

En Quête d'*Ophrys*

Je remercie tous les membres de ce forum qui ont eu la gentillesse de consacrer un peu de temps au questionnaire, en particulier Philippe qui m'a fait parvenir les fichiers de deux autres membres, après m'avoir aidé à relancer l'enquête. Cette enquête a bénéficié de la sagacité de pmb, lequel m'a permis d'ajouter plusieurs *Ophrys*, et d'un conseil d'Errol Vella qui pour sa part m'a suggéré de regrouper deux *Ophrys*.

Je n'ai ni corrigé, ni amendé aucun des documents. Seules deux erreurs m'ont été signalées, il s'agit de deux fautes de frappe qui avaient malencontreusement positionné dans une colonne inadéquate les *Ophrys catalaunica* et *elator*. Enfin, je n'ai pas tenu compte des *Ophrys fusca* et *iricolor* ajoutés sur un fichier excel, puisqu'ils ne poussent pas en France. Quelques uns d'entre vous ont omis de cocher une case (cinq en tout), ce qui ne perturbe en rien l'analyse. Un auteur qui se reconnaîtra sans doute, a utilisé une classification toute personnelle, qui lui sert de clef de reconnaissance des *Ophrys* français. Ceci dit, ses données ont été utilisées puisque ses sous-groupes correspondent pour partie aux ensembles proposés au départ, et pour partie constituent de nouveaux sous-ensembles.

Je regrette de ne pas avoir reçu plus de réponses, j'aurais aimé en disposer d'une bonne centaine, ce qui aurait donné plus de force aux conclusions. Qu'importe, ceux qui ont pris le temps de répondre ont permis de faire émerger pas mal de points intéressants. Dans ce qui va suivre, plusieurs types d'éléments : les résultats bruts de l'enquête avec les conclusions que cela implique, des hypothèses relatives aux interrogations induites par les réponses qui ont été faites, enfin j'ai ajouté des données, afin de pouvoir proposer **quelques hypothèses**. Vous ne trouverez donc ici aucune définition de l' « espèce » (comme Darwin je ne me risque pas à ce petit jeu), que je considère comme un concept, une pure abstraction. J'ai préféré opter plus simplement pour l'utilisation de critères permettant de circonscrire ce que pourrait être une espèce.

RESULTATS DE L'ENQUETE

Légende concernant les données brutes recueillies :

- **En noir gras : ensembles proposés au départ**
- En noir : taxons d'*Ophrys* des ensembles proposés au départ
- **En rouge gras : ensembles ajoutés**
- **En rouge : taxons d'*Ophrys* ajoutés aux ensembles de départ ou aux nouveaux ensembles**
- (entre parenthèses 100%) tout le monde a positionné cet *Ophrys* dans cet ensemble
- (tous sauf un) seule une réponse ne positionne pas l'*Ophrys* dans cet ensemble
- (1 ou 2) et (1 ou 2) nombre de fois ou l'*Ophrys* a été positionné dans cet ensemble

Ensemble insectifera

Ophrys aymoninii (100%)

Ophrys insectifera (100%)

Ophrys subinsectifera (100%)

Ophrys neglecta (1)

Ensemble tenthredinifera

Ophrys aprilis (tous sauf un)

Ophrys ficalhoana (100%)

Ophrys neglecta (tous sauf un)

Ophrys tenthredinifera (100%)

Ophrys bombyliflora (1)

Ophrys corsica (1)

Ensemble bombyliflora

Ophrys bombyliflora (tous sauf un)

Ensemble speculum

Ophrys speculum/ciliate (100%)

Ensemble pseudophrys

Ophrys corsica (lutea) (tous sauf un)

Ophrys delforgei (100%)

Ophrys eleonora (tous sauf un)

Ophrys forestieri/lupercalis (100%)

Ophrys funerea/sulcata (100%)

Ophrys lutea (100%)

Ophrys marmorata/bilunulata (100%)

Ophrys peraiole/zonata (100%)

Ophrys vasconica (tous sauf un)

Ophrys annae (1)

Ophrys exaltata (1)

Ophrys philippi (1)

Ophrys vetula (1)

Ensemble apifera

Ophrys apifera (100%)

Ophrys demangei (2)

Ophrys philippi (2)

Ensemble aranifera

Ophrys arachnitiformis

Ophrys araneola/litigiosa (100%)

Ophrys aranifera/sphegodes (100%)

Ophrys argensonensis (100%)

Ophrys aveyronensis

Ophrys bertolonii (aurelia)

Ophrys catalaunica

Ophrys drumana/saratoi
Ophrys exaltata
Ophrys incubacea (100%)
Ophrys ligustica/majellensis/sancti-caesari....
Ophrys magniflora
Ophrys massiliensis (100%)
Ophrys morisii
Ophrys occidentalis
Ophrys panormitana/praecox (tous sauf un)
Ophrys passionis
Ophrys provincialis (100%)
Ophrys splendida
Ophrys virescens
Ophrys des Olonnes
Ophrys précoce du Gâtinais
Ophry argensonensis (1)
Ophrys conradiae (1)
Ophrys demangei (1)
Ophrys druentica (1)
Ophrys elatior (2)
Ophrys philippi (1)
Ophrys santonica (1)

Ensemble fuciflora

Ophrys aegirtica/truncata
Ophrys annae
Ophrys demangei
Ophrys druentica
Ophrys elatior
Ophrys fuciflora
Ophrys gresivaudanica
Ophrys montiliensis
Ophrys montis-aviari
Ophrys pseudoscolopax (50%)
Ophrys souchei
Ophrys aprilina (1)
Ophrys aveyronensis (1)
Ophrys conradiae (1)
Ophrys eleonora (1)
Ophrys incubacea (1)
Ophrys ligustica (1)
Ophrys précoce du Gâtinais (1)
Ophrys santonica (3)
Ophrys vetula (25%)

Ophrys virescens (1)

Ensemble scolopax

Ophrys conradiae

Ophrys corbariensis

Ophrys philippi

Ophrys picta

Ophrys santonica

Ophrys scolopax

Ophrys vetula (75%)

Ophrys aegirtica (1)

Ophrys aveyronensis (1)

Ophrys demangei (1)

Ophrys druentica (1)

Ophrys fuciflora (1)

Ophrys gresivaudanica (3)

Ophrys montis-aviari (1)

Ophrys pseudoscolopax (50%)

Ophrys souchei (1)

Ensembles ajoutés (nouvelles colonnes)

Ensemble bertolonii

Ophrys bertolonii (aurelia) (25%)

Ophrys catalaunica (25%)

Ophrys drumana/saratoi (25%)

Ophrys magniflora (25%)

Ensemble arachnitiformis

Ophrys arachnitiformis (2)

Ophrys exaltata (1)

Ophrys morisii (1)

Ophrys occidentalis (2)

Ophrys des Olonnes (2)

Ophrys panormitana (1)

Ophrys passionis (1)

Ophrys splendida (2)

Ensemble exaltata

Ophrys arachnitiformis (1)

Ophrys exaltata (1)

Ophrys morisii (1)

Ophrys occidentalis (1)

Ophrys des Olonnes (1)

Ophrys panormitana (1)

Ophrys splendida (1)

Ensemble passionis

Ophrys aveyronensis (1)

Ophrys incubacea (1)

Ophrys passionis (1)

Ensemble provincialis

Ophrys argensonensis (1)

Ophrys provincialis (1)

Ensemble pseudoscolopax

Ophrys pseudoscolopax (1)

Ophrys druentica (1)

Dans un premier temps, considérons les principales erreurs, finalement pas très nombreuses, ce qui signifie que globalement la connaissance des *Ophrys* est assez bonne :

- dans un cas, un pseudophrys (*leonorae*) est classé avec les fuciflora, dans un cas un pseudophrys (*corsica*) est positionné avec les tenthredinifera, enfin dans un cas un pseudophrys n'est pas classé. Étonnant.

- à l'inverse, un aranifera (*exaltata*), deux scolopax (*vetula* et *philippi*), un fuciflora (*annae*) sont classés parmi les pseudophrys. Très étonnant.

- un tenthredinifera (*neglecta*) classé avec les insectifera et un (*aprilia*) avec les fuciflora.

- un scolopax (*philippi*) et un fuciflora (*demangei*) classés avec apifera.

- quatre fuciflora (*demangei*, *druentica*, *elator* deux fois) classés avec les aranifera

- trois scolopax (*conradiae*, *santonica*, *philippi*) classés avec les aranifera

Une partie de ces erreurs (par exemple celles concernant les pseudophrys, ou celle relative à *O. neglecta*) auraient pu être évitées en consultant le florilège sur ce site, ou encore l'OFBL2.

Nous reviendrons plus loin, en détail, sur les fuciflora classés avec l'ensemble scolopax ou l'inverse, voire même les cas où ces scolo et fuci ne sont pas classés volontairement. Ces données permettant de s'interroger sur la parenté entre les *Ophrys* des ensembles fuciflora et scolopax.

Pour ce qui concerne le classement par rapport aux ensembles prédéfinis, nous constatons que les données morphologiques assurent avec une quasi certitude le positionnement des *Ophrys* appartenant aux ensembles insectifera, tenthredinifera, bombyliflora, speculum, pseudophrys, apifera, et de quelques aranifera *sensu stricto*, ce qui représente pratiquement la moitié des *Ophrys* analysés. De plus, pour la seconde moitié, une très large majorité (environ 80%) des réponses positionnent correctement ces *Ophrys* dans les ensembles proposés. Nous n'avons donc en fait que 10% des réponses classant certains de nos 59 *Ophrys* de façon inattendue. Ces classements hors des ensembles proposés résident pour partie dans les erreurs de

classement (exemples des pseudophrys mal positionnés ou des *Ophrys* de divers ensembles classés par erreur dans les pseudophrys), et les confusions du fait de convergences de formes plus ou moins fortes. Cependant la plus grande partie des classements hors des ensembles proposés tiennent au fait d'une part que les *Ophrys* des ensembles fuciflora et scolopax sont parfois regroupés, parfois mélangés, parfois intervertis, et d'autre part au fait que certains observateurs proposent de nouveaux ensembles (ou sous-ensembles), à partir d'*Ophrys* le plus souvent considérés comme appartenant à un important ensemble araniforme.

Encore une chose, j'ai pu voir que plusieurs d'entre vous avaient fournis des réponses totalement identiques aux miennes, ça me rassure.

Principe de l'analyse des ensembles

Ce qui va nous intéresser ici, est de tenter de préciser les liens de parenté entre *Ophrys*. A cette fin, et plutôt que de choisir une définition de l'espèce très complexe, voire incomplète ou erronée et donc inutile, ce que les auteurs les plus clairvoyants proposent consiste à utiliser des critères permettant de **mieux circonscrire l'espèce** (Bateman *et al.*, 2010). Cette façon de faire, certes imparfaite, va nous aider d'une part à regrouper ce qui se ressemble le plus (cf résultats de l'enquête), et d'autre part à proposer des solutions potentielles qui ne doivent être considérées que comme des **hypothèses de travail**.

- Le premier critère est traditionnel, c'est la ressemblance morphologique. C'est ce critère qui a été utilisé pour répartir dans les ensembles proposés (et ceux ajoutés) les 59 *Ophrys*. La taxonomie des Orchidées a reposé sur ce seul critère durant trois siècles. Ressemblance assez évidente (mais pas toujours) par exemple entre fuciflora et ses nombreux avatars, ou entre scolopax et ses avatars. Il faut ici prendre aux convergences, par exemple tous les *Ophrys* possédant des gibbosités ne sont pas nécessairement apparentés.

- Le second critère a moins d'un siècle, c'est l'isolement reproducteur qui est à la base du « concept biologique de l'espèce ». L'absence de flux de gènes suffirait pour définir une espèce. Ce critère est à l'origine de l'hypothèse (désormais infirmée) : un pollinisateur / une espèce d'*Ophrys*. De plus, les *Ophrys* s'hybrident entre eux avec bonheur. Ces éléments suffisent pour réduire à très peu de chose l'importance de ce critère, au moins dans le genre *Ophrys*.

- Le troisième critère, récent, est nommé monophylie. Un groupe monophylétique possède le même ancêtre. Vu de cette façon le genre *Ophrys* est clairement monophylétique dans toutes les phylogénies moléculaires existantes. Pour le rang inférieur, l'espèce, un ensemble d'*Ophrys* très proches, monophylétique, constituerait une seule espèce. Ce pourrait être le cas pour les *Ophrys* du complexe *insectifera*, pour *O. tenthredinifera* et ses avatars, pour les *pseudophrys* et leurs avatars, les *fuciflora* et leurs avatars, les *scolopax* et leurs avatars, et pourquoi pas les *aranifera s.l.* et leurs avatars. Nous manquons de données génétiques pour beaucoup de taxons, et de nombreux travaux devront être réalisés pour mieux définir les ensembles monophylétiques, que nous pourrions alors considérer comme des espèces sur la base de ce critère.

- Il est possible de proposer un autre critère, en se basant sur le nombre moyen de différences nucléotidiques entre les séquences ITS (ADN nucléaire). Ce sont ces données qui permettent de réaliser des arbres de relation ou des phylogénies. Prises deux à deux (dans toutes les combinaisons possibles, il y en a 45) les différences entre les *Ophrys insectifera*,

bombyliflora, *tenthredinifera*, *speculum*, *pseudophrys*, *apifera*, *aranifera*, *fuciflora*, *scolopax*, *umblicata*, sont en moyenne de 15,4 nucléotides (sur environ 630) alors que les différences entre avatars dans chacun de ces dix ensembles d'*Ophrys* sont en moyenne de 1,9 (soit 8 fois moins). Notons que les différences entre genres voisins représentés par *Anacamptis morio*, *Ophrys insectifera*, *Neotinea maculata*, *Himantoglossum hircinum*, *Serapias lingua*, sont en moyenne de 100, c'est-à-dire à peine 7 fois plus que les différences entre espèces. Nous avons donc en moyenne 3 différences pour 1000 nucléotides entre avatars, 24 pour 1000 entre espèces et 158 pour 1000 entre genres, pour cette séquence ITS. Bien évidemment, puisqu'il s'agit de moyennes, ce critère n'est pas absolu, malgré le fait qu'il n'y ait pratiquement pas de recouvrement entre les trois niveaux, avec 0 à 5 (avatars), 5 à 26 (espèces) et 89 à 110 (genres) différences.

Les insectifera

Illustrons l'utilisation de ces critères avec les données disponibles actuellement chez les *Ophrys* du petit ensemble insectifera : *O. insectifera*, *O. aymoninii* et *O. subinsectifera* (ce dernier « entré » en France très récemment) :

- pour ce qui est du critère de ressemblance morphologique entre ces trois *Ophrys*, elle saute aux yeux de tous les orchidophiles, et logiquement donc, durant cette enquête, toutes les réponses sans exception ont classé ces trois *Ophrys* dans le même ensemble.
- les pollinisateurs majeurs des *Ophrys insectifera*, *aymoninii*, et *subinsectifera* sont respectivement les guêpes *Argogorytes mystaceus* (et *A. fargei*), l'hyménoptère Argidae *Sterictiphora gastrica*, l'abeille *Andrena combinata*. Malgré ces pollinisateurs majeurs différents, *O. insectifera* s'hybride d'une part avec *O. aymoninii* (*O. x tytecana*) et d'autre part avec *O. subinsectifera*, mais ces deux derniers présents sur des aires différentes ne se croisent pas. Pas d'isolement reproducteur donc, si ce n'est entre *aymoninii* et *subinsectifera*, taxons qui ne sont pas en mesure d'échanger leurs gènes.
- les phylogénies des *Ophrys* de Devey *et al.* (2008) et de Breitkopf *et al.* (2015), les phylogénies des Orchideae de Inda *et al.* (2010, 2012) et celles des Orchidinae de Bateman *et al.* (2003), confirment toutes la monophylie du genre *Ophrys*. Le complexe insectifera est monophylétique sur l'arbre de Devey *et al.* (2008).
- Enfin, les séquences ITS des *Ophrys insectifera* et *bombyliflora* (très proche d'*insectifera* en termes de séquence) montrent de 15 à 18 différences pour 630 nucléotides. Par contre les séquences ITS des *Ophrys insectifera* et *aymoninii* sont totalement identiques, et toutes deux ne diffèrent que par un seul nucléotide de la séquence ITS d'*Ophrys subinsectifera*. Cette donnée conforte la réalité d'un relatif éloignement entre les « espèces » *insectifera* et *bombyliflora*, mais d'une grande proximité entre les trois *Ophrys* de l'ensemble insectifera. Ce critère n'est donc pas en faveur de l'existence de trois espèces. Notons en outre que l'arbre présenté par Breitkopf *et al.* (2015) montre que l'émergence d'*Ophrys aymoninii* est extrêmement récente. Ajoutons à cela les données « ADN chloroplastique » qui suggèrent que les *Ophrys aymoninii* et *subinsectifera* appartiennent à un haplogroupe chloroplastique qui pourrait avoir débuté sa séparation de celui d'*O. insectifera* (Henry, 2015). Au vu de ces données convergentes (ressemblance, monophylie, absence de différences significatives dans les séquences ADN nucléaire) je propose l'hypothèse de travail suivante :

ces trois taxons (*insectifera*, *aymoninii* et *subinsectifera*) apparaissent suffisamment proches pour probablement ne constituer qu'une seule espèce. Cela ne signifie en rien que peut-être dans un an, peut-être dans 10, un moléculiste ne nous montrera pas avec son nouvel outil que, en fait, *aymoninii* et *subinsectifera* sont des variétés ou des formes d'*insectifera*. En postulant l'existence d'une seule espèce pour ces trois taxons, nous avançons, avec de bonnes chances de ne pas nous tromper, comme nous l'aurions fait en affirmant sans aucune base solide : il y a trois espèces ou trois sous-espèces.

- *Ophrys insectifera* L. (1753)
- *Ophrys insectifera* f. *aymoninii*
- *Ophrys insectifera* f. *subinsectifera*

tenthredinifera et bombyliflora

En ce qui concerne l'ensemble *tenthredinifera*, les *Ophrys ficalhoana* et *tenthredinifera* sont classés dans l'ensemble *tenthredinifera* dans toutes les réponses, et les *Ophrys aprilia* et *neglecta* par tous les observateurs sauf un. *Ophrys neglecta* est classé une fois dans l'ensemble *insectifera* (probable erreur de colonne) et *Ophrys aprilia* une fois dans l'ensemble *fuciflora*. A l'inverse *Ophrys corsica* est curieusement classé une fois dans l'ensemble *tenthredinifera*.

Les séquences ITS des *Ophrys tenthredinifera* et *ficalhoana* ne diffèrent que par un seul nucléotide, suggérant une très grande proximité entre ces deux taxons.

Tout le monde a classé séparément les *Ophrys tenthredinifera* et *bombyliflora*, sauf une réponse qui situe *O. bombyliflora* dans l'ensemble *tenthredinifera*. Cependant, si ces deux *Ophrys* possèdent des séquences nucléaires ITS un peu différentes (8 différences sur 630 nucléotides), ils présentent des séquences chloroplastiques significativement divergentes. Les phylogénies de Devey *et al.* (2008) et de Breitkopf *et al.* (2015) placent *O. tenthredinifera* et *O. bombyliflora* sur des branches différentes. Aucune donnée ne permet de démontrer que ces deux *Ophrys* appartiennent à la même espèce.

- *Ophrys tenthredinifera* var ou f. *ficalhoana* J.A.Guim.
- *Ophrys tenthredinifera* Willd.
- *Ophrys bombyliflora* Link

speculum

Toutes les réponses confirment l'*Ophrys speculum* dans l'ensemble *speculum*. Tous les individus d'*Ophrys speculum* présents en France appartiennent au taxon *Ophrys speculum* var. *orientalis*.

les pseudophrys

J'attendais un sans faute pour le classement des *Ophrys*, puisque les membres de cet ensemble varié quoi que remarquablement homogène, diffèrent morphologiquement de tous les autres *Ophrys*. Cependant dans cet ensemble le nombre chromosomique est $2n=36$ chromosomes le plus souvent, mais $2n=72$ pour les trois taxons suivants : *leonorae*, *forestieri* et *vasconica*.

De fait, tous les observateurs situent les *Ophrys delforgei*, *forestieri/lupercalis*, *funerea*, *lutea*, *marmorata*, *peraiole/zonata* dans l'ensemble pseudophrys, et tous sauf un situent les *Ophrys corsica*, *eleonora*, *vasconica* dans cet ensemble pseudophrys. Donc seulement trois erreurs. Par contre quatre erreurs inverses avec des *Ophrys* appartenant aux ensembles aranifera s.l., fuciflora et deux fois scolopax classés parmi les pseudophrys. Ces erreurs n'empêchent pas d'avoir la certitude que l'ensemble pseudophrys est monophylétique quelle que soit la phylogénie (Devey *et al.*, 2008 ; Breitung *et al.*, 2015).

Parmi les pseudophrys, pour les taxons à $2n=72$ (*eleonora*, *funerea* et *vasconica*) nous ne savons pas s'il s'agit d'auto ou d'allo-ployploïdes. La démonstration d'une origine hybride (intraspécifique ?) demandera une difficile confirmation.

apifera

Toutes les réponses confirment l'*Ophrys apifera* dans l'ensemble apifera. Par contre, je ne m'explique pas les deux classements d'*Ophrys philippi* et les deux d'*Ophrys demangei* dans l'ensemble apifera.

aranifera

Seuls les *Ophrys araneola*, *aranifera*, *incubacea*, *massiliensis*, sont classés par tous les observateurs dans un vaste ensemble aranifera, de même que les *Ophrys panormitana* et *argensonensis* par tous les observateurs sauf un. De plus, l'ensemble aranifera proposé est encore élargi par l'ajout des *Ophrys* suivants : une fois *conradiae* (scolo), une fois *demangei* (fuci), une fois *druentica* (fuci), deux fois *elatior* (fuci), une fois *eleonora* (pseudophrys), une fois *philippi* (scolo), une fois *santonica* (scolo).

Il est très intéressant de noter que cet ensemble araniforme, varié et très important en termes d'effectifs, a été fractionné en plusieurs ensembles (ou sous-ensembles), nommés bertolonii, arachnitiformis, exaltata, passionis, provincialis. Une seule réponse sépare aussi les aranifera (*aranifera*, *exaltata*, *Ophrys précoce du Gâtinais*, *ligustica*, *massiliensis*) et les araneola (*araneola*, *virescens*). Pas assez de colonnes comme le suggérait Philippe. Il est donc nécessaire de réfléchir de façon approfondie sur les caractéristiques de tous ces *Ophrys*.

Les bertoloniiformes

Je pense qu'il n'est pas sans intérêt de citer ici quelques uns des travaux antérieurs, qu'ils soient basés sur des études de morphologie ou des analyses moléculaires. La répartition en plusieurs taxons des *Ophrys bertoloniiformes* a été étudiée par le biais d'analyses statistiques de caractères morphologiques (Gölz & Reinhard, 1975, 1979). Si la séparation des deux taxons *O. bertolonii* et *O. bertoloniiformis* ressort clairement, par contre, l'identification d'autres taxons n'a pu être mise en évidence. Plus récemment, les données de micromorphologie et de répartition des trichomes ont été collectées chez six taxons bertoloniiformes : *O. bertolonii*, *O. bertoloniiformis*, *O. benacensis*, *O. aurelia*, *O. drumana*, *O. catalaunica* (Servettaz *et al.*, 1994). Une bonne homogénéité existe entre ces six taxons, avec une variabilité modérée, présente au sein de chaque taxon. La morphologie et la distribution des trichomes, critères souvent utilisés en taxonomie, ne permettent cependant pas de distinguer aucun des taxons, pourtant portés au rang d'espèces comme le signalent

Servettaz *et al.* (1994). Une analyse RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) a été effectuée par Grünanger *et al.* (1998) sur sept populations de l'ensemble *bertolonii s.l.* en comparaison avec les *Ophrys aranifera* et *fuciflora*. Ces populations montrent une variabilité génétique relativement importante. Les auteurs présentent un arbre de relation comportant 90 branches. Seul *O. bertolonii* a pu être identifié comme différent des autres taxons bertoloniiformes testés : *O. aurelia*, *O. bertoloniiformis*, *O. benacensis* qui demeurent indistincts avec cette technique habituellement assez discriminante. Il n'a pas été possible de séparer les populations de Ligurie (attribuées à *O. aurelia*), et celles de trois sites du nord des Appenins et d'Insubria (attribuées à *O. benacensis*). Par contre tous les *Ophrys bertoloniiformes* sont regroupés sur la même branche (monophylie).

Critère de ressemblance morphologique

Il est clair pour tout le monde que les *Ophrys* du groupe bertolonii d'une part se ressemblent beaucoup entre eux (toutes les réponses les classent ensembles), et d'autre part apparaissent bien distincts morphologiquement de tous les autres *Ophrys*. L'œil pourtant exercé des orchidophiles qui ont répondu à ce questionnaire ne leur a pas toujours permis de situer clairement les bertoloniiformes dans un des ensembles préalablement définis. Ces *Ophrys bertoloniiformes* posent problème dans un quart des réponses, avec pour moitié (1/8) pas de classement du tout, et pour moitié (1/8) ils constituent un nouveau groupe.

Cependant, la question doit être posée : s'agit-il vraiment d'un nouvel ensemble (ou sous-ensemble) ? Sur la base de l'analyse de leurs macules (Ring, 2007) il est possible de formuler l'hypothèse d'une macule bertoloniiforme dérivant d'une macule de type araniforme par suppression du segment 1 et forte expression des segments 2 et 3 coalescents (Ring, communication personnelle). Cette hypothèse est confortée par l'observation exceptionnelle d'*Ophrys* araniformes possédant une macule bertoloniiforme (Ring, communication personnelle). Dans cette hypothèse, les macules plus évoluées de type bertoloniiforme, seraient plus récentes que les macules de plan fondamental à trois segments observables chez des *Ophrys* araniformes (Ring, communication personnelle).

Critère d'isolement reproducteur

Les *Ophrys* de l'ensemble bertoloniiforme sont pollinisés par différentes abeilles *Chalicodoma*. D'ailleurs, d'autres *Ophrys* (comme *ferrum-equinum* et *gottfriediana*, ce dernier étant une probable forme du précédent, tous deux de l'ensemble aranifera, et dont les macules ressemblent un peu à celles des bertoloniiformes, et un pseudophrys : *O. atlantica*) ont également des *Chalicodoma* comme pollinisateurs (Paulus, 2007).

Comme dans bien d'autres exemples, ces pollinisateurs principaux que sont les *Chalicodoma*, n'empêchent pas les bertoloniiformes de s'hybrider avec bon nombre d'autres *Ophrys* :

- *aurelia* avec *arachnitiformis*, *aranifera*, *drumana*, *fuciflora*, *gresivaudanica*, *incubacea*, *passionis*, *provincialis*, *pseudoscolopax*, *scolopax*, *splendida*, *vetula*,
- *catalaunica* avec *aranifera*, *ciliata*, *passionis*, *scolopax*,
- *drumana* avec *apifera*, *araneola*, *aurelia*, *fuciflora*, *insectifera*, *provincialis*, *pseudoscolopax*, *scolopax*, *vetula*.
- *magniflora* avec *araneola*, *aranifera*, *incubacea*, *passionis*, *picta*, *scolopax*, *virescens*,

Comme chez la majorité des *Ophrys*, le critère d'isolement reproducteur n'est pas applicable aux *Ophrys bertoloniiformes*,

Critère de monophylie

Nous ne disposons pas de phylogénies moléculaires récentes (séquences nucléotidiques) montrant la monophylie des *Ophrys* de l'ensemble bertoloniiforme, monophylie seulement suggérée par la très grande proximité des séquences ITS. Par contre, les données RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) de Grünanger *et al.* (1998) concernent les taxons bertoloniiformes *O. bertolonii*, *O. bertoloniiformis*, *O. aurelia*, *O. benacensis*, ainsi que les références *O. sphegodes* et *O. fuciflora*. Ces données montrent que les 74 échantillons bertoloniiformes constituent un groupe monophylétique dont l'*Ophrys* le plus proche est *O. sphegodes*. Il sera nécessaire de confirmer cette très probable monophylie.

Distance entre taxons

L'alignement des séquences ITS1-5,8s rRNA-ITS2 (ADN nucléaire) disponibles chez les *Ophrys* bertoloniiformes est significatif de leur très grande proximité. De plus, dans sa thèse, Breitkopf (2012) montre que 5 marqueurs nucléaires sur 6 ne séparent pas *O. aranifera* et *O. bertolonii / aurelia*.

J'ai noté sur la base de la **figure 1**, le nombre de différences nucléotidiques entre la séquence ITS1-5,8s rRNA-ITS2 (ADN nucléaire) des *Ophrys catalaunica*, *insectifera*, *bombyliflora*, *tenthredinifera*, *speculum*, *fusca*, *apifera*, *aranifera*, *fuciflora*, *scolopax* et *umbilicata*, soit 55 comparaisons deux à deux. Nous notons en moyenne 12,7 différences pour environ 630 nucléotides, mais par contre seulement 2 différences entre les séquences d'*O. catalaunica* et d'*O. aranifera*. Si le niveau moyen de différences (12,7) entre les *Ophrys insectifera*, *bombyliflora*, *tenthredinifera*, *speculum*, *fusca*, *apifera*, *aranifera*, *fuciflora*, *scolopax* et *umbilicata* correspond à une différence entre espèces, la différence significativement plus faible (2) entre *catalaunica* et *aranifera* ne paraît pas correspondre à une différence entre espèces, mais reflèterait seulement une différence entre *Ophrys* d'un même ensemble. Ce critère est également un élément en faveur de l'hypothèse d'*Ophrys* bertoloniiformes appartenant au large ensemble aranifera s.l..

Pour les *Ophrys* bertoloniiformes chez lesquels nous disposons des séquences ADN chloroplastique, à savoir *O. catalaunica*, *O. drumana / saratoi* (ainsi que les *Ophrys bertoloniiformis* et *explanata*) nous avons montré qu'ils possèdent l'un des deux haplotypes chloroplastiques de l'ensemble aranifera s.l., il s'agit de l'haplotype présent chez les *Ophrys araneola*, *cornuta*, *exaltata*, *ferrum-equinum*, *garganica*, *gortynia*, *incubacea*, *lunulata*, *mammosa*, *panormitana*, et *reinholdii* (Henry, 2015), haplotype qui ne se rencontre que chez les *Ophrys* araniformes. Cette observation conforte donc l'hypothèse d'*Ophrys* bertoloniiformes appartenant à l'une des deux branches du très large ensemble aranifera. L'ancêtre de ce sous-ensemble araniforme est également l'ancêtre du groupe bertoloniiforme. Nous ne disposons à ce jour d'aucune donnée nous laissant à penser que ces *Ophrys* bertoloniiformes pourraient être d'origine hybride, hypothèse suggérée dès les premières observations de Sarato en 1866 (cité par Barla, 1889), les illustrations de Barla (1889), et la description de Camus (1893), et parfois reprise assez récemment, mais sans aucun argument. Affirmer la très grande originalité du groupe bertoloniiforme est presque superflu, il s'agit probablement d'un sous-ensemble d'*Ophrys* araniformes. Reste cependant à solidifier l'hypothèse qu'il s'agit bien d'une forme d'*Ophrys* de l'ensemble aranifera. Si tel est le cas, les *aurelia*, *catalaunica*, *drumana* et *magniflora* en seront des variétés. D'où l'hypothèse de travail :

- *Ophrys aranifera* var. *bertolonii* f. *catalaunica*
- *Ophrys aranifera* var. *bertolonii* f. *aurelia*
- *Ophrys aranifera* var. *bertolonii* f. *drumana* / *saratoi* (*saratoi* est antérieur à *drumana*)
- *Ophrys aranifera* var. *bertolonii* f. *magniflora*

Aranifera et nouveaux ensembles

Manifestement, sur la base de vos réponses, il est clair que la morphologie ne permet pas un classement de tous les *Ophrys* araniformes proposés dans le même ensemble aranifera au sens large. En effet, des ensembles (ou des sous-ensembles) nouveaux ont été ajoutés par plusieurs d'entre vous. Par contre les phylogénies de Devey *et al.* (2008) et de Breitkopf *et al.* (2015) montrent que l'ensemble aranifera au sens large est monophylétique et regroupe tous les types d'*Ophrys* araniformes (des aranifera *sensu stricto*, des membres de l'ensemble - ou sous-ensemble - bertolonii, et des membres des ensembles (ou sous-ensembles) ajoutés arachnitiformis, exaltata, passionis et provincialis :

- pour Devey *et al.* (2008) sont monophylétiques les *Ophrys araneola*, *aranifera*, *bertolonii*, *catalaunica*, *drumana*, *exaltata*, *incubacea*, *morisii*.
- pour Breitkopf *et al.* (2015) sont monophylétiques les *Ophrys arachnitiformis*, *aranifera*, *bertolonii*, *exaltata*, *morisii*, *panormitana*, *passionis*, *provincialis*.

Les 12 taxons de l'ensemble aranifera (*Ophrys araneola*, *aranifera*, *aveyronensis*, *bertolonii*, *catalaunica*, *drumana*, *exaltata*, *incubacea*, *morisii*, *panormitana*, *passionis*, *splendida*) pour lesquels nous disposons des séquences ITS, montrent en moyenne seulement 2,1 nucléotides différents, alors que les *Ophrys apifera* et *aranifera* diffèrent par 13 nucléotides, suggérant ici également la possibilité que si *apifera* et *aranifera* constituent bien des espèces, les avatars d'aranifera n'en soient pas.

Nous savons par ailleurs que les *Ophrys* araniformes de France se répartissent en deux clades correspondant à deux types d'ADN chloroplastiques :

- d'une part celui des *Ophrys aranifera*, *aveyronensis*, *morisii* et *splendida*
- d'autre part les *Ophrys araneola*, *exaltata*, *incubacea*, *panormitana* ainsi que les *Ophrys bertoloniiformes*.

Pour ce qui concerne les ensembles ajoutés : arachnitiformis / exaltata, passionis et provincialis, avec les *Ophrys arachnitiformis*, *exaltata*, *morisii*, *occidentalis*, *panormitana*, *splendida* appartenant au sous-ensemble arachnitiformis / exaltata, les *Ophrys aveyronensis*, *incubacea* et *passionis* appartenant au sous-ensemble passionis, et les *Ophrys argensonensis* et *provincialis* appartenant au sous-ensemble provincialis (sous-ensemble identifié par Delforge, 2012). J'ai été étonné de voir que L'*Ophrys aveyronensis* n'était pas classé dans les arachnitiformis, pourtant Aymonin et Virot l'avaient affublé de ce nom en 1960.

Ajoutons à cela plusieurs points très importants. « La variabilité génétique détectée avec l'ADN chloroplastique n'est jamais en désaccord avec les ensembles définis par Devey *et al.* (2008) à l'aide de la séquence nucléaire ITS1-5,8s rRNA- ITS2 » (Henry, 2015). Par contre, ces deux haplotypes chloroplastiques ne correspondent pas (ne sont pas superposables) aux sous-ensembles ajoutés arachnitiformis, exaltata et passionis. Ces nouveaux ensembles ne correspondent pas non plus aux petits groupes araniformes définis par Delforge (2012). Ceci suggère que ces sous-ensembles, tels quels, n'aient pas de réalité.

Les fuciflora et les scolopax

Parmi les erreurs notées, les *Ophrys* de l'ensemble aranifera au sens large : *aveyronensis*, *incubacea*, *ligustica*, *Ophrys précoce du Gâtinais*, *virescens*, ont été classés avec les fuciflora. *Ophrys aveyronensis* est également classé une fois avec les scolopax.

Nous avons noté sept fuciflora : *aegirtica* (deux fois), *demangei*, *druentica*, *fuciflora*, *gresivaudanica*, *montis-aviari*, *souchei*, classés avec les scolopax et trois fois l'inverse (*conradiae*, *santonica*, *vetula* classés dans les fuciflora), ainsi que huit cas où scolo et fuci ne sont volontairement pas classés. Ajoutons à cela le fait qu'*Ophrys pseudoscolopax* (noté une fois fucipax) est une fois sur deux classé dans l'ensemble fuciflora, et une fois sur deux dans l'ensemble scolopax. En ce qui concerne *Ophrys vetula* il est, quand à lui classé deux fois sur trois dans les scolopax et une fois sur trois dans les fuciflora.

Tout cela suggère une certaine proximité entre les ensembles fuciflora et scolopax. Cela va jusqu'à regrouper tous les scolopax dans un ensemble fuciflorae, ou encore avec une autre formulation (un tiers des réponses) : y a-t-il lieu de séparer fuciflora et scolopax ? Dans le même ordre d'idées, près d'un quart des réponses indiquent la présence de taxons à cheval ou intermédiaires entre les deux ensembles (*aegirtica*, *vetula*, *pseudoscolopax*). Enfin plusieurs réponses mentionnent des difficultés à classer certains taxons (fuciflora du sud-est par exemple). Ajoutons ici le fait qu'Errol Vela signale que les *Ophrys pseudoscolopax* et *vetula* sont deux dénominations pour le même taxon, décrit au milieu du 19^{ème} siècle au rang d'espèce : *Ophrys vetula* Risso 1844, ou au rang de variété *Ophrys insectifera* var. *pseudoscolopax* Moggridge 1869. Mais suite aux erreurs de plusieurs auteurs, une certaine confusion s'est installée.

Différences fuci/scolo

Au contraire de l'ensemble aranifera découpé en plusieurs entités, une tendance (un tiers des réponses) est de regrouper les ensembles fuciflora et scolopax, et plusieurs observateurs soulignent une grande proximité entre ces ensembles, avec des formes classées intermédiaires. Il semble bien que les ensembles *scolopax* et *fuciflora* soient assez proches, cependant :

- Les données de la phylogénie de Devey *et al.* (2008) séparent l'ensemble fuciflora (support faible) et l'ensemble scolopax (support fort).

- Pour ma part, j'ai confirmé (Henry, 2015) que les groupes scolopax et fuciflora possédaient un ADN chloroplastique identique. Sachant que cet ADN chloroplastique est transmis par le parent maternel, nous pouvons proposer deux types d'hypothèses pour l'origine de ces deux ensembles :

Dans la première, ce qui pourrait séparer les ensembles scolo et fuci serait leur ancêtre paternel, malheureusement il nous manque beaucoup de données ADN pour le montrer clairement. Il est possible de penser que ces parents paternels n'aient pas été très éloignés.

Dans la seconde hypothèse, parent maternel et parent paternel sont différents, mais ce sont les mêmes pour les ensembles fuci et scolo. Nous serions alors en présence d'une descendance d'origine hybride, qui aurait généré d'une part les fuci et de l'autre les scolo.

Une illustration de ce que pourrait être l'origine de ces fuci et scolo est apportée par *Ophrys biscutella*. L'analyse détaillée d'une séquence chloroplastique de ce taxon, permet de montrer une parfaite identité avec les séquences des *Ophrys fuciflora* et *scolopax*, mais avec une courte insertion de quelques nucléotides (gatcaagaa), insertion que nous n'avons pas retrouvé ailleurs. *O. biscutella* est donc plus récent que *fuciflora*, *scolopax*, et tous leurs avatars. Mais

cet *Ophrys* présente aussi la particularité de ne posséder qu'un minuscule appendice, caractéristique propre aux *Ophrys* araniformes. L'*Ophrys biscutella* est donc d'origine hybride avec un ancêtre maternel fuci/scolo, et un ancêtre paternel araniforme. Seules des données moléculaires consistantes nous permettront de déterminer quels pourraient être ces ancêtres. Pas facile, puisque c'est peut-être survenu il y a un peu moins d'un million d'années. Bien évidemment, les *fuciflora* et *scolopax* ont probablement eu un ancêtre paternel autre que celui de *biscutella*, notamment pour leur transmettre un appendice bien plus développé que celui des *Ophrys* araniformes.

Par ailleurs, un petit nombre d'arguments permettent de penser que fuci et scolo diffèrent quelque peu :

- leurs aires de répartition européennes sont clairement différentes : *O. scolopax* est plutôt ouest méditerranéen : Portugal, Espagne, partie sud de la France, nord-ouest de l'Italie, alors que l'*O. fuciflora* présente une aire occidentale plus au nord et plus est-européenne : sud de l'Angleterre, Belgique, Pays-Bas, France, Suisse, Allemagne, Yougoslavie, Autriche, en Europe centrale Tchécoslovaquie, Hongrie, Roumanie.

Il s'avère que les avatars de *fuciflora* et *scolopax* peuvent être des endémiques de certaines régions (Corse et Sardaigne pour *O. annae* et *O. conradiae*, Var pour *O. montis-aviari* et *O. philippi*), ou constituent des îlots morcelés (dans les Alpes pour *O. gresivaudanica*, en France et Espagne pour *O. santonica*), ou présentent des aires réduites (Var pour *O. philippi*, Italie et France à la frontière en bordure méditerranéenne pour *O. vetula*, Corbières pour *O. corbariensis*). Les petits îlots morcelés et les aires réduites suggèrent qu'il pourrait s'agir de mutants survenus dans les populations de *fuciflora* ou de *scolopax*, les endémiques étant plutôt des adaptations locales du taxon originel, survenues par dérive génétique, en l'absence de flux de gènes entre populations. Ainsi, *O. gresivaudanica* présente une floraison tardive comparativement à celle d'*O. fuciflora*, de même *O. santonica* possède une floraison très tardive et *O. corbariensis* tardive comparativement à celle d'*O. scolopax*.

- malgré le fait qu'ils se soient séparés relativement récemment, puis diversifiés plus récemment encore, l'alignement des séquences ITS (630 nucléotides) montre 7 différences entre les *Ophrys fuciflora* et *scolopax*. D'ailleurs ces deux taxons là se reconnaissent bien, ce qui n'est pas le cas pour certains de leurs avatars : ainsi *O. pseudoscolopax* apparaît comme étant une forme intermédiaire au plan morphologique, mais qu'en est-il au plan génétique ?

- Les pollinisateurs observés pour *Ophrys fuciflora* sont les abeilles *Eucera nigrescens*, *E. longicornis*, *E. tuberculata*, *Tetralonia* sp., la guêpe *Gorytes mystaceus*, les Diptères *Microdon latifrons*, *M. mutabilis*, *Volucella bombylans*, *Sarcophaga camaria*, les Coleoptères Scarabaeidae Rutelidae (hanneton) *Phyllopertha horticola*, *Hoplia farinosa*, les fourmis *Leptothorax* sp.. En ce qui concerne les *Ophrys* voisins de *fuciflora*, l'*Ophrys aegirtica* est pollinisé par une *Eucera*, *Ophrys elatior* par *Tetralonia salicariae*, et *Ophrys annae* serait pollinisé par *Osmia bicornis* (= *O. rufa*) (???)

Dans le cas d'*Ophrys scolopax*, la pollinisation est réalisée par les abeilles *Eucera longicornis*, *E. nigrescens*, *E. interrupta*, *E. elongatula*, et l'*Ophrys conradiae* par l'abeille *Anthidium punctatum* (au moins en Italie).

- Un argument indirect en faveur de différences entre les *Ophrys fuciflora* et *scolopax*, est le fait que les hybrides *scolopax* x *araneola* et *fuciflora* x *araneola*, de même que *aranifera* x

scolo et aranifera x fuci, drumana x fuci et drumana x scolo, insectifera x fuci et insectifera x scolo ne paraissent pas tout à fait identiques (à confirmer).

- la période de floraison de *fuciflora* étant avril-juin, *elator* est beaucoup plus tardif (floraison fin juin à septembre). De même pour *scolopax* qui fleurit de mars à fin mai, *santonica* est beaucoup plus tardif (floraison de fin juin à mi-août).

Quoi qu'il en soit, des différences fuci / scolo existent, sans que l'on puisse avec certitude préciser si ces différences sont minimales ou non. Nous manquons de données moléculaires pour aller plus avant. Voilà cependant un bon sujet de discussions pour le futur.

J'ai fait mon possible pour effectuer ce bilan de façon aussi complète et claire que possible. Cette enquête se révèle très intéressante par les interrogations qu'amènent vos réponses (une seule espèce d'insectifera ? les bertoloniiformes constituent-ils un sous-ensemble d'aranifera ou un ensemble voisin ? existe-il des sous-ensembles ou des ensembles araniformes ? quid de la proximité entre *fuciflora* et *scolopax* ? et quels pourraient-être leurs parents ?), bref plus de questions que de réponses, mais c'était un peu le but du jeu. J'ai ajouté à cela de véritables hypothèses de travail, c'est-à-dire des questions concrètes qu'il sera nécessaire de tester.

J'espère que mes commentaires et ces hypothèses seront susceptibles de vous aider. En effet, désormais **la balle est dans votre camp**, j'attends vos remarques, vos critiques, vos améliorations, qui seront les bienvenues. Quels arguments ont été oubliés et que devrions nous faire pour améliorer notre connaissance des *Ophrys* ? et avec quels outils ? Il y a chez les participants à ce forum une masse de connaissances que nous devons regrouper pour faire avancer le très passionnant dossier « *Ophrys* ».

Bibliographie

- Barla JB, 1868 Flore illustrée de Nice et des Alpes Maritimes. Iconographie des Orchidées. 83 pages, 63 planches. Nice.
- Camus EG, 1893a Monographie des orchidées de France. J. Bot. (Paris) 7: 131-140.
- Camus EG, 1893b Monographie des orchidées de France. J. Bot. (Paris) 7: 155-160.
- Delforge P, 2012 Guide des Orchidées de France, de Suisse et du Bénélux. Nouvelle édition revue et augmentée. Delachaux et Niestlé, 304 pp.
- Devey DS, Bateman RM, Fay MF, Hawkins JA, 2008 Friends or relatives ? Phylogenetics and species delimitation in the controversial european Orchid genus *Ophrys*. *Annals of Botany* 101: 385-402
- Gölz P, Reinhard HR, 1975 Biostatistische Untersuchungen über *O. bertoloniiformis*. O & E Danesch. *Bericht der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft* 85: 31-56.
- Gölz P, Reinhard HR, 1979 Biostatistische Untersuchungen über *O. bertoloniiformis* O. 8: E. Danesch, 2. Teil. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 89: 63-79.

- (*Bericht der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft*. Bulletin de la Société Botanique Suisse. Basel, Geneva, Zurich)
- Grünanger P., Caporali E., Marziani G., Menguzzato E., Servettaz O, 1998 Molecular (RAPD) analysis on Italian taxa of the *Ophrys bertolonii* aggregate (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 212:177-184.
- Henry Y, 2015 Autour de l'ADN chloroplastique du genre *Ophrys*. *L'Orchidophile* 206 46 (3): 299-317
- Paulus HF, 2007 Wie Insekten-Männchen von Orchideenblüten getäuscht werden – Bestäubungstricks und Evolution in der mediterranen Ragwurzgattung *Ophrys*. *Denisia* 20, Neue Serie 66: 255-294
- Ring J-P, 2007 Le Spectre maculaire, une autre approche de la taxonomie et de la phylogénèse des *Ophrys*. *Bulletin annuel de la SFO de Poitou-Charentes et Vendée* : 25 – 58
- Servettaz O, Bini Maleci L, Grünanger P, 1994 Labellum micromorphology in the *Ophrys bertolonii* aggregate and some related genera. *Plant Systematics and Evolution* 189: 123-131.

Figure 1. Alignement des séquences nucléotidiques nucléaires (ITS1-5,8s rRNA-ITS2) d'*Ophrys insectifera* (Oi), *Ophrys bombyliflora* (Ob), *Ophrys tenthredinifera* (Ot), *Ophrys speculum* (Osp), *Ophrys fusca* (Of), *Ophrys apifera* (Oap), *Ophrys aranifera* (Oa), *Ophrys fuciflora* (Ofc), *Ophrys scolopax* (Osc), *Ophrys umbilicata* (Ou) et *Ophrys catalaunica* (Oca). Les différences nucléotidiques apparaissent en rouge (parfois surlignées) et les nucléotides absents par un tiret noir.

Oi ccctaca-gagaacgattagacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaaagct-gcatgcactcc
Ob cccacaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaaagtt-gcatgtactcc
Ot cccacaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gcaaaagtt-gcatgcactcc
Osp cccacaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaaagtt-gcatgcactcc
Of cccacaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaaagtt-gcatgcactcc
Oap ccctaca-gagaacacatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaaagct-gcatgcactcc
Oa ccctaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaa-gtt-gcatgcactcc
Oca ccctaca-gagaacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaa-gtt-gcatgcactcc
Ofc ccctaca-gagaactgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaa-gct-gcatgcactcc
Osc ccctaca-gacgacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaa-gct-gcatgcactcc
Ou ccctacataga-aacgatttgacaacttgtgaaactaattcagcagctt-gctaa-gct-gcatgcactcc

Oi cgttacttcatgattgtctacatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Ob cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Ot cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Osp cgttacttcatgattttctagaaggggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Of cgttgcttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Oap tggttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Oa cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggatggagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Oca cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggatggagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Ofc cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Osc cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc
Ou cgttacttcatgattttctagatgggaacatgtcggcggacgagagatcaattcggcgcagctccgcgc

Oi caaggtaaatttacagcaagggcatgctcaaccaatattttcaa-gcgatttgtttgagaagtgggtgt
Ob caaggtaaatttacagcaagggcatgttcagccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtgt
Ot caaggtaaatttacagcaagggcatgttcaaccacattttcaaagcgatttgtttgagaagtgggtgt
Osp caaggtaaatttacagcaagggcatgttcagccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtgt
Of caaggtaaatttacagcaagggcatgttcaaccacattttcaaagcattatttgtttgagaagtgggtgt
Oap caaggtaaatttacagcaagggcatgttcaaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-
Oa caaggtaaatttacagcaagggcatgttctaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-
Oca caaggtaaatttacagcaagggcatgttctaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-
Ofc caaggtaaatttacagcaagggcatgttctaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-
Osc caaggtaaatttacagcaagggcatgttctaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-
Ou caaggtaaatttacagcaagggcatgttctaccacattttcaaagcaatttgtttgagaagtgggtg-

Oi **g**tgctcccaaata**a**ttgtatggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Ob **g**tgctcccaaata**g**ttgtatggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Ot **t**tgctcccaaata**g**ttgtatggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Osp **g**tgctcccaaata**g**ttgtatggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Of **t**tgctcccaaata**g**ttgtatggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Oap **-**tgctcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Oa **-****tac**tcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Oca **-****tac**tcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Ofc **-****tac**tcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Osc **-****tac**tcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc
Ou **-****tac**tcccaaata**g**tt**a**atggctctcggcaatggatactttggctctcgcatcgatgaagagcgcagc

Oi gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Ob gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Ot gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Osp gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Of gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Oap gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Oa gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcaga**-**cccgtgaacat**a**cgagtttttgaacgcaagttgc
Oca gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Ofc gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Osc gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc
Ou gaaatgcgatacgtggtgcgaaattgcagaatcccgtgaacat-cgagtttttgaacgcaagttgc

Oi gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Ob gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Ot gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Osp gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Of gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Oap gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctg**g**agcgtcaagcattaaatcgctccataagacg
Oa gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Oca gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Ofc gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Osc gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg
Ou gcctgaggccagctggccaagggcacgtccgcctgggctcaagcattaaatcgctccataagacg

Oi cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Ob cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Ot cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Osp cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Of cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Oap cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Oa cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Oca cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Ofc cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Osc cccgatgctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag
Ou cccga**g**ctacgagcgttcttattctagga**tg**cgag**tg**tgggcccgctcatgcatcatggtggtggcag

Oi gctgaagagcgggatgattttctcttggcaatatgatcgattaa**g**gggtgggatgaaagccgtagt
Ob gctgaagagcgggatgattttctcttggcaatatgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt
Ot gctgaagagcgggatgattttctcttggcaatatgatcgattaatgggtgggatgaaag**a**cgtagt
Osp gctgaagagcgggatgattttctcttggcaatatgatcga**c**taatgggtgggatgaaagccgtagt
Of gctgaagagcgggatgattttctcttggcaatatgatcgattaatgggtgggatgaaagccatagc
Oap gctgaagagcgggatgattttctcttggc**ca**---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtag**c**
Oa gctgaagagcgggatgattttctcttggcaa---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt
Oca gctgaagagcgggatgattttctcttggcaa---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt
Ofc gctgaagagcgggatgattttctcttggcaa---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt
Osc gctgaagagcgggatgattttctcttggcaa---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt
Ou gctgaagagcgggatgattttctcttggcaa---tgatcgattaatgggtgggatgaaagccgtagt

Oi tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcattt**t**ccag**g**ctaaccaattcaattg
Ob tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccagctaaccaattcaattg
Ot tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccagctaaccaattcaattg
Osp tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccagctaaccaattcaattg
Of tgttctcttcatcat**y**aggttggtatgagaaagccgtgcatttcccagctaaccaattca**w**ttg
Oap tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaag**t**cgtagcatttcccatctaaccaattcaattg
Oa tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccatctaaccaattcaattg
Oca tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccatctaaccaattcaattg
Ofc tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccatctaaccaattcaattg
Osc tgttctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccatctaaccaattcaattg
Ou tattctcttcatcatcaggttggtatgagaaagccgtgcatttcccatctaaccaattcaattg

Oi tctttggacaaaattgacatgcgaccccaatt
Ob tctttggacaaaattgacatgcgaccccaatt
Ot tctttggacaaaattgacatgcgaccccaatt
Osp t**c**ttggacaaaattgacatgcgaccccaatt
Of tctttggacaaaattgacatgcgaccccaatt
Oap tcttt**t**gacaaaattgacat
Oa tctt**ct**gacaaaattgacat
Oca tctt**ct**gacaaaattgacatgcgaccccaaaa
Ofc tctt**ct**gacaaaattgacatgcgaccccaaaa
Osc tctt**ct**gaca**c**attgacatgcgaccccaaaa
Ou tctt**ct**gacaaaattgacatgcgaccccaaaa