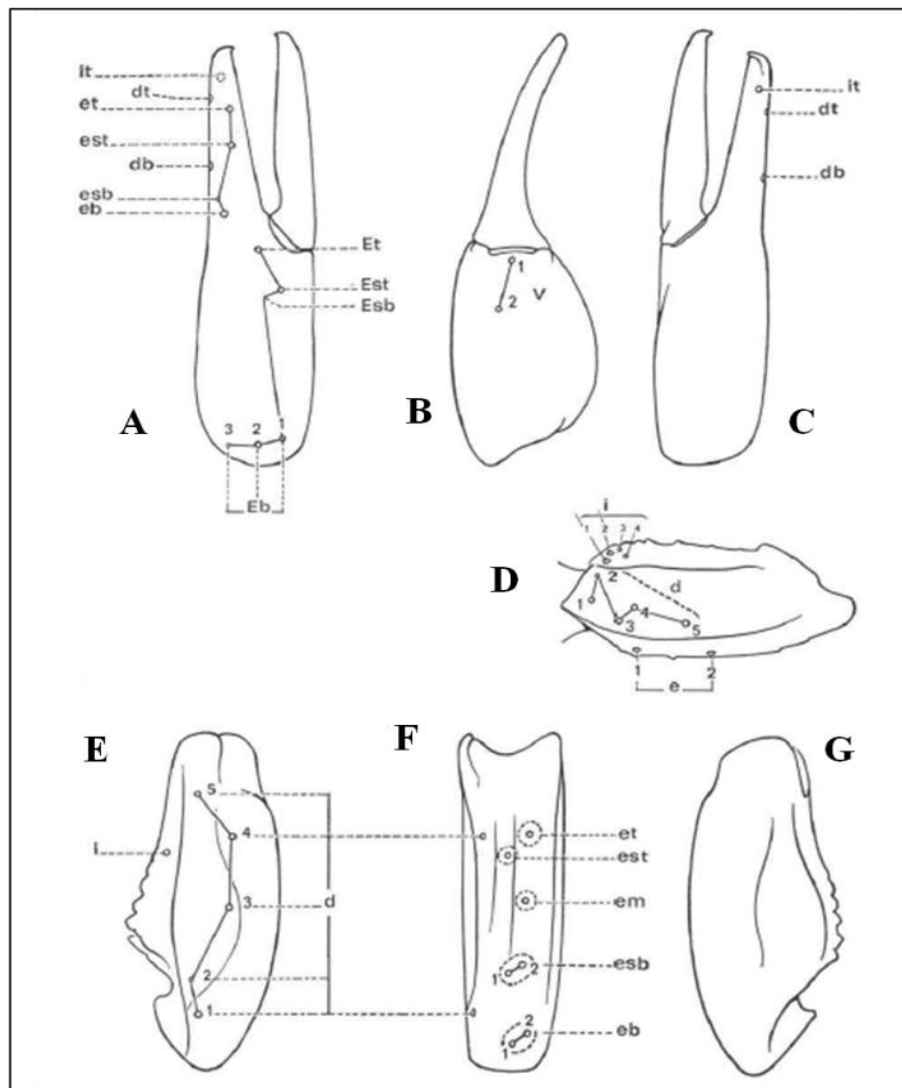


Figure 9. Orthobothriotaxie: Exemple des Buthidae (type A). **A, B, C:** Modèle des 15 trichobothries de la pince, **D:** Modèle des 11 trichobothries du fémur, **E, F:** Modèle des 13 trichobothries du tibia, **G:** La face ventrale du tibia ne porte jamais de trichobothries d'après (Vachon, 1974).

(granules sur les doigts des pédipalpes (Fig. 11). (4) Le nombre des dents des peignes (Fig. 12) et la disposition des yeux. L'application de tous ces caractères a été réalisée selon Vachon (1952), Stahnke (1970) et Vachon (1974).

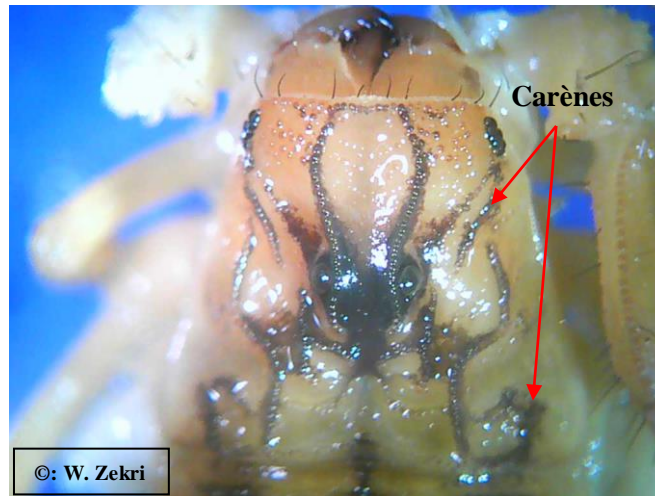


Figure 10. Disposition des carènes céphalothoracique sous forme de lyre d'un *Buthus aures*. (Photos ©: W. Zekri).

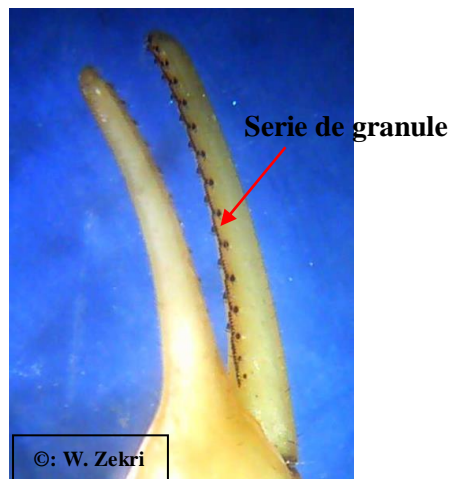


Figure 11. Arrangement des granules sur le doigt mobile d'un pédipalpe. (Photos ©: W. Zekri).

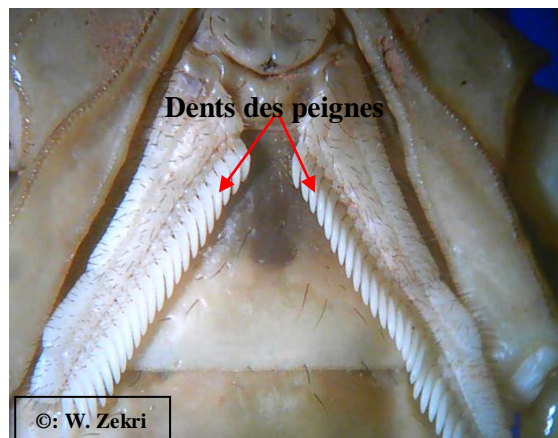


Figure 12. Dent des deux peignes d'un *Buthus aures*. (Photos ©: W. Zekri)

II.2. Analyse morphométrique

Les scorpions adultes des deux sexes sont capturés dans les localités indiquées dans le tableau 2, puis ils ont été utilisés pour une analyse morphométrique. Un pied à coulisse a été utilisé selon (Polis, 1990) pour mesurer: longueur totale du corps, longueur et largeur de la carapace, longueur et largeur du pédipalpe, longueur et largeur de la fémur du pédipalpe, longueur et largeur de la préfumure du pédipalpe, longueur du mésosome, longueur du métasome, longueur, largeur et hauteur des segments métasomiaux de 1 à 5, longueur du telson et de l'aiguillon (Fig. 13).

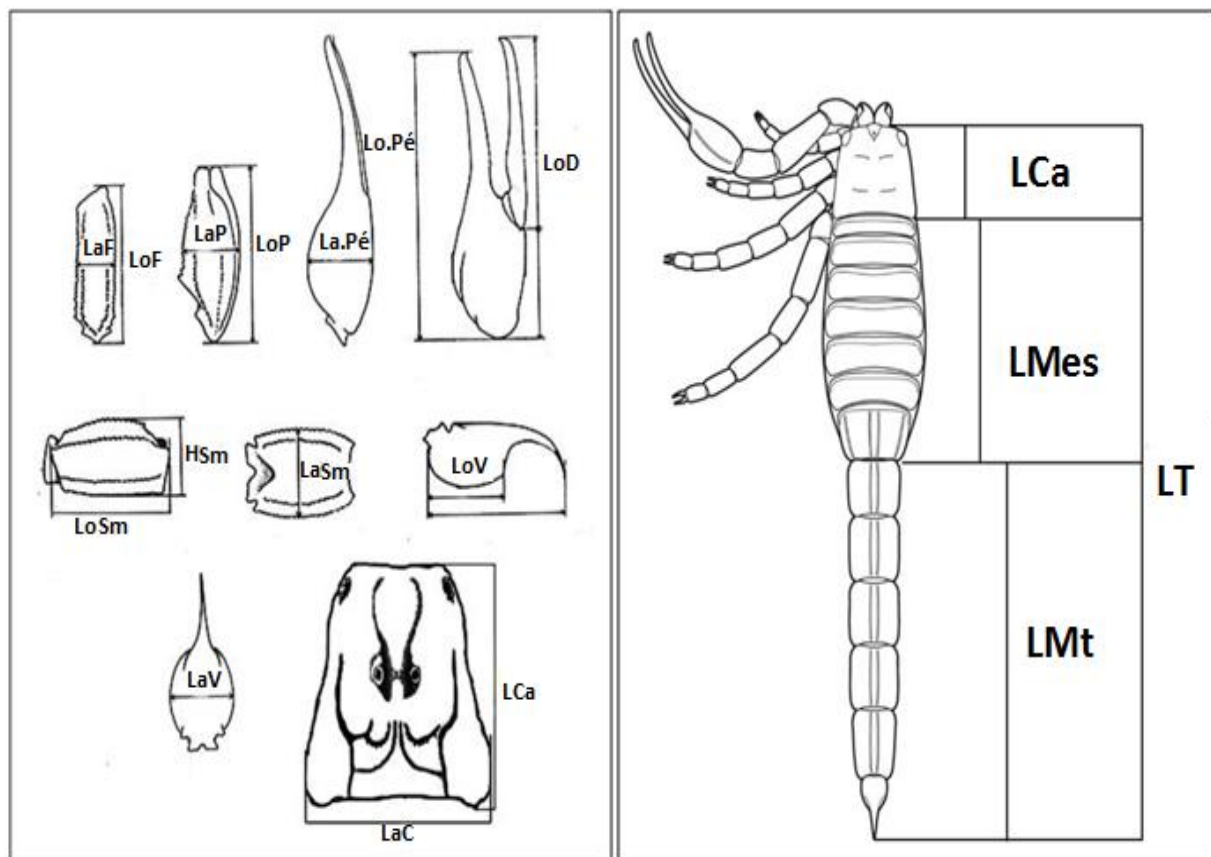


Figure 13. Mensuration d'après (Polis, 1990). **LCa** : longueur da la carapace, **LMes** : longueur de la mésosome, **LMT**: longueur de la metasome, **LT** : longueur totale. **LaF** : Largeur de la Fémur, **LoF** : Longueur de la Fémur, **LaP** : Largeur de la Pré-fémur, **LoP** : Longueur de la pré-fémur, **La.Pé** : Largeur du pédipalpe, **Lo.Pé** : Longueur du pédipalpe, **LoD** : Longueur du doigt mobil, **LoSm** : Longueur du segment metasomal, **LaSm** : Largeur du segment metasomal, **HSm** : Hauteur du segment metasomal, **LoV** : Longueur de la vésicule, **LaV** : Largeur de la vésicule, **LaC** : Largeur de la carapace.

II.3. Analyse moléculaire

L'identification des espèces est un élément essentiel dans l'étude de la biodiversité et pour la conservation des bioressources, mais elle est difficile pour de nombreux taxons lorsqu'on utilise uniquement les traits morphologiques. Pour cette raison, des méthodes d'identification alternatives basées sur des marqueurs moléculaires ont été proposées.

Au cours des dernières décennies, l'essor de la biologie moléculaire et l'application de données de séquence d'ADN représente une approche alternative prometteuse et efficace pour identifier les spécimens à tous les stades de leur vie.

Dans ce travail, l'analyse génétique de 22 scorpions a été réalisée en deux laboratoires:

- Le laboratoire de la biologie moléculaire, université d'Al-Azhar, Assiut, Égypt.
- La plateforme prestataire « GENE LIFE SCIENCES », Sidi Bel-abbès, Algérie.

II.3.1. Extraction d'ADN

L'ADN génomique entier a été extrait des muscles de la main des scorpions identifié morphologiquement et conservés dans l'éthanol absolu en utilisant un Kit d'extraction (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook Kit (Qiagen), en suivant l'instruction du fabricant.

L'ADN extrait peut être contaminé soit par de l'ARN soit par les protéines. Pour vérifier une éventuelle contamination nous avons effectué:

- Une migration électrophorétique : La solution qui contient l'ADN extrait a été migrée sur le gel d'agarose avec 1% contenant du Bromure d'éthidium (BET). L'apparition d'une trainée sur le gel montre une contamination par les ARNs.
- Absorbance à 260 nm et à 280 nm : Le dosage spectrophotométrique de la solution d'ADN et la mesure du rapport de son absorbance à 260 nm et à 280 nm consiste à vérifier la contamination de l'ADN par les protéines.

II.3.2. Amplification

Les amorces universelles des invertébrés LCO1490 et HCO2198 ont été utilisées pour amplifier un fragment du gène COI par la réaction en chaîne de polymérase (PCR) standard (Mulis, 1994) comme décrit par Folmer *et al.* (1994). La réaction PCR a été performé dans un volume de 30 µL contenant 15 µL 2x de Go Taq® Green Master Mix (Promega Corporation-Madison, WI, USA) (il contient : *Taq* polymérase, dNTPs, MgCl₂, et le tampon réactionnel à

Matériel et Méthodes

des concentrations optimales qui sert à une amplification exponentielle); 2,5 µL de chaque amorce (qui sert à l'initiation et à la prolongation de l'amplification); 5 µL de l' H₂O ultra pure et ultra stérile et 5 µL de l'ADN extrait. Les conditions de la PCR sont citées dans le tableau ci-dessous:

Tableau 3. Profil thermique de la PCR et la séquence des amorces utilisées dans la PCR et le séquençage.

| Étape | Température (°C) | Temps (min) | Cycle |
|-----------------------|----------------------------------|-------------|-------|
| Dénaturation initiale | 95 | 5 | |
| Dénaturation | 95 | 1 | 35 |
| Prolongation | 40 | 1 | |
| Extension finale | 72 | 8 | |
| LCO1490 (F) | 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' | | |
| HCO2198 (R) | 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' | | |

II.3.3. Purification de l'ADN amplifié

Après l'amplification de l'ADN, les amplicons sont subi une migration électrophorétique sur gel d'agros 1%. En Plus de la vérification de l'absence de contamination de l'ADN amplifié, cette étape a été réalisée pour éliminer l'excès d'amorces ou autres produits utilisés d'un part et pour isoler une seule bande contenant notre ADN et négliger les bandes aspécifiques. La purification des amplicons a été réalisée par le Kit QIA quick PCR Purification en suivant les instructions du fabricant.

II.3.4. Séquençage

Pour déterminer la séquence nucléotidique de l'AND amplifié, un séquençage par la méthode de Sanger (1975) a été réalisé à l'aide d'un séquenceur automatisé 3500 ABI associé ou combiné à une électrophorèse (Applied Biosystems Inc., USA). Le séquençage bidirectionnel a été réalisé en utilisant les mêmes amorces que celles utilisées dans l'amplification (LCO 1490 et HCO 2198). Les séquences générées ont été soumises à la base de données GenBank.

II.4. Analyse phylogénétique

Les changements ou modifications structurels au niveau du matériel génétique (chaîne nucléotidique ou acides aminés) entraînent l'apparition des nouvelles unités à partir de leur ancêtre, et conduisent à leur évolution. La phylogénie moléculaire reconstruit les relations de parenté entre ces unités évolutives. Elle constitue donc un outil précieux pour déchiffrer l'évolution spatio-temporelle de la biodiversité (Lopez *et al.*, 2002).

II.4.1. Construction phylogénétique

Les séquences obtenues ont été analysées et criblées par Finch TV 1. 4. 0 (Geospiza, Inc., USA; <http://www.geospiza.com>). Elles ont ensuite été nettoyées et corrigées en utilisant le logiciel BioEdit (Hall *et al.*, 2011) et MEGA-X (Kumar *et al.*, 1993), ceci afin d'identifier une éventuelle erreur de lecture sur les séquences obtenues et de générer des séquences consensus.

Pour chaque genre, un alignement multiple des séquences consensus obtenues avec des séquences préalablement téléchargées de la base de données BOLD system (Ratnasingham et Hebert, 2007) (Tab. 5, 7, 8), a été effectué par Muscle (Edgar, 2004) sur le logiciel MEGA et sur la plateforme en ligne (NJGPhylogeny.fr) (Lemoine *et al.*, 2019) en suivant les paramètres par défaut. Au cours de cette étape :

- Six séquences du genre *Androctonus* ont été alignées avec 124 séquences du même genre plus 1 séquence du *Leiurus quinquestriatus* (JQ514258) utilisée comme outgroup.
- Treize séquences du genre *Buthus* ont été alignées avec 234 séquences du même genre plus 3 séquences du genre *Centruroides*, *Olivierus* et *AegaeoButhus* comme outgroup.
- Trois séquences du genre *Scorpio* ont été alignées avec 182 séquences du même genre plus 3 séquences du genre *Heterometrus* comme outgroup.

La distance génétique (Tamura et Nei, 1993) a été estimée à l'aide du logiciel MEGA.

Pour la construction de l'arbre phylogénétique, une analyse de Maximum Likelihood (ML) (Le Cam, 1990) et Bayésienne (BI) (Wasserman et Wasserman, 2004) ont été réalisées sur toutes les séquences de chaque genre avec 1000 000 générations. Toutes ces étapes ont été effectuées par une commande en ligne sur le site des services de la nouvelle génération phylogénétique.

L'arbre consensus donc a été affiché, annoté et édité via l'outil en ligne iTOL (Interactive Tree Of Life) (<https://itol.embl.de>) (Letunic et Bork, 2019).

II.4.2. Délimitation moléculaire des espèces

Au cours des 15 dernières années, suite au succès des projets de codes-barres ADN et à l'augmentation des capacités du séquençage, de nombreuses méthodes de délimitation des espèces basées sur séquences ADN ont été développées.

Dans ce contexte, en plus aux BINs proposés par la base de données BOLD system, nos séquences ont été analysées par deux méthodes de délimitation des espèces : ASAP Assemble Species by Automatic Partitioning (ASAP) (Puillandre *et al.*, 2021) et Multi-rate Poisson Tree Processes (mPTP) (Kapli *et al.*, 2017) pour estimer le nombre d'espèces (mOTUs) proposées par ces deux méthodes.

II.4.2.1. Délimitation par ASAP (Assemble Species by Automatic Partitioning)

L'ASAP est un programme autonome automatisé par Puillandre *et al.* (2021).écrit en C. Les utilisateurs peuvent utiliser ASAP soit via une interface Web graphique complète (<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap>), soit télécharger et compiler les sources pour une utilisation locale (même URL).

Ce nouvel outil qui repose sur les données du DNA barcoding pour construire des partitions d'espèces à partir d'alignements de séquences de locus uniques. C'est la version développée de la méthode ABGD (Puillandre *et al.*, 2012). Elle identifie les limites entre les espèces, par conséquent, des distances génétiques par paires (deux à deux) sont calculées entre les séquences. Aussi, elle permet d'identifier automatiquement dans leur distribution ce que l'on appelle "*Barcode gap*" (Fig. 14).

Cette méthode se fonctionne par un regroupement des séquences hiérarchique d'ordre ascendant (utilise des séquences alignées comme données d'entrée). Par la suit, elle les fusionne pour créer des groupes. Des groupes plus grands sont créés en fusionnant les groupes de la partition précédente, et ainsi de suite jusqu'à ce que toutes les séquences forment un seul groupe. A chaque étape de fusion, l'affectation de toutes les séquences en groupes est appelée une «partition».

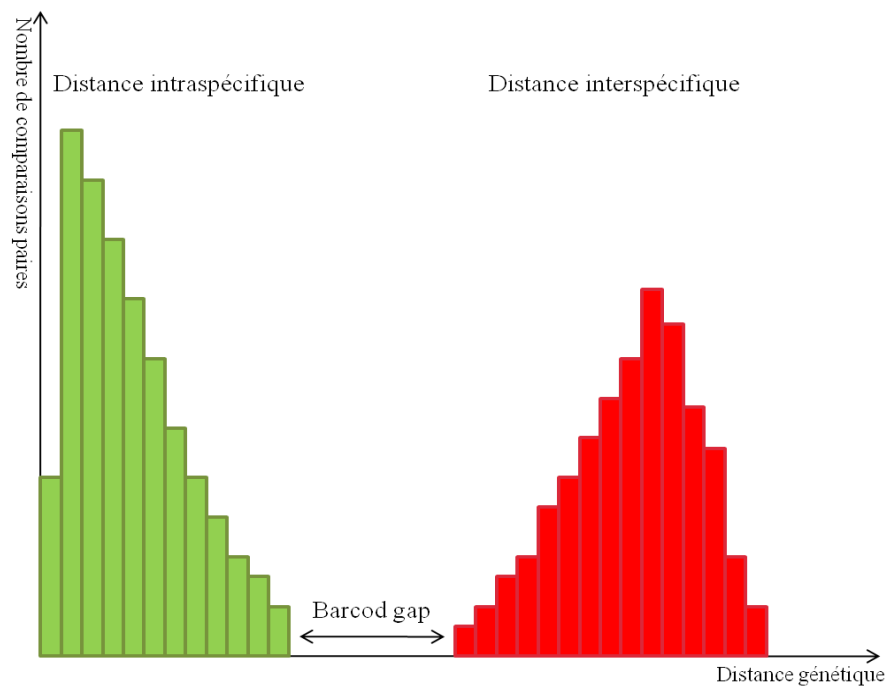


Figure 14. Schéma du *Barcoding Gap*: écart entre la divergence intraspécifique et les distances interspécifiques.

II.4.2.2. Délimitation par mPTP (Molecular Poisson Tree Processes)

mPTP est une méthode développée par Kapli *et al.* (2017), qui atténue les lacunes de la méthode PTP. Cette dernière, suppose une distribution exponentielle pour les événements de spéciation et une seule pour les événements coalescents, à travers toutes les espèces de la phylogénie. En outre, elle est affectée par la taille d'échantillon. Cette dernière conduit à l'obtention de plusieurs niveaux de la diversité génétique. Par conséquent, la précision de la PTP sera diminuée (Zhang *et al.*, 2013). La PTP essaie de déterminer le point de transition d'un processus inter-espèce à un processus intra-espèce en supposant qu'un modèle à deux paramètres :

- Un paramètre pour la spéciation et un pour le processus coalescent.
- Correspond le mieux aux données.

mPTP se fonctionne sur les données d'un seul gène (issu du DNA barcoding) pour pallier l'écart entre arbre et les méthodes basées sur la distance génétique entre les séquences. Ils tiennent compte des relations évolutives des séquences. Elle incorpore les différents niveaux de la diversité intraspécifique dérivée de mécanisme évolutif ou même de l'échantillon analysé (Kapli *et al.*, 2017).

Comme données d'entrée, la méthode mPTP prend un arbre ML, et comme résultats les séquences seront répartir en groupes, et un arbre enraciné sera construite. Cette méthode,

Matériel et Méthodes

est peu coûteuse en termes de calcul, il peut être déployé pour analyser de grands échantillons en termes de nombre d'espèces et de séquences. De plus, comme elle est appliquée principalement sur un seul locus, elle peut être incorporée à des phylogénies entières d'organites. En comparaison avec les autres méthodes de délimitation des espèces, mPTP ne nécessite aucun seuil de similarité ou autre paramètre défini par l'utilisateur en entrée (Qin *et al.*, 2015; Kapli *et al.*, 2017).

Résultats et Discussions

I. Bilan systématique

Pour explorer la faune scorpionique de notre région d'étude, un total de 587 scorpions a été collecté dans 12 localités appartenant à 7 wilayas pendant 4 ans (2018 à 2021). Seuls 411 individus adultes ont été considérés dans l'identification morphologique.

L'application des clés morphologiques et des mesures morphométriques a été réalisée selon les méthodes décrit par Vachon (1952, 1974) et Stahnke (1970).

L'analyse morphologique et morphométrique ont conduit à l'identification de 7 espèces appartenant aux trois genres et deux familles: *Androctonus australis* et *Androctonus aeneas* appartenant au genre *Androctonus*; *Buthus tunetanus*, *Buthus saharicus* and *Buthus aures* appartenant au genre *Buthus*, ces deux genres représentent la famille des Buthidae. La famille des Scorpionidae était représentée par un seul genre *Scorpio* et deux espèces, *Scorpio maurus* et *Scorpio punicus* (Tab. 4).

Tableau 4. Répartition des espèces identifiées dans les 12 sites d'échantillonnage.

| Wilaya | Batna | | | Biskra | | | | El M'Ghair | El Oued | Khenchela | Ouled Djellal | Tébessa |
|---------------------|-----------|-----------|--------|-----------|---------|---------|-------|------------|---------------|-----------|---------------|-------------|
| Site | Aïn Bèïda | Aïn Touta | Laksar | El Hadjeb | Filyach | Ouledja | Lioua | Tendla | Hassi Khalifa | Al Amra | Bir Naam | El Hammamet |
| Altitude | 1731 | 940 | 1000 | 160 | 100 | 39 | 100 | 0 | 45 | 730 | 230 | 841 |
| <i>A. australis</i> | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>A. aeneas</i> | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - |
| <i>B. tunetanus</i> | + | - | + | - | - | + | - | - | + | + | - | + |
| <i>B. saharicus</i> | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>B. aures</i> | + | - | + | - | - | + | - | - | - | + | - | + |
| <i>S. maurus</i> | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>S. punicus</i> | - | - | + | - | - | + | - | + | - | - | - | - |

Le tableau 4 montre une répartition hétérogène des espèces dans les différents sites d'échantillonnage.

Les scorpions répertoriés dans les sites : Aïn Touta, El Hadjeb, Faliache, Lioua, El Hammamet, Bir Naam, Al Amra et Hassi Khalifa sont destinés à l'étude moléculaire.

Le nombre des scorpions recensés est significativement important dans la localité de Laksar qui se situe à environ 1000 m d'altitude et qui est une région urbaine, dans cette région

les scorpions collectés représentent 47% du nombre total. En deuxième position, 30% des scorpions ont été collectés à Ain Beïda (plus de 1700 m d'altitude), suivi par la région d'El-Ouelladja avec 8.6% de l'effectif total. La variabilité du nombre d'individus dans chaque site est justifiée par la méthode d'échantillonnage aléatoire où

- (1) le nombre de sorties n'était pas le même dans toutes les localités;
- (2) la durée d'échantillonnage n'était pas la même dans chaque sortie;
- (3) certains scorpions ont été collectés au hasard notamment ceux trouvés dans la maison ou à proximité.

II. Famille des *Buthidae* (C.L. Koch, 1837)

Avec 96 genres et 1312 espèces, les *Buthidae* (C.L. Koch, 1837) représente la famille plus grande et la plus diverse de l'ordre des Scorpiones (Rein, 2022).

Historiquement, la paternité du nom *Buthidae* est communément attribuée à Simon (1879) ou Pocock (1890). Cependant, l'auteur de ce nom est C. L. Koch (1837). Cette famille a été nommée *Androctonidae* C. L. Koch, 1837, où elle a été décrite à la même date. Le premier réviseur qui l'a encore été, C. L. Koch (1850) a également utilisé *Androctonides* comme nom de famille. Cependant, ce nom n'est plus utilisé depuis les années 1880, alors que le nom de *Buthidae* était le seul nom de famille universellement utilisé.

La majorité des espèces appartenant à la famille des *Buthidae* sont potentiellement dangereuses et impliquées dans la plupart des décès, parmi lesquelles celles appartenant aux genres *Androctonus* et *Buthus* (Polis, 1990; Fet et al., 2000; Fet et al., 2003; Al-Asmari et al., 2007; Rein, 2022).

Dans cette étude, les espèces appartenant à la famille des *Buthidae* sont réparties sur deux genres : *Androctonus* Ehrenberg, 1828 et *Buthus* Leach, 1815.

II.1. Genre *Androctonus* Ehrenberg, 1828

La première description du genre *Androctonus* a été faite par Ehrenberg (1828) et signalée dans le travail de Hemprich et Ehrenberg (1829). Ce genre était présenté par deux sous-genres *Prionurus* Ehrenberg et *Leiurus* Ehrenberg et un Type générique : *Scorpio australis* Linnaeus, 1758 qui est le synonyme de l'espèce *Androctonus australis* (Linnaeus, 1758). Actuellement, le genre *Androctonus* regroupe toutes les espèces de l'ancien sous-genre *Prionurus* (Vachon, 1952; Fet et al., 2000; Lourenço, 2005), comportant environ de 36

espèces qui ont une large distribution géographique en Afrique et en Asie (Fet *et al.*, 2000; Rein, 2022), dont 13 sont distribuées en Afrique du Nord qui est un point chaud majeur des incidents de piqûre de scorpion (Coelho *et al.*, 2014). En Algérie, le genre *Androctonus* est présenté par 5 espèces (Sadine *et al.*, 2020).

Dans notre étude, le genre *Androctonus* est représenté par deux espèces :

II.1.1. Analyse systématique

Au cours de cette étude, 148 scorpions du genre *Androctonus* ont été répertoriés de la région d'étude, seuls 113 individus adultes ont été caractérisés morphologiquement et identifiés comme deux espèces facilement différenciables: *Androctonus australis* (Linnaeus, 1758) et *Androctonus aeneas* Koch, 1839.

Androctonus australis est une espèce ancienne qui présente une variation dans la coloration et de protéines de l'hémolymphe, entraînant à distinguer cinq sous-espèces: *A. australis australis* (Linnaeus, 1758), *A. australis hector* (Koch, 1939), *A. australis libycus* (Ehrenberg, 1828) (Vachon, 1952), *Androctonus australis garzonii* (Goyffon et Lamy, 1973) et *Androctonus australis africanus* (Lamy *et al.*, 1974). *A. australis hector* a été synonymie avec *A. australis* (Fet *et al.*, 2000). En outre, la nouvelle considération taxonomique sur les espèces du genre *Androctonus* réalisé par Lourenço (2005) montre que *A. australis* est une espèce unique qui présente un certain degré de polymorphisme.

Cette espèce a une large distribution. En Afrique elle occupe l'Algérie, le Tchad, l'Égypte, la Libye, le Maroc, la Mauritanie, la Somali, le Soudan, la Tunisie, en Asie elle occupe l'Inde, le Palestine, le Pakistan, l'Arabie Saoudia, le Yémen) (Vachon, 1952; Geniez, 2009; reine, 2022).

En Algérie, *A. australis* a une large distribution, où elle s'étend de l'Est à l'Ouest du pays avec une abondance significative notable au Sahara Septentrional (Sadine et Bissati, 2014; Hasnaoui *et al.*, 2018; Sadine *et al.*, 2018; Touati *et al.*, 2021; Chedad *et al.* 2022; Mekahlia *et al.*, 2022).

Dans cette étude, à l'exception des sites de Aïn Beïda (1700 m d'altitude) et Aïn Touta, cette espèce a été collectée à partir de tous les sites où altitude se variée entre 0 m à 1000 m où elle est significativement fréquente dans le site de Laksar (1000 m) (Tab. 4).

A. aeneas, est l'une des espèces les plus confuses du genre *Androctonus*. Sa première identification a été effectuée par Koch en 1839 sans préciser la localité type. Plus à la

description très pauvre de cette espèce qui contient des données ambiguës, et sa plasticité morphologique, et sa couleur brune très semblable à celle d'*Androctonus bicolor* (Ehrenberg, 1828) mènent la difficile à déterminer (Teruel et Kovařík, 2014). *A. aeneas* a été mise en synonyme avec *A. bicolor* supportant Kraepelin (1899), cette décision a été prise après la révision des populations provenant d'Égypte, de Tripolitaine, de Syrie et de Tunisie (Lourenço, 2005). En 2015, Lourenço *et al.* montrent que l'espèce existante en Algérie est *A. aeneas* et sa localité type est Ain Tork à Oran, Algérie

En Algérie, *A. aeneas* s'étend horizontalement de Tébessa, Khanchela, El-Oued de l'Est vers Aïn El-Tork à l'Ouest (qui a été confirmé comme localité type de cette espèce) passant par Batna, Ouargla, M'Sila et Sidi Bel Abbas (Vachon, 1952, Sadine *et al.*, 2011; Sadine *et al.*, 2012; Sadine *et al.*, 2014; Sadine, 2018; Ouici *et al.*, 2020; Mekahlia *et al.*, 2022).

II.1.2. Analyse morphométrique

Du point de vue morphologique, *A. australis* et *A. aeneas* sont deux espèces facilement différenciables par la couleur de la cuticule, les pédipalpes et la queue où *A. australis* est caractérisée par une couleur jaune, de gros pédipalpes et une queue large et très épaisse. Alors que, *A. aeneas* se caractérise par une pigmentation noir et des pinces minces (Vachon, 1952; Lourenço, 2005, Lourenço *et al.*, 2015; Sadine *et al.*, 2018).

Concernant le nombre de séries de granules sur le doigt fixe et mobile des pédipalpes, chez *A. australis* les femelles ont le plus grand nombre allant jusqu'à 13/15 séries sur chaque doigt, alors que les mâles ont 13/14 séries. Chez *A. aeneas*, les deux doigts sont constitués 13/14 séries quel que soit le sexe du scorpion.

Le nombre de dents du peigne chez les mâles de *A. australis* varie entre 32 et 36 dents sur chaque peigne. Cependant, ce nombre est très variable chez les femelles des deux espèces. Le nombre des dents chez femelles de *A. australis* varie en fonction de la région de collecte où le nombre de dents chez les femelles répertoriées sur la localité de Laksar (30/37) est plus élevé que chez les femelles collectées à El-Ouelladja (25/28). En outre, chez *A. aeneas*, ce nombre varie au sein des femelles de la même localité.

Vachon (1952) montre que dans la même espèce, le nombre de dents du peigne est constant en fonction de l'âge de l'exemplaire mais varie en fonction du sexe, il est considéré comme un critère primordial dans la détermination de l'espèce. En outre, l'analyse effectuée sur les spécimens de *A. aeneas* par Vachon (1952) montre que cette espèce est

Résultats et Discussions

morphologiquement plastique, dont le nombre des dents de peigne varie entre 20 et 27 chez les femelles. Le même cas pour *A. australis* où la nouvelle considération taxonomique sur les espèces du genre *Androctonus* réalisé par Lourenço (2005) montre que *A. australis* est une espèce unique qui présente un certain degré de polymorphisme.

II.1.3. Analyse phylogénétique

L'analyse phylogénétique a été réalisée sur 6 individus appartenant au genre *Androctonus* dont 5 individus sont identifiés comme *A. australis* et 1 individu identifié comme *A. aeneas*.

Tableau 5. Données sur les séquences du genre *Androctonus* et *Leiurus* incorporées dans la construction de l'arbre bayésien. * signifie les séquences générées dans cette étude.

| Numéro d'accension GenBank | Espèce | Pays |
|----------------------------|--------------------------------|---------|
| JQ514258 | <i>Leiurus quinquestriatus</i> | - |
| 6* | <i>A. australis</i> | |
| 7* | <i>A. aeneas</i> | |
| 9* | <i>A. australis</i> | |
| 10* | <i>A. australis</i> | |
| 11* | <i>A. australis</i> | |
| 12* | <i>A. australis</i> | |
| KJ538339 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538342 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538344 | <i>A. australis</i> | Algérie |
| KJ538347 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538350 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538353 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538356 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538386 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538389 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538391 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538275 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538423 | <i>A. amoreuxi</i> | Algérie |
| KJ538427 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538320 | <i>A. bicolor</i> | Algérie |
| JN018150 | <i>A. hoggarensis</i> | Algérie |
| KJ538359 | <i>A. mauritanicus</i> | Algérie |

Résultats et Discussions

| | | | |
|----------|------------------------|--------|------|
| KJ538478 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538480 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538483 | <i>A. amoreuxi</i> | Égypte | |
| KJ538486 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538489 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538492 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538452 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538455 | <i>A. australis</i> | Égypte | |
| KJ538458 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538460 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538462 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538466 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538470 | <i>A. australis</i> | | |
| KJ538474 | <i>A. australis</i> | | |
| KF548120 | <i>A. bicolor</i> | Égypte | |
| KJ538333 | <i>A. bicolor</i> | | |
| MT636859 | <i>A. bicolor</i> | | |
| MT636858 | <i>A. crassicauda</i> | Égypte | |
| KJ538255 | <i>A. mauritanicus</i> | Égypte | |
| MH352603 | <i>A. crassicauda</i> | Iran | |
| MH352604 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352605 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352606 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352607 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352608 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352609 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352610 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MH352611 | <i>A. crassicauda</i> | | |
| MT629926 | <i>A. amoreuxi</i> | | Iraq |
| MT229840 | <i>A. crassicauda</i> | | Iraq |
| KJ538279 | <i>A. amoreuxi</i> | Maroc | |
| KJ538282 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538286 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538290 | <i>A. amoreuxi</i> | | |
| KJ538294 | <i>A. amoreuxi</i> | | |

Résultats et Discussions

| | | |
|----------|------------------------|-------|
| KJ538297 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538301 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538305 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538309 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538313 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538317 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538429 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538433 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538436 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538447 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538450 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KJ538374 | <i>A. cf. gonneti</i> | |
| KJ538377 | <i>A. cf. gonneti</i> | Maroc |
| KJ538381 | <i>A. cf. gonneti</i> | |
| KJ538191 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538195 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538198 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538201 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538204 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538208 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538211 | <i>A. liouvillei</i> | Maroc |
| KJ538215 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538220 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538223 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538226 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538229 | <i>A. liouvillei</i> | |
| KJ538232 | <i>A. liouvillei</i> | |
| JF820097 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538235 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538239 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538243 | <i>A. mauritanicus</i> | Maroc |
| KJ538249 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538258 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538262 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538265 | <i>A. mauritanicus</i> | |

Résultats et Discussions

| | | |
|----------|------------------------|-----------|
| KJ538270 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538362 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538366 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| KJ538370 | <i>A. mauritanicus</i> | |
| MW555666 | <i>A. amoreuxi</i> | Palestine |
| JQ514246 | <i>A. amoreuxi</i> | Portugal |
| JQ514250 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538439 | <i>A. amoreuxi</i> | Tunisie |
| KJ538443 | <i>A. amoreuxi</i> | |
| KF825024 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538152 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538155 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538157 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538162 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538165 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538168 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538171 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538174 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538177 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538180 | <i>A. australis</i> | Tunisie |
| KJ538184 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538187 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538397 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538400 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538403 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538408 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538411 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538414 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538417 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538420 | <i>A. australis</i> | |
| KJ538325 | | Tunisie |
| KJ538329 | <i>A. bicolor</i> | |

Environ de 657 paire de base du gène COI mitochondrial de 6 séquences de deux espèces du genre *Androctonus* ont été alignés avec 124 séquences du même genre et une séquence de *Leiurus quinquestriatus* (JQ514258) utilisé comme outgroup (Tab. 5). Les

Résultats et Discussions

séquences alignées avec une longueur finale de 482 pb montrent 357 sites conservateurs et 126 sites variables dont 105 sont parcimonie informatifs.

Sur la base de données du système BOLD, La délimitation moléculaire réalisée sur les séquences représentant le genre *Androctonus* révèle 28 BINs (Barcode Index Number) représentant 12 espèces dont les séquences de *A. australis* sont réparties sur 4 BINs selon la distribution géographique : Algérien; Algéro-tunisien; tunisien et égyptien. Cette répartition a été supportée par les deux autres méthodes utilisées dans cette étude, où la méthode ASAP a donné 21 mOTUs et mPTP 17 mOTUs et les séquences de *A. australis* Algérienne sont réparties sur deux mOTUs, un mOTU Algérien inclut sept séquences du centre du pays de la région de Ghardaïa et un mOTU Algéro-tunisien groupe huit séquences de l'Algérie, cinq générées dans cette étude, et trois séquences générées dans l'étude de Coelho *et al.* (2014) dont deux séquences de la région de Rchaïga (Tiaret) et une séquence de la région de M'Doukel (Batna).

Sur l'arbre BI, toutes les séquences du genre *Androctonus* sont réparties sur 3 clades majeurs (Fig. 15), cette répartition était fortement supportée par les résultats de la délimitation par les trois méthodes.

L'analyse phylogénétique indique que les spécimens du genre *Androctonus* collectés de la majorité des sites (Tab. 4) appartenaient à 2 clades bien individualisés et à 2 mOTUs (mêmes résultats obtenus de toutes les méthodes de délimitation), correspondant à *A. aeneas* et *A. australis* (Fig. 16; annexe 1, 2 et 3).

Les positions phylogénétiques des espèces du genre *Androctonus*, notamment *A. australis* sont controversées. L'analyse des régions ITS de l'ADN nucléaire effectuées pour évaluer la phylogénie des espèces appartenant au genre *Androctonus* en Tunisie a montré des clades paraphylétiques dans trois taxons: *A. bicolor*, *A. australis* et *A. amoreuxi* (Ben Ali *et al.*, 2000). Cependant, Ben Othmen *et al.* (2004), en utilisant la différenciation allozymique, ont trouvé que la monophylie de *A. australis* et *A. amoreuxi* était faiblement supportée.

Par ailleurs, l'analyse du gène 16S par Ben Othmen *et al.* (2009), montre trois lignées monophylétiques bien soutenues, chacune correspondant à une espèce. En outre, dans son étude, ils ont créé un profil phylogéographique de l'espèce *A. australis* en Tunisie, où chacune de ses deux lignées est distribuée au nord ou au sud du Chott El-Djerid, situé au centre de la Tunisie.

Résultats et Discussions

Les séquences d'*Androctonus australis* forment une unité monophylétique divisée en 4 clades fortement supportés et 4 mOTUs. Le clade AU1 regroupe les séquences d'*A. australis* égyptiennes et AU 2 regroupe les séquences de *A. australis* tunisien. Le clade AU3 (*A. australis* algérien) et AU4 (*A. australis* du Nord de l'Algérie et de l'Ouest de la Tunisie) sont des groupes frères (BI = 1). Le clade AU2 (Est tunisien) est distribué uniquement en Tunisie : les spécimens se trouvent au Sud-est et au Nord du lac salé Chott el-Djerid et au Sud de la région désertique de Tataouine. Le clade AU4 comportant nos séquences (ALG6, ALG9, ALG10, ALG11 et ALG12) est distribué de l'est de l'Algérie à l'ouest vers les lacs salés de Chott el-Djerid et el-Gharsa en Tunisie passant par notre région d'étude. Le clade AU3 est composé de spécimens provenant d'une seule localité en Algérie (Ghardaïa). Chez *A. australis* d'Algérie, la distance génétique par paires la plus élevée entre Au3 et Au 4 est de 4,8 %.

Le polymorphisme signalé de trois toxines dans le venin d'*A. australis* provenant de localités correspondant aux clades AU2 ou AU3 (Devaux *et al.*, 2004) et la profonde distance génétique montrent qu'il est très probable que des groupes phylogénétiquement divergents aient des compositions de venin différentes. Cela indique soit une forte barrière biogéographique qui sépare ces clades, soit qu'ils correspondent à des taxons défectifs

Le clade B comprend tous les spécimens d'*A. bicolor* et les individus de *A. aeneas* générés dans cette étude, ce clade est divisé en trois sous-classes (B1, B2 et B3). La distance génétique maximale entre les séquences de ces sous-classes est 8,8 %.

L'emplacement de la séquence ALG7 avec la séquence GBA14480 (*A. bicolor*) sur le même clade (BI=100%) est justifié par la nouvelle considération taxonomique sur *A. aeneas* (Lourenço *et al.*, 2016), où ils ont montré que l'espèce existante en Algérie est *A. aeneas*.

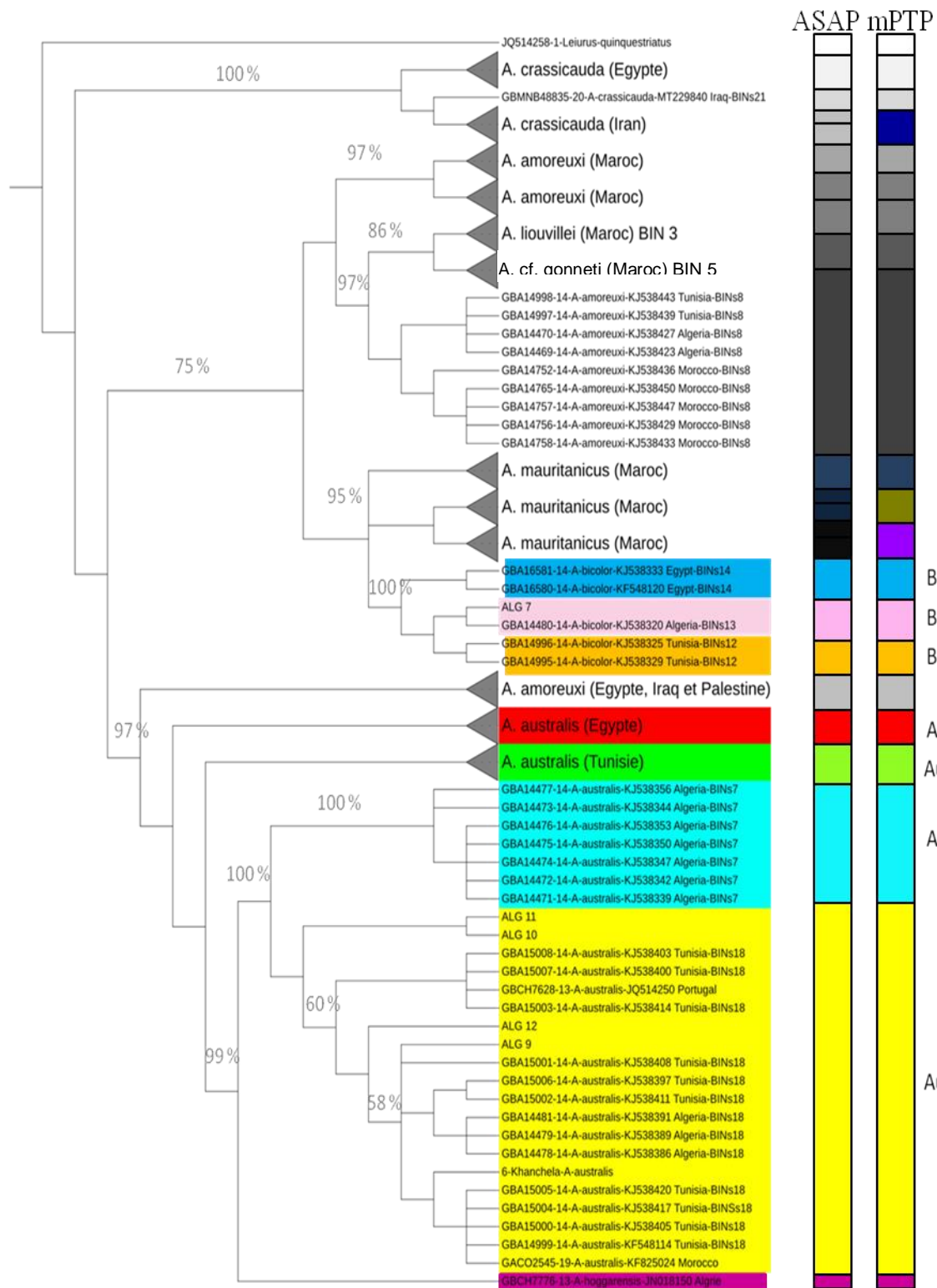


Figure 15. Estimation Bayésienne de la relation phylogénétique entre les séquences des espèces du genre *Androctonus*. Les valeurs des *bootstrap* sont mentionnées sur les branches. Couleurs : représentent les clades et les mOTUs regroupant les quatre groupes de séquences d'*Androctonus*; les trois groupes de *A. bicolor* et *A. hoggarensis* de l'Algérie. Au : *australis*; B : *bicolor*. Les barres : représentent les mOTUs obtenus par les méthodes de délimitation ASAP et mPTP (les partitions obtenus par l'ASAP sont totalement compatibles avec les BINs du système BOLD). Les mOTUs détaillés sont dans l'annexe 2 et 3).

II.2. Genre *Buthus* Leach, 1815

Le genre *Buthus* a été décrit par Leach (1815), il est le genre type de la famille des Buthidae. C'est le deuxième genre valide le plus ancien dans l'ordre des Scorpiones.

En 1952, Vachon redéfinit et restreint le genre aux seules espèces morphologiquement similaires à son espèce type qui est *Buthus occitanus* Amoreux, 1789 (Lourenço *et al.*, 2013) en se basant sur seulement deux caractères morphologiques visibles: la disposition des carènes sur le céphalothorax sous forme de Lyre et la présence de trois granules sur le doigt mobile du pédipalpe (Sousa, 2017). Par la suite, ce genre a été divisé en deux complexes: le complexe occitanus et le complexe atlantis (Lourenço et Geniez, 2005). Ce genre a une large distribution, où il occupe l'Afrique, l'Asie et l'Europe (Sousa *et al.*, 2017).

Au cours des deux dernières décennies, un nombre impressionnant de publications atteste de la progression remarquable du nombre d'espèces décrites dans le genre *Buthus* en Algérie (Lourenço, 2002, 2013; Sadine *et al.*, 2016; Lourenço et Sadine, 2016; Lourenço *et al.*, 2020; Abidi *et al.*, 2021; Ythier *et al.*, 2021), dans lequel 10 espèces sont validées (Ythier *et al.*, 2021). Cette augmentation peut être due à la description insuffisante de Leach pour ce genre; à l'absence des clés dichotomiques qui facilite l'identification morphologique des espèces et à la grande plasticité morphologique (Vachon, 1952; Sousa *et al.*, 2017).

Historiquement, la plupart des contributions sur la faune scorpionique Algérienne, Vachon (1952), El-Hennawy (1992), Sadine *et al.* (2018) et autres contributions similaires sont faites sur la base d'études morphologiques et morphométriques. Cependant, la phylogénie et le *DNA barcoding* des espèces identifiées n'ont jamais été effectués, à l'exception de quelques tentatives sur les espèces du genre *Buthus* du Maghreb (Sousa *et al.*, 2012; Pedroso *et al.*, 2013; Klessner *et al.*, 2021).

De nombreux auteurs ont déclaré que la morpho-taxonomie est insuffisante pour couvrir l'identité de la plupart des espèces appartenant au genre *Buthus* et donc les clés utilisées sont incertaines (Lourenço, 2002; Sousa *et al.*, 2012; Pedroso *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2017; Klessner *et al.*, 2021). En outre, les études génétiques sont devenues essentielles pour réviser et confirmer la position taxonomique de nombreuses espèces.

II.2.1. Analyse systématique

Pendant la période d'étude, 361 scorpions du genre *Buthus* ont été collectés et examinés. Seuls 225 individus adultes ont été analysés. Leur examen morphologique et

Résultats et Discussions

morphométriques a permis d'identifier trois espèces: *Buthus tunetanus* (Herbst, 1800), *Buthus saharicus* Sadine, Bissati et Lourenço, 2016 et *Buthus aures* Lourenço et Sadine, 2016. Toutes ces espèces sont appartiennent au complexe tunetanus.

Buthus aures Lourenço et Sadine, 2016 a été décrite pour la première fois dans la région de Batna dans une formation forestière à 1556 m d'altitude (Lourenço et Sadine, 2016). Quelques années plus tard, elle était trouvée à Khanchela (Meddour *et al.*, 2017; Hassnaoui *et al.*, 2018) puis à Tébessa (Abidi *et al.*, 2020; Mekahlia *et al.*, 2021) et même dans le Nord-Ouest algérien (Chedad *et al.*, 2022). Dans notre cas, cette espèce a été capturée durant toutes les saisons de l'année dans 5 sites où l'altitude varie de 0 m à 1700 m (Tab. 4). En Tunisie voisine en 2006, Kovařík a décrit l'espèce *Buthus chambiensis* dans la région de Kasserine à proximité de la frontière Algérienne et pas loin de la zone de distribution de *B. aures* (Batna, Tébessa et Khanchela), ces deux espèces sont morphologiquement confondues, et décrites dans des formations forestières (J'bel Chaambi s'élève environ de 1540 m). Elles pourraient représenter le même taxon. Le manque de données sur la faune des *Buthus* de la Tunisie fait de ces résultats de simple hypothèse.

Buthus tunetanus (Herbst, 1800) est une espèce répandue en Algérie (Vachon, 1952; Abidi *et al.*, 2020). Elle a été mentionnée au Maroc, en Tunisie et en Libye (Touloun *et al.*, 1999; Lourenço, 2002; Kovařík, 2006; Sousa *et al.*, 2017), s'étend de la Tunisie au Maroc dans la bande horizontale centrale entre 31°N et 35°N (Vachon, 1952; Sadine *et al.*, 2012; Lourenço, 2013; Sadine *et al.*, 2016; Lourenço et Sadine, 2016; Sadine *et al.*, 2020; Lourenço *et al.*, 2020). Elle peut également s'étendre au Nord de l'Algérie (Ouici *et al.*, 2020; Touati *et al.*, 2021). Cette espèce était très fréquente dans la région de Batna en association avec *Buthus aures* (Lourenço et Sadine, 2016; Sadine, 2018).

La première description de *Buthus saharicus* Sadine, Bissati et Lourenço, 2016 a été effectuée dans la région de Ghardaïa par Sadine et ces collaborateurs (2016). Cette espèce est considérée comme la première déserticole espèce du genre *Buthus* (Sadine *et al.*, 2016). La distribution de cette espèce a été restreinte à sa localité type (Ghardaïa) et à la région de Ouergla (Sadine *et al.*, 2018). Dans notre étude *B. saharicus* était la moins fréquente espèce par rapport aux autres espèces du même genre (dans les sites Ain Beida, Laksar et El-Ouelladja).

II.2.2. Analyse morphométrique

Le diagnostic des tailles corporelles adultes (taille moyenne y compris le telson) de 225 individus de *Buthus* (Tab. 6) a montré que ces tailles variaient de 45 à 75 mm. La population de *B. tunetanus* a montré une taille assez importante par rapport à celle de *B. Aurès* et *B. saharicus*. En revanche, les mâles sont plus petits que les femelles chez les trois espèces.

Vachon (1952) mentionne que les tailles des espèces du genre *Buthus* dépassent 40 mm et peut atteindre 11 cm. Cependant, Sousa *et al.* (2017) ont montré que la taille varie de 38 à 90 mm, avec une taille maximale de 60-90 mm en femelles et 55-70 mm chez les mâles. Parmi les dix espèces de *Buthus* recensées en Algérie (Ythier *et al.*, 2021), la plus grande espèce est *B. boussaadi* Lourenço, Chichi et Sadine, 2018 avec une taille atteint 78 mm chez la femelle (Lourenço *et al.*, 2018) et chez *B. paris* (C.L. Koch, 1839), la longueur totale varie de 60 à 75 mm chez les femelles et les mâles (Abidi *et al.*, 2020). Cependant, *B. pusillus* Lourenço, 2013 semble être le plus petit *Buthus* d’Algérie avec une longueur totale de 41 mm chez les mâles (Lourenço, 2013).

Tableau 6. Valeurs morphométriques (Taille moyenne) et mèristiques (nombre des séries de granules sur les doigts et dents des peignes) des mâles et des femelles des trois espèces du genre *Buthus*.

| Espèce | Sexe | Taille moyenne (mm) | Séries de granule sur les doigts | Dent des peignes | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------|---------------------|----------------------------------|------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | | | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |
| <i>B. Aurès</i> | ♂ | 63 | 11/12 | | | | | | | | | | | | | | |
| | ♀ | 65 | 10/12 | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>B. tunetanus</i> | ♂ | 66 | 12/13 | | | | | | | | | | | | | | |
| | ♀ | 75 | 11/13 | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>B. saharicus</i> | ♂ | 63 | 11/12 | | | | | | | | | | | | | | |
| | ♀ | 67 | 11/12 | | | | | | | | | | | | | | |

Les valeurs de deux caractères mèristiques qui peuvent être utilisés dans l’identification des espèces sont résumés dans le tableau (6) : nombre de séries de granules de doigt mobile et fixe et le nombre de dents des peignes. Le nombre de séries de granules du doigt mobile du pédipalpe semble être stable chez les deux espèces : 12 séries chez *B. saharicus* et 13 séries de *B. tunetanus*. Cependant, ce nombre est très variable chez *B. Aurès* en comparaison avec ce qui est motionné dans la littérature, il varie de 10 à 12 séries.

Résultats et Discussions

Le nombre de séries chez les *Buthus* algériens est très proche (Lourenço, 2002; Lourenço, 2013; Sadine *et al.*, 2016; Lourenço et Sadine, 2016; Lourenço *et al.*, 2018; Lourenço *et al.*, 2020; Abidi *et al.*, 2020; Ythier *et al.*, 2021). Cependant, Sousa *et al.* (2017) ont rapporté que cette variation de ce nombre n'est pas très informative. Le nombre de dents des peignes chez les *Buthus* étudiés montre une variation significative en fonction de l'espèce ainsi que de sexe. Les femelles comptent de 24 à 32 dents et les mâles de 23 à 37 dents. Chez les espèces du genre *Buthus* de l'Algérie, nous avons noté que *B. Aurès* a le plus grand nombre de dents sur les deux peignes.

II.2.3. Analyse phylogénétique

Nous avons réussi à séquencer un fragment de 694 paires de bases du gène mitochondrial du cytochrome oxydase I (COI) de treize scorpions du genre *Buthus*.

L'alignement MUSCL a été réalisé sur 234 séquences du genre *Buthus* dont 29 séquences d'Algérie (13 séquences sont générées dans cette étude) et 3 séquences du genre *Centruroides*, *Olivierus* et *AegaeoButhus* utilisées comme outgroupe (Tab. 7 et annexe 4). Toutes ces données ont permis de construire l'arbre phylogénétique BI (Fig. 16 et annexe 5). Les séquences alignées incluant les séquences algériennes comprennent 290 sites conservateurs, 440 sites variables où 309 sites sont parcimonie informatifs.

Tableau 7 : Données sur les séquences du genre *Buthus* incorporées dans la construction de l'arbre bayésien. * = Non inclus dans l'étude de Klessner *et al.* (2021).

| GenBank ID | Espèce | Site | Pays | mOTU mPTP | mOTU (Klessner <i>et al.</i> , 2021) |
|------------|------------------------------|-----------|----------|--------------|---|
| DQ127507 | <i>Centruroides vittatus</i> | Outgroup | Outgroup | Outgroup | Outgroup |
| JF700145 | <i>Olivierus martensii</i> | | | | |
| KF997876 | <i>AegaeoButhus gibbosus</i> | | | | |
| Alg 1 | <i>Buthus tunetanus</i> | Aïn Beïda | Algérie | 21 | * |
| Alg 2 | <i>Buthus aures</i> | Laksar | | 4 | * |
| Alg 3 | <i>Buthus aures</i> | Laksar | | | * |
| Alg 4 | <i>Buthus aures</i> | Aïn Beïda | | | * |
| Alg 5 | <i>Buthus tunetanus</i> | Laksar | | | 21 |
| Alg 15 | <i>Buthus tunetanus</i> | Laksar | | 20 | * |
| Alg 16 | ≈ <i>Buthus aures</i> | Laksar | | 3 | * |
| Alg 17 | ≈ <i>Buthus aures</i> | Aïn Beïda | | 17 | * |

Résultats et Discussions

| | | | | | |
|----------|---|-------------------|---------|--------|----|
| Alg 19 | <i>Buthus saharicus</i> | Laksar | | 22 | * |
| Alg 20 | ≈ <i>Buthus aures</i> | Laksar | | 4 | * |
| Alg 21 | <i>Buthus sp</i> | Tébessa | | 19 | * |
| Alg 22 | <i>Buthus sp</i> | Khanchela | | 16 | * |
| Alg 23 | <i>Buthus sp</i> | Oued Souf | | 16 | * |
| AJ506916 | Même distribution de <i>Buthus tunetanus</i> (Sousa <i>et al.</i> , 2012) | Tozeur | Tunisie | 18 | * |
| JN885952 | <i>Buthus boumalenii</i> (Klessner <i>et al.</i> , 2021) | Oulad | Algérie | 24 | 18 |
| JN885953 | | Driss | | 24 | 18 |
| JQ775953 | Même distribution de <i>Buthus paris</i> (Sousa <i>et al.</i> , 2012) | Tell Atlas | | 25 | * |
| JQ775954 | | Tell Atlas | | 25 | 12 |
| JQ775955 | | Tell Atlas | | 21 | 1 |
| JQ775958 | | Aurès | | 15 | 10 |
| JQ775959 | | Tell Atlas | | 25 | 13 |
| KF824988 | | <i>Buthus sp.</i> | | Chelia | 18 |
| KF824989 | Ksar Chellala | | | 2 | * |
| KF824990 | Rechaiga | | | 1 | * |
| KF824991 | Parc National Belezma | | | 13 | * |
| MT955916 | Ghassira | | | 4 | 1 |
| MT955934 | Ain Draham | | | 17 | 11 |
| MT955935 | | | 17 | 11 | |
| MT955936 | | | 17 | 11 | |
| MT955943 | Hoggar | | 29 | 15 | |
| MT955944 | <i>Buthus tassili</i> (Klessner <i>et al.</i> , 2021) | | | 29 | 15 |
| MT955945 | | | 29 | 15 | |
| MT955957 | <i>Buthus sp.</i> | Ghassira | 5 | 20 | |

De plus, la méthode ASAP et mPTP sont utilisés comme outil de délimitation des espèces pour estimer le nombre de mOTUs (groups) et faire correspondre l'identification morphologique avec délimitations génétiques.

La méthode ASAP a identifié 57 mOTUs (Annexe 6) tandis que mPTP a révélé 40 mOTUs (Annexe 7). Les résultats de cette dernière ont été utilisés comme l'estimation la plus conservative pour la discussion, dans laquelle, certains mOTUs ont été fusionnés ou divisés par rapport aux 24 mOTUs obtenus dans l'étude de Klessner *et al.* (2021).

Résultats et Discussions

L'analyse Bayésienne montre la paraphylie de certaines espèces du genre *Buthus*. En plus à l'out-groupe, l'arbre phylogénétique montre 9 clades bien individualisés, où ceux qui ne contiennent pas les séquences de l'Algérie sont collapsés (Fig. 16).

La méthode mPTP a suggéré 40 mOTUs, dont les séquences algériennes sont réparties en 15 mOTUs (1, 2, 3, 4, 5, 13, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 25, 27, et 30), cette partition est approximativement compatible avec la position des séquences sur l'arbre (BI), ainsi qu'avec l'identification morphologique.

Le clade A qui est fortement supporté (BI= 100 %), comporte 9 séquences présentées en 4 sous clades et 4 mOTUs.

Les séquences Alg2, Alg3, Alg4 et ALG20 identifiées morphologiquement comme *Buthus aures* avec certain degré de variabilité morphologique (sur ALG20) sont groupées sur le sous-clade A4 et mOTUs 4, ces séquences répertoriées de la wilaya de Batna sont regroupées avec d'autres séquences MT955916 de la même région. Les séquences JQ775955, KF824989 du Nord Ouest de l'Algérie se sont regroupées sur le sous-clade A3 correspondant à des spécimens qui ont la même distribution géographique que *B. paris* (Sousa *et al.*, 2012). Le sous-clade A2 présenté par une seule séquence ALG16, elle est morphologiquement proche de *B. aures* avec un certain degré de variabilité. Ces scorpions peuvent présenter deux taxons déférents.

La séquence MT955957 de la région de Ghassira (Batna) est le seul présentant le sous-clade B2 et mOTU 5 (Klessner *et al.*, 2021), cette séquence est génétiquement éloignée de toutes les séquences du même genre de l'Algérie, elle représente donc probablement un taxon supplémentaire en plus des *Buthus* identifiés dans la région des Aurès.

Le clade E, qui comprend des séquences de spécimens algériens et tunisiens, est divisé en 10 sous-clades fortement supportés (BI= 100%) dont certains sont présentés par une seule séquence (B1, B2, B3 et B7) qui pourrait présenter des nouveaux taxons.

La séquence ALG19 (B3) correspondant à *B. saharicus*, cette espèce est morphologiquement et génétiquement éloignée des autres espèces du même genre.

Les séquences ALG22 et ALG23 provenant respectivement de Khanchela et d'El-Oued sont regroupés dans le sous-clade B5 et mOTU 16, ces deux spécimens sont morphologiquement très proches, et peuvent représenter une espèce non décrite.

Résultats et Discussions

Les séquences ALG1, ALG5, ALG15 et ALG17 de Batna et ALG21 de Tébessa des spécimens morphologiquement identifiés comme *B. tunetanus* sont regroupées sur les sous-clades B8, B9 et B10 avec la séquence AJ506916 du Tozeur (Sahara de la Tunisie), ce spécimen a été identifié comme *B. tunetanus* (Gantenbein et Largiadèr, 2003) ce qui confirme avec la distribution géographique de *B. tunetanus* proposée par Vachon (1952) notre identification morphologique. Ce résultat montre que *Buthus tunetanus* occupe une grande zone allant de l'Atlas Tellien au début du Sahara en passant par l'Atlas Saharien (Vachon, 1952; Gantenbein et Largiadèr, 2003; Kovařík, 2006; Sadine *et al.*, 2018; Ouici *et al.*, 2020). De plus, la répartition de ces séquences sur différents sous-clades et sur deux mOTU différents indique la possibilité de l'existence des taxons putatifs.

Selon Klessner *et al.* (2021), les séquences JN885952 et JN885953 de Oulad Driss (Nord-est de l'Algérie) sont groupées sur le sous-clade F1 et mOTU 24 avec les séquences correspondant à *B. boumalenii* Touloun et Boumezzough, 2011. Cette espèce n'a jamais été signalée auparavant dans la liste des espèces algériennes de *Buthus* (Ythier *et al.*, 2021).

Le groupement des séquences JQ775959, JQ775953 et JQ775954 dans un seul clade G a été bien supporté par ces partitions dans un seul mOTU (25), dont ces séquences correspondent à des spécimens collectés au Nord de l'Algérie (Alger) qui peuvent coïncider avec la distribution géographiques des espèces *B. paris* et *B. pussilus* (Sousa *et al.*, 2012). Ces résultats sont controversés avec ceux de Klessner *et al.* (2021).

Le clade I contient des séquences de scorpions collectés dans le sud de l'Algérie (Hoggar) (MT955943, MT955944 et MT955945). Ce groupe pourrait représenter *Buthus tassili* Lourenço, 2002 qui est distribué dans la région du Tassili N'ajjer (Klessner *et al.*, 2021) ou même *Buthus ahaggar* Ythier, Sadine, Haddadi et Lourenço, 2021 nouvellement décrit dans le massif du Hoggar.

Globalement, l'authentification morphologique était bien soutenue par les résultats de la phylogénie et de la délimitation des espèces (mPTP), dans lesquels les morpho-espèces ont été situées dans des clades et mOTUs bien distincts. Les données phylogénétiques et géographiques ont montré la présence d'une même lignée génétique dans la région des Aurès (Batna, Khanchela et Tébessa) et probablement dans la haute steppe à Rchaïga, Tiaret. La position taxonomique de *B. aures* est douteuse et nécessite une révision avec les espèces décrites en Tunisie. Un nouveau signalement possible d'une espèce endémique marocaine; *Buthus boumalenii* Touloun et Boumezzough, 2011 en Algérie est attendue. De plus, nos résultats indiquent également qu'il est probable que de nombreuses espèces non décrites

Résultats et Discussions

existent dans les montagnes des Aurès, donnant lieu à l'existence des taxons supplémentaires à ceux déjà identifiés. Les résultats du mPTP ont montré une très grande diversité de scorpions dans la région des Aurès qui pourrait contenir au moins neuf espèces de *Buthus*. Selon Klessner *et al.* (2021), le genre *Buthus* nécessite une évaluation critique et révision de toutes les espèces.

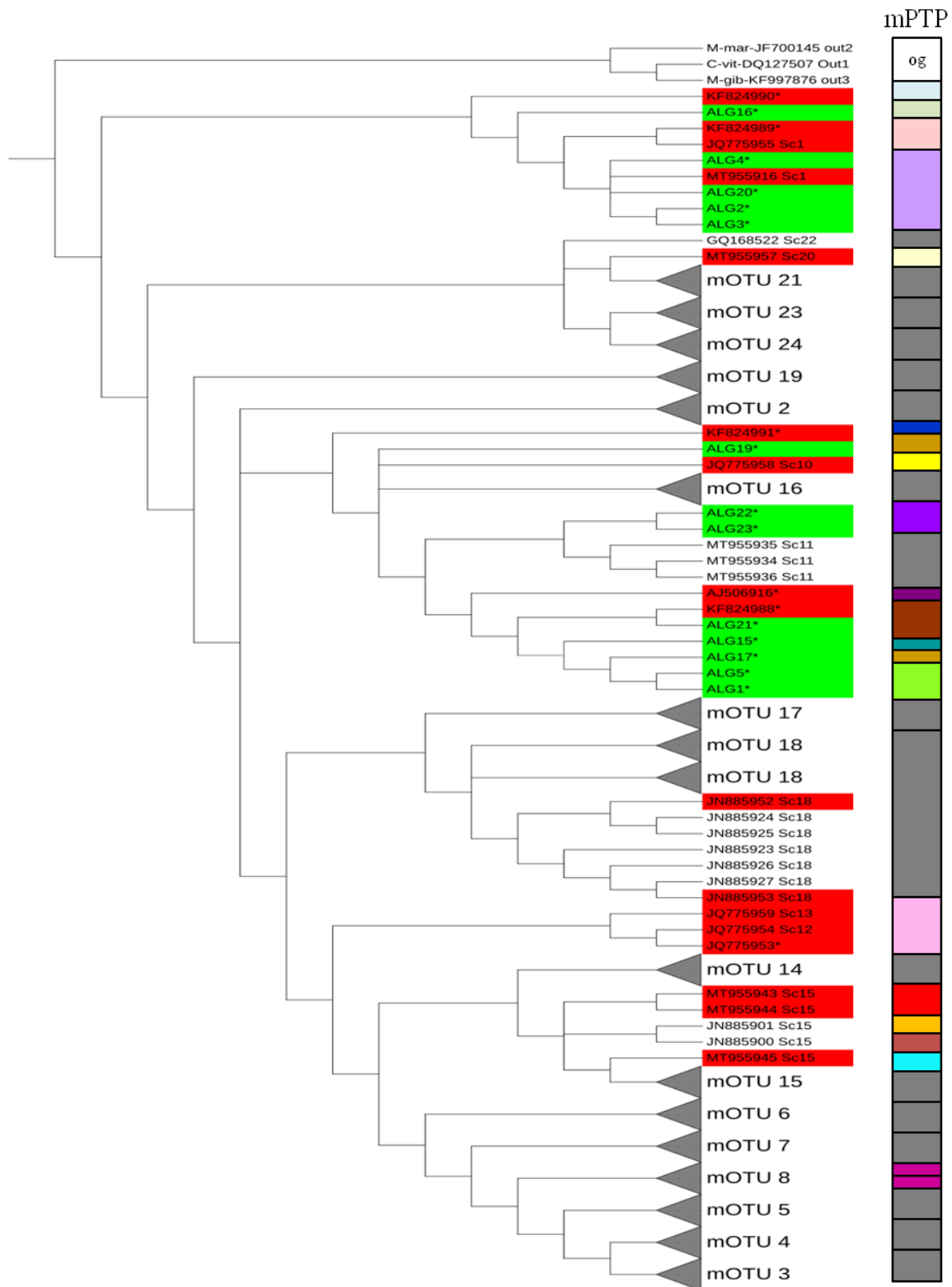


Figure 16. Arbre Bayésienne (BI) montre la position des séquences des espèces du genre *Buthus* algérienne. L'analyse était basée sur 1 seul locus (COI). Couleurs signifient les séquences des *Buthus* algérienne, vert : Séquences générées dans cette étude; rouge; Séquences obtenus à partir des études antérieures. Les barres représentent les mOTUs obtenus par mPTP. Og : out-groups

III. Famille des Scorpionidae Latreille, 1802

Avant l'adoption de la notion d'ordre et de la famille comme éléments systématiques, tous les scorpions ont été appartenus dans la famille des Scorpionidae qui était décrite par Latreille en 1802 (Fet, 2000). À l'heure actuelle, elle compte 18 genres et 185 espèces (Rein, 2022).

Cette famille a des représentants en Afrique, en Asie, en Australie, en Amérique du Nord, en Amérique centrale et en Amérique du Sud. Sologlad et Fet (2003) ont aboli la famille des Diplocentridae et inclus tous les genres dans les Scorpionidae. En Algérie, dans la liste actualisée des scorpions, la famille des Scorpionidae est représentée par un seul genre composant de quatre espèces.

Dans cette étude la famille des Scorpionidae a été représentée par un seul genre.

III.1. Genre *Scorpio* Linnaeus, 1758

Scorpio Linnaeus, 1758 est l'un des quatre anciens genres de la famille des Scorpionidae (Prendini *et al.*, 2003) qui a été créé par Linné en 1758. Ce genre a été représenté par une seule espèce type polymorphe, *Scorpio maurus* (Linnaeus, 1758) incluant onze sous espèces (Birula, 1910). Des investigations morphologiques et moléculaires menées sur certaines espèces de ce genre suggèrent que *S. maurus* est un complexe regroupant des espèces déferentes au niveau phylogénétique, biologique et écologique (Pocock, 1900; Frouf *et al.*, 2008; Loureço, 2009; Talal *et al.*, 2015; Lourenço et Rossi, 2016; koç *et al.*, 2017). À l'heure actuelle, 17 espèces ont été distinguées dans ce genre (Vachon, 1952; Lourenço, 2009; Talal *et al.*, 2015; Rein, 2022).

Ce genre présente une répartition Saharo-Sindienne, en Algérie il a été signalé au haut palataux, Steppe (Vachon, 1952), Haut montagnes de Belzema (Sadine *et al.*, 2012), dans la région de Ouargla et El-Oued (Sadine, 2012), Sud de l'Algérie à Tassili N'Ajjer (Lourenço et Rossi, 2016), Khenchela (Hasnaoui *et al.*, 2017), aux palmeraies de Biskra (Sadine, 2018), au Nord-ouest du pays (Toueti *et al.*, 2019), Tiaret (Bousmaha *et al.*, 2019), Sidi Bel Abbes (Ouici *et al.*, 2020), Tébessa (Mekahlia *et al.*, 2022), Tissemsilt (Chaded *et al.*, 2022).

En Algérie, le genre *Scorpio* comprend cinq espèces : *Scorpio maurus* Linnaeus, 1758; *Scorpio palmatus* (Ehrenberg, 1828), *Scorpio punicus* Fet, 2000; *Scorpio tassili* Lourenço et Rossi, 2016; *Scorpio atlasensis* Khammassi *et al.*, 2023 et une sous-espèce : *S. maurus trarasensis* Bouisset et Larrouy, 1962 (Dupré *et al.*, 2023).

De nombreuses études ont été menées sur la faune scorpionique en Algérie, mais les informations sur le genre *Scorpio* sont encore limitées et le statut de *Scorpio maurus* à l'heure actuelle n'est pas clairement établi (Sadine, 2018). De plus, l'analyse phylogénétique de ce genre n'a jamais été évaluée.

III.1.1. Analyse systématique

Scorpio est l'un des genres les plus faciles à reconnaître morphologiquement par son grand pédipalpe et le céphalothorax dépourvus de carènes. Cependant, la morphologie des espèces est trop compliquée, il est difficile de distinguer les espèces. De nombreuses descriptions telles que les caractères morphométriques, la disposition des carènes sur les mains des pédipalpes, la coloration des cuticules et l'architecture et la profondeur des terriers sont considérées comme les caractéristiques diagnostiques les plus importantes (Levy et Amitai, 1980; Abdennabi *et al.*, 2004 ; Tala *et al.*, 2015).

Dans cette étude, 78 scorpions du genre *Scorpio* ont été collectés sur 5 sites (Tab. 4). Les spécimens ont été identifiés morphologiquement en deux espèces : *Scorpio maurus* (Linnaeus, 1758) et *Scorpio punicus* Fet, 2000. Les deux espèces ont été trouvées dans quatre sites, Laksar, Aïn Beïda, Aïn Touta, et El-Ouelladja, cependant le site Tendla était présenté par *S. punicus*.

La comparaison morphologique des individus de *S. maurus* et de *S. punicus* révèle une variation de la coloration des cuticules et des carènes des mains des pédipalpes, où l'espèce *S. maurus* est caractérisée par une pigmentation brune et des carènes très côtelées, tandis que l'espèce *S. punicus* est caractérisée par une pigmentation jaune. Les deux espèces ont montré une déférence profonde dans la forme de l'opercule génital et des plaques pectinifères (Lourenço, 2009; Ythier et François, 2023).

La présence de ces deux espèces dans la région d'étude est expliquée par leur mode de distribution. *Scorpio maurus* a été signalé dans l'Est et le Sud-est de l'Algérie notamment à Batna, Ouargla, El-Oued (Sadine, 2012) et M'Sila (Sadine *et al.*, 2018), ainsi que comme dans l'Ouest et le Nord-Ouest (Ouici *et al.*, 2020; Touati *et al.*, 2021; Chedad *et al.*, 2022).

S. punicus est répandue, selon Lourenço et Rossi (2016), dans le Nord Algérien et les hauts plateaux Tunisiens, elle a également été retrouvée dans le Sud-est et l'Ouest Algérien (Sadine *et al.*, 2018; Touati *et al.*, 2021; Mekahlia *et al.*, 2022). Cette espèce était restreinte à de basse altitude et considérées comme des espèces hygrophiles et ombrophiles (Lourenço et

Rossi, 2016; Sadine, 2018). Dans ce travail, *S. punicus* était l'unique espèce inventoriée à Tendla, un site agricole irrigué dominé par les palmeraies.

III.1.2. Analyse morphométrique

Les données mèristiques étaient moins informatives, le nombre de dents pectinal indique peu de différence entre les deux espèces, 9 dents pour *S. maurus* et 10 dents pour *S. punicus*, tandis que les valeurs morphométriques ont été très cohérentes en termes de longueur et de largeur des pinces, les valeurs étaient 8,2/7 mm et 7,6/6,9 mm) pour *S. maurus* et *S. punicus* respectivement.

Concernant la longueur des segments du corps, chez *S. maurus*; la longueur du métasome est approximativement égale à la longueur combinée du prosome et du mésosome (20/19,5 mm), alors qu'elle était plus longue chez *S. punicus* (20/18 mm). Cependant, la longueur totale du corps des deux espèces a été très proche (40,8 mm pour *S. maurus* et 41,2 mm pour *S. punicus*).

III.1.4. Analyse phylogénétique

L'analyse morphologique et les données génétiques d'un locus (COI) ont été réalisées pour détecter la diversité génétique prouvant le statut des deux espèces appartenant au genre *Scorpio*.

L'analyse moléculaire et phylogénétique a été effectuée sur trois individus, 2 individus de *S. punicus* de Laksar et El-Ouelladja et un individu de *S. maurus* de Laksar. Les trois séquences (longueur totale de 680 pb) générées ont été appariées pour leur pourcentage d'identité avec celles disponibles dans les bases de données GenBank et Bold. Pour le genre *Scorpio*, seules 182 séquences sont disponibles, elles ont toutes montré un pourcentage d'identité supérieur à 88 %. Toutes ces séquences (185) ont été alignées avec trois séquences du genre *Heterometrus* (out-groupe) (Tab. 8 et annexe 8). Les séquences alignées comprenaient 434 sites conservés et 204 sites variables, dont 164 étaient parcimonie informatifs.

Résultats et Discussions

Tableau 8. Séquences des scorpions du genre *Scorpio* et *Heterometrus* utilisées dans l'analyse Bayésienne (le tableau détaillé est dans l'annexe 8).

| GenBank ID | Espèce | Pays | Auteur |
|---------------------|-------------------------------------|-----------|-------------------------------|
| MT418028 | <i>H. madraspatensis</i> | Outgroup | Prendini et Loria (2005) |
| MT418056 | <i>H. laevigatus</i> | Outgroup | |
| JN018159 | <i>H. cyaneus</i> | Outgroup | Arabi <i>et al.</i> (2012) |
| ALG13 | <i>S. punicus</i> | | Générées dans cette étude |
| ALG14 | <i>S. maurus</i> | Algérie | |
| ALG18 | <i>S. punicus</i> | | |
| KT188218 | <i>S. kruglovi</i> | | Talal <i>et al.</i> (2015) |
| KT188314 à KT188319 | | | |
| KT188220 à KT188224 | | | |
| KT188260 à KT188284 | <i>S. propinquus</i> | | |
| KT188298 | | | |
| KT188306 à KT188313 | <i>S. palmatus</i> | Palestine | |
| KT188320 à KT188369 | | | |
| KT188215 | | | |
| KT188216 | | | |
| KT188217 | | | |
| KT188219 | <i>S. fuscus</i> | | |
| KT188225 à KT188259 | | | |
| KT188270 à KT188277 | | | |
| KT188285 à KT188305 | | | |
| KF997866 à KF997875 | <i>S. maurus</i> | Turque | Koç <i>et al.</i> (2017) |
| KF953944 | | | |
| AY156584 | <i>S. maurus</i> <i>S. palmatus</i> | Égypte | Prendini <i>et al.</i> (2003) |
| AY156585 | <i>S. maurus</i> <i>S. fuscus</i> | | |
| FJ198057 | <i>S. birulai</i> | | |
| FJ198058 | <i>S. maurus</i> | | |
| FJ198059 | <i>S. maurus</i> | | |
| FJ198060 | <i>S. fuliginosus</i> | | |
| FJ198061 | <i>S. fuliginosus</i> | Maroc | Frouf <i>et al.</i> (2008) |
| FJ198062 | <i>S. fuliginosus</i> | | |
| FJ198064 | <i>S. maurus</i> | | |
| FJ198065 | <i>S. fuliginosus</i> | | |
| FJ198066 | <i>S. maurus</i> | | |
| | | | |

Résultats et Discussions

| | | | |
|----------|---------------------------|-------|--------------------------------------|
| JN832022 | <i>S. maurus</i> | Maroc | Heuseman <i>et al.</i> (2012) |
| KT188214 | <i>S. fuliginosus</i> | Maroc | Talal <i>et al.</i> (2015) |
| MK814930 | <i>S. maurus</i> | Iran | Soltan-Alinejad <i>et al.</i> (2021) |
| MT229841 | <i>S. maurus palmatus</i> | Iraq | - |

Sur l'arbre Bayésien (Fig. 17 et annexe 9), l'ensemble des séquences du genre *Scorpio* ont été réparties sur deux clades bien individualisés (A et B). Le clade A qui est le plus diversifié, représente des séquences de différentes espèces du genre *Scorpio* : *S. maurus*, *S. fuscus*, *S. palmatus*, *S. propinquus* et *S. kruglovi*. Ces espèces sont distribuées en Égypte, en Iran, en Irak, en Palestine et en Turquie. Les séquences restantes représentant *S. maurus*, *S. birulai*, *S. punicus* et *S. fuliginosus* réparties en Algérie et au Maroc ont été regroupés dans le clade B. L'arbre phylogénétique montre la monophylie du genre *Scorpio* (Annexe 9). La répartition des séquences en deux clades complètement séparés et la grande distance génétique allant jusqu'à 13,9% supporte bien la forte divergence entre les espèces et sous-espèces du genre *Scorpio* de l'Afrique du Nord et de l'Asie occidentale (Frouf *et al.*, 2008; Talal *et al.*, 2015; Koç *et al.*, 2017; Khammassi *et al.*, 2023).

Toutes les séquences de Palestine, Turquie, Égypte, Iran et Irak ont été regroupées dans le groupe « propinquus » comprenant *S. palmatus*, *S. fuscus*, *S. m. arabicus*, *S. propinquus*, *S. kruglovi* et *S. m. towsendi*.

Le groupement des séquences de *S. maurus* de la Turquie, Irak et Iran dans le même sous-clade A2 peut être justifié par les distances géographiques proches, où les séquences composant ce sous-clade ont été obtenues de l'Est de la Turquie, du Nord-ouest de l'Iran et du Nord de l'Irak. De plus, la répartition des séquences de la Turquie sur trois sous-clades (A1, A2 et A3 avec BI \geq 98%) s'explique par la répartition géographique des spécimens par rapport à l'Euphrate qui représente une barrière géographique séparant les zones de répartition de chaque population; la relation étroite entre les espèces et leurs habitats (sol, climat et altitude) ainsi que la couleur de la cuticule peuvent justifier la grande diversité intraspécifique au sein des spécimens de *S. maurus* de la Turquie et soutiennent également l'hypothèse du complexe d'espèces (Koç *et al.*, 2017).

Le sous-clade A3 qui est le plus diversifié, comprend 160 séquences formant neuf groupes bien séparés. Les séquences de Palestine correspondant aux espèces *S. kruglovi*, *S. fuscus*, *S. propinquus* et *S. palmatus* sont réparties en 7 groupes (1, 3, 4, 5, 7, 8 et 9). Une seule séquence de *S. maurus palmatus* d'Égypte forme le groupe 2.

Résultats et Discussions

Le groupe 2 composé de la seule séquence d'Égypte (AY156585) correspondant à l'espèce *S. m. palamtus* et les groupes 7, 8 et 9 composés de séquences palestiniennes de *S. palmatus* étaient significativement divergents (jusqu'à 9,7%) et ils pourraient donc représenter deux espèces déferentes.

Selon Talal *et al.* (2015), toutes les séquences disponibles de *S. propinquus* ont été nichées dans le sous-clade A3 en tant que population monophylle.

Il y a eu une contradiction sur la position des séquences de *S. palmatus*, *S. fuscus* et *S. propinquus* dans un même groupe (9) au sein du sous-clade A3. D'un part, *S. fuscus* et *S. palmatus* sont deux espèces phylogénétiques, écologiques et biologiques, et d'autre part *S. propinquus* n'est pas conspécifique avec *S. palmatus*. De plus, ces espèces étaient génétiquement éloignées et avaient une architecture et une profondeur de terrier différentes (Talal *et al.*, 2015). Le fort support (BI= 100 %) et la faible distance génétique (> 2 %) observés dans ce groupe suggèrent que toutes ces séquences représentent l'espèce *S. palmatus*. Ce résultat est tout à fait cohérent avec celui de Talal *et al.* (2015), dans laquelle les séquences de *S. palmatus* couvraient trois clades.

Le clade B est divisé en huit sous-clades qui sont composés par les séquences Algériennes et Marocaines. Sur la base de la divergence génétique intraspécifique, les espèces du genre *Scorpio* de l'Algérie étaient plus reliées à celles du Maroc qu'à celles de la Turquie, de l'Égypte et du Palestine.

La position phylogénétique des séquences algériennes en deux sous-clades séparés (B1 e B3) et la distance génétique observé supportent bien l'identification morphologique, et justifient l'élévation de *S. punicus* au rang d'espèce (Fet., 2000). Où les deux séquences de *S. punicus* collectées à El-Ouelladja et Laksar (ALG13 et ALG18) étaient bien supportées (BI= 100%) sont très proche (avec une faible distance génétique 0,7%). Alors que la distance entre la séquence du *Scorpio maurus* de l'Algérie (ALG14) et celles du Maroc, d'Irak, d'Iran et de Turquie atteignait 13,9%.

La grande plasticité morphologique et la profonde divergence génétique au sein de *S. maurus* ou de ses sous-espèces rapportées dans cette étude sont bien confirmé dans plusieurs études (Prendini *et al.*, 2003; Frouf *et al.*, 2008; Talal *et al.*, 2015, Koç *et al.*, 2016; Khammassi *et al.*, 2022), qui ont tous révélé une grande divergence génétique entre la population de *S. maurus* du Nord d'Afrique et de l'Asie occidentale.

Résultats et Discussions

Ces résultats conduisent à proposer que les espèces du genre *Scorpio* distribuées en Afrique du Nord et en Asie occidentale peuvent appartenir à deux taxons déferents. Également qu'il pourrait y avoir d'autres espèces et sous-espèces non encore décrites.

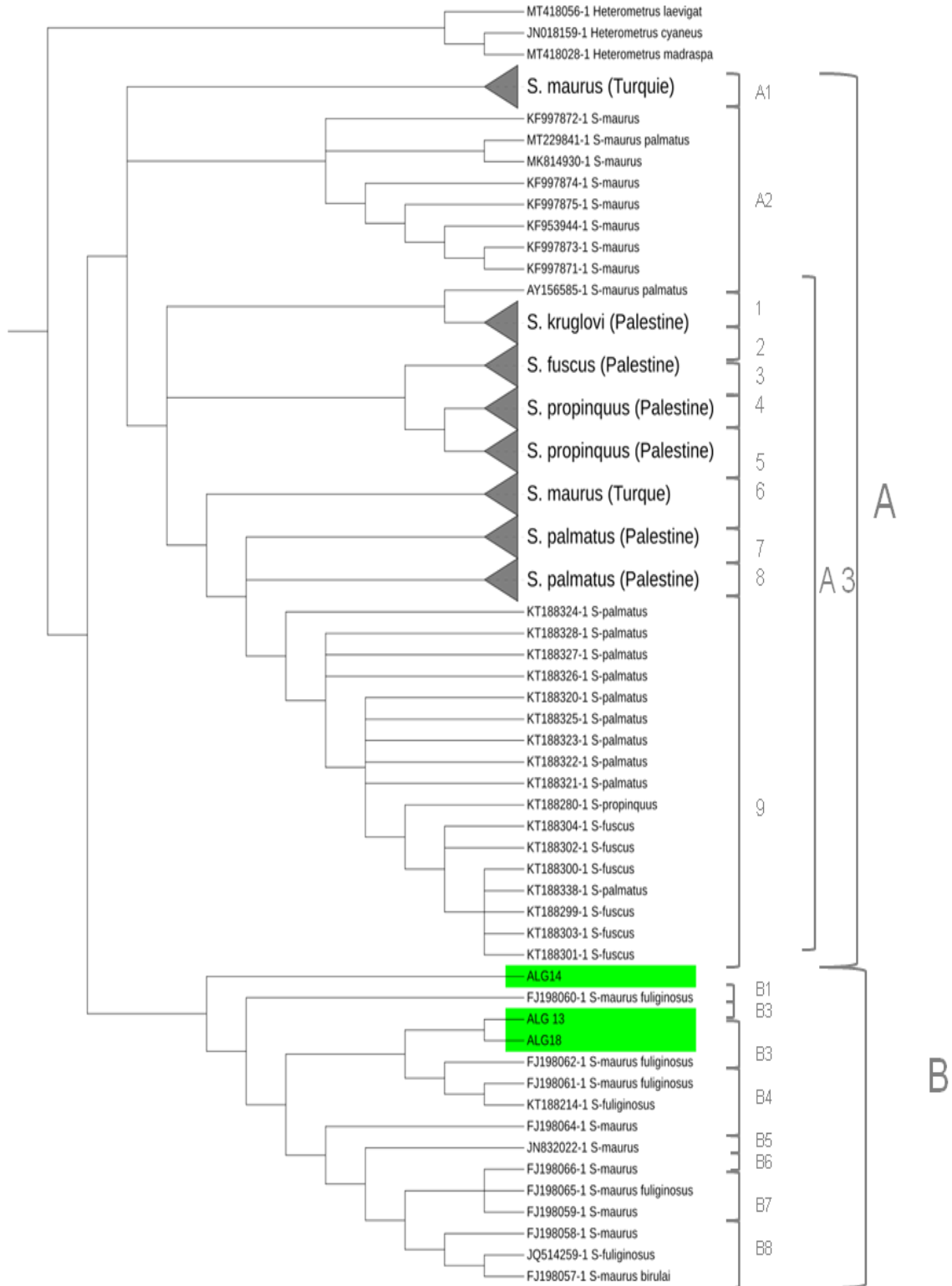


Figure 17. Arbre Bayésien (BI) basée sur les séquences partielles du gène mitochondriale COI montre la position des séquences Algériennes ALG13 et ALG18 de *S. punicus* et ALG14 de *S. maurus* (couleur vert). L'arbre détaillé sur l'annex .

Conclusion Générale et Perspectives

Conclusion générale et perspectives

Cette étude constitue une étape pertinente vers l'unification des données moléculaires avec l'attribution taxonomique de certaines espèces des scorpions de l'Algérie, et fera progresser son évaluation taxonomique dans le futur. Elle fournit une première étude préliminaire sur la variabilité d'un fragment du gène mitochondrial COI de certaines espèces des scorpions dans la région de Sud des Aurès (Nord-est Algérien) où Les codes-barres d'ADN de certaines entre eux ont été générés pour la première fois.

Pendant une période de 5 ans (2018-2022) nous avons collecté 587 scorpions. En se basant sur la description de Vachon (1952 et 1974), L'analyse morphologique et morphométrique conduit à l'identification de deux familles, trois genres et sept espèces. La famille des Buthidae (C.L. Koch, 1837) était représentée par 5 espèces *Androctonus australis* (Linnaeus, 1758), *Androctonus aeneas* Koch, 1839, *Buthus tunetanus* (Herbst, 1800), *Buthus saharicus* Sadine, Bissati et Lourenço, 2016 et *Buthus aures* Lourenço et Sadine, 2016 ; et la famille des Scorpionidae Latreille, 1802 était représentée par un seul genre *Scorpio* Linnaeus, 1758 et 2 espèces *Scorpio maurus* Linnaeus, 1758 et *Scorpio punicus* Fet, 2000.

Les résultats de l'analyse morphologique et morphométrique montrent une variabilité morphologique au sein des individus de certaines espèces notamment *A. australis*, *B. Aurès* et *S. punicus*, cette variabilité peut être liée avec le sexe, la région et même avec les deux chez la même espèce.

L'analyse morphologique et les données génétiques d'un seul locus (COI) ont été réalisées pour détecter la diversité génétique prouvant le statut taxonomique des espèces identifiées morphologiquement. Nous avons généré 23 séquences d'ADN dont 5 séquences pour le genre *Androctonus*, 13 séquences pour le genre *Buthus* et 3 séquences pour le genre *Scorpio*.

Chez le genre *Androctonus*, les résultats de l'analyse phylogénétique sont fortement soutenus par les résultats de la délimitation des espèces (ASAP et mPTP), ils ont démontré des groupes taxonomiques et géographiquement cohérents. Nous avons découvert de profondes variations intraspécifiques chez *Androctonus australis*. Nos résultats ont démontré que la délimitation des frontières entre les espèces a confirmé la présence d'un fractionnement excessif dans les groupes de *A. australis* dans lesquelles les séquences de *A. australis* ont été répartis sur quatre clades et mOTUs Bien supportés. De plus, Les distances génétiques entre

Conclusion Générale et perspectives

certaines de ces clades sont aussi importantes qu'entre les espèces. Ces résultats ont suggéré que chaque groupe soit traité comme une seule espèce putative.

Pour le genre *Buthus*, L'authentification morphologique était bien appuyée par la phylogénie et les résultats de délimitation des espèces (mPTP), dans lesquels les morpho-espèces ont été situées dans des clades et mOTU bien distincts. Les données phylogénétiques et géographiques ont montré la présence de la même lignée génétique dans la région des Aurès (Batna, Khanchela et Tebessa) et probablement dans une haute steppe de Tiaret. Une possibilité de nouveau signalement d'une espèce endémique au Maroc; *Buthus boumalenii* Touloun et Boumezzough, 2011 en Algérie est attendue. De plus, nos résultats indiquent également qu'il est probable que de nombreuses espèces non décrites existent dans les montagnes des Aurès ce qui donne naissance à l'existence des taxons supplémentaires en plus aux espèces identifiées déjà. Les résultats de mPTP ont montré une diversité de scorpions très importante dans la région des Aurès qui peut contenir au moins neuf espèces de *Buthus*.

Nous avons examiné la variation morphologique et la divergence génétique de deux espèces du scorpion emprunteur, *Scorpio maurus* et *Scorpio punicus*. Nous avons pu donner naissance aux premiers codes à barre d'ADN à ces deux espèces. Les résultats phylogénétiques montrent une divergence génétique profonde au sein des séquences de *S. maurus* soutenant la hypothèse que *S. maurus* représente un complexe d'espèces d'un part et la divergence génétique entre les séquences de *Scorpio* du Nord d'Afrique et d'Asie occidentale d'autre part.

Ces résultats montrent également qu'il est probable que de nombreuses autres espèces non décrites existent dans la région des Aurès surtout celles qui appartiennent au genre *Buthus*. Dans l'ensemble, les données sur les espèces des scorpions de l'Algérie doivent être rigoureusement évaluées et vérifiées en particulier sur des spécimens originaux. Ainsi, des recherches supplémentaires utilisant d'autres marqueurs mitochondriaux sont nécessaires pour clarifier la diversité au sein des genres étudiés. En outre, pour *A. australis*, une réévaluation de la puissance du venin et de l'efficacité anti-venin entre les individus composant les clades divergents est nécessaire.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel-Nabi I.M., McVean A., Abdel-Rahman M.A., and Omran M.A., (2004). Intraspecific diversity of morphological characters of the burrowing scorpion *Scorpio maurus palmatus* (Ehrenberg, 1828) in Egypt (Arachnida: Scorpionida: Scorpionidae). *Serket*, 9(2): 41-67.
- Abidi, H., Sadine, S.E. and Houhamdi, M. (2020). Description of the female of *Buthus aures* (Lourenço and Sadine, 2016) (Scorpiones: Buthidae), with its current distribution in East Algeria. *Serket*, 17(3): 176-182.
- Abidi, H., Sadine, S. E., Houhamdi, M., Madoui, A., and Lourenço, W. R. (2021). The genus *Buthus* leach, 1815 in Algeria (scorpiones: buthidae) and a possible new case of vicariant species. *Revista Ibérica de Aracnología*, 38, 81-86.
- Al-Asmari, A. K., Al-Saif, A. A., and Abdo, N. M. (2007). Morphological identification of scorpion species from Jazan and Al-Medina Al-Munawara regions, Saudi Arabia. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 13(4): 821–843.
- Alhamoud, M. A., Al Fehaid, M. S., Alhamoud, M. A., Alzoayed, M. H., Alkhalifah, A. A., and Menezes, R. G. (2021). Scorpion Stings in Saudi Arabia: An Overview. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 92(4).
- Anderson, R. C. (1983). Scorpions: The ancient arachnids. *Idaho Museum of Natural History*. Special Publ., 8: 1–21.
- Arabi, J., Judson, M. L., Deharveng, L., Lourenço, W. R., Cruaud, C., and Hassanin, A. (2012). Nucleotide composition of CO1 sequences in Chelicerata (Arthropoda): detecting new mitogenomic rearrangements. *Journal of Molecular Evolution*, 74(1), 81-95.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Carol A. R. and Saunders, N. C. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual review of ecology and systematics*, 18(1), 489-522.
- Ballais, J. L. (1989). Aurès. *Encyclopédie berbère*, (7):1066-1095.

Références bibliographiques

- Ballard, J. W. O., and Rand, D. M. (2005). The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review of Ecology and Evolution Systematics*, 36: 621-642.
- Ballard, J. W. O., and Whitlock, M. C. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular ecology*, 13(4), 729-744.
- Ben Ali, Z., Boursot, P., Said, K., Lagnel, J., Chatti, N., and Navajas, M. (2000). Comparison of ribosomal ITS regions among *Androctonus* spp. scorpions (Scorpionida: Buthidae) from Tunisia. *Journal of Medical Entomology*, 37, 787–790.
- Ben Othmen, A., Chatti, N., Ben Ali-Haouas, Z., Ouldbrahim, I., and Said, K. (2004). Allozymic differentiation of Tunisian populations of *Androctonus* species and *Buthus occitanus* (Scorpiones: Buthidae). *Biological Journal of the Linnean Society*. 81, 255–265.
- Ben Othmen, A., Said, K., Mahamdallie, S.S., Testa, J.M., Haouas, Z., Chatti, N., and Ready, P.D. (2009). Phylogeography of *Androctonus* species (Scorpiones: Buthidae) in Tunisia: diagnostic characters for linking species to scorpionism. *Acta Tropica*, 112, 77–85.
- Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J. and Sayers, E.W. (2016). GenBank. *Nucleic acids research*, 45(D1): D37-D42.
- Besnier, M. (1899). Notes sur l'Aurès: la plaine d'Arris. *Annales de géographie*, 8(40): 366-369.
- Birula, A.A. (1910). Ueber *Scorpio maurus* Linné und seine Unterarten. *Horae Societatis Entomologicae Rossicae, variis*, 35, 115–192.
- Bonierbale, M.W., Plaisted, R.L., and Tanksley, S.D. (1988). RFLP maps based on a common set of clones reveals models of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics*, 120, 1095–103.
- Bousmaha, F., Adamou-Djerbaoui, M., Labdelli, F., Azzaoui, M. E., Beldjillali, F., Raci, K., Titaf, K. and Dahmani, W. (2019). Inventory of scorpion fauna (Arachnida Scorpiones) in Tiaret region (Algérie). *Biodiversity Journal*, 10(2), 141-146.
- Bradley, R. A. (1988). The influence of weather and biotic factors on the behaviour of the scorpion (*Paruroctonus utahensis*). *The Journal of Animal Ecology*, 533-551.

Références bibliographiques

- Brianna, L., David, W., Olga, Z., Peter J., Roger, D. and Glenn, F. (2005). Were arachnids the first to use combinatorial peptide libraries. *Peptides*, 26: 131-139.
- Briggs, D. E. G. (1987). Scorpions take to the water. *Nature*, 326(6114), 645-646.
- Brownell, P.H. and Polis, G. (2001). Scorpion Biology and Research, (ed.) Brownell, P. and polis, G. Oxford. *Oxford University Press*, pp. 159-183.
- Carstens, B.C, Pelletier ,T.A, Reid, N.M, and Satler, J. (2013). How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, 22(17): 4369–4383.
- Caterino, M.S., Soowon Cho, and Sperling, F.A.H. (2000). The current state of insect molecular systematics: a thriving tower of Babel. *Annual Review of Entomology* 45: 1-54.
- Chedad, A., Hammou, M. A., Chelghoum, H., Chedad, A., Amara, O. O., El Bouhissi, M., Dahmani, A. and Sadine, S. E. (2022). Diversity and distribution pattern of scorpions from the Ouarsenis massif of Tissemsilt, North-West Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(5).
- Chippaux, J. P., and Goyffon, M. (2008). Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta tropica*, 107(2), 71-79.
- Cloudsley-Thompson, J.L. 1984 (ed.): Sahara Desert: Key Environments. Oxford: Pergamon Press and International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 348 pp.
- Coelho, P., Sousa, P., Harris, D. J., and Van Der Meijden, A. (2014). Deep intraspecific divergences in the medically relevant fat-tailed scorpions (*Androctonus*, Scorpiones). *Acta Tropica*, 134: 43–51.
- Cox, A. J. and Hebert, P. D. N. (2001). Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology*, 10, 371–386.
- De Queiroz, K. (2005). A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 56, 196–215.
- Desanges, J. and Riser, J. (1989). Atlas. *Encyclopédie berbère*, 7: 1013-1026.
- Devaux, J. J., Kleopa, K. A., Cooper, E. C., and Scherer, S. S. (2004). KCNQ2 Is a Nodal K⁺ Channel. *Journal of Neuroscience*, 24(5): 1236–1244.

Références bibliographiques

- Dunlop, J.A. (2010). Geological history and phylogeny of Chelicerata. *Arthropod Structure and Development*, 39:124–142.
- Dunlop, J. A., Penney, D., and Jakel, D. (2012). A summary list of fossil spiders and their relatives. In: Platnick, N.I. (ed.), *The World Spider Catalogue, version 12.5. The American Museum of Natural History*, New York.
- Dunlop, J. A. and Webster, M., (1999). Fossil evidence, terrestrialization and arachnid phylogeny. *The Journal of Arachnology*, 27: 86-93.
- Dupré, G. (2012). Annotated Bibliography on African scorpions from ANTIQUITY to ... 2nd edition (December, 31, 2012) (*Systematic, faunistic*).117p.
- Edgar, R.C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5): 1792-1797.
- Ehrenberg C. G. In Hemprich F.W. and Ehrenberg C. G. (1828). Arachnoidea. Plates I +II. In *Symbolae Physicae seu Icones et Descriptiones Animalium Evertebratorum sepositis Insectis quae ex itinere per Africam borealem et Asiam occidentalem. Friderici Guelmi Hemprich et Christiani Godofredi Ehrenberg, studio novae aut illustratae redierunt. Percensuit editit Dr. C. G. Ehrehberg. Decas I. Berolini ex officina Academica, venditur a Mittler: Index and plates.*
- Ehret-Sabatier, L., Loew, D., Goyffon, M., Fehlbaum, P., Hoffmann, J. A., van Dorsselaer, A., and Bulet, P. (1996). Characterization of novel cysteine-rich antimicrobial peptides from scorpion blood. *Journal of Biological Chemistry*, 271(47), 29537-29544.
- El Ayeb, M., and Rochat, H. H. (1985). Polymorphism and quantitative variations of toxins in the venom of the scorpion *Androctonus australis Hector*. *Toxicon*, 23(5): 755–760.
- El-Hennawy, H.K. (1992). A catalogue of the scorpions described from the Arab countries (1758-1990) (Arachnida: Scorpionida). *Serket*, 2(4): 95-153.
- Fasel, R., Aebi, P., Agostino, R. G., Naumović, D., Osterwalder, J., Santaniello, A., and Schlapbach, L. (1996). Orientation of adsorbed C 60 molecules determined via X-ray photoelectron diffraction. *Physical review letters*, 76(25): 4733.
- Fet, V., Sissom, W. D., Lowe, G., and Braunwalder, M. E. (2000). Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998) Fet V., Sissom W.D., Lowe G. & Braunwalder M.E. eds., NY Entomol. Soc., 690 pp.

Références bibliographiques

- Fet, V., Gantenbein, B., Gromov, A. A. V, Lowe, G., and Lourenço, W. R. (2003). The first molecular phylogeny of Buthidae (scorpiones). *Euscorpius*, 4(4): 1–10.
- Fet, V. and Vezzetti, R.M. (1994). PCR amplification of mitochondrial DNA from preserved scorpions. *Ancient DNA Newsletter*, 2(1): 14
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294-299.
- Froufe, E., Sousa, P., Alves, P.C., Harris, D.J. (2008). Genetic diversity within *Scorpio maurus* (Scorpiones: Scorpionidae) from Morocco: preliminary evidence based on CO1 mitochondrial DNA sequences. *Biologia*, 63, 1157–1160.
- Gaffin, D. D., Bumm, L. A., Taylor, M. S., Popokina, N. V., and Mann, S. (2012). Scorpion fluorescence and reaction to light. *Animal Behaviour*, 83(2): 429–436.
- Gantenbein, B., Fet, V., Largiadèr, C. R., and Scholl, A. (1999). First DNA phylogeny of *Euscorpius* Thorell, 1876 (Scorpiones, Euscorpiidae) and its bearing on taxonomy and biogeography of this genus. *Biographica (Paris)*, 75(2), 49-65.
- Gantenbein, B. and Largiadèr, C.R. (2003). The phylogeographic importance of the Strait of Gibraltar as a gene flow barrier in terrestrial arthropods: a case study with the scorpion *Buthus occitanus* as model organism. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28(1): 119-130.
- Geniez P. (2009). Découverte au Maroc d'*Androctonus australis* (Linnaeus, 1758) (Scorpiones, Buthidae). *Poiretia*, (1): 1-4.
- Gissi, C., Iannelli, F., and Pesole, G. (2008). Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity*, 101(4), 301-320.
- Goyffon, M., and El-Ayeb, M. (2002). Epidémiologie du scorpionisme. Infotox n°15 juin, p 3.
- Goyffon, M., and Lamy, J. (1973). Une nouvelle sous-espèce d'*Androctonus australis* L. (Scorpion, Buthidae): *Androctonus australis garzonii* n. ssp. Caractéristiques morphologiques, écologiques et biochimiques. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 98 (1): 137-144.

Références bibliographiques

- Grover, A., and Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical reviews in biotechnology*, 36(2), 290-302.
- Hall, T., Biosciences, I., and Carlsbad, C. J. G. B. B. (2011). BioEdit: an important software for molecular biology. *GERF Bull Biosci*, 2(1), 60-61.
- Hasnaoui, C., Meddour, A., and Lebbal, S. (2018). New data on scorpion diversity in the region of Khenchela, Algeria. *Serket*, 16 (1): 1-6.
- Hemprich, F. W. and Ehrenberg, C. G. (1828). Zoologica II. Arachnoidea. Plate I: *Buthus*; plate II: *Androctonus* . In: *Symbolae Physicae seu Icônes et Descriptiones Animalium evertebratorum sepositis Insectis quae ex itinere per Africani borealem et Asiam occidentalem. Friderici Guilelmi Hemprich et Christiani Godofredi Ehrenberg, medicinae et chirurgiae doctorum, studio novae aut illustratae redierunt. Percensuit et regis iussu et impensis edidit Dr. C. G. Ehrenberg. Decas prima. Berolini ex officina Academica, Venditur a Mittlerero.*
- Herbst, J.F.W. (1800). *Naturgeschichte der Skorpionen. Natursystem der Ungeflügelten Insekten.* Berlin: Bei Gottlieb August Lange, 86 pp.
- Hebert, Paul, D. N., Cywinska, Alina, Ball, Shelley, L., and DeWaard, Jeremy, R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceeding of the Royal Society*, B 270, 313–321.
- Hjelle, J. T. (1990). Anatomy and morphology. In: Polis, G. A. (ed.) *The Biology of Scorpions*, pp 9-63. Stanford University Press, Palo Alto, CA.
- Jena, K.K, Kochert, G. (1991). Restriction fragment length polymorphism analysis of CCDD genome species of the genus *Oryza* L. *Plant Molecular Biology*, 16, 837–9.
- Joseph, B., and George, J. (2012). Scorpion toxins and its applications. *Int J Toxicol Pharmacol Res*, 4(3), 57-61.
- Kapli, P., Lutteropp, S., Zhang, J., Kobert, K., Pavlidis, P., Stamatakis, A. and Flouri, T. (2017). Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*, 33(11): 1630-1638.

Références bibliographiques

- Khammassi, M., Harris, D. J., Sadine, S. E., Bouhissi, M. E., and Noura, S. (2023). Description of a new species of *Scorpio* (Scorpiones: Scorpionidae) from Northwestern Algeria using morphological and molecular data. *Biologia*, 1-12.
- Klessner, R., Husemann, M., Schmitt, T., Sousa, P., Moussi, A. and Habel, J.C. (2021). Molecular biogeography of the Mediterranean *Buthus* species complex (Scorpiones: Buthidae) at its southern Palaearctic margin. *Biological Journal of the Linnean Society*, 133(1): 166-178.
- Koc, H., Sipahi, H. Ü. L. Y. A., and Yağmur, E. A. (2017). Genetic diversity within *Scorpio maurus* (Scorpiones: Scorpionidae) from Turkey. *North-Western Journal of Zoology*, 13(1).
- Koch, C.L. (1839). Die Arachniden. C. H. Zeh'sche Buchhandlung. *Nürnberg*, 6(1-6): 1-156.
- Koehler F. H. (1979). Physical characteristics of the fluorescence spectra of scorpions. *Master's Thesis*, University Jackson. California State. San Francisco.
- Kovařík, F. (2006). Review of Tunisian species of the genus *Buthus* with descriptions of two new species and a discussion of Ehrenberg's types (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius*, 34: 1-16.
- Kraepelin K. (1899). Scorpiones und Pedipalpi. In: F. Dahl (ed.). *Das Tierreich. D. zool. Ges. R. Friedländer und Sohn Verlag, (Arachnoidea)*: 1-265. Berlin.
- Krishna, Krishnamurthy, P., and Francis, R. A. (2012). A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodiversity and conservation*, 21(8), 1901-1919.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6): 1547-1549.
- Lafitte, R. (1939). Structure et relief de l'Aurès (Algérie). *Bulletin de l'Association de géographes français*, 16(119): 34-40.
- Lamoral, B. H. (1979). The Scorpions of Namibia (Arachnida-Scorpionida). *Natal Museum*.
- Lamy J., Le Pape G. and Weill J. (1974). Hétérogénéité de l'espèce *Androctonus australis* L. (Scorpiones, Buthidae). Création d'une nouvelle sous-espèce *A. australis africanus* n.

Références bibliographiques

- ssp. sur la base de critères biochimiques et génétiques. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*, Paris.
- Latifi, M., and Tabatabai, M. (1979). Immunological studies on Iranian scorpion venom and antiserum. *Toxicon*, 17(6), 617-620.
- Leach, W.E. (1815). A tabular view of the external characters of four classes of animals, which Linné arranged under Insecta; with the distribution of the genera composing three of these classes 410 into orders, etc. and descriptions of several new genera and species. *Transactions of the Linnean Society of London*, 11(2): 306-400.
- Leaché, A. D., Fujita, M. K., Minin, V. N., and Bouckaert, R. R. (2014). Species delimitation using genome-wide SNP data. *Systematic Biology*, 63(4), 534–542.
- Le Cam, L. (1990). Maximum likelihood: an introduction. *International Statistical Review/Revue Internationale de Statistique*, 153-171.
- Lemoine, F., Correia, D., Lefort, V., Doppelt-Azeroual, O., Mareuil, F., Cohen-Boulakia, S. and Gascuel, O. (2019). NGPhylogeny.fr: new generation phylogenetic services for nonspecialists. *Nucleic acids research*, 47(W1): W260-W265.
- Letunic, I. and Bork, P. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic acids research*, 47(W1): W256-W259.
- Levy, G., and Amitai, P. 1980. Fauna Palaestina. Arachnida I: Scorpiones. *Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem*.
- Linnaeus C., (C. von Linné) 1758- *Systema Naturae per regna tria Naturae, secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis*. Ed. 10. Laurentii Salvii, Holmiae (Stockholm), 1, 821 pp. (Scorpions: p. 624-625). Stockholm.
- Lopez, P., Casane, D., and Philippe, H. (2002). Phylogénie et évolution moléculaires-Bio-informatique (5). *Médecine/Sciences*, 18(11), 1146-1154.
- Lourenço, W.R. (2002). Considérations sur les modèles de distribution et différenciation du genre *Buthus* Leach, 1815, avec la description d'une nouvelle espèce des montagnes du Tassili des Ajjer, Algérie (Scorpiones, Buthidae). *Biogeographica*, 78(3): 109-127.

Références bibliographiques

- Lourenço, W. R. (2005). Nouvelles considérations taxonomiques sur les espèces du genre *Androctonus* Ehrenberg, 1928 et description de deux nouvelles espèces (Scorpiones, Buthidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 112: 145-171.
- Lourenço, W. R. (2009). Reanalysis of the genus *Scorpio* Linnaeus 1758 in sub-Saharan Africa and description of one new species from Cameroon (Scorpiones, Scorpionidae). *Entomol Mitt Zool Mus Hamb*, 15(181), 99-113.
- Lourenço, W.R. (2013). A new species of *Buthus* Leach, 1815 from Algeria (Scorpiones, Buthidae). *Entomologische Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg*, 16(189): 63-68.
- Lourenço, W. R. (2018). The evolution and distribution of noxious species of scorpions (Arachnida: Scorpiones). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 24(1): 1-12.
- Lourenço, W.R., Chichi, S. and Sadine, S.E. (2018). A new species of *Buthus* Leach, 1815 from the region of Bou Sâada-M'Sila, Algeria; a possible case of vicariance for the genus (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 32: 15-20.
- Lourenço W. R. and Duhem B. (2009). Saharo-Sindian Buthid scorpions; description of two new genera and species from Occidental Sahara and Afghanistan. *ZooKeys*, 14: 37-54.
- Lourenço, W.R., El Bouhissi, M. and Sadine, S.E. (2020). Further considerations on the *Buthus* Leach, 1815 species present in Algeria with description of a new species (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 36: 103-108.
- Lourenço, W. R. and Leguin E. A. (2011). Further considerations on the species of the genus *Orthochirus* Karsch, 1891 from Africa, with description of three new species (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius*, n. 123, p. 1–19.
- Lourenço, W. R., and Rossi, A. (2016). Confirmation of a new species of *Scorpio* Linnaeus, 1758 in the Tassili N'Ajjer, Mountains, South Algeria (Scorpiones: Scorpionidae). *Onychium*, 12, 11-8.
- Lourenço, W. R., Rossi, A. & Sadine, S. E. (2015). New data on the genus *Androctonus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones, Buthidae), with the description of a new species from Ethiopia. *Rivista Aracnologica Italiana*, (1)5: 11-29.

Références bibliographiques

- Lourenço, W.R. and Sadine, S.E. (2016). One more new species of *Buthus* Leach, 1815 from Algeria (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 28: 13-17.
- Lowe, G., Kutcher, S. R., and Edwards, D. (2003). A powerful new light source for ultraviolet detection of scorpions in the field. *Journal of Arachnology*, 8(8): 3–9.
- Lunardi, J. (2003). Fifty years ago, the double helix gave birth to molecular biology. *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 61, No. 6, pp. 623-633).
- Mäser, P., Thomine, S., Schroeder, J. I., Ward, J. M., Hirschi, K., Sze, H., and Guerinot, M. L. (2001). Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. *Plant physiology*, 126(4), 1646-1667.
- Meddour, A., Hasnaoui, C. and Lebbal, S. (2017). Inventory of scorpions in three different biotopes in the region of Khenchela, Northeast of Algeria. *Serket*, 15(4): 159-166.
- Mekahlia, M.N., Abidi, H., Slimane, F., Sadine, S.E., Dekak, A. and Chenchouni, H. (2021). Seasonal patterns of scorpion diversity along a gradient of aridity in Algeria. *Acta Oecologica*, 113: 103792, 11 pp.
- Meki, A. R. M., and Omar, H. E. D. M. (1997). A bradykinin potentiating fraction isolated from the venom of Egyptian scorpion *Buthus occitanus* induced prostaglandin biosynthesis in female guinea pigs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 116(3), 183-189.
- Mousli, M., Devaux, C., Rochat, H., Goyffon, M., and Billiald, P. (1999). A recombinant single-chain antibody fragment that neutralizes toxin II from the venom of the scorpion *Androctonus australis* hector. *FEBS letters*, 442 (2-3), 183-188.
- Mullis, K. B. (1994). The polymerase chain reaction (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 33(12), 1209-1213.
- Newton, K. A., Clench, M. R., Deshmukh, R., Jeyaseelan, K., and Strong, P. N. (2007). Mass fingerprinting of toxic fractions from the venom of the Indian red scorpion, *MesoButhus tamulus*: biotope-specific variation in the expression of venom peptides. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21(21): 3467–3476.
- Ouici, H., El Bouhissi, M., Sadine, S.E. and Abidi, H. (2020). Preliminary study and ecological comments on scorpion diversity in Sidi Bel Abbes region, North-west Algeria. *Serket*, 17(2): 87-96.

Références bibliographiques

- Pallary P. M. (1928). Description de quatre scorpions nouveaux de la Berbérie. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, Paris, vol. 5, p. 346-351.
- Pedroso, D., Sousa, P., Harris, D.J. and Van der Meijden, A. (2013). Phylogeography of *Buthus* Leach, 1815 (Scorpiones: Buthidae): a multigene molecular approach reveals a further complex evolutionary history in the Maghreb. *African Zoology*, 48(2): 298-308.
- Peng, C. (2007). Distance based methods in phylogenetic tree construction. *Neural Parallel and Scientific Computations*, 15(4), 547.
- Petrunkévitch, A. (1960). Scorpion. *Encyclopedia Britannica*, 20: 135-137
- Pocock, R. I. 1900. The scorpions of the genus *Heterometrus*. *The Annals and magazine of natural history*.(7), 5: 362-365.
- Polis G. A. (1990). Ecology. In: Polis GA (Ed. 1996). *The biology of scorpions*. Stanford University Press, Stanford, California. 247-293.
- Pons, J., Barraclough, T. G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D. P., Hazell, S., Vogler, A. P. (2006). Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55, 595–609.
- Prendini, L., Crowe, T. M., and Wheeler, W. C. (2003). Systematics and biogeography of the family Scorpionidae (Chelicerata: Scorpiones), with a discussion on phylogenetic methods. *Invertebrate Systematics*, 17(2), 185-259.
- Prendini, L., and Loria, S. F. (2020). Systematic revision of the Asian forest scorpions (Heterometrines Simon, 1879), revised suprageneric classification of Scorpionidae Latreille, 1802, and revalidation of Rugodentidae Bastawade et al., 2005. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 442(1), 1-480.
- Puillandre, N., Brouillet, S. and Achaz, G. (2021). ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Molecular Ecology Resources*, 21(2): 609-620.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S., and Achaz, G. J. M. E. (2012). ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular ecology*, 21(8), 1864-1877.
- Qin, J., Zhang, Y., Zhou, X., Kong, X., Wei, S., Ward, R. D., and Zhang, A. B. (2015). Mitochondrial phylogenomics and genetic relationships of closely related pine moth

Références bibliographiques

- (Lasiocampidae: Dendrolimus) species in China, using whole mitochondrial genomes. *BMC genomics*, 16 (1), 1-12.
- Rannala, B. and Yang, Z. (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.
- Ratnasingham, S. and Hebert, P.D.N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3): 355-364.
- Reid, N. M., and Carstens, B. C. (2012). Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1), 196.
- Rein, J.O. (2022). The Scorpion Files. <https://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/> (January 2023).
- Rizzo, J., and Rouchka, E. C. (2007). Review of phylogenetic tree construction. *University of Louisville Bioinformatics Laboratory Technical Report Series*, 1, 1-7.
- Sadine S. E. (2012). Contribution à l'étude de la faune scorpionique du Sahara septentrional Est Algerian (Ouargla et El Oued). Mémoire de Magister. Option Zoophytiatrie., Université de Ouargla. Algérie. pp84.
- Sadine, S.E. (2018). La faune scorpionique du Sahara septentrional algérien: Diversité et Ecologie. Thèse de Doctorat ès sciences. Université Kasdi Merbah-Ouargla. Algérie. 112 pp.
- Sadine, S.E., Alioua, Y. and Chenchouni, H. (2012). First data on scorpion diversity and ecological distribution in the National Park of Belezma, Northeast Algeria. *Serket*, 13(1/2): 27-37.
- Sadine, S. E., Alioua, Y., Kemassi, A. Mebarki, M. T., Houtia, A., and Bissati, S. (2014). Aperçu sur les scorpions de Ghardaïa (Algérie). *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 1(1): 12-17.
- Sadine, S.E., Bissati, S. and Idder, M.A. (2018). Diversity and structure of scorpion fauna from arid ecosystem in Algerian Septentrional Sahara (2005-2018). *Serket*, 16(2): 51-59. 411.

Références bibliographiques

- Sadine, S.E., Bissati, S. and Lourenço, W.R. (2016). The first true deserticolous species of *Buthus* Leach, 1815 from Algeria (Scorpiones: Buthidae); Ecological and biogeographic considerations. *Comptes Rendus Biologies*, 339: 44-49.
- Sadine, S. E., Bissati, S. and Ould El-Hadj, M. D. (2011). Premières données sur la diversité scorpionique dans la région du Souf (Algérie). *Arachnides*, 61: 2-10.
- Sadine, S.E., Djilani, S. and Kerboua, K.E. (2020). Aperçu sur les scorpions de l'Algérie. *Algerian Journal of Health Sciences*, 2(1): 8-14.
- Saitou, N., and Imanishi, T. (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, minimum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Molecular Biology and Evolution*, 6(5): 514.
- Sanger, F., and Coulson, A. R. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of molecular biology*, 94(3), 441-448.
- Savolainen, V., Cowan, R. S., Vogler, A. P., Roderick, G. K., and Lane, R. (2005). Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1805-1811.
- Savory, T. (1977). *Arachnida* (No. Ed. 1). Academic Press, Inc., London.
- Schulman, A. H. (2007). Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica*, 158(3), 313-321.
- Sharma, P. P., Fernández, R., Esposito, L. A., González-Santillán, E., and Monod, L. (2015). Phylogenomic resolution of scorpions reveals multilevel discordance with morphological phylogenetic signal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282 (1804), 20142953.
- Sissom, W. D. (1990). Systematics, biogeography and paleontology. In Polis, G. A. (ed.), *The Biology of the scorpions*, pp. 64-160. Stanford University Press, Palo Alto, CA.
- Smertenko, A., Omran, M. A. A. M. A. A., Hussey, P. J., and Mcvean, A. (2001). Toxin evolution in scorpion venom: evidence for toxin divergence under strong negative selection in *Leiurus quinquestriatus* subspecies. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 20(3-4): 229-244.

Références bibliographiques

- Soleglad, M. E., and Fet, V. (2003). High-level systematics and phylogeny of the extant scorpions (Scorpiones: Orthosterni). *Euscorpius*, 11(11): 1–19.
- Soltan-Alinejad, P., Rafinejad, J., Dabiri, F., Onorati, P., Terenius, O., and Chavshin, A. R. (2021). Molecular analysis of the mitochondrial markers COI, 12S rDNA and 16S rDNA for six species of Iranian scorpions. *BMC research notes*, 14(1), 1-6.
- Sousa, P. R. (2017). Resilient arthropods: *Buthus* scorpions as a model to understand the role of past and future climatic changes on Iberian biodiversity. PhD Thesis, Porto, Universidade do Porto, Portugal.
- Sousa, P., Arnedo, M.A. and Harris, D.J. (2017). Updated catalogue and taxonomic notes on the Old-World scorpion genus *Buthus* Leach, 1815 (Scorpiones, Buthidae). *ZooKeys*, 686: 15-84.
- Sousa, P., Harris, D.J., Froufe, E. and Van Der Meijden, A. (2012). Phylogeographic patterns of *Buthus* scorpions (Scorpiones: Buthidae) in the Maghreb and South-Western Europe based on CO1 mtDNA sequences. *Journal of Zoology*, 288(1): 66-75.
- Stachel, S. J., Stockwell, S. A., and Van Vranken, D. L. (1999). The fluorescence of scorpions and cataractogenesis. *Chemistry and biology*, 6(8): 531-539.
- Stahnke, H. L. (1966). Some aspects of scorpion behavior. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, 65(2), 65-80.
- Stahnke, H.L. (1970). Scorpion nomenclature and mensuration. *Entomological News*, 81(12): 297-316.
- Stahnke, H. L. (1972). UV light, a useful field tool. *BioScience*, 22(10), 604–607.
- Stockmann, R. and Ythier, E. (2010). Scorpion du monde. *NAP Editions*. 572p.
- Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in ecology and evolution*, 15(5), 199-203.
- Takeyama, H., Chow, S., Tsuzuki, H., and Matunaga, T. (2001). Mitochondrial DNA sequence variation within and between *tuna Thunnus* species and its application to species identification. *Journal of Fish Biology*, 58(6), 1646-1657.
- Talal, S., Tesler, I., Sivan, J., Ben-Shlomo, R., Tahir, H.M., Prendini, L., Sagi, S. and Gefen, E. (2015). Scorpion speciation in the Holy Land: multilocus phylogeography

Références bibliographiques

- corroborates diagnostic differences in morphology and burrowing behavior among *Scorpio* subspecies and justified recognition as phylogenetic, ecological and biological species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 91: 226-237.
- Tamura, K., and Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular biology and evolution*, 10(3), 512-526.
- Teruel, R. and Kovařík, F. (2014). Redescription of *Androctonus bicolor* Ehrenberg, 1828, and Description of *Androctonus turieli* sp. n. from Tunisia (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius*, 186, 1-15.
- Todd, C. (1909). An anti-serum for scorpion venom. *Epidemiology and Infection*, 9(1), 69-85.
- Touati, K., Taibi, A.R., Sadine, S.E., Mediouni, M.R., Labbaci, M., Ameer, A.A. and Gaouar, S.B.S. (2021). Biometry and inventory of scorpions in the Algerian Northwest. *Genetics and Biodiversity Journal*, 5(1): 120-135.
- Touloun, O. and Boumezzough, A. (2011). Une nouvelle espèce du genre *Buthus* Leach, 1815 (Scorpiones: Buthidae) du Maroc. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA)*, 48: 183-187.
- Touloun, O., Slimani, T. and Boumezzough, A. (1999). Découverte au Maroc de *Buthus occitanus tunetanus* var. *neeli* Gysin, 1969 (Scorpiones, Buthidae). *Arachnides*, 41: 28-30.
- Vachon, M. (1952). Étude sur les scorpions. Institut Pasteur d'Algérie. Alger. 479 pp.
- Vachon, M. (1974). Étude des caractères utilisés pour classer les familles et les genres de Scorpions (Arachnides). 1. La trichobothriotaxie en arachnologie. Modèles trichobothriaux et types de trichobothriotaxie chez les Scorpions. *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle, Paris*, 3e sér., 140, Zool. 104: 857-958.
- Volschenk, E. S. (2005). A new technique for examining surface morpho-sculpture of scorpions. *Journal of Arachnology*, 33(3): 820-825.
- Wares, J. P. and Cunningham, C. W. (2001). Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*. 12, 2455–2469.

Références bibliographiques

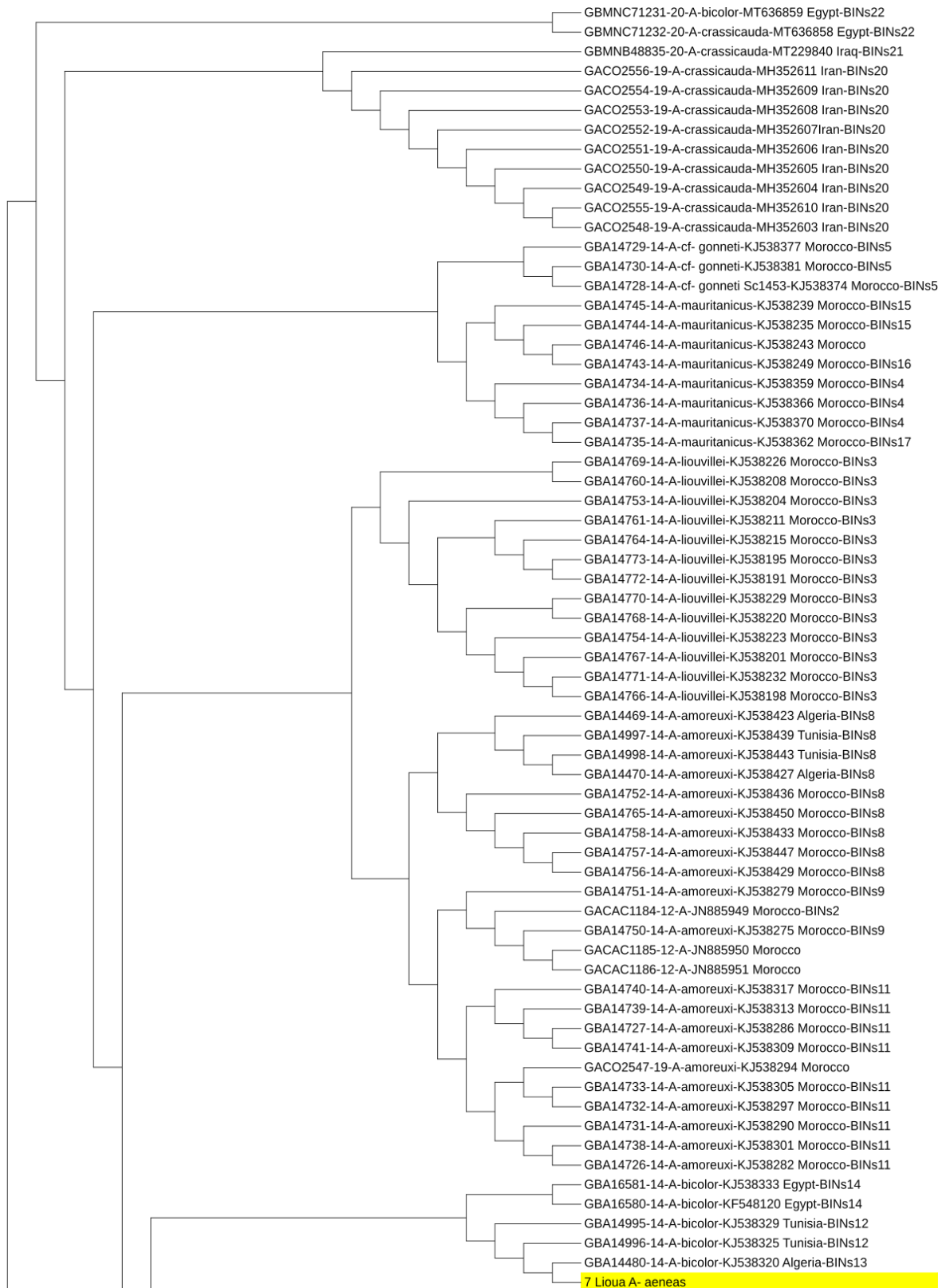
- Wasserman, L., & Wasserman, L. (2004). Bayesian inference. *All of Statistics: A Concise Course in Statistical Inference*, 175-192.
- Watson, J. D., and Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737-738.
- Werner, F. (1935). Scorpiones, Pedipalpi. Klassen und Ordnungen des Tierreichs. (Bronn, H.G.ed.) Band 5, Abteilung 4, Buch 8. *Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft M.B.H.* 8:316
- Yang, Z., and Rannala, B. (2014). Unguided species delimitation using DNA sequence data from multiple loci. *Molecular Biology and Evolution*, 31(12), 3125-3135.
- Yokota, T., Milenic, D. E., Whitlow, M., and Schlom, J. (1992). Rapid tumor penetration of a single-chain Fv and comparison with other immunoglobulin forms. *Cancer research*, 52(12), 3402-3408.
- Yoshiyama, R. M., and Sassaman, C. (1983). Morphological and allozymic variation in the stichaeid fish *Anoplarchus purpureus*. *Systematic Biology*, 32(1), 52-71.
- Ythier, E., François, A. (2023). The scorpion fauna of the Oriental region in Morocco (Scorpiones: Buthidae, Scorpionidae) with description of three new species of the genus *Scorpio* Linnaeus, 1758. *Faunitaxys*, 11(3): 1-15.
- Ythier, E., Sadine, S.E., Haddadi, M.L. and Lourenço, W.R. (2021). A new species of *Buthus* Leach, 1815 from Algeria (Scorpiones: Buthidae) and an interesting new case of vicariance. *Faunitaxys*, 9(21): 1-9.
- Zekri, W., Moussi, A., Sadine, S.E. and Sarhan, M. (2022). *Buthus* Leach, 1815 (Scorpiones: Buthidae): taxonomic status of species in Algeria with their morphological and molecular study in Aures region. *Serket*. 18(3): 400-415.
- Zhang, D. X., and Hewitt, G. M. (1996). Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. *Trends in ecology and evolution*, 11(6), 247-251.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P., and Stamatakis, A. (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 29(22), 2869-2876.

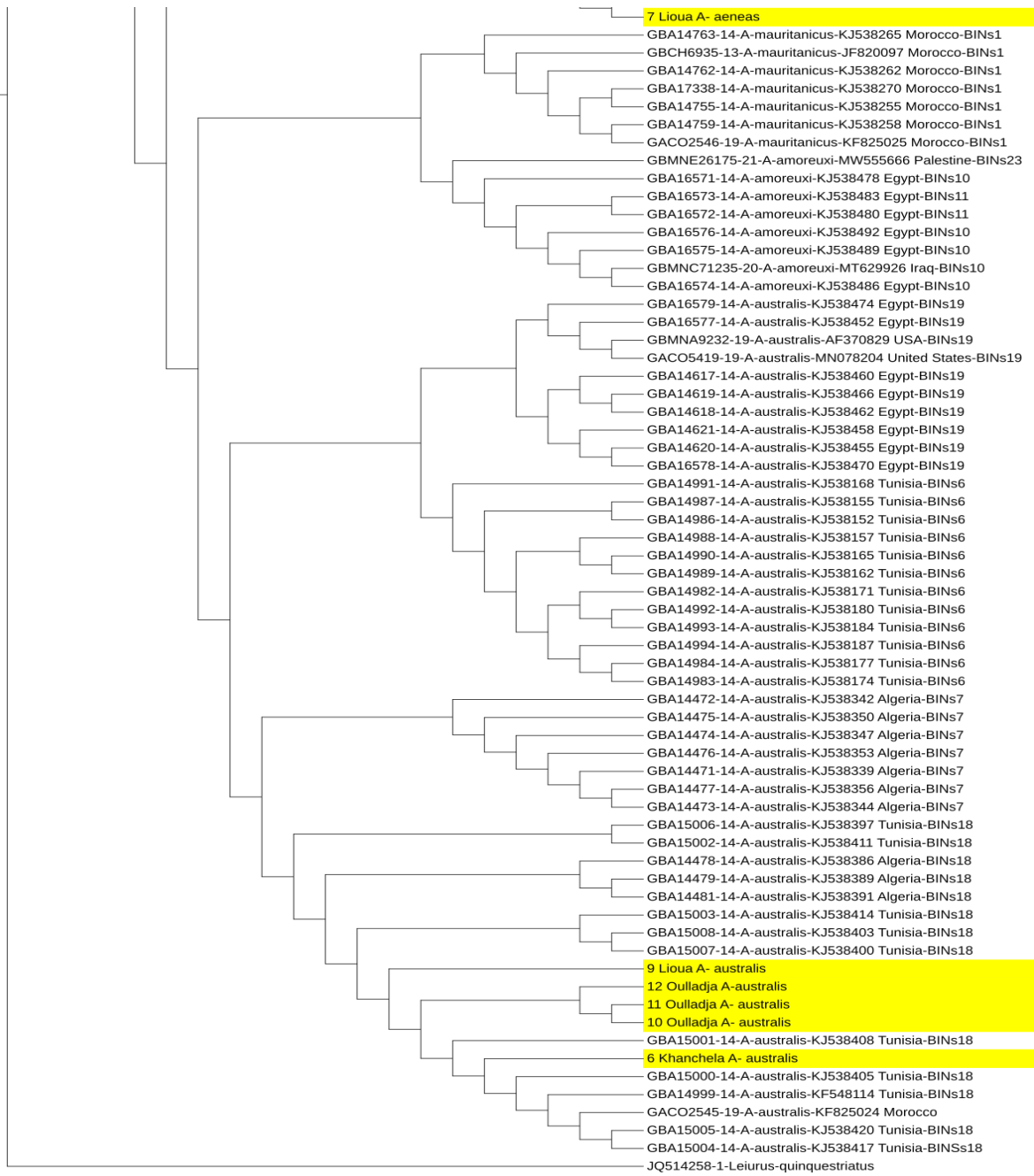
Références bibliographiques

Zhou, X. H., Yang, D., Zhang, J. H., Liu, C. M., and Lei, K. J. (1989). Purification and N-terminal partial sequence of anti-epilepsy peptide from venom of the scorpion *Buthus martensii* Karsch. *Biochemical Journal*, 257(2), 509-517.

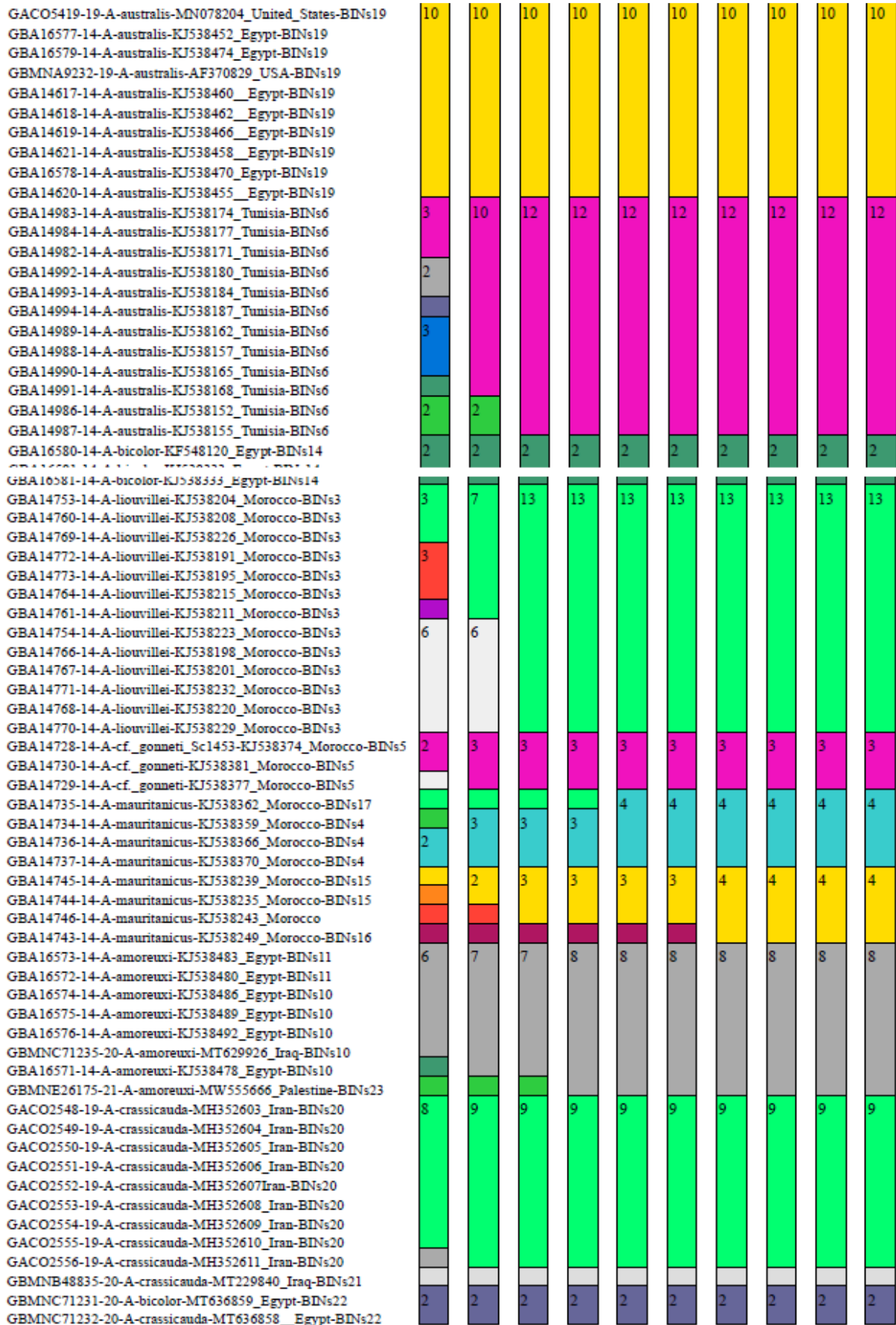
Annexes

Annexe 1. Estimation bayésienne de la relation phylogénétique entre les séquences des espèces du genre *Androctonus* (clades non collapsés). Couleur : représentent les séquences d'*Androctonus* générées dans cette étude.





Annexes



Annexe 3. mOTUs issus de la délimitation des espèces par la méthode mPTP.

Command: ../bin/mptp mptp --ml --multi --outgroup JQ514258-1-Leiurus-quinquestriatus --outgroup_crop
--tree_file ../uploads/64qigsfi10j8a6dgv5ssee4pr7.newick --output_file

../uploads/64qigsfi10j8a6dgv5ssee4pr7.1

Number of edges greater than minimum branch length: 124 / 256

Null-model score: 390.771413

Best score for multi coalescent rate: 390.771413

Number of delimited species: 17

Species 1:

GBMNC71231-20-A-bicolor-MT636859_Egypt-BINs22

GBMNC71232-20-A-crassicauda-MT636858_Egypt-BINs22

Species 2:

GBMNB48835-20-A-crassicauda-MT229840_Iraq-BINs21

GACO2556-19-A-crassicauda-MH352611_Iran-BINs20

GACO2554-19-A-crassicauda-MH352609_Iran-BINs20

GACO2553-19-A-crassicauda-MH352608_Iran-BINs20

GACO2552-19-A-crassicauda-MH352607_Iran-BINs20

GACO2551-19-A-crassicauda-MH352606_Iran-BINs20

GACO2550-19-A-crassicauda-MH352605_Iran-BINs20

GACO2549-19-A-crassicauda-MH352604_Iran-BINs20

GACO2555-19-A-crassicauda-MH352610_Iran-BINs20

GACO2548-19-A-crassicauda-MH352603_Iran-BINs20

Species 3:

GBA14729-14-A-cf-_gonneti-KJ538377_Morocco-BINs5

GBA14730-14-A-cf-_gonneti-KJ538381_Morocco-BINs5

GBA14728-14-A-cf-_gonneti_Sc1453-KJ538374_Morocco-BINs5

Species 4:

GBA14745-14-A-mauritanicus-KJ538239_Morocco-BINs15

GBA14744-14-A-mauritanicus-KJ538235_Morocco-BINs15

GBA14746-14-A-mauritanicus-KJ538243_Morocco

GBA14743-14-A-mauritanicus-KJ538249_Morocco-BINs16

Species 5:

GBA14734-14-A-mauritanicus-KJ538359_Morocco-BINs4

GBA14736-14-A-mauritanicus-KJ538366_Morocco-BINs4

GBA14737-14-A-mauritanicus-KJ538370_Morocco-BINs4

GBA14735-14-A-mauritanicus-KJ538362_Morocco-BINs17

Species 6:

GBA14769-14-A-liouvillei-KJ538226_Morocco-BINs3

GBA14760-14-A-liouvillei-KJ538208_Morocco-BINs3

GBA14753-14-A-liouvillei-KJ538204_Morocco-BINs3

GBA14761-14-A-liouvillei-KJ538211_Morocco-BINs3

GBA14764-14-A-liouvillei-KJ538215_Morocco-BINs3

GBA14773-14-A-liouvillei-KJ538195_Morocco-BINs3

GBA14772-14-A-liouvillei-KJ538191_Morocco-BINs3

GBA14770-14-A-liouvillei-KJ538229_Morocco-BINs3

GBA14768-14-A-liouvillei-KJ538220_Morocco-BINs3

GBA14754-14-A-liouvillei-KJ538223_Morocco-BINs3

GBA14767-14-A-liouvillei-KJ538201_Morocco-BINs3

GBA14771-14-A-liouvillei-KJ538232_Morocco-BINs3

GBA14766-14-A-liouvillei-KJ538198_Morocco-BINs3

Species 7:

GBA14469-14-A-amoreuxi-KJ538423_Algerie-BINs8
GBA14997-14-A-amoreuxi-KJ538439_Tunisia-BINs8
GBA14998-14-A-amoreuxi-KJ538443_Tunisia-BINs8
GBA14470-14-A-amoreuxi-KJ538427_Algerie-BINs8
GBA14752-14-A-amoreuxi-KJ538436_Morocco-BINs8
GBA14765-14-A-amoreuxi-KJ538450_Morocco-BINs8
GBA14758-14-A-amoreuxi-KJ538433_Morocco-BINs8
GBA14757-14-A-amoreuxi-KJ538447_Morocco-BINs8
GBA14756-14-A-amoreuxi-KJ538429_Morocco-BINs8

Species 8:

GBA14751-14-A-amoreuxi-KJ538279_Morocco-BINs9
GACAC1184-12-A-JN885949_Morocco-BINs2
GBA14750-14-A-amoreuxi-KJ538275_Morocco-BINs9
GACAC1185-12-A-JN885950_Morocco
GACAC1186-12-A-JN885951_Morocco

Species 9:

GBA14740-14-A-amoreuxi-KJ538317_Morocco-BINs11
GBA14739-14-A-amoreuxi-KJ538313_Morocco-BINs11
GBA14727-14-A-amoreuxi-KJ538286_Morocco-BINs11
GBA14741-14-A-amoreuxi-KJ538309_Morocco-BINs11
GACO2547-19-A-amoreuxi-KJ538294_Morocco
GBA14733-14-A-amoreuxi-KJ538305_Morocco-BINs11
GBA14732-14-A-amoreuxi-KJ538297_Morocco-BINs11
GBA14731-14-A-amoreuxi-KJ538290_Morocco-BINs11
GBA14738-14-A-amoreuxi-KJ538301_Morocco-BINs11
GBA14726-14-A-amoreuxi-KJ538282_Morocco-BINs11

Species 10:

GBA16581-14-A-bicolor-KJ538333_Egypt-BINs14
GBA16580-14-A-bicolor-KF548120_Egypt-BINs14
GBA14995-14-A-bicolor-KJ538329_Tunisia-BINs12
GBA14996-14-A-bicolor-KJ538325_Tunisia-BINs12
GBA14480-14-A-bicolor-KJ538320_Algerie-BINs13
7_Lioua_A-_aeneas

Species 11:

GBA14763-14-A-mauritanicus-KJ538265_Morocco-BINs1
GBCH6935-13-A-mauritanicus-JF820097_Morocco-BINs1
GBA14762-14-A-mauritanicus-KJ538262_Morocco-BINs1
GBA17338-14-A-mauritanicus-KJ538270_Morocco-BINs1
GBA14755-14-A-mauritanicus-KJ538255_Morocco-BINs1
GBA14759-14-A-mauritanicus-KJ538258_Morocco-BINs1
GACO2546-19-A-mauritanicus-KF825025_Morocco-BINs1

Species 12:

GBMNE26175-21-A-amoreuxi-MW555666_Palestine-BINs23

Species 13:

GBA16571-14-A-amoreuxi-KJ538478_Egypt-BINs10
GBA16573-14-A-amoreuxi-KJ538483_Egypt-BINs11
GBA16572-14-A-amoreuxi-KJ538480_Egypt-BINs11
GBA16576-14-A-amoreuxi-KJ538492_Egypt-BINs10

GBA16575-14-A-amoreuxi-KJ538489_Egypt-BINs10
GBMNC71235-20-A-amoreuxi-MT629926_Iraq-BINs10
GBA16574-14-A-amoreuxi-KJ538486_Egypt-BINs10

Species 14:

GBA16579-14-A-australis-KJ538474_Egypt-BINs19
GBA16577-14-A-australis-KJ538452_Egypt-BINs19
GBMNA9232-19-A-australis-AF370829_USA-BINs19
GACO5419-19-A-australis-MN078204_United_States-BINs19
GBA14617-14-A-australis-KJ538460_Egypt-BINs19
GBA14619-14-A-australis-KJ538466_Egypt-BINs19
GBA14618-14-A-australis-KJ538462_Egypt-BINs19
GBA14621-14-A-australis-KJ538458_Egypt-BINs19
GBA14620-14-A-australis-KJ538455_Egypt-BINs19
GBA16578-14-A-australis-KJ538470_Egypt-BINs19

Species 15:

GBA14991-14-A-australis-KJ538168_Tunisia-BINs6
GBA14987-14-A-australis-KJ538155_Tunisia-BINs6
GBA14986-14-A-australis-KJ538152_Tunisia-BINs6
GBA14988-14-A-australis-KJ538157_Tunisia-BINs6
GBA14990-14-A-australis-KJ538165_Tunisia-BINs6
GBA14989-14-A-australis-KJ538162_Tunisia-BINs6
GBA14982-14-A-australis-KJ538171_Tunisia-BINs6
GBA14992-14-A-australis-KJ538180_Tunisia-BINs6
GBA14993-14-A-australis-KJ538184_Tunisia-BINs6
GBA14994-14-A-australis-KJ538187_Tunisia-BINs6
GBA14984-14-A-australis-KJ538177_Tunisia-BINs6
GBA14983-14-A-australis-KJ538174_Tunisia-BINs6

Species 16:

GBA14472-14-A-australis-KJ538342_Algerie-BINs7
GBA14475-14-A-australis-KJ538350_Algerie-BINs7
GBA14474-14-A-australis-KJ538347_Algerie-BINs7
GBA14476-14-A-australis-KJ538353_Algerie-BINs7
GBA14471-14-A-australis-KJ538339_Algerie-BINs7
GBA14477-14-A-australis-KJ538356_Algerie-BINs7
GBA14473-14-A-australis-KJ538344_Algerie-BINs7

Species 17:

GBA15006-14-A-australis-KJ538397_Tunisia-BINs18
GBA15002-14-A-australis-KJ538411_Tunisia-BINs18
GBA14478-14-A-australis-KJ538386_Algerie-BINs18
GBA14479-14-A-australis-KJ538389_Algerie-BINs18
GBA14481-14-A-australis-KJ538391_Algerie-BINs18
GBA15003-14-A-australis-KJ538414_Tunisia-BINs18
GBA15008-14-A-australis-KJ538403_Tunisia-BINs18
GBA15007-14-A-australis-KJ538400_Tunisia-BINs18
9_Lioua_A-australis
12_Oulladja_A-australis
11_Oulladja_A-australis
10_Oulladja_A-australis
GBA15001-14-A-australis-KJ538408_Tunisia-BINs18
6_Khanchela_A-australis
GBA15000-14-A-australis-KJ538405_Tunisia-BINs18
GBA14999-14-A-australis-KF548114_Tunisia-BINs18
GACO2545-19-A-australis-KF825024_Morocco

Annexes

GBA15005-14-A-australis-KJ538420_Tunisia-BINs18

GBA15004-14-A-australis-KJ538417_Tunisia-BINs18

Annexes

Annexe 4. Données sur les séquences du genre *Buthus* incorporées dans la construction de l'arbre bayésien. * = Non inclus dans l'étude de Klessner *et al.* (2021).

| GenBank/BOLD-ID | Pays | Site | Nouvelles | mOTU (Klasser <i>et al.</i> , 2021) | mOTU par mPTP |
|-----------------|----------|-----------------------|-----------|-------------------------------------|---------------|
| DQ127507 | Outgroup | - | | Out1 | Out1 |
| KF997876 | Outgroup | - | | Out3 | Out3 |
| JF700145 | Outgroup | - | | Out4 | Out4 |
| Alg 1 | Algérie | Aïn Beïda | * | | 21 |
| Alg 5 | Algérie | Laksar | * | | 21 |
| Alg 2 | Algérie | Laksar | * | | 4 |
| Alg 3 | Algérie | Laksar | * | | 4 |
| Alg 4 | Algérie | Aïn Beïda | * | | 4 |
| Alg 20 | Algérie | Laksar | * | | 4 |
| Alg 15 | Algérie | TKF3 | * | | 20 |
| Alg 16 | Algérie | Lakser | * | | 3 |
| Alg 17 | Algérie | Ain beïda | * | | 17 |
| Alg 19 | Algérie | Laksar | * | | 22 |
| Alg 21 | Algérie | Tébessa | * | | 19 |
| Alg 22 | Algérie | Khanchela | * | | 16 |
| Alg 23 | Algérie | Oud Souf | * | | 16 |
| AJ506916 | Tunisie | Touzour | * | | 18 |
| KF824988 | Algérie | Chélia | * | | 18 |
| JQ775953 | Algérie | Tell Atlas | * | | 25 |
| KF824989 | Algérie | Ksar Chellala | * | | 2 |
| KF824990 | Algérie | Rechaïga | * | | 1 |
| KF824991 | Algérie | Parc National Belezma | * | | 13 |
| MT955916 | Algérie | Ghassira | | Sc_1 | 4 |
| JQ775955 | Algérie | | | Sc_1 | 2 |
| MT955957 | Algérie | Ghassira | | Sc_20 | 5 |
| JQ775958 | Algérie | | | Sc_10 | 15 |
| MT955935 | Tunisie | Ain Draham | | Sc_11 | 17 |
| MT955936 | Tunisie | Ain Draham | | Sc_11 | 17 |
| MT955934 | Tunisie | Ain Draham | | Sc_11 | 17 |
| JQ775954 | Algérie | | | Sc_12 | 25 |
| JQ775959 | Algérie | | | Sc_13 | 25 |
| JN831971 | Maroc | Et Tnine | | Sc_14 | 31 |
| JN831972 | Maroc | Et Tnine | | Sc_14 | 31 |

Annexes

| | | | | | |
|----------|---------|---------------------|--|-------|----|
| JN831973 | Maroc | Et Tnine | | Sc_14 | 31 |
| JN831982 | Maroc | Close to Tighermi | | Sc_14 | 31 |
| JN831983 | Maroc | Close to Tighermi | | Sc_14 | 31 |
| JN831984 | Maroc | Close to Tighermi | | Sc_14 | 31 |
| JN831985 | Maroc | Close to Tighermi | | Sc_14 | 31 |
| JN831986 | Maroc | Close to Izerbi | | Sc_14 | 31 |
| JN831987 | Maroc | Close to Izerbi | | Sc_14 | 31 |
| JN831988 | Maroc | Close to Izerbi | | Sc_14 | 31 |
| JN831989 | Maroc | Close to Onafka | | Sc_14 | 31 |
| JN831990 | Maroc | Close to Onafka | | Sc_14 | 31 |
| JN831991 | Maroc | Close to Onafka | | Sc_14 | 31 |
| JN831992 | Maroc | 46km s south Tiznit | | Sc_14 | 31 |
| JN831993 | Maroc | 46km s south Tiznit | | Sc_14 | 31 |
| JN831994 | Maroc | 46km s south Tiznit | | Sc_14 | 31 |
| MT955938 | Maroc | Agadir | | Sc_14 | 31 |
| MT955937 | Maroc | Agadir | | Sc_14 | 31 |
| MT955939 | Maroc | Agadir | | Sc_14 | 31 |
| MT955942 | Maroc | Et Tnine | | Sc_14 | 31 |
| MT955940 | Maroc | W of Al Hoceima | | Sc_14 | 31 |
| MT955941 | Maroc | W of Al Hoceima | | Sc_14 | 31 |
| MT955946 | Maroc | Agdz | | Sc_15 | 29 |
| MT955947 | Maroc | Agdz | | Sc_15 | 29 |
| MT955948 | Maroc | Agdz | | Sc_15 | 29 |
| MT955943 | Algérie | Hoggar | | Sc_15 | 29 |
| MT955944 | Algérie | Hoggar | | Sc_15 | 29 |
| MT955945 | Algérie | Hoggar | | Sc_15 | 29 |
| JN885904 | Maroc | Ouarzazate | | Sc_15 | 29 |
| JN885905 | Maroc | Ouarzazate | | Sc_15 | 29 |
| JN885914 | Maroc | 10kms SE Ouarzazate | | Sc_15 | 29 |
| JN885915 | Maroc | 20kms SE Ouarzazate | | Sc_15 | 29 |
| JN885916 | Maroc | Ait Sarin | | Sc_15 | 29 |
| JN885917 | Maroc | Ait Sarin | | Sc_15 | 29 |
| JN885918 | Maroc | Rebat | | Sc_15 | 29 |
| JN885919 | Maroc | Rebat | | Sc_15 | 29 |
| JN885956 | Maroc | Agdz | | Sc_15 | 29 |
| JN885957 | Maroc | Agdz | | Sc_15 | 29 |
| JN885900 | Maroc | 10km N Tata | | Sc_15 | 29 |
| JN885901 | Maroc | 10km N Tata | | Sc_15 | 29 |
| MT955949 | | | | Sc_16 | 14 |
| MT955950 | | | | Sc_16 | 14 |
| JN885910 | Maroc | Aid ben Haddou | | Sc_17 | 23 |

Annexes

| | | | | | |
|----------|----------|------------------------------|--|-------|----|
| JN885911 | Maroc | Aid ben Haddou | | Sc_17 | 23 |
| JN885939 | Maroc | Ouarzazate | | Sc_17 | 23 |
| JN885940 | Maroc | Ouarzazate | | Sc_17 | 23 |
| MT955953 | Maroc | Boumalne de Dades | | Sc_18 | 24 |
| MT955952 | Maroc | Boumalne de Dades | | Sc_18 | 24 |
| MT955951 | Maroc | Boumalne de Dades | | Sc_18 | 24 |
| MT955954 | Maroc | Sidi-Flah | | Sc_18 | 24 |
| MT955956 | Maroc | - | | Sc_18 | 24 |
| MT955955 | Maroc | - | | Sc_18 | 24 |
| JN885920 | Maroc | NiKob | | Sc_18 | 24 |
| JN885921 | Maroc | 15kms NE Tazzarine | | Sc_18 | 24 |
| JN885922 | Maroc | 10kms N Alnif | | Sc_18 | 24 |
| JN885923 | Maroc | 20-30kms W. Asselab | | Sc_18 | 24 |
| JN885924 | Maroc | 20-30kms W. Asselab | | Sc_18 | 24 |
| JN885925 | Maroc | Ait-el-Farsi | | Sc_18 | 24 |
| JN885926 | Maroc | Ait-el-Farsi | | Sc_18 | 24 |
| JN885927 | Maroc | 10kms SW Tinerhir | | Sc_18 | 24 |
| JN885928 | Maroc | Juniter, 30kms SW Tinerbi | | Sc_18 | 24 |
| JN885929 | Maroc | Boumalne de Dades | | Sc_18 | 24 |
| JN885930 | Maroc | Boumalne de Dades | | Sc_18 | 24 |
| JN885931 | Maroc | Emsoudar Aitsdrat | | Sc_18 | 24 |
| JN885932 | Maroc | Emsoudar Aitsdrat | | Sc_18 | 24 |
| JN885933 | Maroc | 10kms N El-Kelaa MiGouna | | Sc_18 | 24 |
| JN885934 | Maroc | El Kelas MiGouna | | Sc_18 | 24 |
| JN885935 | Maroc | 25kms E Skoura | | Sc_18 | 24 |
| JN885936 | Maroc | Sidi-Flah | | Sc_18 | 24 |
| JN885937 | Maroc | Sidi-Flah | | Sc_18 | 24 |
| JN885938 | Maroc | Sidi-Flah | | Sc_18 | 24 |
| JN885952 | Algérie | Oulad Driss | | Sc_18 | 24 |
| JN885953 | Algérie | Oulad Driss | | Sc_18 | 24 |
| GQ168521 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168526 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168519 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168520 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168525 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168527 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168528 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168529 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168530 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168531 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |

Annexes

| | | | | | |
|----------|----------|-----------------------|--|-------|----|
| GQ168532 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168533 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168535 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168536 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168537 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168538 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168539 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168534 | Portugal | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168540 | Espagne | - | | Sc_19 | 12 |
| GQ168542 | Espagne | - | | Sc_19 | 12 |
| MT955918 | Maroc | 5 kms S Ksar el Kebir | | SC_2 | 11 |
| MT955917 | Maroc | 5 kms S Ksar el Kebir | | SC_2 | 11 |
| MT955919 | Maroc | 5 kms S Ksar el Kebir | | SC_2 | 11 |
| MT955920 | Maroc | 5 kms S Ksar el Kebir | | SC_2 | 11 |
| GQ168524 | Espagne | - | | Sc_21 | 6 |
| GQ168523 | Espagne | - | | Sc_21 | 6 |
| GQ168522 | Espagne | - | | Sc_22 | 7 |
| MT955963 | Maroc | Close Arba-Taorirt | | Sc_23 | 9 |
| MT955971 | Maroc | Close Arba-Taorirt | | Sc_23 | 9 |
| MT955968 | Maroc | El Hoceima | | Sc_23 | 9 |
| MT955973 | Maroc | El Hoceima | | Sc_23 | 9 |
| MT955970 | Maroc | El Hoceima | | Sc_23 | 9 |
| MT955974 | Maroc | Ait Kamara | | Sc_23 | 9 |
| MT955969 | Maroc | Ait Kamara | | Sc_23 | 9 |
| MT955972 | Maroc | Taonil | | Sc_23 | 9 |
| MT955967 | Maroc | Taonil | | Sc_23 | 9 |
| MT955965 | Maroc | Torres-de-Alcata | | Sc_23 | 9 |
| MT955964 | Maroc | Torres-de-Alcata | | Sc_23 | 9 |
| MT955961 | Maroc | El-Jebha | | Sc_23 | 9 |
| MT955962 | Maroc | El-Jebha | | Sc_23 | 9 |
| MT955966 | Maroc | 25kms W Ketama | | Sc_23 | 9 |
| MT955959 | Maroc | 20 kms to Oued Laou | | Sc_23 | 8 |
| MT955960 | Maroc | 20 kms to Oued Laou | | Sc_23 | 8 |
| MT955958 | Maroc | Cap Mazari | | Sc_23 | 8 |
| MT955984 | Maroc | Draa el Aset | | Sc_24 | 10 |
| MT955983 | Maroc | Brikcha, N Ouazze | | Sc_24 | 10 |
| MT955985 | Maroc | Dchar al Mizzine | | Sc_24 | 10 |
| MT955989 | Maroc | Dchar al Mizzine | | Sc_24 | 10 |
| MT955988 | Maroc | Dchar al Mizzine | | Sc_24 | 10 |
| MT955991 | Maroc | Dchar al Mizzine | | Sc_24 | 10 |
| MT955990 | Maroc | Dchar al Mizzine | | Sc_24 | 10 |

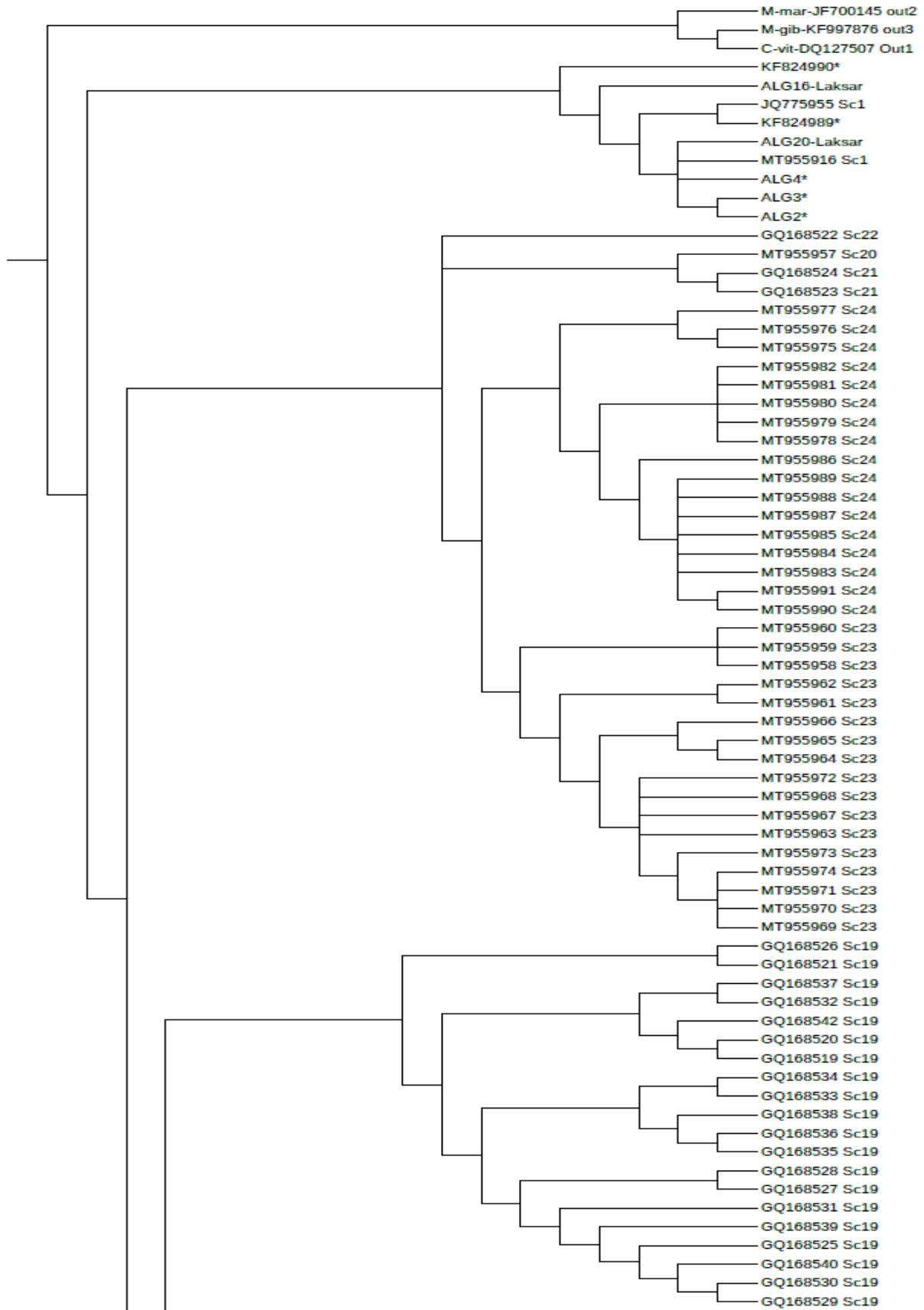
Annexes

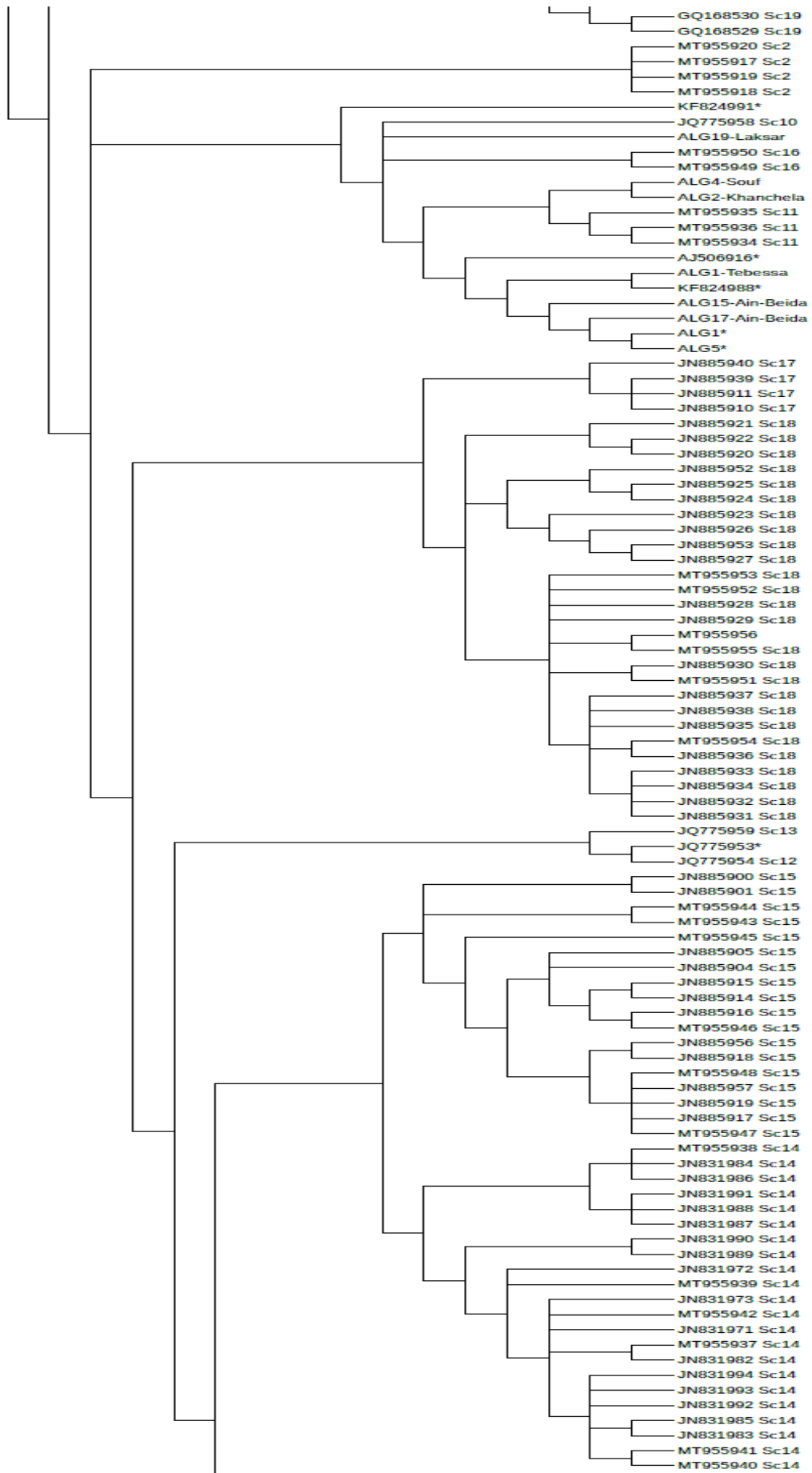
| | | | | | |
|----------|-------|---------------------|--|-------|----|
| MT955986 | Maroc | Ichtal | | Sc_24 | 10 |
| MT955987 | Maroc | Ichtal | | Sc_24 | 10 |
| MT955979 | Maroc | 15 kms S Asilah | | Sc_24 | 10 |
| MT955978 | Maroc | 15 kms S Asilah | | Sc_24 | 10 |
| MT955981 | Maroc | 15 kms S Asilah | | Sc_24 | 10 |
| MT955980 | Maroc | 15 kms S Asilah | | Sc_24 | 10 |
| MT955982 | Maroc | 15 kms S Asilah | | Sc_24 | 10 |
| MT955975 | Maroc | Taza | | Sc_24 | 10 |
| MT955976 | Maroc | Taza | | Sc_24 | 10 |
| MT955977 | Maroc | Taza | | Sc_24 | 10 |
| JN832008 | Maroc | 20kms N Argane | | Sc_3 | 34 |
| JN832009 | Maroc | 20kms N Argane | | Sc_3 | 34 |
| JN832010 | Maroc | 20kms N Argane | | Sc_3 | 34 |
| JN832011 | Maroc | 20kms N Argane | | Sc_3 | 34 |
| JN832012 | Maroc | 5kms S Chichoaua | | Sc_4 | 35 |
| JN832013 | Maroc | 5kms S Chichoaua | | Sc_4 | 35 |
| JN832014 | Maroc | 5kms S Chichoaua | | Sc_4 | 35 |
| JN832015 | Maroc | 5kms S Chichoaua | | Sc_4 | 35 |
| MT955922 | Maroc | 30 kms to Marrakesh | | Sc_5 | 33 |
| MT955923 | Maroc | 30 kms to Marrakesh | | Sc_5 | 33 |
| MT955921 | Maroc | 30 kms to Marrakesh | | Sc_5 | 33 |
| JN885948 | Maroc | - | | Sc_5 | 33 |
| JN831999 | Maroc | 40km E Agadir | | Sc_6 | 32 |
| JN832000 | Maroc | 40km E Agadir | | Sc_6 | 32 |
| JN832001 | Maroc | 40km E Agadir | | Sc_6 | 32 |
| JN832002 | Maroc | 40km E Agadir | | Sc_6 | 32 |
| JN832003 | Maroc | Ameskrouit | | Sc_6 | 32 |
| JN832004 | Maroc | Ameskrouit | | Sc_6 | 32 |
| JN832005 | Maroc | Ameskrouit | | Sc_6 | 32 |
| JN832006 | Maroc | Ameskrouit | | Sc_6 | 32 |
| JN832007 | Maroc | Ameskrouit | | Sc_6 | 32 |
| MT955924 | Maroc | Ait Aissa | | SC_7 | 40 |
| MT955925 | Maroc | Tafraout | | SC_7 | 40 |
| MT955926 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| MT955927 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| JN831974 | Maroc | Tiz-n-Test | | SC_7 | 40 |
| JN831975 | Maroc | Tiz-n-Test | | SC_7 | 40 |
| JN831976 | Maroc | Tiz-n-Test | | SC_7 | 40 |
| JN832016 | Maroc | Ait Aissa | | SC_7 | 40 |
| JN832017 | Maroc | Ait Aissa | | SC_7 | 40 |
| JN832018 | Maroc | Ait Aissa | | SC_7 | 40 |

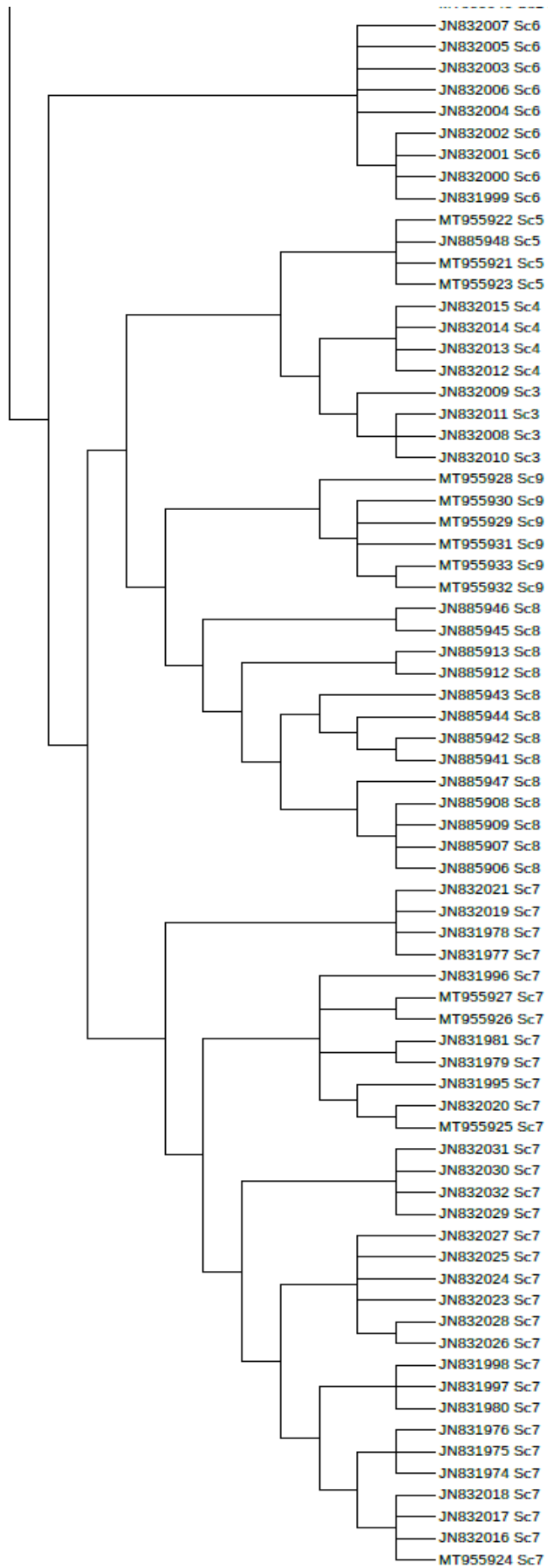
Annexes

| | | | | | |
|----------|-------|--------------------|--|------|----|
| JN832019 | Maroc | Igherm | | SC_7 | 40 |
| JN832020 | Maroc | Igherm | | SC_7 | 40 |
| JN832021 | Maroc | Igherm | | SC_7 | 40 |
| JN831977 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| JN831995 | Maroc | N,,he Ait Saha | | SC_7 | 40 |
| JN831996 | Maroc | N,,he Ait Saha | | SC_7 | 40 |
| JN831997 | Maroc | 30km SW Taliouine | | SC_7 | 40 |
| JN831998 | Maroc | 30km SW Taliouine | | SC_7 | 40 |
| JN832023 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832024 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832025 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832026 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832027 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832028 | Maroc | Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832029 | Maroc | 30kms W Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832030 | Maroc | 30kms W Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832031 | Maroc | 30kms W Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN832032 | Maroc | 30kms W Tassoumate | | SC_7 | 40 |
| JN831978 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| JN831981 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| JN831979 | Maroc | Tassga | | SC_7 | 40 |
| JN831980 | Maroc | 30kms SW Taliouine | | SC_7 | 40 |
| JN885945 | Maroc | 75kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885946 | Maroc | 75kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885906 | Maroc | Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885907 | Maroc | Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885908 | Maroc | Iri | | Sc_8 | 39 |
| JN885909 | Maroc | Iri | | Sc_8 | 39 |
| JN885912 | Maroc | Agouine | | Sc_8 | 39 |
| JN885913 | Maroc | - | | Sc_8 | 39 |
| JN885941 | Maroc | 20kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885942 | Maroc | 20kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885943 | Maroc | 50kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885944 | Maroc | 50kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| JN885947 | Maroc | 75kms W Tazenakht | | Sc_8 | 39 |
| MT955930 | Maroc | Ait Lekak | | Sc_9 | 39 |
| MT955929 | Maroc | Imlil | | Sc_9 | 39 |
| MT955928 | Maroc | Agadir | | Sc_9 | 39 |
| MT955932 | Maroc | Oukaïmeden | | Sc_9 | 39 |
| MT955931 | Maroc | Oukaïmeden | | Sc_9 | 39 |
| MT955933 | Maroc | Oukaïmeden | | Sc_9 | 39 |

Annexe 5. Arbre Bayésienne (BI) avec des clades non collapsés montre la position des séquences des espèces du genre *Buthus* de l'Algérie. L'analyse était basée sur 1 seul locus (COI).







Annexe 7. mOTUs de toutes les séquences du genre *Buthus* (incluant les séquences générées dans cette études) obtenus de la méthode mPTP. Couleure : séquences des *Buthus* de l'Algérie.

Species 1:
KF824990*

Species 2:
KF824989*
JQ775955_Sc1

Species 3:
ALG16-Laksar

Species 4:
ALG20-Laksar
MT955916_Sc1
ALG4*
ALG3*
ALG2*

Species 5:
MT955957_Sc20

Species 6:
GQ168524_Sc21
GQ168523_Sc21

Species 7:
GQ168522_Sc22

Species 8:
MT955958_Sc23
MT955959_Sc23
MT955960_Sc23

Species 9:
MT955961_Sc23
MT955962_Sc23
MT955966_Sc23
MT955965_Sc23
MT955964_Sc23
MT955963_Sc23
MT955973_Sc23
MT955967_Sc23
MT955972_Sc23
MT955968_Sc23
MT955971_Sc23
MT955969_Sc23
MT955974_Sc23
MT955970_Sc23

Species 10:
MT955977_Sc24
MT955975_Sc24
MT955976_Sc24
MT955978_Sc24

MT955981_Sc24
MT955979_Sc24
MT955982_Sc24
MT955980_Sc24
MT955986_Sc24
MT955983_Sc24
MT955987_Sc24
MT955984_Sc24
MT955989_Sc24
MT955988_Sc24
MT955985_Sc24
MT955991_Sc24
MT955990_Sc24

Species 11:
MT955917_Sc2
MT955920_Sc2
MT955919_Sc2
MT955918_Sc2

Species 12:
GQ168526_Sc19
GQ168521_Sc19
GQ168532_Sc19
GQ168537_Sc19
GQ168542_Sc19
GQ168519_Sc19
GQ168520_Sc19
GQ168533_Sc19
GQ168534_Sc19
GQ168538_Sc19
GQ168535_Sc19
GQ168536_Sc19
GQ168527_Sc19
GQ168528_Sc19
GQ168531_Sc19
GQ168539_Sc19
GQ168525_Sc19
GQ168540_Sc19
GQ168529_Sc19
GQ168530_Sc19

Species 13:
KF824991*

Species 14:
MT955949_Sc16
MT955950_Sc16

Species 15:
JQ775958_Sc10

Species 16:
ALG2-Khanchela
ALG4-Souf

Species 17:
MT955935_Sc11
MT955934_Sc11
MT955936_Sc11

Species 18:
AJ506916*

Species 19:
ALG1-Tebessa
KF824988*

Species 20:
ALG15-Ain-Beida

Species 21:
ALG1*
ALG5*

Species 22:
ALG19-Laksar
ALG17-Ain-Beida

Species 23:
JN885940_Sc17
JN885910_Sc17
JN885939_Sc17
JN885911_Sc17

Species 24:
JN885952_Sc18
JN885924_Sc18
JN885925_Sc18
JN885923_Sc18
JN885926_Sc18
JN885953_Sc18
JN885927_Sc18
JN885921_Sc18
JN885922_Sc18
JN885920_Sc18
MT955955_Sc18
MT955956
JN885928_Sc18
MT955953_Sc18
MT955952_Sc18
JN885929_Sc18
MT955951_Sc18
JN885930_Sc18
JN885937_Sc18

Annexes

JN885938_Sc18
MT955954_Sc18
JN885936_Sc18
JN885935_Sc18
JN885933_Sc18
JN885932_Sc18
JN885934_Sc18
JN885931_Sc18

Species 25:

JQ775959_Sc13
JQ775953*
JQ775954_Sc12

Species 26:

JN885901_Sc15

Species 27:

MT955943_Sc15
MT955944_Sc15

Species 28:

JN885900_Sc15

Species 29:

JN885905_Sc15
JN885904_Sc15
JN885915_Sc15
JN885914_Sc15
JN885916_Sc15
MT955946_Sc15
JN885956_Sc15
JN885918_Sc15
MT955947_Sc15
MT955948_Sc15
JN885917_Sc15
JN885957_Sc15
JN885919_Sc15

Species 30:

MT955945_Sc15

Species 31:

JN831972_Sc14
MT955939_Sc14
JN831990_Sc14
JN831989_Sc14
MT955938_Sc14
JN831984_Sc14
JN831986_Sc14
JN831991_Sc14
JN831988_Sc14

JN831987_Sc14
JN831973_Sc14
MT955942_Sc14
JN831971_Sc14
JN831982_Sc14
MT955937_Sc14
MT955940_Sc14
MT955941_Sc14
JN831985_Sc14
JN831983_Sc14
JN831993_Sc14
JN831994_Sc14
JN831992_Sc14

Species 32:

JN832004_Sc6
JN832006_Sc6
JN832005_Sc6
JN832007_Sc6
JN832003_Sc6
JN832001_Sc6
JN832000_Sc6
JN832002_Sc6
JN831999_Sc6

Species 33:

JN885948_Sc5
MT955923_Sc5
MT955921_Sc5
MT955922_Sc5

Species 34:

JN832009_Sc3
JN832010_Sc3
JN832011_Sc3
JN832008_Sc3

Species 35:

JN832014_Sc4
JN832013_Sc4
JN832015_Sc4
JN832012_Sc4

Species 36:

MT955928_Sc9
MT955933_Sc9
MT955932_Sc9
MT955930_Sc9
MT955931_Sc9
MT955929_Sc9

Species 37:

JN885946_Sc8
JN885945_Sc8

Species 38:

JN885912_Sc8
JN885913_Sc8

Species 39:

JN885943_Sc8
JN885944_Sc8
JN885942_Sc8
JN885941_Sc8
JN885947_Sc8
JN885908_Sc8
JN885907_Sc8
JN885909_Sc8
JN885906_Sc8

Species 40:

JN832019_Sc7
JN831978_Sc7
JN832021_Sc7
JN831977_Sc7
JN831996_Sc7
MT955926_Sc7
MT955927_Sc7
JN831981_Sc7
JN831979_Sc7
JN831995_Sc7
MT955925_Sc7
JN832020_Sc7
JN832032_Sc7
JN832029_Sc7
JN832031_Sc7
JN832030_Sc7
JN832028_Sc7
JN832026_Sc7
JN832025_Sc7
JN832024_Sc7
JN832027_Sc7
JN832023_Sc7
JN831998_Sc7
JN831997_Sc7
JN831980_Sc7
JN831974_Sc7
JN831976_Sc7
JN831975_Sc7
JN832018_Sc7
MT955924_Sc7
JN832017_Sc7
JN832016_Sc7

Annexe 8. Les séquences des scorpions du genre *Scorpio* utilisées dans l'analyse Bayésienne.

| GenBank ID | Espèce | Pays | Auteurs |
|------------|--------------------------|-----------|----------------------------|
| MT418028 | <i>H. madraspatensis</i> | Outgroup | Prendini et Loria (2005) |
| MT418056 | <i>H. laevigatus</i> | Outgroup | |
| JN018159 | <i>H. cyaneus</i> | Outgroup | Arabi <i>et al.</i> (2012) |
| ALG1 | <i>S. punicus</i> | Algérie | Nouvelles |
| ALG2 | <i>S. maurus</i> | | |
| ALG3 | <i>S. punicus</i> | | |
| KT188218 | <i>S. kruglovi</i> | Palestine | Talal <i>et al.</i> (2015) |
| KT188314 | | | |
| KT188315 | | | |
| KT188316 | | | |
| KT188317 | | | |
| KT188318 | | | |
| KT188319 | | | |
| KT188220 | <i>S. propinquus</i> | Palestine | |
| KT188221 | | | |
| KT188222 | | | |
| KT188223 | | | |
| KT188224 | | | |
| KT188260 | | | |
| KT188261 | | | |
| KT188262 | | | |
| KT188263 | | | |
| KT188264 | | | |
| KT188265 | | | |
| KT188266 | | | |
| KT188267 | | | |
| KT188268 | | | |
| KT188269 | | | |
| KT188278 | | | |
| KT188279 | | | |
| KT188280 | | | |
| KT188281 | | | |
| KT188282 | | | |
| KT188283 | | | |
| KT188284 | | | |
| KT188298 | <i>S. palmatus</i> | Palestine | |
| KT188306 | | | |
| KT188307 | | | |
| KT188308 | | | |
| KT188309 | | | |
| KT188310 | | | |
| KT188311 | | | |

Annexes

| | | | |
|----------|--|--|--|
| KT188312 | | | |
| KT188313 | | | |
| KT188320 | | | |
| KT188321 | | | |
| KT188322 | | | |
| KT188323 | | | |
| KT188324 | | | |
| KT188325 | | | |
| KT188326 | | | |
| KT188327 | | | |
| KT188328 | | | |
| KT188329 | | | |
| KT188330 | | | |
| KT188331 | | | |
| KT188332 | | | |
| KT188333 | | | |
| KT188334 | | | |
| KT188335 | | | |
| KT188336 | | | |
| KT188337 | | | |
| KT188338 | | | |
| KT188339 | | | |
| KT188340 | | | |
| KT188341 | | | |
| KT188342 | | | |
| KT188343 | | | |
| KT188344 | | | |
| KT188345 | | | |
| KT188346 | | | |
| KT188347 | | | |
| KT188348 | | | |
| KT188349 | | | |
| KT188350 | | | |
| KT188351 | | | |
| KT188352 | | | |
| KT188353 | | | |
| KT188354 | | | |
| KT188355 | | | |
| KT188356 | | | |
| KT188357 | | | |
| KT188358 | | | |
| KT188359 | | | |
| KT188360 | | | |
| KT188361 | | | |
| KT188362 | | | |

Annexes

| | | | |
|----------|--|--|--|
| KT188363 | | | |
| KT188364 | | | |
| KT188365 | | | |
| KT188366 | | | |
| KT188367 | | | |
| KT188368 | | | |
| KT188369 | | | |
| KT188285 | | | |
| KT188286 | | | |
| KT188287 | | | |
| KT188288 | | | |
| KT188289 | | | |
| KT188290 | | | |
| KT188291 | | | |
| KT188292 | | | |
| KT188293 | | | |
| KT188294 | | | |
| KT188295 | | | |
| KT188296 | | | |
| KT188297 | | | |
| KT188298 | | | |
| KT188299 | | | |
| KT188300 | | | |
| KT188301 | | | |
| KT188302 | | | |
| KT188303 | | | |
| KT188304 | | | |
| KT188305 | | | |
| KT188270 | | | |
| KT188271 | | | |
| KT188272 | | | |
| KT188273 | | | |
| KT188274 | | | |
| KT188275 | | | |
| KT188276 | | | |
| KT188277 | | | |
| KT188225 | | | |
| KT188226 | | | |
| KT188227 | | | |
| KT188228 | | | |
| KT188229 | | | |
| KT188230 | | | |
| KT188231 | | | |
| KT188232 | | | |
| KT188233 | | | |

Annexes

| | | | |
|----------|----------------------|--------|-------------------------------|
| KT188234 | | | |
| KT188235 | | | |
| KT188236 | | | |
| KT188237 | | | |
| KT188238 | | | |
| KT188239 | | | |
| KT188240 | | | |
| KT188241 | | | |
| KT188242 | | | |
| KT188243 | | | |
| KT188244 | | | |
| KT188245 | | | |
| KT188246 | | | |
| KT188247 | | | |
| KT188248 | | | |
| KT188249 | | | |
| KT188250 | | | |
| KT188251 | | | |
| KT188252 | | | |
| KT188253 | | | |
| KT188254 | | | |
| KT188255 | | | |
| KT188256 | | | |
| KT188257 | | | |
| KT188258 | | | |
| KT188259 | | | |
| KT188219 | | | |
| KT188215 | | | |
| KT188216 | | | |
| KT188217 | | | |
| KF997866 | | | |
| KF997867 | | | |
| KF997868 | | | |
| KF997869 | | | |
| KF997870 | | | |
| KF997871 | <i>S. maurus</i> | Turque | Koç <i>et al.</i> (2017) |
| KF997872 | | | |
| KF997873 | | | |
| KF997874 | | | |
| KF997875 | | | |
| KF953944 | | | |
| AY156584 | <i>S.m. palmatus</i> | Égypt | Prendini <i>et al.</i> (2003) |
| AY156585 | <i>S.m. fuscus</i> | | |
| FJ198057 | <i>S. m. birulai</i> | Maroc | Frouf <i>et al.</i> (2008) |
| FJ198058 | <i>S. maurus</i> | | |

Annexes

| | | | |
|----------|--------------------------|------|--------------------------------------|
| FJ198059 | <i>S. maurus</i> | | |
| FJ198060 | <i>S.m. fuliginosus</i> | | |
| FJ198061 | <i>S.m. fuliginosus</i> | | |
| FJ198062 | <i>S.m. fuliginosus</i> | | |
| FJ198064 | <i>S. maurus</i> | | |
| FJ198065 | <i>S. m. fuliginosus</i> | | |
| FJ198066 | <i>S. maurus</i> | | |
| JN832022 | <i>S. maurus</i> | | Heuseman <i>et al.</i> (2012) |
| KT188214 | <i>S. fuliginosus</i> | | Talal <i>et al.</i> (2015) |
| MK814930 | <i>S.m. palmatus</i> | Iran | Soltan.Alinejad <i>et al.</i> (2021) |
| MT229841 | <i>S. maurus</i> | Iraq | |

Annexe 9. Arbre Bayésienne (BI montre la position des séquences Algériennes ALG13 et ALG18 de *S. punicus* et ALG14 de *S. maurus*. Cadre rouge: Clade qui groupe les séquences de l'Afrique du Nord. *: Les séquences du genre *Scorpio* générées dans cette étude.

