

Nereida Xena de Enrech, Joël Mathez & María del Carmen Vidal

## Que peut-on attendre de la technique RAPD dans la recherche des phylogénies? Un essai sur la tribu des *Valerianeae* (*Valerianaceae*)

### Abstract

Xena de Enrech, N., Mathez, J. & Vidal, M. C.: On the reliability of the RAPD technique in the phylogenetic research: an essay on the tribe *Valerianeae* (*Valerianaceae*). – *Bocconea* 13: 473-483. 2001. – ISSN 1120-4060.

The RAPD technique was tested on 18 species of 4 genera of *Valerianeae* in order to perform a comparison with the non-molecular current classification of this tribe of *Valerianaceae*. Molecular results (presence/absence of RAPD bands) were exploited with two phenetic and one cladistic methods. Only the genus *Centranthus* and the section *Porteria* of *Valeriana* were robustly recognised on this base. So it seems not convenient to extend the use of the RAPD technique for phylogeny inference in this tribe.

### Introduction

Au sein de la famille des *Valerianaceae*, la tribu des *Valerianeae* constitue une unité unanimement reconnue sur des bases morphologiques. Jusqu'à une date récente, on a pu la croire biochimiquement caractérisée par des composés iridoïdes du type valépotriate (Stahl & Schild, 1971), de grande valeur pharmaceutique, qui viennent en fait d'être retrouvés dans l'ensemble des genres de la famille (Backlund & Moritz 1998).

Bien représentée dans le Bassin Méditerranéen (espèces des genres *Centranthus*, *Fedia*, *Valeriana* et *Valerianella*) et sur le continent américain (*Plectritis*, *Valeriana* s. l. et *Valerianella*), cette tribu pose à différents niveaux d'intéressants problèmes taxinomiques et biogéographiques qui nous ont incités à approfondir la connaissance de sa phylogénie. L'extraordinaire diversité morphologique de ses espèces sud-américaines justifierait à elle seule une telle étude. Les différents genres ont été distingués à l'aide de caractères tels que le nombre d'étamines, le nombre de loges stériles de l'ovaire complètement développées, ou encore la présence ou l'absence de pappus au sommet des fruits. Assez récemment, un nouveau caractère morphologique important a été mis en évidence au sein des *Valerianinae*: les anthères de certaines espèces sud-américaines possèdent des microsporangies (sacs polliniques) dont le nombre est réduit à deux, au lieu de quatre habituellement. Cette observation conduit à remettre en question le découpage de la tribu en genres. C'est ainsi qu'Eriksen (1989) propose d'incorporer au genre *Valeriana* tout un ensemble d'espèces sud-américaines préalablement attribuées aux genres *Astrephia*, *Aretiastrum*,

*Belonanthus*, *Phuodendron*, *Phyllactis* et *Stangea*. Dans cette hypothèse, au sein du gros genre *Valeriana*, les sous-genres *Valeriana* et *Phyllactis* doivent-ils être distingués en fonction de la présence/absence de pappus sur le fruit (Borsini 1944), ou de la nature tétra- ou bisporangée de leurs anthères (Eriksen 1989)? Par ailleurs, quelles sont les relations de parenté réelles entre les espèces eurasiatiques et américaines de *Valeriana* ou de *Valerianella*, entre les genres *Fedia* ou *Centranthus* et les autres?

L'analyse directe du génome ouvre de nouvelles perspectives à l'étude de la phylogénèse des groupes végétaux. La technique du *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD; Williams & al. 1990) est très efficace pour l'étude du polymorphisme génétique intrapopulationnel (Bonnin & al. 1996) et les recherches de parenté à l'occasion d'hybridations (Skroch & al. 1992). Elle a bien entendu également été appliquée à la résolution de problèmes taxinomiques: Díaz Lifante & al. (1996) l'ont par exemple utilisée pour rechercher les liens de parenté entre espèces d'*Asphodelus* de la section *Verinea*, exploitant leurs résultats à l'aide de méthodes phénétiques. Van Buren & al. (1994) ont pour leur part évalué les relations entre espèces du groupe *Ranunculus acriformis* à l'aide de méthodes phénétiques et de parcimonie: leurs résultats les conduisent à élever au rang d'espèce la var. *aestivalis*. En dehors de ces deux exemples, nous n'avons trouvé aucune référence de travaux exploitant la technique RAPD pour résoudre des problèmes taxinomiques à des rangs suprascifiques. Il est vrai que Backeljau & al. (1995) ont récemment démontré de façon convaincante l'existence de nombreux obstacles théoriques à l'application des méthodes de parcimonie aux résultats obtenus par la technique du RAPD. Ces auteurs mettent explicitement en garde contre toute tentative de ce type mettant en jeu plusieurs espèces (ce qui condamne de fait toute recherche de phylogénie!), jusqu'à ce que soit mieux connue la nature des polymorphismes RAPD. De fait, les quelques références qu'ils citent ne concernent que des problèmes taxinomiques intraspécifiques.

Outre son faible coût, la technique RAPD présente cependant l'avantage de ne pas requérir de composés radioactifs et d'utiliser des amorces universelles. Un objectif de nos travaux sur les *Valerianeae* était donc d'évaluer son efficacité dans la recherche des phylogénies par comparaison avec les autres techniques, dont le séquençage d'ADN. Ces derniers résultats n'étant pas encore disponibles en totalité, cette note ne rend compte que des informations obtenues par la technique RAPD sur un échantillon limité d'espèces de divers genres de *Valerianeae*. A supposer que cette technique nous fournisse un nombre suffisant de bandes informatives, permet-elle par exemple de caractériser les taxons les plus incontestablement monophylétiques de notre groupe? Dans l'affirmative, suggère-t-elle entre eux des liens de parenté crédibles qu'il conviendrait de mettre à l'épreuve par d'autres procédés? Permet-elle d'envisager de même d'autres regroupements d'espèces en ensembles dont il conviendrait alors de vérifier le monophylétisme? En bref, les techniques du RAPD sont-elles susceptibles de servir d'outil de dégrossissage pratique et peu coûteux dans les recherches de phylogénies?

## Matériel et méthodes

L'échantillon réuni pour cette étude comporte 18 espèces de *Valerianeae* (Liste en légende de la Fig. 1; position systématique et origine géographique du matériel, voir Tableau 1). Il n'est pas totalement représentatif de la tribu dans la mesure où il lui manque

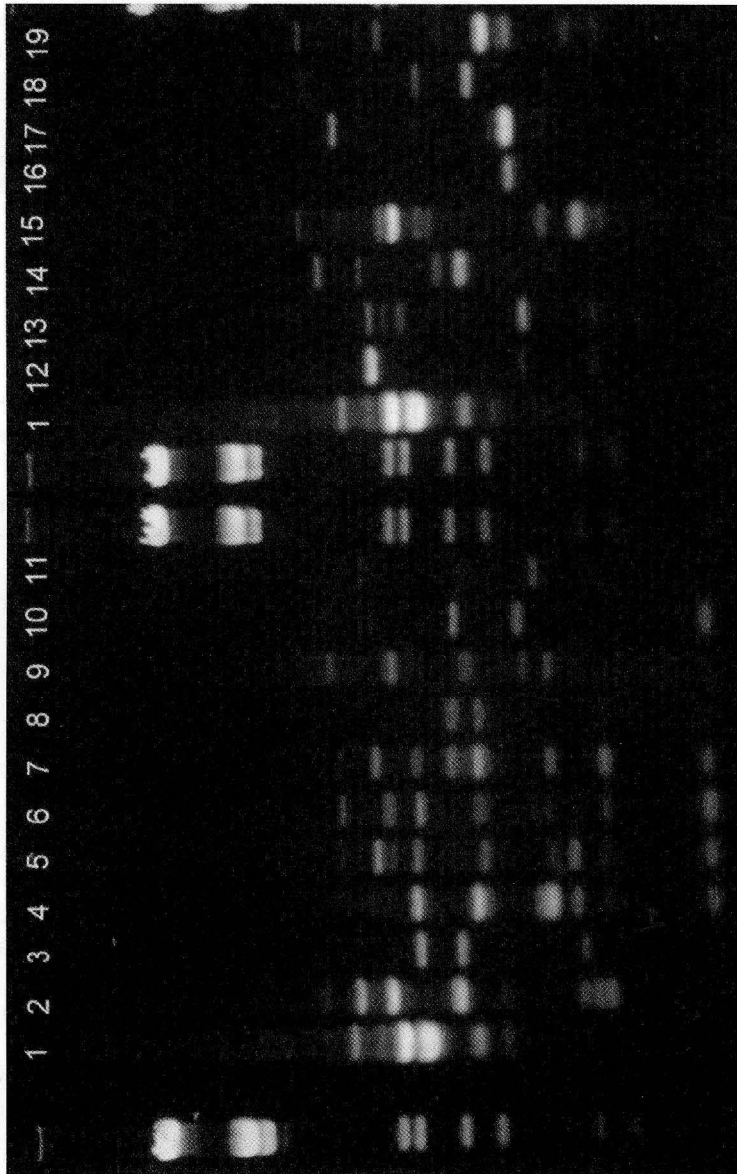


Fig. 1 –Fragments RAPD obtenus à l'aide de l'amorce OPA-06 sur les 19 espèces: 1, *Dipsacus fullo-*  
*num* L.; 2, *Valeriana officinalis* L. subsp. *collina* (Wallr.) Nyman; 3, *Valeriana tripteris* L.; 4,  
*Valeriana phyllicoides* (Turcz.) Briq.; 5, *Valeriana parviflora* (Trevir.) Hoeck.; 6, *Valeriana rosaliana*  
Meyer; 7, *Valeriana bractescens* (Hook.) Hoeck; 8, *Valeriana tachirensis* Xena; 9, *Valeriana laurifo-*  
*lia* Humb., Bonpl. & Kunth; 10, *Valeriana pilosa* Ruiz & Pavón; 11, *Valeriana scandens* L.; 12,  
*Centranthus ruber* (L.) DC.; 13, *Centranthus lecoqii* Jordan; 14, *Centranthus calcitrapae* (L.)  
Dufresne; 15, *Fedia graciliflora* Fisch. & Meyer; 16, *Fedia pallescens* (Maire) Mathez;  
17, *Valerianella locusta* (L.) Laterrade; 18, *Valerianella ramosa* Bast.; 19, *Valerianella eriocarpa* Desv.

Tableau 1. Position systématique et principaux caractères des échantillons étudiés. Abréviations des types biologiques: Ch, chaméphyte; H, hémicryptophyte (Hr, à rosette); Ll, liane ligneuse; Lth, liane annuelle (thérophyte volubile); Nph, nanophanérophyte; Th, thérophyte.

Sous-tribu	Genre	Sous-genre (Eriksen, 1989)	Section (Eriksen, 1989)	Espèces	Caractères non moléculaires				Origine des échantillons
					Pappus	Nombre d'étamines	Type biologique	Nombre de microsporanges par anthère	
Valerianeae	Valeriana		Valeriana	V. officinalis V. tripteris	présent		H		France
			Porteria	V. bractescens V. parviflora V. phylloides V. rosaliana V. tachirensis	absent	3	Ch ou Nph	4	Venezuela
		Phyllactis	?	V. laurifolia	présent		Ll	2	
			Amphophus	V. scandens		Lth			
			?	V. pilosa		Hr			
Centranthinae	Centranthus		C. calcitrapa C. ruber C. lecoqii		1	Th H		France	
Fediinae	Fedia		F. graciliflora F. pallescens		2		4	Rég. médit. Maroc	
	Valerianella		V. locusta V. eriocarpa V. ramosa	absent	3	Th		France	

notamment du matériel du genre *Plectritis* (endémique de la côte ouest des Etats Unis), divers types morphologiques de *Valeriana* sud-américaines et de *Valerianella* nord-américaines. Dans la mesure où il comporte des espèces méditerranéennes des genres *Centranthus*, *Fedia* et *Valerianella* ainsi que des Valérianes vénézuéliennes (Xena de Enrech 1992, 1993) et européennes, tétra- et bisporangiées, avec ou sans pappus, cet assortiment nous a cependant semblé suffisamment diversifié pour une première exploration. Une espèce du genre *Dipsacus* (*Dipsacaceae*) a été incorporée à l'échantillon afin de servir de groupe externe pour enraciner les arbres obtenus.

Les feuilles des 19 espèces ont été collectées (17 dans des populations naturelles, 2 en culture au Jardin des Plantes de Montpellier), desséchées et conservées dans du gel de silice. L'ADN a été isolé grâce à la méthode de Doyle (1991) modifiée. Les 6 amorces utilisées sont de la marque OPERON Technologies, Alameda, CA (OPA-04=AATCGGGCTG - OPA-12=TCGGCGATAG - OPA-17=GACCGCTTGT - OPB-01=GTTTCGCTCC - OPB-05=TGCGCCCTTC - OPB-06=TGCTCTGCCC). Il a été vérifié que leur utilisation conduit à des résultats parfaitement reproductibles. La réaction d'amplification a été faite dans 25µl d'un mélange de réaction contenant: tampon 1x, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 100 µM dNTPs, 0,3 µM d'amorce, 1 unité de Taq ADN polymérase (Life Technologies) et 100 ng d'ADN. Le programme d'amplification utilisé était le suivant: 1er cycle, 5 min. à 94°C, 1 min. à 36°C et 2 min. à 72°C; ensuite, 40 cycles de 1 min. à 94°C, 1 min. à 36°C et 2 min. à 72°C, suivis de 10 min. à 72°C. Les fragments amplifiés ont ensuite été dispersés dans un gel à

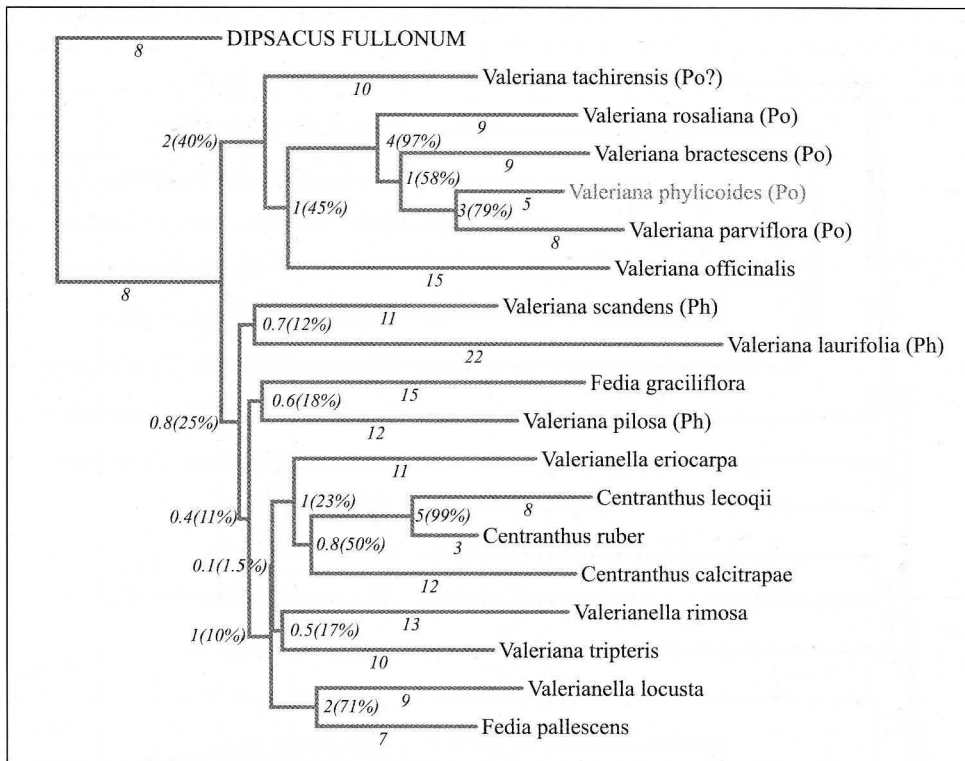


Fig. 2. Phénogramme construit par la méthode du *Neighbor-joining* (NJ) sur les différences entre taxons. Le premier nombre indique la longueur de la branche la plus proche; entre parenthèses, les pourcentages de *bootstrap* concernant le nœud le plus proche (NJBOOT). Po = *Porteria*; Ph = *Phyllactis*.

1,4% d'agarose, dans un tampon 1× TBE et colorés au bromure d'éthidium, afin de les rendre visibles en lumière UV. A titre d'exemple, le résultat de l'utilisation de l'amorce OPB-06 est donné dans la Fig. 1.

La matrice de résultats (présence/absence de chaque bande pour chaque échantillon) a été soumise à différentes méthodes phénétiques et cladistiques.

#### 1. Méthodes phénétiques:

- les données initialement codées en 0/1 (présence/absence d'une bande) ont été recodées en A/C (symboles de 2 nucléotides), afin de les rendre lisibles par le progiciel MUST (Philippe 1993). A partir de la matrice de distances (% de bandes présentes chez une seule des espèces d'une même paire), un phénogramme (Fig. 2) a été construit par la méthode du *Neighbor-joining* (Saitou & Nei, 1987, programme NJ de MUST). La robustesse de ses branches a été testée à l'aide du programme NJBOOT, qui a également fourni un arbre de consensus.
- à l'aide du logiciel Bioméco (version 3.7, 1986; logiciel mis au point par les chercheurs de l'unité de Biométrie, CEPE-CNRS, Route de Mende, B.P. 5051, 34033 Montpellier-



Fig. 3. Exploitation phénétique des données: arbre construit par la méthode de la hiérarchie du moment d'ordre deux appliquée aux 4 premiers facteurs d'une analyse factorielle de correspondances (*Dipsacus fullonum* en élément supplémentaire).

Cedex), réalisation d'une analyse factorielle de correspondances (avec le *Dipsacus* en élément supplémentaire); dans le nuage multidimensionnel représentant les résultats, les distances entre taxons sont utilisées pour établir un classement hiérarchique par agrégation selon la stratégie de maximisation du moment d'ordre deux de la partition. L'étude des valeurs propres des facteurs a permis de sélectionner les plus significatifs des premiers d'entre eux: en l'absence d'une inflexion nette de la courbe de décroissance des valeurs propres, seuls ont été conservés les facteurs dont le pourcentage d'inertie était supérieur ou égal à 1,2 ou 1,3 fois le rapport  $100/(\text{nombre de taxons}-1)$ . Appliquée à nos données, cette méthode a conduit à ne retenir que les quatre premiers

axes de l'AFC pour réaliser le classement. Le phénogramme obtenu est donné dans la Fig. 3.

2. Méthode cladistique de parcimonie: exploitation à l'aide du logiciel PAUP version 3.1. Le groupe externe destiné à enraciner les arbres était toujours *Dipsacus fullonum*. Le nombre de taxons interdisant la recherche des arbres les plus parcimonieux par une méthode exhaustive ou même par l'option "branch and bound", nous avons exploité les données par diverses méthodes:

- les arbres les plus courts obtenus à l'issue de 1000 recherches heuristiques successives avec introduction des taxons dans un ordre aléatoire sont au nombre de quatre (551 pas, indice de cohérence CI = 0.338, indice de rétention RI = 0.371), qui ont donc de fortes chances d'être les plus parcimonieux. Nous en donnons l'arbre de consensus strict (Fig. 4A);
- la technique de pondération successive (*successive weighting*) par le *rescaled consistency index* (RC) appliquée aux résultats précédents a conduit à l'arbre de la Fig. 4B;
- pour évaluer la robustesse des branches de ces arbres, des valeurs de bootstrap ont été calculées de la façon suivante: 100 rééchantillonnages des caractères avec remise ont fourni autant de matrices sur chacune desquelles a été conduite une recherche heuristique comportant 10 répliques successives avec introduction aléatoire des taxons. L'arbre de consensus majoritaire à 50% est donné dans la Fig. 4C.

## Résultats et discussion

Cet essai supposait au préalable l'efficacité de la technique du RAPD à fournir, pour les espèces examinées, un nombre suffisant de bandes informatives.

De fait, à l'aide des 6 amorces utilisées, nous avons obtenu 214 bandes, dont 168 n'existent pas chez *Dipsacus*. Parmi ces 168 bandes, 54 ne se trouvent que chez une seule des 18 espèces de *Valerianeae*. Ce sont donc au total 114 bandes qui sont susceptibles d'apporter des informations sur la phylogénie interne aux *Valerianeae*.

Les résultats ont été confrontés aux données taxinomiques antérieures, établies sur des bases exclusivement non moléculaires. Quelle que soit la méthode d'exploitation, phénétique (Fig. 2 et Fig. 3) ou cladistique (Fig. 4), les résultats montrent une remarquable convergence dans la mise en évidence de deux des taxons supraspécifiques soumis à l'analyse:

1. Le genre *Centranthus* (3 espèces étudiées, dont une annuelle) est identifié de façon indiscutable par les trois méthodes.

2. La monophylie de la section *Porteria* du genre *Valeriana* (5 espèces étudiées) est de même assez bien confirmée, sauf par la méthode du *neighbor-joining*. Les résultats acquis par la technique du RAPD ne s'opposent pas à l'appartenance de *V. tachirensis* à cette section.

En revanche, les différents autres taxons de rang supérieur à l'espèce ne sont pas mis en évidence, qu'il s'agisse des *Valeriana* de la section *Valeriana* et du sous-genre *Phyllactis*, ou des genres *Valerianella* ou *Fedia*. Les différentes espèces de ces groupes que nous avons analysées se dispersent en effet de façons variées dans les arbres obtenus. *Valerianella locusta* et *Fedia pallescens* constituent un groupe robuste, et à un moindre degré et de façon bien plus inattendue *Valeriana pilosa* et *Fedia graciliflora*.

En dépit des mises en garde concernant l'utilisation de la technique du RAPD dans les

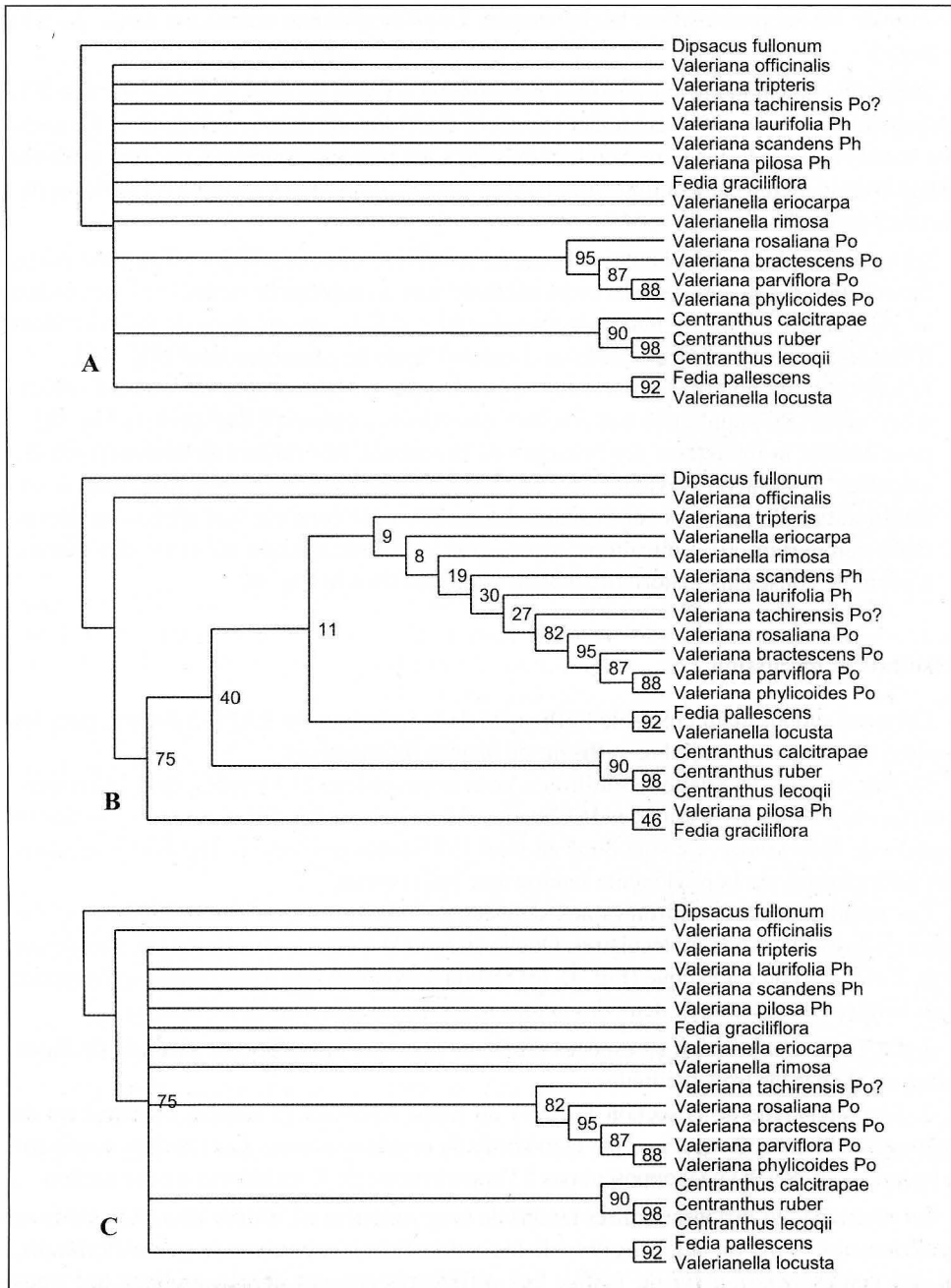


Fig. 4 – A et B: exploitation des 4 arbres les plus parcimonieux obtenus par une recherche heuristique: A, arbre de consensus strict; B, arbre obtenu par pondérations successives sur le CI. C, résultat de l'analyse de *bootstrap* en parcimonie: arbre de consensus majoritaire (associations présentes dans plus de 50% des topologies obtenues). Po = *Porteria*; Ph = *Phyllactis*.



reconstitutions des phylogénies, la robustesse de la confirmation de *Centranthus* et de *Porteria* nous autorise-t-elle à reconsidérer la monophylie des autres taxons de la tribu, voire à proposer de nouvelles hypothèses? Ceci nous semble douteux pour deux raisons au moins.

- Le grand nombre d'espèces et la diversité des genres *Valeriana* et *Valerianella* incitent à ne négliger aucune hypothèse phylétique, aussi surprenante nous semblerait-elle au regard de la taxinomie actuellement en usage: il n'est en effet pas possible de garantir a priori le caractère monophylétique des taxons reconnus. Toutefois, nous ne pouvons adopter une attitude aussi tolérante à l'égard du petit genre *Fedia*, qui ne réunit que trois espèces, et que nous avons étudié de façon approfondie (Mathez 1984, Mathez & Xena de Enrech 1985a, 1985b, Xena de Enrech & Mathez 1990). Tout ce que nous en savons actuellement, en dehors des informations moléculaires apportées ici, plaide pour son caractère monophylétique. Aussi sommes-nous extrêmement surpris de voir les deux espèces analysées se déplacer d'un dendrogramme à l'autre sans jamais s'y trouver réunies, à la différence des *Centranthus*, dont l'homogénéité n'est pourtant pas aussi évidente au plan morphologique. Parmi les 5 bandes RAPD exclusives du genre *Fedia*, nos deux espèces n'en possèdent qu'une seule en commun. Nous avons donc l'intention de vérifier l'analyse sur du matériel végétal nouveau et de lui ajouter *F. cornucopiae*, afin d'écartier toute incertitude sur la qualité des données exploitées.
- En dehors de *Centranthus* et de *Porteria*, les trois méthodes d'exploitation des résultats ne mettent simultanément en évidence aucun groupe au sein de la tribu, qu'il ait ou non déjà été reconnu dans la taxinomie. La lecture des résultats ne semble donc ni imposer, ni même suggérer une hypothèse phylétique nouvelle.

Au total, les résultats de cet essai confirment les réserves de Backeljau & al. (1995) sur l'application de la technique du RAPD à la reconstitution des phylogénies. Rappelons quelques-unes des objections essentielles recensées par ces auteurs. La nature des fragments révélés par cette technique est trop diverse et trop mal connue pour qu'on puisse leur appliquer l'un des modèles évolutifs sur lesquels reposent les méthodes de parsimonie. Les nombreux événements conduisant à l'apparition ou la disparition des bandes révélées suggèrent une multiplication des homoplasies d'autant plus préjudiciable à la reconstitution des phylogénies que les zones concernées du génome peuvent avoir des vitesses d'évolution très différentes. D'autre part, il n'est généralement pas possible de distinguer les homozygotes des hétérozygotes pour un fragment amplifiable donné, que son fragment homologue soit ou non lui-même amplifiable. L'exploitation du phénotype RAPD observé peut ainsi conduire à des arbres totalement erronés, car l'assimilation des fragments amplifiés à des allèles indépendants codés en présence/absence conduit à un modèle invalide: à chaque locus, les allèles ne sauraient être indépendants puisque la somme de leurs fréquences est égale à 1.

En tout état de cause, nos résultats ne nous autorisent certainement pas à formuler des hypothèses nouvelles sur la phylogénie des *Valerianeae*. Il n'en reste pas moins que la capacité de cette technique à reconnaître *Centranthus* et *Porteria* mérite réflexion. C'est probablement le séquençage de fragments appropriés du DNA qui, en nous apportant des informations plus fiables sur les relations de parenté au sein de la tribu, nous dira s'il demeure un espoir raisonnable d'appliquer les techniques du RAPD aux recherches de phylogénies à ce niveau de résolution.

### Remerciements

Ce travail a fait l'objet d'une subvention du CONICIT (Projet n° S1-96000568) et a également bénéficié des moyens du Projet de coopération internationale dans le cadre de l'accord CNRS (5487)-CONICIT (PI136). Cette note constitue la publication n° 99-033 de l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier. Nous remercions tout particulièrement Maurice Roux (Biomathématiques, Université de Saint-Jérôme, Marseille) pour ses conseils aussi avisés qu'amicaux concernant l'exploitation phénétique des résultats.

### Références bibliographiques

- Backeljau, T., Bruyn, L. de, Wolf, H. de, Jordaens, K., Van Dongen, S., Verhagen, R. & Winnepenninckx, 1995: Random applied polymorphic DNA (RAPD) and parsimony methods. — *Cladistics* **11**:119-130
- Backlund, A. & Moritz, T. 1998: Phylogenetic implications of an expanded valepotriate distribution in the *Valerianaceae*. — *Biochem. Syst. Ecol.* **26**:309-335
- Bonnin, Y., Huguët, T., Gherardi, M., Prosperi, J. & Olivieri, I. 1996: High level of polymorphism and spatial structure in a selfing plant species, *Medicago truncatula* (*Leguminosae*), using RAPDs markers. — *Amer. J. Bot.* **83**(7): 843-855.
- Borsini, O. E. 1944: *Valerianaceae*. — Pp. 275-372 in: Descole, Genera et species plantarum argentinarum, **2**. — Buenos Aires.
- Díaz Lifante, Z. & Aguinalalde, I. 1996: The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for the study of taxonomical relationships among species of *Asphodelus* sect. *Verinea* (*Asphodelaceae*). — *Amer. J. Bot.* **83**(7): 949-953.
- Doyle, B. 1991: DNA protocols for plants. NATO ASI Series, Vol. H57: 283-285. *Molecular Techniques in Taxonomy*. — Berlin.
- Eriksen, B. 1989: Notes on generic and infrageneric delimitation in the *Valerianaceae*. — *Nord. J. Bot.* **9**(2): 179-187.
- Mathez, J. 1984: Introduction à une révision du genre *Fedia* Gaertn. emend. Moench. — *Mem. Soc. Brot.* **27**: 125-175.
- Mathez, J. & Xena de Enrech, N. 1985a: Le polymorphisme génétique de la morphologie des fruits du genre *Fedia* Gaertn. (*Valerianaceae*). 1. Détermination du mécanisme de contrôle génétique chez les espèces *F. cornucopiae* L. Gaertn. et *F. graciliflora* Fisch. & Meyer. — *Candollea* **40**: 425-434.
- Mathez, J. & Xena de Enrech, N. 1985b: Heterocarpy, fruit polymorphism and discriminating dissemination in the genus *Fedia* (*Valerianaceae*). — Pp. 431-441 in: Jacquard P., Heim G. & Antonovics J. (ed.), *Genetic differentiation and dispersal in plants*. — Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- Philippe, H. 1993: MUST, a computer package for Management Utilities for Sequences and Trees. — *Nucleic Acids Res.* **21**: 5264-5272. Distribution: <http://bufo.bc4.u-psud.fr/must.html>.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987: The Neighbor-joining Method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. — *Mol. Biol. Evol.* **4**(4): 406-425.
- Skroch, P., Tivang, J. & Nienhuis, J. 1992: Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. — In: *Applications of RAPD technology to plant breeding*. — Joint plant breeding symposia series. Minneapolis, Minnesota.
- Stahl, E. & Schild, W. 1971: Über die Verbreitung der aequilibrierend wirkenden Valepotriate in der Familie der Valerianaceen. — *Phytochemistry* **10**: 147-153.
- Swofford, D. W., 1993: *Phylogenetic Analysis Using Parsimony*, PAUP ver. 3.1.1. — Smithsonian Institution.

- Van Buren, R., Harper, K., Andersen, W., Stanton, D., Seyoum, S. & England, J. 1994: Evaluating the relationships of autumn buttercup (*Ranunculus acriformis* var. *aestivalis*) to some close congeners using random amplified polymorphic DNA — *Amer. J. Bot.* **81(4)**:514-519.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. & Tingey, S. V. 1990: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. — *Nucleic Acids Res.* **18(22)**:6531-6535.
- Xena de Enrech, N. 1992: *Valerianaceae*. — Pp. 217-262 in: Morillo, G. (ed.), *Flora de Venezuela* **5(1)**. — Caracas.
- 1993: Contribución al estudio del género *Valeriana* en Venezuela: distribución geográfica, caracteres morfoanatómicos, cariológicos y palinológicos de interés taxonómico y evolutivo. — *Acta Bot. venezuelica* **16(2-4)**:105-136.
- & Mathez, J. 1990 ("1989"): Révision du genre *Fedia* Gaertn. emend. Moench. (*Valerianaceae*). — *Nat. monspeliensia* **54**: 3-77.

Adresses des auteurs:

Joël Mathez, ISEM, Institut de Botanique, 163 rue Auguste Broussonet 34090 Montpellier (France)

Pr. Nereida Xena de Enrech, María del Carmen Vidal, IBE, Fac. Ciencias, UCV, Apartado Postal 47114, Los Chaguaramos, Caracas1041 (Venezuela)

Que peut-on attendre de la technique RAPD dans la recherche des phylogénies?

Un essai sur la tribu des *Valerianeae*.