



**HAL**  
open science

# Les horloges moléculaires à l'heure de la génomique [Molecular dating in the genomic era]

Emmanuel J.P. Douzery, Frédéric Delsuc, Herve Philippe

► **To cite this version:**

Emmanuel J.P. Douzery, Frédéric Delsuc, Herve Philippe. Les horloges moléculaires à l'heure de la génomique [Molecular dating in the genomic era]. Médecine/Sciences, 2006, 22 (4), pp.374-80. 10.1051/medsci/2006224374 . halsde-00315396

**HAL Id: halsde-00315396**

**<https://hal.science/halsde-00315396>**

Submitted on 28 Aug 2008

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## LES DATATIONS MOLÉCULAIRES À L'HEURE DE LA GÉNOMIQUE

Emmanuel J. P. DOUZERY <sup>(1,\*)</sup>, Frédéric DELSUC <sup>(2)</sup> & Hervé PHILIPPE <sup>(2,\*)</sup>

<sup>(1)</sup> Laboratoire de Paléontologie, Phylogénie & Paléobiologie - CC064  
Institut des Sciences de l'Evolution UMR 5554 / CNRS  
Université Montpellier II; Place E. Bataillon  
34 095 Montpellier Cedex 05 — France.

<sup>(2)</sup> Canadian Institute for Advanced Research. Département de Biochimie, Centre Robert-Cedergren, Université de Montréal, Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C3J7, Canada

<sup>(\*)</sup> Auteurs pour la correspondance : Tel = 33 4 67 14 48 63 / Fax = 33 4 67 14 36 10  
/ e-mail = [douzery@isem.univ-montp2.fr](mailto:douzery@isem.univ-montp2.fr), [herve.philippe@umontreal.ca](mailto:herve.philippe@umontreal.ca)

## CHAPÔ

La comparaison de séquences d'ADN et de protéines chez les espèces vivantes peut nous renseigner sur la chronologie des différents évènements évolutifs qui ont marqué l'histoire de la vie sur terre. En effet, l'hypothèse de l'horloge moléculaire suggère que la vitesse d'accumulation des changements dans les macromolécules biologiques est en moyenne constante sur de longues périodes. Couplée à des calibrations (ou étalonnages) paléontologiques, elle permet donc d'estimer les âges absolus de divergence des espèces. Trois principaux écueils limitent pourtant la fiabilité des datations moléculaires : la considération d'un nombre limité d'espèces et de gènes, l'incorporation de calibrations fossiles isolées et ponctuelles, et surtout, l'existence d'hétérogénéités de taux d'évolution entre lignées. Néanmoins, la méthode des horloges moléculaires relâchées appliquée à de riches échantillonnages tant taxonomiques que génomiques a récemment apporté des solutions convaincantes. Elle suggère par exemple que l'âge débattu de la diversification des Métazoaires Bilatériens puisse se situer entre 642-761 Ma, environ 100 Ma avant l'explosion Cambrienne, et que celui de la diversification des Mammifères Placentaires se situe il y environ 100 Ma, bien avant la limite Crétacé / Tertiaire marquant l'extinction des dinosaures.

## **ABSTRACT**

The comparison of DNA and protein sequences of extant species might be informative for reconstructing the chronology of evolutionary events on Earth. A phylogenetic tree inferred from molecular data directly depicts the evolutionary affinities of species and indirectly allows estimating the age of their origin and diversification. Molecular dating is achieved by assuming the molecular clock hypothesis, i.e., that the rate of change of nucleotide and amino acid sequences is on average constant over geological time. If paleontological calibrations are available, then absolute divergence times of species can be estimated. However, three major difficulties potentially hamper molecular dating: (i) a limited sample of genes and organisms, (ii) a limited number of fossil references, and (iii) pervasive variations of molecular evolutionary rates among genomes and species. To circumvent these problems, different solutions have been recently proposed. Larger data sets are built with more genes and more species sampled through the mining of an increasing number of genomes. Moreover, independent key fossils are identified to calibrate molecular clocks, and the uncertainty on their age is integrated in subsequent analyses. Finally, models of molecular rate variations are constructed, and incorporated in the so-called relaxed molecular clock approaches. As an illustration of these improvements, we mention that the debated age of the animal (bilaterian metazoans) diversification may have occurred between 642-761 million years ago (Mya), roughly 100 Ma before the Cambrian explosion. Among mammals, the initial diversification of major placental groups may have taken place around 100 Mya, well before the Cretaceous / Tertiary boundary marking the extinction of dinosaurs.

## TEXTE

Note : dans cet article, les événements seront comparés par rapport aux temps actuels (et non par rapport à l'origine du globe terrestre), c'est-à-dire qu'un événement ayant eu lieu il y a 65 Ma sera dit jeune ou récent, tandis qu'un événement à 540 Ma sera dit profond ou ancien.

### 1. L'horloge moléculaire : des molécules pour remonter le temps

Il y a tout juste 40 ans, Emile Zuckerkandl et Linus Pauling ont conçu une astucieuse machine à remonter le temps [1]. Ils ont observé que les changements dans les macromolécules biologiques s'accumulaient de manière relativement constante au cours du temps, un phénomène nommé horloge moléculaire. Ils eurent l'idée de convertir le degré de divergence moléculaire entre deux espèces en l'âge de la période géologique à laquelle vivait leur ancêtre commun le plus récent. La datation moléculaire consiste ainsi à coupler un arbre phylogénétique décrivant les relations de parenté entre espèces, reconstruit à partir de séquences d'ADN ou de protéines, avec des points de calibration (ou étalonnages) paléontologiques afin d'estimer des âges absolus de divergence entre organismes.

A partir du gène X, un arbre phylogénétique est inféré, et les longueurs de branche le sont à partir des changements observés dans les séquences. La quantité d'évolution allant de la racine de l'arbre à chacune des espèces actuelles (égale à la somme des longueurs de branche) est variable (Figure 1a). Cependant, de telles variations sont probablement dues à l'aspect stochastique de l'évolution moléculaire. Si ces différences de vitesse ne sont pas statistiquement significatives, l'arbre peut être converti en une phylogénie où tous les taxons terminaux A-F sont équidistants de la racine de l'arbre. Un tel arbre est dit ultramétrique et correspond à une parfaite horloge moléculaire globale. La paléontologie indiquant que les taxons B et C partagent un ancêtre commun âgé de 100 millions d'années (Ma), nous en déduisons que le taux de substitution nucléotidique du gène X est  $R_X = 0,100\% / \text{Ma}$ . Connaissant le degré de divergence génétique des taxons A-F de par la comparaison de leurs séquences (échelle bleue), cette horloge moléculaire globale  $R_X$  permet de déduire les âges de tous les nœuds de l'arbre (échelle rouge, exprimée en Ma).

L'horloge moléculaire a rapidement suscité un vif intérêt, en offrant la possibilité d'estimer les âges d'apparition des espèces appartenant à des groupes pour lesquels aucun renseignement paléontologique n'était disponible, comme c'est le cas par exemple pour la plupart des micro-organismes. Cependant, l'existence d'une horloge moléculaire, c'est-à-dire d'un taux d'évolution apparemment constant à long terme, n'exclut pas la possibilité de fluctuations à court terme autour d'une valeur moyenne. En fait, les horloges en évolution moléculaire se comportent plus de manière stochastique que comme de véritables métronomes.

## **2. Les forces et les faiblesses de l'horloge moléculaire.**

Depuis sa formulation, le concept d'horloge moléculaire a été largement appliqué. Dès les années 1960, Sarich et Wilson [2] suggérèrent que l'homme s'est séparé de ses plus proches parents, le chimpanzé et le gorille, il y a environ 5 Ma, alors que des paléontologues proposaient plutôt un âge de 30 Ma pour la séparation entre la lignée humaine et les grands singes. Le consensus fut néanmoins que l'estimation moléculaire était beaucoup plus proche de la date réelle (estimée actuellement à environ 7 Ma) que la date paléontologique proposée à l'époque. Un grand optimisme dans les potentialités de l'horloge moléculaire en a découlé, ce qui s'est traduit par une multitude de résultats. Par exemple, Korber *et al.* [3] ont suggéré que l'ancêtre commun le plus récent des principales souches de VIH date des années 1915-1941, c'est-à-dire longtemps avant la pandémie actuelle.

Cet optimisme initial a cependant été tempéré par l'observation de désaccords difficilement réconciliables entre âges paléontologiques et moléculaires. L'exemple le plus célèbre concerne probablement le cas des animaux métazoaires. L'examen du registre fossile indique leur subite diversification à la base du Cambrien, soit il y a environ 540 millions d'années. Ceci est généralement interprété comme résultant d'événements rapides de spéciations communément désignés par l'expression "explosion Cambrienne" [4]. De manière nettement moins consensuelle, les estimations moléculaires de l'âge de diversification des Métazoaires diffèrent quasiment du simple au double, allant de 582 Ma [5] à 976 Ma [6], en passant par 573-656 Ma [7], 670-736 Ma [8] ou encore 830 Ma [9] !

Il est certes attendu que les âges moléculaires soient plus anciens que les âges paléontologiques. En effet, la découverte du plus vieux fossile d'un groupe taxonomique n'est jamais garantie, et la divergence génétique entre espèces précède leur divergence morphologique (deux organismes morphologiquement indiscernables peuvent appartenir à des espèces différentes et donc accumuler des différences génétiques). Cependant, des différences d'une telle amplitude sont déconcertantes, et certaines limitations du principe de l'horloge moléculaire pourraient expliquer ces désaccords, comme illustré sur la figure 1.

Remarquons que ce sont les fossiles qui nous fournissent les références géologiques nécessaires pour accéder au temps absolu, généralement exprimé en millions d'années. Si, suite à une erreur d'identification du fossile ou de datation de la strate à laquelle il appartient, l'âge de la divergence entre les taxons B et C est porté de 100 à 150 Ma, alors le taux d'évolution du gène X devient  $R_X' = 0,067\% / \text{Ma}$ . Les répercussions sur les âges de divergence sont immédiates, avec vieillissement de tous les nœuds d'un facteur 1,5 (Figure 1b). Dans de nombreuses études de datation moléculaire, une unique référence paléontologique est généralement considérée, qui plus est dépourvue de son inhérente incertitude (par exemple, le célèbre point de calibration  $310 \pm 0 \text{ Ma}$  pour la divergence Mammifères / Oiseaux [10]). Les inévitables erreurs sur ces rares points de calibration vont ainsi affecter les âges mesurés [11].

Le choix des gènes peut lui aussi avoir un impact important sur les estimations. Utilisons en effet un second gène, Y. Les gènes X et Y représentant des échantillonnages de sites nucléotidiques à deux emplacements (loci) indépendants du génome, la phylogénie inférée à partir de Y présente des longueurs de branches différentes de celle fondée sur X, principalement pour des raisons stochastiques. Les branches conduisant à B et C ont maintenant une longueur de 8,5% (Figure 1c). Sur la phylogénie avec horloge moléculaire, le taux d'évolution vaut donc  $R_Y = 0,085\% / \text{Ma}$ , et les âges mesurés par le gène Y varient localement de manière substantielle par rapport au gène X (voir les nœuds au sein du groupe D + E + F). C'est pour réduire l'effet stochastique que certains chercheurs ont choisi d'utiliser un grand nombre de gènes [6], mais cela s'est fait au détriment du nombre d'espèces considérées, et donc du nombre de points de calibration [10].

Considérons enfin le cas d'un troisième gène, Z. Il n'évolue manifestement pas à un taux constant (Figure 1d), ce qui constitue le cas le plus répandu. Afin de le prouver statistiquement, il existe des tests de détection des écarts à l'hypothèse d'horloge moléculaire. Par exemple, en utilisant un cadre probabiliste, il est possible de savoir si l'arbre sans horloge moléculaire est significativement plus vraisemblable, ou non, que l'arbre avec horloge. Si ces tests de détection ne sont pas assez performants, ce qui est généralement le cas [12, 13], la transformation abusive de l'arbre en phylogénie avec horloge moléculaire introduit d'importantes distorsions dans les longueurs de branches. Les courtes branches du groupe B + C conduisent à des longueurs de 6% dans l'arbre d'horloge moléculaire, et donc à un faible taux d'évolution  $R_Z = 0,060\% / \text{Ma}$ . L'application de ce taux erroné pour la datation introduit d'importantes erreurs dans les âges de divergence mesurés par le gène Z, en particulier pour les plus anciens.

### **3. Les solutions : les horloges moléculaires relâchées.**

Trois écueils majeurs empêchent la réalisation de datations moléculaires fiables : (1) la prise en compte d'un nombre limité d'espèces et de gènes, (2) l'incorporation de calibrations fossiles isolées et fixées, et (3) l'existence d'hétérogénéités de taux d'évolution entre lignées. Pour ce qui est de l'échantillonnage taxonomique, la considération d'un nombre conséquent d'espèces permet d'obtenir une phylogénie plus fiable [14], ainsi qu'une meilleure estimation des longueurs de branches, donc des taux d'évolution et temps de divergence. Pour ce qui est de l'échantillonnage génomique, de multiples gènes ou protéines doivent être considérés afin de ne pas rendre les estimations d'âges de divergence trop dépendantes du choix d'un seul locus et de l'importante erreur stochastique associée [15].

Avec le progrès des méthodes de séquençage, le premier écueil ne constitue plus un problème insurmontable. Les points (2) et (3) requièrent cependant d'importants développements méthodologiques, qui ont été bien engagés ces dernières années. Le couplage fossiles / molécules a été amélioré par des méthodes de datation pouvant (i) incorporer simultanément plusieurs calibrations paléontologiques, et (ii) considérer ces dernières comme des intervalles de temps plutôt que comme des points fixes dépourvus



d'incertitude [16, 17]. Les importantes variations de taux d'évolution observées pour de nombreuses espèces ont conduit au développement de méthodes de datation moléculaire ne faisant pas appel à l'hypothèse, trop forte, d'horloge moléculaire dite globale, car appliquée à l'ensemble de la phylogénie considérée. C'est ainsi que la méthode dite des horloges moléculaires locales a été proposée, en supposant qu'il peut y avoir des taux de substitution constants dans une région de l'arbre, malgré des variations de taux à de plus grandes échelles phylogénétiques [18]. La difficulté de cette approche réside dans l'identification objective des ensembles de branches qui vont évoluer selon une même horloge moléculaire locale.

Plutôt que de rester contraint par l'horloge moléculaire, des chercheurs ont proposé de relâcher cette hypothèse en modélisant l'évolution des taux d'évolution le long des branches de l'arbre phylogénétique. Sanderson [16] a été le premier à proposer un lissage des taux d'évolution, dans lequel les écarts entre le taux de la branche descendante et celui de la branche parentale — immédiatement ascendante — sont limités. Par la suite, d'autres modèles de variation des taux d'évolution ont été proposés sur différentes bases mathématiques [5, 19, 20]. Nous n'allons présenter ici que le modèle d'horloge relâchée qui est actuellement le plus utilisé. Ce dernier se fonde sur l'observation, capitale, de l'héritabilité du taux d'évolution. En effet, au moment même où deux taxons se séparent par spéciation, leurs taux d'évolution respectifs à un locus donné sont identiques (*cf.* les branches verticales sur la Figure 2a). Par la suite, des différences de taux d'évolution peuvent se propager indépendamment le long des deux branches descendantes : partageant initialement un ancêtre commun à taux intermédiaire, les taxons G et H sont maintenant caractérisés par des taux respectivement lent et rapide. Plus l'échantillonnage taxonomique est dense, meilleure sera la délimitation de ces variations de taux d'évolution le long des branches de l'arbre phylogénétique (Figure 2a).

Le passage de cette observation biologique à la modélisation se fait en considérant que le taux d'évolution le long d'une branche descendant d'un nœud est *a priori* autocorrélé à celui de la branche ascendante : leurs moyennes sont les mêmes, mais à une certaine variance près, qui est estimée à partir des données (Figure 2b). Si cette variance est *a posteriori* proche de zéro, les taux des branches descendantes

seront quasiment identiques à celui de la branche ascendante, se rapprochant en cela d'une horloge moléculaire globale. Plus cette variance est importante, plus les taux des branches descendantes sont différents du taux parental. Cela permet de modéliser d'importantes variations de taux se propageant le long de la phylogénie (Figure 2b). En pratique, la distribution des âges de divergence et des taux d'évolution est estimée, de façon à identifier les valeurs qui maximisent la probabilité d'observer l'arbre phylogénétique avec ses longueurs de branches sachant les séquences comparées au départ et les calibrations fossiles. Ce modèle de relâchement de l'hypothèse d'horloge moléculaire a été implémenté dans un cadre statistique bayésien [17, 21].

De manière importante, les différentes approches d'horloge relâchée produisent des estimations d'âges de divergence, couplées à des incertitudes généralement exprimées sous forme d'intervalles de crédibilité. Les incertitudes ont souvent été négligées dans les datations moléculaires classiques, ce qui a fait artificiellement croire à une grande précision des horloges moléculaires [10]. En fait, la connaissance de cette incertitude est vitale pour quantifier la précision du signal de datation moléculaire présent dans les données génomiques, et également permettre une meilleure comparaison avec le registre fossile.

#### **4. Les âges moléculaires des Métazoaires et des Mammifères.**

La comparaison de centaines de gènes ou de protéines chez des dizaines d'espèces permet de réduire l'erreur stochastique au niveau moléculaire. En élargissant les possibilités de calibration, elle réduit aussi l'erreur paléontologique. Dans une récente étude [22], nous avons ainsi tenté d'estimer l'âge de diversification des principaux rameaux d'eucaryotes. Nous avons considéré la concaténation en une super-protéine de 129 protéines nucléaires (impliquées dans la transcription, la traduction, le métabolisme, ou encore le cytosquelette), représentant un total de 30399 sites d'acides aminés alignés de manière non ambiguë. L'échantillonnage taxonomique comprenant 36 eucaryotes, dont 15 animaux, un choanoflagellé, 5 champignons, 5 plantes, et 10 protistes, nous avons disposé d'une raisonnable représentativité des principales lignées eucaryotes — notamment au sein des métazoaires. Six références paléontologiques, empruntées aux animaux, champignons, et plantes, et réparties en différentes régions

de l'arbre ont permis la calibration. L'incertitude paléontologique a été incorporée en considérant les bornes temporelles récentes et anciennes des couches stratigraphiques auxquelles appartenaient les fossiles de référence. D'importantes variations de taux d'évolution existant dans nos données — les trypanosomes et nématodes évoluent par exemple 2 à 3 fois plus rapidement que les mammifères — l'application de l'horloge moléculaire globale est proscrite (Figure 1d), et nous avons donc utilisé l'approche bayésienne de relâchement de l'horloge moléculaire (Figure 2).

En tenant compte des intervalles de crédibilité associés aux estimations d'âges de divergence, il y a 95% de chances que les principales lignées d'eucaryotes se soient diversifiées il y a 950-1,259 Ma, que les animaux se soient séparés de leurs plus proches parents, les Choanoflagellés, il y a 761-957 Ma, et que l'âge débattu de la diversification des Métazoaires puisse se situer entre 642-761 Ma (Figure 3). Cette dernière estimation suggère que les animaux Bilatériens aient pu se diversifier environ 100 Ma avant l'explosion cambrienne documentée dans le registre fossile. Ce décalage pourrait s'expliquer par des lacunes de la documentation paléontologique, directement causées par le fait que les premiers Bilatériens étaient probablement des animaux à corps mou ayant pu échapper aux processus de fossilisation. Il faut pourtant noter que des fossiles vieux de 600 Ma, récemment découverts en Chine, ont été identifiés comme appartenant aux Bilatériens [23]. Un meilleur accord entre les datations moléculaire et paléontologique de l'évolution des Métazoaires semble donc se dessiner, bénéficiant des progrès conjoints des horloges moléculaires et des archives fossiles.

Plus proche de nous, l'âge de la diversification des Mammifères Placentaires offre un autre exemple de décalage entre estimations paléontologiques et moléculaires. Il a longtemps été considéré que les Placentaires ont bénéficié des extinctions de la fin de l'ère secondaire, notamment celle des Dinosaures, pour se diversifier au début de l'ère Tertiaire il y a 65 Ma. Du point de vue moléculaire, Springer *et al.* [24] ont estimé les âges de divergence des principaux groupes de Mammifères Placentaires en veillant de manière similaire aux problèmes taxonomiques, génomiques, paléontologiques et méthodologiques sus-mentionnés. Ces auteurs considèrent 42 Mammifères représentés pour 16 kb d'ADN mitochondrial et nucléaire, avec 9 contraintes paléontologiques pour calibrer l'horloge moléculaire relâchée par la même approche bayésienne que

précédemment. Les résultats suggèrent une diversification des mammifères Placentaires au cours du Crétacé il y a environ 100 Ma, et indiquent qu'au moment où les dinosaures s'éteignaient, il y a environ 65 Ma, la plupart des ordres de placentaires étaient déjà apparus, sinon diversifiés (Figure 4). L'occupation de niches écologiques laissées vacantes par l'extinction des Dinosaures n'aurait donc pas été le facteur déclenchant à l'origine de la radiation évolutive des ordres modernes de Mammifères Placentaires [25].

Notons pour conclure que les horloges moléculaires relâchées sont utilisées dans des groupes taxonomiques très variés pour répondre à diverses questions de biologie évolutive. Par exemple, il a longtemps été considéré que l'actuelle distribution géographique des espèces de hêtre austral (genre *Nothofagus*) résulte d'un phénomène de vicariance — c'est-à-dire d'une division de l'aire de répartition ancestrale par une barrière géographique — provoqué ici par la fragmentation du Gondwana, et impliquant notamment une séparation entre Australie et Nouvelle-Zélande il y a 80 Ma. Or, les datations moléculaires de Knapp *et al.* [26] suggèrent plutôt des âges de divergence entre les hêtres australiens et néo-zélandais sensiblement plus récents (aux alentours de 30 Ma). La biogéographie des espèces du genre *Nothofagus* a donc également été gouvernée par des événements de dispersion transocéanique. Ces résultats remettent en cause l'un des principaux exemples d'évolution par vicariance chez les plantes en soulignant l'importance auparavant insoupçonnée de la dispersion à longue distance des graines.

## **5. Les perspectives.**

Des allers-retours permanents entre les datations moléculaires et paléontologiques sont plus que jamais nécessaires. En effet, les fossiles permettent de calibrer les horloges moléculaires, qu'elles soient globales, locales, ou encore relâchées. Les datations moléculaires qui en découlent permettent alors d'éprouver les hypothèses biologiques, paléontologiques, et biogéographiques existantes, et conduisent parfois à de nouvelles propositions quant à la chronologie de l'évolution des organismes. En cas de désaccord entre les estimations fondées sur les génomes et sur les fossiles, une analyse critique des données moléculaires et paléontologiques est

incontournable. A l'avenir, la disponibilité en données moléculaires va augmenter grâce à la génomique comparative, mais des modèles plus performants de description des variations de taux d'évolution restent à développer. Du côté de la paléontologie, des progrès sont attendus dans l'exploration de gisements inédits et dans l'amélioration des méthodes d'analyse des fossiles, par exemple à l'aide de techniques tridimensionnelles. Ces études multidisciplinaires nous aideront à mieux connaître la chronologie des différents événements ayant généré les espèces fossiles et actuelles, et ainsi à mieux comprendre les mécanismes évolutifs à l'origine de la biodiversité terrestre.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement Vincent Ranwez, Béatrice Roure, et deux arbitres anonymes pour leurs commentaires constructifs. Ce travail a bénéficié du soutien de l'ACI Informatique-Mathématique-Physique en Biologie Moléculaire [ACI IMP-Bio], de "Génome Québec", et représente la contribution N° 2005-067 de l'Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier (UMR 5554 - CNRS).

## REFERENCES

1. Zuckerkandl E, L Pauling. Evolutionary divergence and convergence in proteins. 1965. *In* *Evolving genes and proteins*, Bryson V, Vogel HJ (eds). Academic Press, New York.
2. Sarich VM, AC Wilson. Immunological time scale for hominoid evolution. *Science* 1967; 158: 1200-1203.
3. Korber B, M Muldoon, J Theiler, *et al.* Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science* 2000; 288: 1789-1796.
4. Conway Morris S. The Cambrian "explosion": slow-fuse or megatonnage? *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 4426-4429.

5. Aris-Brosou S, Z Yang. Effects of models of rate evolution on estimation of divergence dates with special reference to the metazoan 18S ribosomal RNA phylogeny. *Syst. Biol.* 2002; 51: 703-714.
6. Hedges SB, JE Blair, ML Venturi, *et al.* A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life. *BMC Evol. Biol.* 2004; 4: 2.
7. Peterson KJ, JB Lyons, KS Nowak, *et al.* Estimating metazoan divergence times with a molecular clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 6536-6541.
8. Ayala FJ, A Rzhetsky, FJ Ayala. Origin of the metazoan phyla: molecular clocks confirm paleontological estimates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 606-611.
9. Gu X. Early metazoan divergence was about 830 million years ago. *J Mol Evol* 1998; 47: 369-371.
10. Graur D, W Martin. Reading the entrails of chickens: molecular timescales of evolution and the illusion of precision. *Trends Genet.* 2004; 20: 80-86.
11. Douzery EJP, F Delsuc, MJ Stanhope, *et al.* Local molecular clocks in three nuclear genes: divergence times for rodents and other mammals, and incompatibility among fossil calibrations. *J. Mol. Evol.* 2003; 57: S201-S213.
12. Philippe H, U Sörhannus, A Baroin, *et al.* Comparison of molecular and paleontological data in diatoms suggests a major gap in the fossil record. *J. Evol. Biol.* 1994; 7: 247-265.
13. Bromham L, D Penny, A Rambaut, *et al.* The power of relative rates tests depends on the data. *J. Mol. Evol.* 2000; 50: 296-301.
14. Lecointre G, H Philippe, HLV Lê, *et al.* Species sampling has a major impact on phylogenetic inference. *Mol. Phylogenet. Evol.* 1993; 2: 205-224.
15. Delsuc F, H Brinkmann, H Philippe. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life. *Nature Rev. Genet.* 2005; 6: 361-375.
16. Sanderson MJ. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Mol. Biol. Evol.* 1997; 14: 1218-1231.

17. Kishino H, JL Thorne, WJ Bruno. Performance of a divergence time estimation method under a probabilistic model of rate evolution. *Mol. Biol. Evol.* 2001; 18: 352-361.
18. Yoder AD, Z Yang. Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks. *Mol. Biol. Evol.* 2000; 17: 1081-1190.
19. Huelsenbeck JP, B Larget, D Swofford. A compound poisson process for relaxing the molecular clock. *Genetics* 2000; 154: 1879-1892.
20. Welch JJ, L Bromham. Molecular dating when rates vary. *Trends Ecol. Evol.* 2005; in press:
21. Thorne JL, H Kishino, IS Painter. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Mol. Biol. Evol.* 1998; 15: 1647-1657.
22. Douzery EJP, EA Snell, E Baptiste, *et al.* The timing of eukaryotic evolution: Does a relaxed molecular clock reconcile proteins and fossils? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2004; 101: 15386-15391.
23. Chen J-Y, DJ Bottjer, P Oliveri, *et al.* Small bilaterian fossils from 40 to 55 million years before the Cambrian. *Science* 2004; 305: 218-222.
24. Springer MS, WJ Murphy, E Eizirik, *et al.* Placental mammal diversification and the Cretaceous-Tertiary boundary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 1056-1061.
25. Bromham L, MJ Phillips, D Penny. Growing up with dinosaurs: molecular dates and the mammalian radiation. *Trends Ecol. Evol.* 1999; 14: 113-118.
26. Knapp M, K Stöckler, D Havell, *et al.* Relaxed molecular clock provides evidence for long-distance dispersal of *Nothofagus* (Southern beech). *PLoS Biol.* 2005; 3: e14.

## LEGENDE DES ILLUSTRATIONS

### Figure 1. Les forces et les faiblesses de l'horloge moléculaire globale.

**1a. Le principe.** Au cours de l'histoire évolutive du gène X, les séquences des taxons A à F ont évolué à une vitesse similaire (en noir). Les taxons — ou groupes taxonomiques — sont des groupes d'organismes considérés à un niveau donné de la classification : ce sont par exemple des espèces, des familles, ou encore des ordres. En contraignant la phylogénie à respecter l'hypothèse d'horloge moléculaire, toutes les séquences évoluent à la même vitesse (en bleu). Les échelles noires et bleues sont exprimées en pourcentage de substitutions nucléotidiques (% subs.) : 10% signifie ainsi que, pour 100 sites comparés, 10 substitutions ont été inférées le long de la branche correspondante lors de l'évolution du gène X. Un fossile dont la position phylogénétique et l'âge sont connus fournit maintenant une calibration temporelle. Les taxons B et C partageant un ancêtre commun dont l'âge paléontologique est de 100 Ma (étoile rouge). Sachant que les longueurs de branche conduisant à B et C correspondent chacune à 10% de substitutions, nous en déduisons que le taux d'évolution absolu est de  $R_X = 0,1 \text{ \% / Ma / lignée}$ . La divergence moléculaire entre E et F étant de 5%, nous en déduisons que ces deux taxons se sont séparés il y a  $5 / 0,1 = 50 \text{ Ma}$ , ainsi que tous les autres âges de divergence (en rouge). Notons que ces âges mesurés sont soit plus vieux (divergence A / B-C à 200 Ma), soit plus récent (divergence E / F à 50 Ma) que l'âge de calibration paléontologique.

**1b. L'erreur paléontologique.** Si une erreur paléontologique conduit à dater la divergence B / C à 150 Ma (étoile violette), alors le taux d'horloge devient  $R_X' = 0,067 \text{ \% / Ma / lignée}$ . Tous les âges de divergence sont alors vieillis d'un facteur 1,5.

#### **1c. L'erreur stochastique.**

Le choix d'un locus donné (Y) plutôt qu'un autre (X) dans le génome peut résulter en une erreur qualifiée de stochastique. En choisissant la même calibration paléontologique que précédemment (100 Ma), le gène Y conduit à une horloge moléculaire plus lente ( $R_Y$ ) et fournit des âges de divergence différents de ceux estimés à partir du gène X.



### **1d. Absence d'horloge moléculaire.**

A un troisième locus, le gène Z présente des différences marquées de taux d'évolution, contrairement aux gènes X et Y. La phylogénie ultramétrique inférée (en bleu) présente donc une très forte distorsion par rapport aux longueurs de branches originales, ce qui conduit à une horloge moléculaire artificielle ( $R_Z$ ) et des âges estimés encore différents.

### **Figure 2. Les horloges moléculaires relâchées.**

**2a. Les variations graduelles de taux d'évolution le long des branches d'une phylogénie.** A partir de la racine de cette phylogénie, différentes trajectoires conduisent aux taux observés chez les taxons A à H, et symbolisés dans les carrés correspondants. Les taux d'évolution, de lents jusqu'à rapides, varient le long des branches horizontales. Les branches verticales représentent les événements de spéciation. Ces derniers produisent deux espèces descendantes qui, au moment où elles se séparent l'une de l'autre, possèdent le même taux d'évolution, hérité de l'espèce ancestrale dont elles sont issues. Trois principaux cas de figure se présentent ensuite : les espèces accélèrent (C et D), ralentissent (A et B), ou bien l'une accélère (H) tandis que l'autre ralentit (G). Enfin, une espèce peut évoluer de manière constante, ici rapide (E).

**2b. Le modèle des horloges relâchées avec autocorrélation des taux.** Les variations graduelles de taux présentées ci-dessus sont modélisées de la manière suivante. Chaque branche est caractérisée par un unique taux, qui est la moyenne de son taux initial et de son taux final. Le taux  $r_1$  d'une branche descendante est tiré (disque vert) dans une distribution normale centrée sur le taux  $r_0$  de la branche ascendante. Le taux  $r_1$  est ici plus rapide que  $r_0$ . Les autres relations d'ordre illustrées sont :  $r_2 > r_1 > r_0$ ,  $r_3 > r_4$ , et  $r_5 > r_4$ . Une variance de cette distribution normale des taux respectivement importante ou faible entraîne un écart important ou faible par rapport à l'hypothèse d'horloge moléculaire.

### **Figure 3. La datation moléculaire des Eucaryotes.**

Les horloges moléculaires relâchées ont été ici appliquées à 129 protéines nucléaires impliquant 36 eucaryotes, et avec 6 intervalles de calibration (étoiles) (d'après la référence [22]). Les intervalles de crédibilité sur les âges estimés sont délimités par les rectangles horizontaux. Les âges en millions d'années sont indiqués pour quelques nœuds représentatifs.

#### **Figure 4. La datation moléculaire des Mammifères.**

Les horloges moléculaires relâchées ont été ici appliquées à des données mitochondriales et nucléaires impliquant 42 Mammifères, et avec 9 intervalles de calibration choisis au sein de différents ordres (étoiles) (d'après la référence [24]). Les intervalles de crédibilité sur les âges estimés sont délimités par les rectangles horizontaux. Les carrés représentent le moment où les ordres correspondants se sont diversifiés en familles. Les ordres modernes de mammifères placentaires apparaissent au Crétacé, et se diversifient aussi bien avant qu'après la transition Crétacé / Tertiaire (pointillés verticaux). Les grands groupes de placentaires sont les Afrothériens (AFR), Xénarthres (XEN), Euarchontoglires (EUA), Laurasiathériens (LAU), et Boréoeuthériens (EUA + LAU). Le nom courant de quelques membres des différents ordres de placentaires sont donnés sur les branches.

Figure 1.

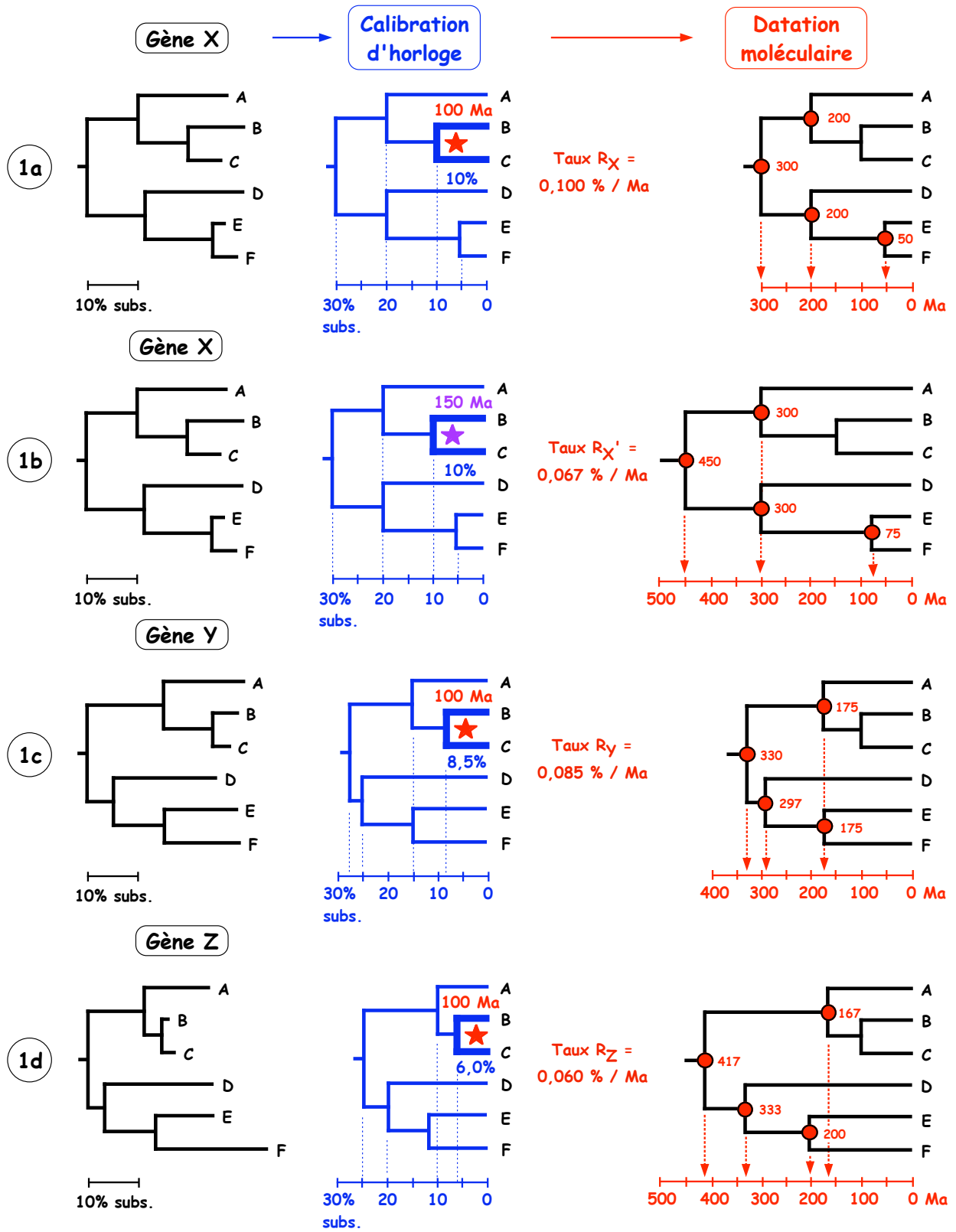


Figure 2

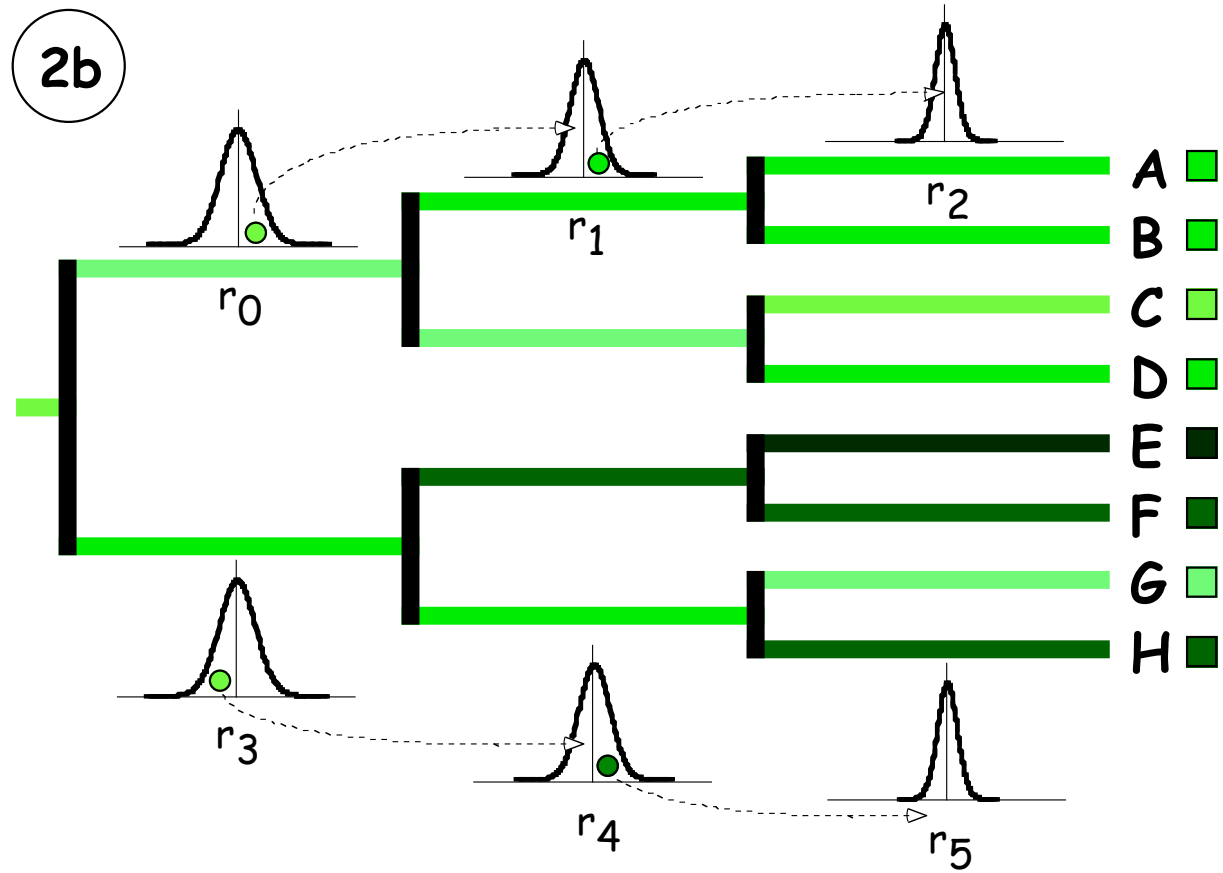
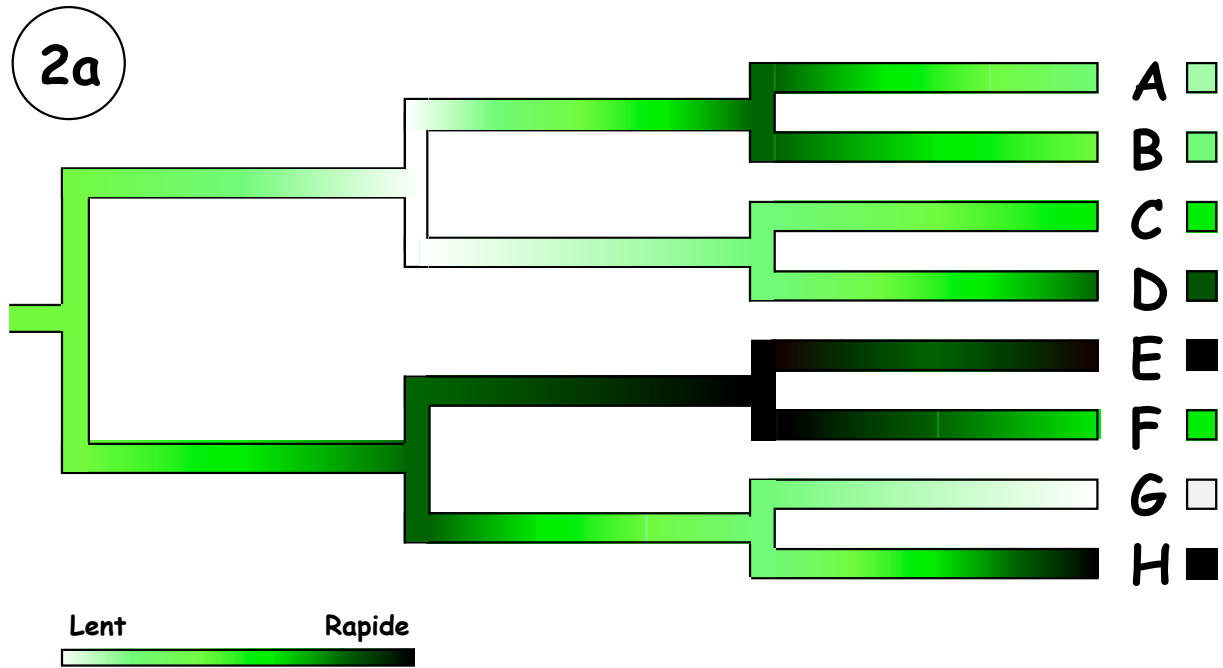


Figure 3.

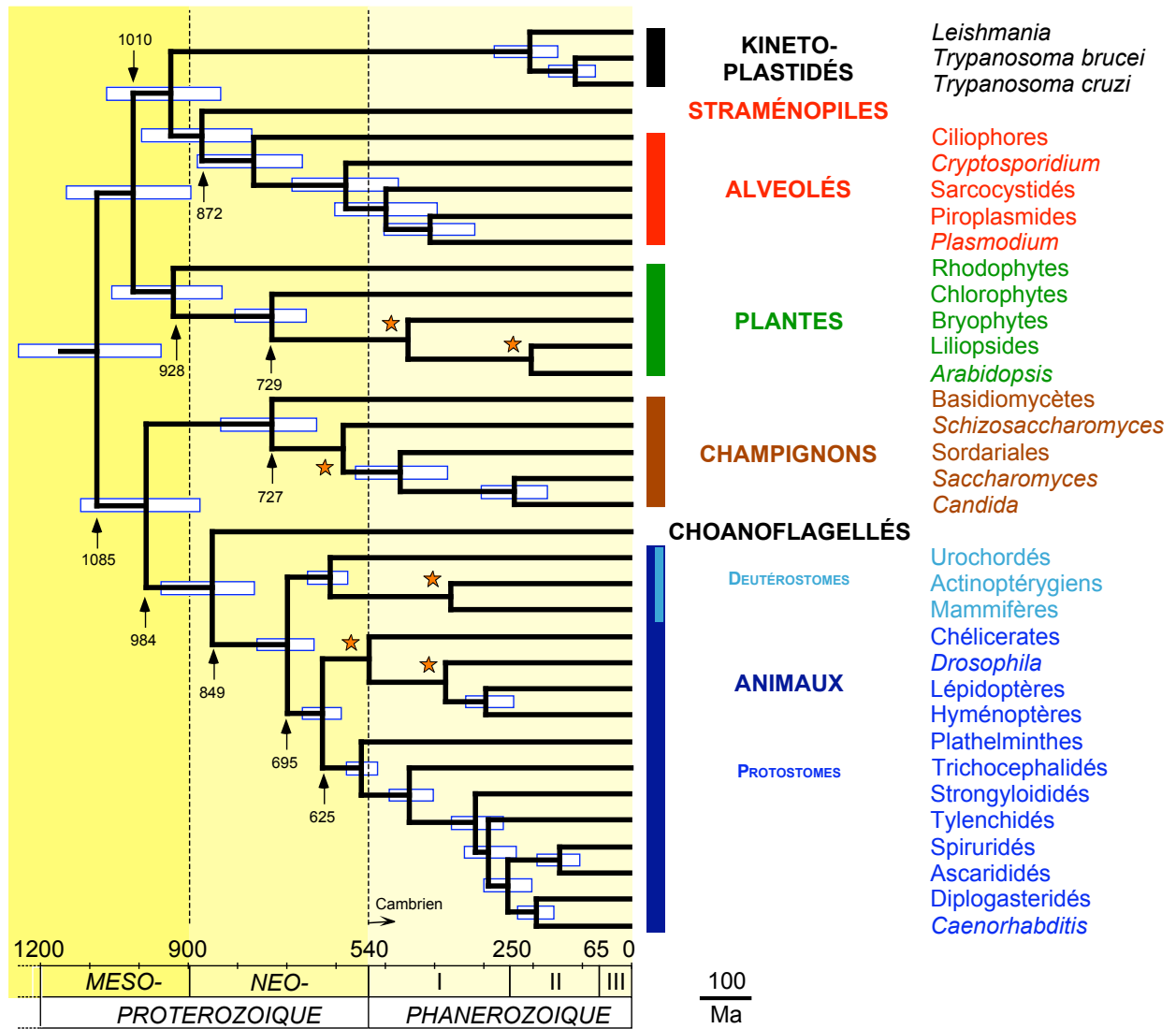


Figure 4.

