



HAL
open science

Découverte et analyse de la biodiversité : les moyens actuels

Marianne Elias, Fabien Condamine

► **To cite this version:**

Marianne Elias, Fabien Condamine. Découverte et analyse de la biodiversité : les moyens actuels. Mémoires de la SEF, 2014, 9, pp.23-39. hal-03035296

HAL Id: hal-03035296

<https://hal.umontpellier.fr/hal-03035296v1>

Submitted on 2 Dec 2020

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.

Découverte et analyse de la biodiversité : les moyens actuels

par Marianne ELIAS* & Fabien L. CONDAMINE**

* Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, UMR 7205, Entomologie, C. P. 50, 57 rue Cuvier,
F – 75231 Paris cedex 05 <elias@mnhn.fr>

** CNRS, UMR 7641 Centre de Mathématiques Appliquées (Ecole Polytechnique), route de Saclay,
F – 91128 Palaiseau <fabien.condamine@gmail.com>

Résumé. – Depuis l'antiquité, la diversité des formes biologiques fascine, et fait l'objet de descriptions, d'analyses et classifications. Alors que pendant des siècles la caractérisation de la biodiversité a reposé sur des critères morphologiques, l'avènement et le développement rapide des techniques moléculaires et des méthodes analytiques associées ont permis de développer des approches complexes et intégratives pour étudier la biodiversité, tout en incorporant les données issues de la morphologie. Ces approches se classent en trois catégories : 1) Les approches microévolutives de type "génétique des populations", basées sur de nombreux marqueurs moléculaires répartis dans tout le génome, et qui renseignent sur la structure fine de la biodiversité en étudiant les processus de spéciation (formation des espèces). 2) Les approches de type *barcoding*, qui permettent de caractériser génétiquement un individu et de lui assigner un nom d'espèce sur la base de la variation de la séquence d'ADN d'un ou de plusieurs gènes. Éventuellement, cette approche permet de définir les limites d'espèces. Combiné à la morphologie, le *barcoding* moléculaire a conduit à la taxonomie intégrative. 3) Les approches macroévolutives de type "phylogénies" (établies sur des données moléculaires et/ou morphologiques), qui reconstruisent les relations de parenté entre espèces et sont donc non seulement informatives sur la systématique du groupe étudié, mais également sur les processus évolutifs qui en ont structuré la biodiversité (biogéographie historique, rôle de caractères particuliers dans la diversification du groupe, variation des taux de diversification dans le temps ou entre lignées...). Ces trois approches, qui peuvent être combinées entre elles ainsi qu'aux approches morphologiques, ont contribué à mieux caractériser et comprendre les facteurs à l'origine de la biodiversité, par exemple en mettant en évidence des espèces cryptiques (des espèces qui se ressemblent tellement qu'elles étaient considérées comme une seule et même espèce), notamment chez les Insectes ; en bouleversant les classifications traditionnelles ; ou en remettant en cause le paradigme de l'isolement géographique dans la formation des espèces. Bien que la contribution de ces approches modernes soit notable, elles restent cependant très complexes et perfectibles. Plus important encore, il est essentiel aujourd'hui d'intégrer des experts de divers domaines pour appréhender sous divers angles et mieux comprendre cette biodiversité.

Abstract. – **Discovery and analysis of biodiversity: the current tools.** Since the antiquity, the diversity of forms has fascinated people and has been the subject of description, analyses and classifications. For centuries, characterising biodiversity has relied on morphological characters. The rapid development of molecular technologies and analytical methods now allows developing complex and integrative approaches to study biodiversity, while incorporating morphological data. These approaches can be classified into three categories: 1) Microevolutionary population genetics approaches that use markers spread across the genome and unravel biodiversity fine-scale structure, providing insights into speciation processes (species formation). 2) "Barcoding" approaches, which relies on the genetic characterisation of individuals and to assign them a species name based on DNA sequence variation of one or several genes. This approach enables defining species limits. The combination of molecular barcoding and morphology results in integrative taxonomy. 3) Macroevolutionary phylogenetic approaches (based on molecular and/or morphological data) that show the pattern of relatedness among species and provide insights into systematics and into evolutionary processes that structure biodiversity (historical biogeography, role of characters in diversification, variation of diversification rates...). These three approaches, which can be combined and associated with morphological approaches, have improved the characterisation and the understanding of factors that shape biodiversity. Examples include the discovery of cryptic species (species that look so similar that they were not distinguished), particularly on insects; changes in traditional classification; and the questioning of the paradigm of geographical isolation in species formation. Although the contribution of these modern approaches is important, they remain complex and largely perfectible. Importantly, it is essential to integrate experts from various fields to understand biodiversity better.

Keywords. – Biodiversity studies, barcoding, phylogeny, population genetics.

Depuis l'antiquité, les hommes se sont intéressés à classer les organismes vivants en catégories hiérarchisées plus ou moins fines en fonction de leur ressemblance morphologique, selon leur rapport aux différents organismes. Ainsi Aristote classe-t-il les animaux en *anaima*, les animaux qui n'ont pas de sang, correspondant aux invertébrés, et *enaima*, les animaux à sang (les Vertébrés), ces groupes étant eux-mêmes subdivisés en sous-catégories (par exemple chez les invertébrés les animaux segmentés, les animaux mous, ceux à coquilles dures, ceux à coquilles molles), puis en espèces. La nomenclature binominale établie par Linné au XVIII^e siècle, toujours en vigueur aujourd'hui, offre un cadre systématique et général à la classification du vivant, ce qui représente un progrès considérable pour la caractérisation de la diversité biologique. En parallèle, l'idée que les espèces ne sont pas des entités fixes, mais se transforment au cours du temps, et même se divisent et dérivent les unes des autres, se développe et culmine au XIX^e siècle avec la théorie de l'évolution par sélection naturelle proposée indépendamment par Darwin et Wallace. Dès lors, l'étude du vivant ne se limite plus à classer les organismes, une tâche qui est d'ailleurs loin d'être aisée (voir Encadré 1), mais également à comprendre leur origine et leur diversification au cours du temps. Ces nouvelles questions relèvent de la biologie évolutive, une discipline en plein essor depuis l'avènement de la génétique moléculaire au XX^e siècle. En effet, alors que les classifications hiérarchiques de la diversité biologique ont essentiellement reposé sur des caractères morphologiques, trop souvent objets de convergence ou de réversion, l'utilisation de caractères moléculaires apporte une nouvelle source de variabilité, moins sujette (bien que non exempte) à ces inconvénients. De même que pour les caractères morphologiques, les individus et entités peuvent être classés et hiérarchisés en fonction de leur similarité moléculaire. Les caractères moléculaires peuvent prendre la forme d'allèles enzymatiques (les allozymes) ou de séquences d'ADN de différents types (séquences de gènes, séquences répétées non codantes, fragments de restriction distribués aléatoirement,...). Les caractères morphologiques et moléculaires permettent non seulement de délimiter les espèces (voir encadré 1), mais aussi de reconstituer la phylogénie des espèces, c'est-à-dire les relations de parenté des espèces entre elles. Les phylogénies permettent alors d'explorer la diversification des espèces au cours du temps.

Grâce aux nouvelles générations de séquençage de l'ADN (séquençage à haut débit), il est maintenant possible d'obtenir des centaines de milliers de marqueurs moléculaires répartis

Encadré 1. – Les principaux concepts d'espèce.

Définir ce qu'est une espèce n'est pas aussi simple qu'il n'y paraît, particulièrement chez les Insectes. Pendant longtemps la délimitation des espèces a reposé sur des caractères morphologiques diagnostiques (concept morphologique). L'avantage du concept morphologique est qu'il est applicable à la grande majorité des organismes vivants. Mais ce concept, qui dépend des caractères identifiés comme "diagnostiques", présente le risque de ne pas distinguer des espèces qui ne présentent pas de différences morphologiques évidentes sur les caractères choisis (espèces cryptiques), ou au contraire de séparer des individus qui présentent une variation infra-spécifique. En 1942, Ernst Mayr a proposé le concept biologique de l'espèce (MAYR, 1942), basé sur l'interfécondité effective ou potentielle des individus. En d'autres termes, les espèces sont des groupes d'individus isolés reproductivement les uns des autres. Si le concept biologique est largement accepté aujourd'hui, tester l'interfécondité des individus s'avère bien souvent difficilement réalisable en pratique, voire impossible dans le cas des organismes fossiles ou asexués. Le développement de la génétique moléculaire a introduit de nouveaux concepts d'espèces, basés sur la proximité génétique des individus (concept génétique) ou sur la descendance exclusive d'un ancêtre commun (concept phylogénétique), mais qui présentent eux aussi des inconvénients, comme d'attribuer un statut d'espèce à des sous-espèces. En pratique, c'est souvent la combinaison de plusieurs approches qui permet de délimiter les espèces, ce qui est un préalable indispensable aux analyses d'évolution de la biodiversité.

dans tout le génome. En parallèle, et grâce aux innovations dans le domaine de la bio-informatique, de nouvelles approches statistiques d'analyse de la biodiversité se sont développées ces dernières décennies. Basées sur la comparaison de scénarios évolutifs au moyen de leur vraisemblance (la probabilité d'observer les données sous un scénario donné), ces nouvelles méthodes d'analyse permettent par exemple de déterminer quel scénario de diversification parmi plusieurs est le plus probable. Les nouvelles technologies de séquençage combinées aux nouvelles approches statistiques permettent une exploration de la biodiversité sans précédent, à une large échelle.

Dans cet article, nous présentons les principales innovations méthodologiques de ces dernières années et leurs applications dans la caractérisation et la compréhension de la mise en place de la diversité chez des groupes d'insectes. Ces méthodes ont été beaucoup utilisées chez les Vertébrés et les Plantes, mais relativement peu chez les Insectes, qui posent des défis taxonomiques en raison de leur grande diversité spécifique, la présence d'espèces cryptiques, leurs modes de vie variés ou encore leur petite taille. Révéler les patrons de diversification des Insectes apportera donc beaucoup de nouvelles informations quant à la découverte de la biodiversité et à la compréhension des processus de diversification générant cette biodiversité.

Étudier la biodiversité à l'échelle périspécifique : des approches microévolutives de type "génétique des populations". – Les approches microévolutives concernent la formation récente ou contemporaine d'espèces (la spéciation, cf. encadré 2). Elles se fondent sur le concept biologique de l'espèce, et plus particulièrement sur les échanges de gènes liés à l'interfécondité des organismes d'une même espèce. Il est possible de quantifier ces échanges de gènes grâce à des marqueurs moléculaires, dont les différentes techniques sont détaillées plus bas : c'est ce que l'on appelle la génétique des populations.

Le principe de la génétique des populations est d'utiliser des "marqueurs" distribués dans le génome et eux-mêmes non soumis à sélection (marqueurs neutres), pour retracer les échanges de gènes entre populations ou groupes d'individus, ce qui aidera à déterminer le degré d'isolement reproductif entre ces populations. Ces marqueurs doivent avoir une variabilité inter-individuelle suffisante pour rendre compte de la structure des populations. Les marqueurs actuels sont tous obtenus au moyen d'une étape d'amplification de l'ADN, la PCR (*Polymerase Chain Reaction*). On peut utiliser des séquences de gènes qu'on suppose peu soumis à sélection dans le contexte qui nous intéresse (par exemple si l'on s'intéresse à des races d'Insectes phytophages inféodés à différentes plantes nourricières, le gène mitochondrial COI, impliqué

Encadré 2. – La formation des espèces et le continuum de la spéciation.

La formation des espèces, ou spéciation, correspond à la mise en place d'un isolement reproductif entre groupes d'organismes. Lorsque l'isolement reproductif est total et que les organismes ne peuvent plus échanger de gènes, ils appartiennent à des espèces différentes. Mais en pratique, il existe tout un continuum entre la situation où les organismes échangent librement des gènes (ils appartiennent alors à la même population, au sein de laquelle les individus s'apparient de façon aléatoire), et celle où ils n'en échangent aucun. En effet, à part dans de rares cas où la spéciation est instantanée (par exemple du fait de remaniements chromosomiques majeurs qui empêchent la production de cellules sexuelles — les gamètes — chez les individus hybrides), la mise en place des barrières reproductives se fait progressivement. Cette mise en place peut se faire par hasard, lorsque les populations sont séparées et accumulent des mutations différentes qui affectent la viabilité et la fécondité des éventuels hybrides, et/ou sous l'effet de la sélection, par exemple lorsque les organismes s'adaptent progressivement à différentes ressources ou habitats (spéciation adaptative), ce qui peut avoir lieu même en l'absence de barrière physique. Il peut donc y avoir des échanges de gènes même entre taxons considérés comme des espèces à part entière, mais ces échanges restent très limités, et devraient diminuer au cours du temps jusqu'à ce que les taxons soient entièrement isolés reproductivement.

dans la respiration, n'a sans doute aucune influence sur l'adaptation à la plante et peut être considéré comme neutre). Mais les gènes ont souvent une variabilité trop faible à l'échelle de temps dont relève la génétique des populations. D'autres marqueurs, situés dans des régions du génome non codantes (qui ne sont pas transcrites en gènes), sont beaucoup plus variables et permettent de retracer l'histoire récente des populations. C'est par exemple le cas des marqueurs microsatellites : il s'agit de courts motifs d'ADN, par exemple CA ou AAT, répétés des dizaines de fois, la variabilité résidant dans le nombre de répétitions. Un inconvénient des microsatellites est qu'il faut d'abord les détecter dans le génome avant de pouvoir les utiliser, et qu'ils sont parfois peu nombreux. Les marqueurs basés sur les fragments de restriction n'ont pas cet inconvénient. Ce sont des marqueurs que l'on obtient en digérant l'ADN par des enzymes dites "de restriction", qui reconnaissent de courts motifs d'ADN spécifiques (sites de restriction) et le coupent uniquement à ces endroits. Ces motifs sont répartis de façon plus ou moins homogène dans le génome, en fréquence plus ou moins grande, et on peut choisir une enzyme qui coupe souvent, ou moins souvent, voire une combinaison de plusieurs enzymes. Les AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), très utilisés à la fin des années 90 et début des années 2000, reposent sur une amplification sélective de fragments d'ADN obtenus par digestion par deux enzymes de restriction. On obtient des centaines de fragments de longueurs différentes, dont la présence varie entre individus en raison de la présence ou non du site de restriction, ou de la longueur de la séquence entre deux sites de restriction. Les AFLP sont ainsi des marqueurs variables et abondants, répartis dans tout le génome, et qui peuvent être générés immédiatement sur n'importe quel organisme. Mais on peut aller encore plus loin grâce aux nouvelles technologies de séquençage, qui permettent de séquencer de grandes quantités d'ADN sans connaissance préalable du génome des espèces étudiées. Au lieu de se contenter de la présence ou la taille des fragments de restrictions comme source de variabilité, on peut en obtenir la séquence, ce qui permet de détecter la variabilité au niveau nucléotidique (Single Nucleotide Polymorphism, ou SNP). C'est le principe des marqueurs RAD (Restriction site Associated DNA), qui génèrent des centaines de milliers de SNPs, répartis dans tout le génome. Il existe donc une diversité de techniques permettant de générer des marqueurs pour l'étude de la génétique des populations.

La génétique des populations a par exemple permis de préciser le statut taxonomique des parasites sociaux chez les Hyménoptères. Ainsi, la fourmi *Myrmica rubra* (Linné, 1758) abrite un parasite social qui exploite les ouvrières, qu'on a longtemps considéré comme une espèce à part entière (*M. microrubra* Seifert, 1993), puis comme une simple morphe microgyne (avec une reine de petite taille) de *M. rubra* (STEINER *et al.*, 2006). Une étude récente utilisant quatre marqueurs microsatellites et des séquences mitochondriales a montré que le parasite social était fortement différencié de son hôte, avec lequel il échange très peu de gènes malgré la coexistence des deux taxons au sein des mêmes nids (VEPSALAINEN *et al.*, 2009). Les auteurs concluent que le parasite social est une espèce émergente, certes pas encore entièrement isolée reproductivement de son espèce hôte, mais suffisamment pour posséder une intégrité morphologique et écologique même en présence de l'hôte. De même, la génétique des populations a permis d'éclairer la structure du complexe de papillons mimétiques *Heliconius melpomene-cydno* (Lepidoptera, Nymphalidae). Une première étude basée sur 12 marqueurs microsatellites et des croisements en captivité a mis en évidence que l'espèce *Heliconius heurippa* (Hewitson, 1854), phénotypiquement intermédiaire entre *H. melpomene* (Linné, 1758) et *H. cydno* (Doubleday, 1847), avait une origine hybride entre ces deux espèces (MAVAREZ *et al.*, 2006). Plusieurs travaux, combinant des analyses de génétique des populations (marqueurs microsatellites et séquences de gènes) à des mesures morphométriques et des expériences de choix de partenaire, ont ensuite

débatu du statut de différents taxons apparentés à *H. cydno* et *H. melpomene*, et regroupés sous le nom de *H. timareta* (Hewitson, 1867) (GIRALDO *et al.*, 2008 ; MÉROT *et al.*, 2013). Une étude récente utilisant des séquences RAD a pu confirmer qu'*H. timareta* formait bien une espèce à part entière, plus apparentée à *H. cydno* qu'à *H. melpomene*, et qu'*H. heurippa* était très apparentée à *H. timareta* et peut-être même une sous-espèce de cette dernière. *H. timareta* semble complètement isolée reproductivement d'*H. cydno*, mais en revanche échange des gènes à très faible fréquence avec *H. melpomene*.

Les marqueurs moléculaires issus des nouvelles technologies de séquençage, comme les séquences RAD, permettent aussi pour la première fois de comprendre comment se construit la divergence au niveau du génome au cours du processus de spéciation, avec par exemple la mise en évidence d'îles génomiques de divergence (FEDER & NOSIL, 2010), où les régions affectées par la divergence sont regroupées sur les chromosomes et s'étendent progressivement.

Par leur nombre et leur distribution dans tout le génome, ces marqueurs rendent possible une exploration de la biodiversité sans précédent, même chez des espèces peu étudiées. En revanche les traitements bioinformatiques et statistiques associés aux nouvelles technologies de séquençage sont de plus en plus lourds, et demandent à la fois plus de moyens humains et plus de temps.

Si les méthodes de génétique des populations, particulièrement celles reposant sur les technologies récentes, sont très puissantes pour détecter la structure fine de la biodiversité et ainsi pour mieux délimiter les taxons et évaluer les échanges de gènes entre eux, leurs utilisateurs font rarement l'économie d'analyses morphologiques, morphométriques et parfois écologiques et biogéographiques, qui permettent de confirmer, ou non, les résultats des analyses génétiques.

Un outil universel d'identification et de délimitation des espèces : le barcoding ADN. – Depuis l'avènement du système binominal de Linné, environ deux millions d'espèces ont été décrites, dont un million d'Insectes. Cependant, des estimations de la diversité montrent que la richesse spécifique est bien plus élevée (MORA *et al.*, 2011 ; BASSET *et al.*, 2012). Face à ce défi, le développement d'outils pour accélérer l'inventaire du vivant a été sollicité (BLAXTER, 2003 ; WILSON, 2004). Quel naturaliste n'a pas rêvé d'une petite machine qui, tel un lecteur de code-barres d'un magasin, scannerait un échantillon prélevé sur le terrain et identifierait l'espèce auquel cet échantillon appartient ?

Avec le développement rapide de la biologie moléculaire et le séquençage de gènes, la méthode du *barcoding* prétend aller dans cette direction. De même que les codes-barres des produits de l'industrie permettent d'identifier ces produits, une courte séquence d'ADN peut fournir une diagnose rapide des espèces. Comme les codes-barres commerciaux, l'utilisation de ces codes-barres ADN (*barcode* ; HEBERT *et al.*, 2003) nécessite la construction d'une banque de séquences ADN exhaustive qui relie les noms d'espèces aux codes-barres ADN.

Le *barcoding* repose sur la variabilité d'un fragment d'ADN judicieusement choisi, de façon à ce que la variabilité intra-spécifique soit faible, et la variabilité inter-spécifique, relativement forte (voir fig. 1). De manière simpliste, un seuil de variation peut être caractérisé pour chaque groupe taxonomique (de 2 à 12 % selon les taxa) au-dessus duquel les groupes n'appartiennent pas à la même espèce mais forment à la place un taxon supra-spécifique (MEYER & PAULAY, 2005). Chaque espèce serait donc identifiable grâce à la séquence de ce fragment, qui serait alors l'équivalent d'un code-barres. Chez la plupart des animaux, et en particulier chez les Insectes, c'est la première moitié du gène mitochondrial cytochrome oxydase I (COI) qui fait office de *barcode* (HEBERT *et al.*, 2003).

Grâce à l'assignation d'une séquence d'ADN à un nom binominal latin, cette méthode s'applique à de nombreux domaines. Au départ utilisée pour des applications agroalimentaires

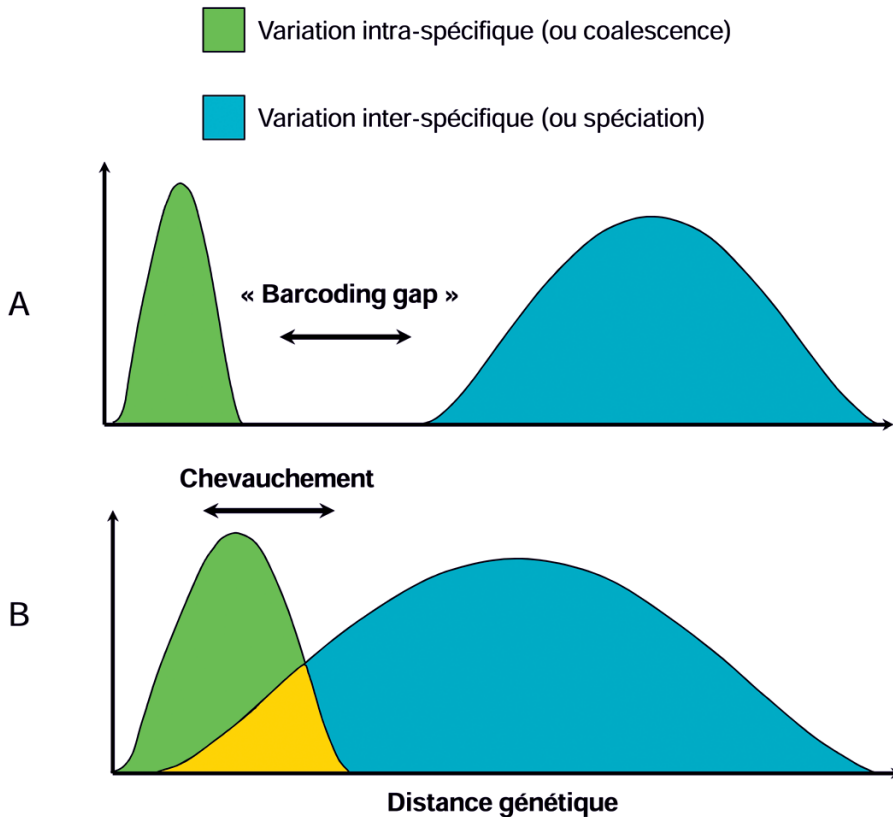


Fig 1. – Schéma expliquant le “*barcoding gap*” dans un cas optimal et montrant le chevauchement dans un cas plus complexe. La distribution de la variation intra-spécifique est indiquée en vert, et la variation inter-spécifique en bleu. (A) Dans un monde idéal où on utilise le *barcoding* ADN pour identifier les individus, la variation génétique intra- et inter-spécifique ne se chevauche pas, on peut observer un “*barcoding gap*”. (B) Une version alternative où cette même variation intra- et inter-spécifique est chevauchante et ne permet plus de discriminer les individus ce qui augmente le taux d’erreur à l’assignation.

(traçabilité de produits alimentaires), son application à tout stade de la vie fait que le *barcoding* a rapidement trouvé de nouvelles applications. Ainsi, cette approche est employée en agronomie (identification des ravageurs et de leurs stades larvaires), en biosécurité (ARMSTRONG & BALL, 2005), en biologie de la conservation (connaissance exacte des espèces à protéger) ou en parasitologie (identification des vecteurs).

Par la suite, le *barcoding* a été utilisé pour inventorier le vivant en établissant une banque de données ADN et en découvrant de nouvelles espèces cryptiques. L’un des premiers exemples d’utilisation du *barcode* est la détection d’espèces cryptique chez le papillon néotropical *Astraptes fulgerator* Walch, 1775 (Lépidoptera, HesperIIDae) (HEBERT *et al.*, 2004). En comparant les séquences de COI de près de 500 spécimens récoltés sur différentes espèces de plantes nourricières, les auteurs ont trouvé plusieurs groupes au sein desquels la variabilité des séquences était très faible. En confrontant ces groupes à des données écologiques (plantes nourricières) et de morphologie larvaire, les auteurs ont ainsi identifié 10 espèces cryptiques.

Cet élan de taxonomie moléculaire (TAUTZ *et al.*, 2003) a favorisé l’apparition de méthodes statistiques associées à des phylogénies moléculaires reconstruites à partir de données de *barcoding*. Notamment, cela a amené le développement des méthodes de délimitation d’espèces comme

l'étude de PONS *et al.* (2006) qui propose un outil utilisant à la fois un modèle de coalescence (qui décrit les relations d'apparentement entre individus à l'échelle intra-spécifique) et un modèle de spéciation (qui décrit les relations d'apparentement entre espèces) visant à estimer un seuil de divergence en deçà duquel les individus appartiennent à une espèce (dite espèce supposée) et au-delà duquel les branchements représentent des événements de spéciations (voir fig. 2). Appliquée au genre australien *Rivacindela* Nidek, 1973 (Coleoptera, Cicindelidae) avec un échantillonnage de 468 individus représentant plusieurs sites géographiques, PONS *et al.* (2006) reconstruisent tout d'abord la phylogénie moléculaire et appliquent leur méthode. En analysant leur phylogénie, ils découvrent 47 espèces alors que la richesse spécifique était initialement mal connue.

Cependant, et malgré l'intérêt de ce type d'approche pour étudier la biodiversité, le *barcoding* souffre certaines critiques à la fois techniques, conceptuelles, et aussi philosophiques. Reposant sur l'utilisation d'un seul marqueur mitochondrial pour assigner un individu à une espèce, une des premières critiques formulées à l'égard du *barcoding* est le choix du marqueur, son degré d'information pour tous les groupes, et les problèmes inhérents à l'ADN mitochondrial (FUNK & OMLAND, 2003). Pour résoudre ceci, les études récentes utilisent une série de gènes plutôt qu'un seul, et en incluant à la fois gènes mitochondriaux et gènes nucléaires pour capturer plus d'information sur la variation génétique intra- et inter-spécifique (CONDAMINE *et al.*, 2013a ; voir fig. 2).

Ensuite, l'effet de l'échantillonnage, notamment géographique, peut avoir un fort impact sur l'estimation de la diversité génétique et donc de la diversité spécifique (BERGSTEN *et al.*, 2012). En échantillonnant peu de localités pour des espèces à larges distributions, il y a une probabilité de négliger une partie de sa diversité et donc de sous-estimer les espèces cryptiques.

Certains auteurs ont ensuite soulevé un problème potentiel au niveau des méthodes pour 1) reconstruire des phylogénies moléculaires mixant événements de spéciation dichotomiques et de coalescence (l'évolution réticulée que l'on trouve au sein des populations), ou pour 2) délimiter le niveau intra- et inter-spécifique lorsque la diversification est rapide et les populations de grande taille, où des espèces proches peuvent alors partager les mêmes *barcodes* (ELIAS *et al.*, 2007). Aujourd'hui, de nombreuses méthodes peuvent être appliquées pour éviter certains biais méthodologiques.

Enfin, le *barcoding* soulève des problèmes d'ordres philosophiques à savoir que certains chercheurs croient qu'il y a mise en péril de la taxonomie classique, à cause d'une compétition entre cette dernière et le *barcoding*, entraînant ainsi une perte de connaissance en histoire naturelle et de financements pour la taxonomie plus traditionnelle (WILL *et al.*, 2005 ; WILL & RUBINOFF, 2004). WHEELER (2005) défend la taxonomie comme un complément à la biologie, en tant que science indépendante, exploratrice, analytique et dont le but est de classer les êtres vivants. L'identification (taxonomie appliquée) est importante mais n'est pas un programme de recherche (WHEELER, 2005). Ainsi, le *barcoding* amène beaucoup d'informations mais peu de connaissances et va permettre de découvrir de nombreuses espèces sans les décrire, ni les nommer (WHEELER, 2005 ; WILL & RUBINOFF, 2004). De plus, certains craignent que l'approche soit favorisée en faveur de la taxonomie traditionnelle et que cela ampute les financements alloués à la taxonomie classique (WILL *et al.*, 2005). Selon la majorité des auteurs, le *barcoding* ne peut remplacer la taxonomie et reste un outil comme un autre mais n'est pas une substitution à la taxonomie traditionnelle, ni un outil pour inférer les phylogénies (WHEELER, 2005 ; WILL *et al.*, 2005). Mais comme le signalent SAVOLAINEN *et al.* (2005), la phylogénie moléculaire était très critiquée il y a 10-20 ans, et le *barcoding* connaît à présent le même sort. Selon eux, cette approche finira par entrer dans les mœurs des taxonomistes au bout d'un certain temps.

Bien que les données de *barcoding* et les résultats obtenus en utilisant des approches de délimitation d'espèces amènent des conclusions intéressantes et nouvelles, il est nécessaire aujourd'hui que ce type de données soit combiné avec d'autres approches plus traditionnelles comme par exemple des données de morphologie et/ou morphométrie, des données écologiques et de terrain. Cette approche, aussi appelée taxonomie intégrative (DAYRAT 2005 ; SCHLICK-STEINER *et al.*, 2010), est maintenant de plus en plus employée, et permet d'obtenir une rigueur dans l'analyse et la découverte de la biodiversité.

Étudier la diversité entre les espèces (systématique et diversification) : des approches macroévolutives de type "phylogénies". – La macroévolution représente l'étude des changements évolutifs qui se produisent au niveau de l'espèce et entre les espèces, et ceci sur de longues périodes de temps (dépassant largement l'espérance de vie humaine). Selon beaucoup d'auteurs, la spéciation marque la limite entre la fin de la microévolution et le commencement de la macroévolution. Tout d'abord réservée aux paléontologistes qui utilisent le registre fossile (ex. LABANDEIRA & SEP Koski, 1993 ; ALROY, 2010), la macroévolution est aujourd'hui de plus en plus étudiée via la reconstruction des phylogénies (CONDAMINE *et al.*, 2013b). Une phylogénie est un arbre évolutif qui retrace les relations de parenté entre les espèces d'un groupe. Initiée par HENNIG (1965), la phylogénétique permet de reconstruire des phylogénies à l'aide de caractères morphologiques et/ou moléculaires (séquences d'ADN) et en se basant sur le principe de l'homologie. Le but de la phylogénétique est de ne rassembler dans un même groupe (ou clade, un ancêtre commun et tous ses descendants) que les espèces qui partagent des caractères homologues : lorsqu'une ressemblance entre deux espèces peut être attribuée à une ascendance commune, on parle d'homologie. La phylogénétique repose donc sur l'identification de l'homologie des caractères.

Avec l'avènement de la phylogénétique, la systématique a été bouleversée à la lumière des découvertes dans les dernières décennies. La classification phylogénétique a même remplacé peu à peu la classification classique qui établit des groupes en fonction de critères morphologiques basés sur la ressemblance globale, alors que la classification phylogénétique regroupe les espèces en fonction de leurs liens de parenté. En entomologie, les études phylogénétiques ont permis de confirmer l'existence de certains groupes, mais à la fois de redéfinir des groupes et d'en créer d'autres. Des avancées spectaculaires ont été réalisées quant à la compréhension de l'organisation et classification des groupes de haut rang taxonomique comme les relations entre ordres (KJER, 2004 ; WIEGMANN *et al.*, 2009 ; MCKENNA & FARRELL, 2010 ; TRAUTWEIN *et al.*, 2012). De manière similaire, des études ont grandement contribué à améliorer les connaissances sur les relations au sein des ordres [Coléoptères (BOCAK *et al.*, 2013) ; Hemiptera (CRYAN & URBAN, 2012) ; Lépidoptères (REGIER *et al.*, 2013) ; Trichoptères (KJER *et al.*, 2002)], des super-familles [Cercopoidea (CRYAN & SVENSON, 2010) ; Chalcidoidea (MUNRO *et al.*, 2011) ; Curculionoidea (MCKENNA *et al.*, 2009) ; Papilionoidea (HEIKKILÄ *et al.*, 2012)] ou dans les familles [Chironomidae (CRANSTON *et al.*, 2010) ; Dytiscidae (RIBERA *et al.*, 2008) ; Nymphalidae (WAHLBERG *et al.*, 2009)]. Cependant, la quête d'un arbre complet des Insectes est aujourd'hui illusoire, et il reste un effort important à faire avant que la plupart des groupes soient étudiés. Témoin en est : la phylogénie la plus complète pour l'ordre des Coléoptères ne contient pas plus de 2 % de la diversité totale du groupe (BOCAK *et al.*, 2013). Pourtant réaliser une phylogénie de plus de 8000 espèces représente déjà un défi de taille avec les méthodes et données actuelles.

Outre l'aspect systématique, les phylogénies fournissent un cadre évolutif qui peut être calibré dans le temps (ou daté). La datation moléculaire permet à partir d'une phylogénie

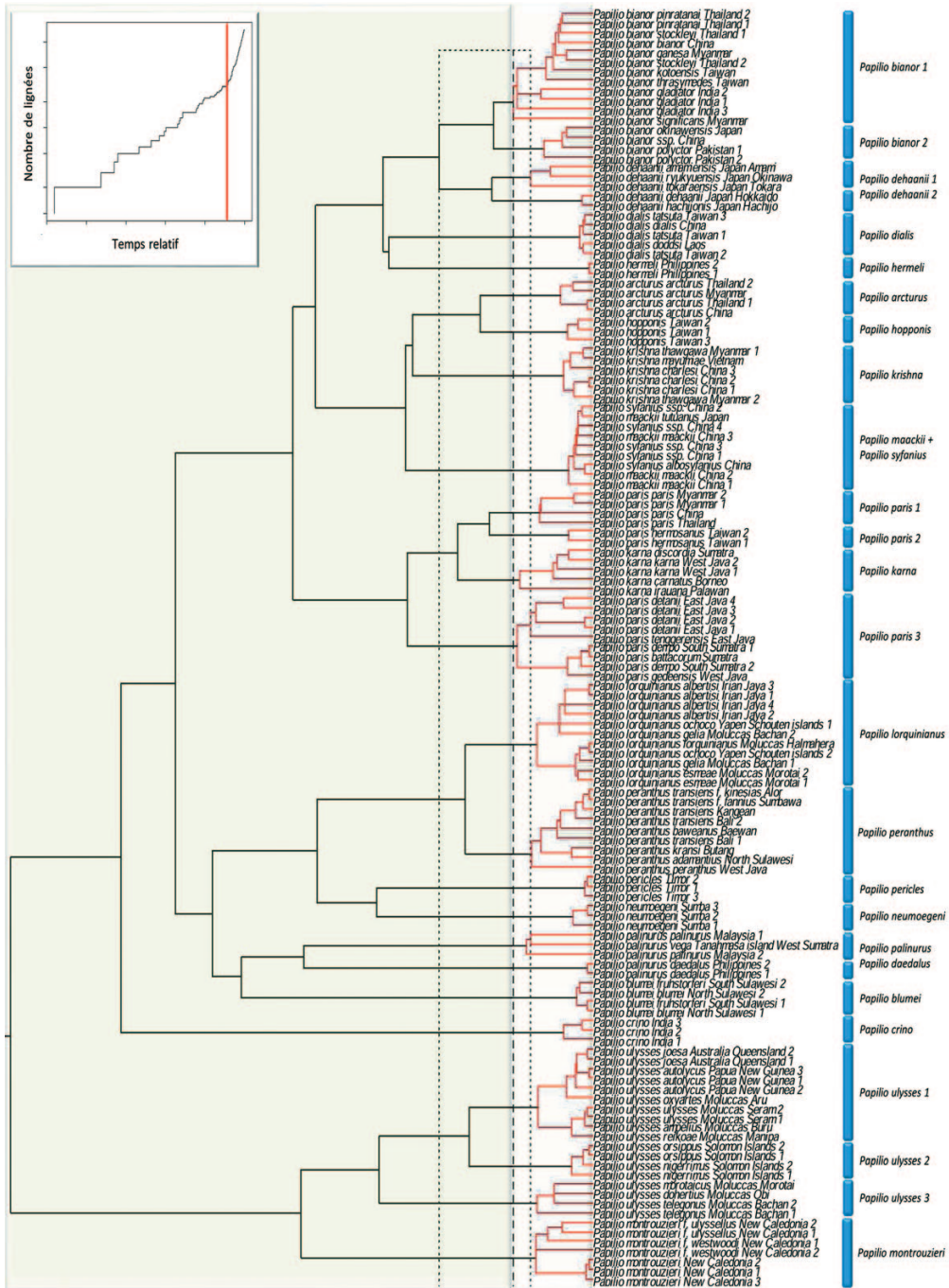


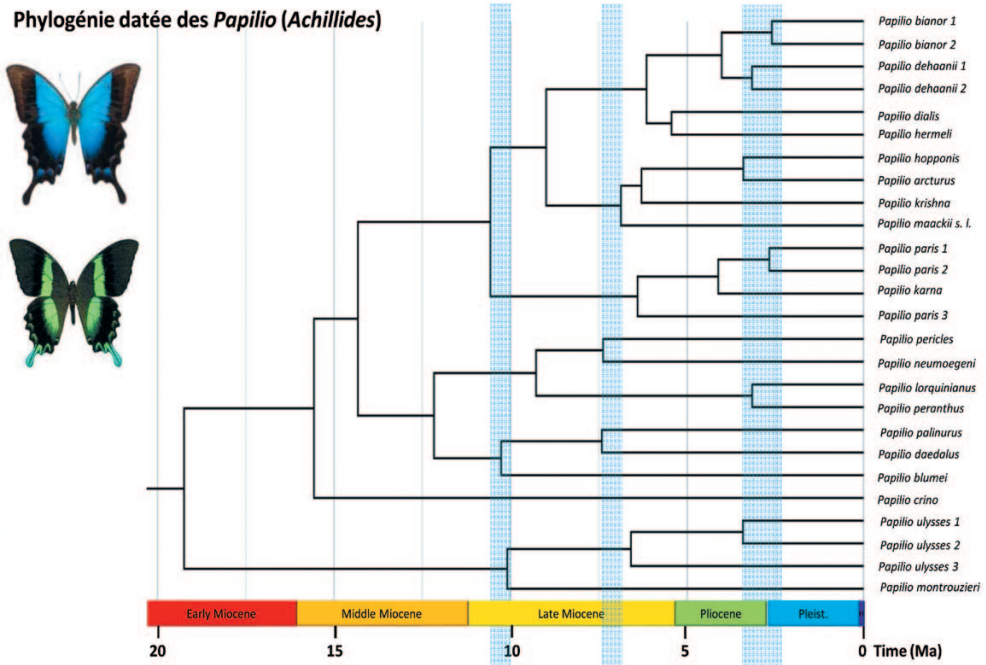
Fig. 2. – Arbre phylogénétique de *Papilio* sous-genre *Achillides*, montrant des groupes de spécimens reconnus comme des espèces supposées. Un groupe génétique reconnu comme une espèce supposée possède des branches rouges, elles-mêmes séparées par une branche plus longue noire. Le seuil (ligne verticale en pointillés) délimite la variation inter-spécifique (à gauche) et intra-spécifique (à droite). L'encadré dans le coin supérieur montre ce seuil sur un graphique du nombre des lignées en fonction du temps. L'augmentation soudaine du taux de branchement, indiquée par une ligne rouge, correspond à la limite entre la variation inter-spécifique et intra-spécifique.

d'obtenir un arbre daté (ou chronogramme) représentant le temps d'évolution d'un groupe depuis son origine jusqu'au présent (voir fig. 3). Très souvent, les groupes sont apparus il y a plusieurs millions d'années, 285 millions d'années pour les Coléoptères par exemple (HUNT *et al.*, 2007). En phylogénétique, l'hypothèse de l'horloge moléculaire est une hypothèse selon laquelle les mutations génétiques s'accumulent dans un génome à une vitesse globalement proportionnelle au temps géologique (ZUCKERKANDL & PAULING, 1962). Elle permet de relier le taux de mutation des gènes au rythme de diversification de l'espèce, d'établir une échelle chronologique d'évolution et un lien temporel entre les espèces. Ainsi l'horloge moléculaire permet de dater des événements de spéciation à l'aide de méthodes phylogénétiques de plus en plus développées (DRUMMOND *et al.*, 2012 ; RONQUIST *et al.*, 2012). Cependant, au fur et à mesure de l'accumulation de données génétiques et l'amélioration des méthodes statistiques, il est clairement apparu que l'hypothèse de l'horloge moléculaire a souvent été invalidée, du moins dans certaines parties de la phylogénie. Pour prendre en compte la variation des changements d'horloge moléculaire à travers le temps et les clades, de nouvelles approches ont été proposées afin de relâcher cette contrainte d'horloge moléculaire stricte via l'utilisation de modèles statistiques plus sophistiqués (maximum de vraisemblance, méthodes bayésiennes), que l'on appelle "horloge moléculaire relâchée" (THORNE *et al.*, 1998 ; DRUMMOND *et al.*, 2006). Il est désormais possible de calibrer l'horloge moléculaire dans certaines parties de la phylogénie en utilisant des contraintes temporelles appelées calibrations (ce sont généralement des fossiles). Les études de datation actuelles ont pour avantage de donner des temps de divergence entre espèces plus précis, et en accord avec les données paléontologiques. De par leur registre fossile pauvre [mais pas inutile (LABANDEIRA & SEPKOSKI, 1993)] en comparaison à leur diversité actuelle, les études de datation de phylogénie moléculaire ont grandement bénéficié à l'analyse de l'origine de la biodiversité entomique (HUNT *et al.*, 2007 ; WAHLBERG *et al.*, 2009 ; WIEGMANN *et al.*, 2011 ; CONDAMINE *et al.*, 2012 ; CRANSTON *et al.*, 2012 ; CRUAUD *et al.*, 2012 ; MOREAU & BELL, 2013).

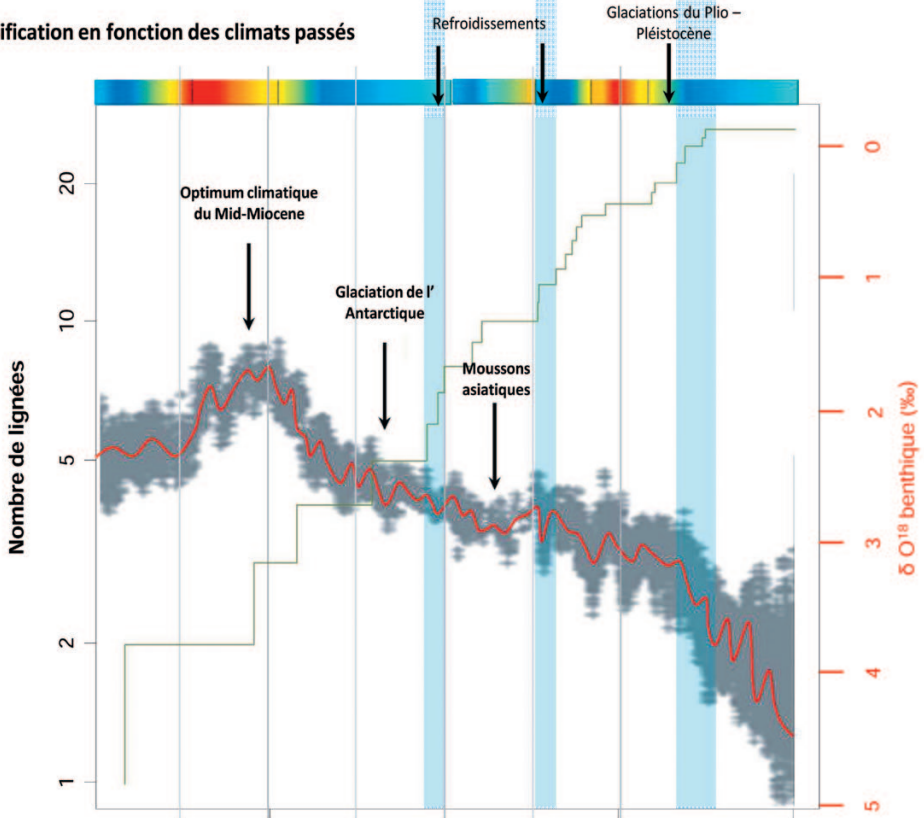
Comme l'avènement de la phylogénie, le rapide essor de la datation moléculaire a engendré un développement parallèle de méthodes qui visent à analyser les chronogrammes, notamment pour estimer les taux de spéciation (formation d'espèces) et taux d'extinction (disparition d'espèces) afin de mieux comprendre les patrons temporels de la dynamique de diversité (voir fig. 3). Basées sur des modèles stochastiques, appelés modèles de naissance-mort [*birth-death* ; NEE *et al.* (1994) ; NEE (2006) ; STADLER (2013)], ces approches utilisent les longueurs des branches d'une phylogénie et confrontent divers scénarios évolutifs pouvant expliquer la diversification d'un clade. Par exemple, il est possible de calculer la vraisemblance ou probabilité d'un scénario dans lequel les espèces se forment à un taux constant et ne s'éteignent pas (modèle de Yule), contre un scénario où les espèces se forment à un taux constant et s'éteignent à un taux constant, ou encore contre un scénario où les espèces se forment et s'éteignent à des taux variables au cours du temps et entre lignées. Il existe maintenant une grande variété de modèles qui analysent la diversification en fonction du temps (MORLON *et al.*, 2011 ; SILVESTRO *et al.*, 2011 ; STADLER, 2011), de la diversité (ETIENNE *et al.*, 2012),

Fig. 3. – Diversification temporelle de *Papilio* sous-genre *Achillides*. Le chronogramme (phylogénie datée) des *Achillides* est placé avec une échelle des temps géologiques allant du Miocène à l'Holocène (H). Au-dessous, un graphique retraçant l'accumulation des lignées à travers le temps montre le rythme de diversification du groupe, par exemple en fonction des changements climatiques. Les estimations des paléo-températures sont superposées (ligne rouge). Les barres horizontales colorées indiquent si le climat était chaud (rouge) ou froid (bleu). Les changements climatiques majeurs pour les vingt derniers millions d'années sont indiqués. Les barres verticales (bleu clair) indiquent l'effet significatif du climat passé sur la diversification des *Achillides*, et identifient trois changements majeurs dans la diversification autour de 10,3, 7,4 et 3,9 millions d'années.

Phylogénie datée des *Papilio* (Achillides)



Diversification en fonction des climats passés



d'un ou plusieurs états de caractères (MADDISON *et al.*, 2007 ; FITZJOHN *et al.*, 2009 ; GOLDBERG *et al.*, 2011 ; RABOSKY *et al.*, 2013), ou en fonction de l'environnement (CONDAMINE *et al.*, 2013b). À titre d'exemples, WIEGMANN *et al.* (2011) ont démontré que les Diptères ont connu trois épisodes de diversification rapide : un à la base de la radiation de l'ordre il y a 220 millions d'années, un à la base des Brachycera il y a 180 millions d'années, et un à la base des Schizophores il y a 65 millions d'années. Ces périodes de forte diversification seraient dues à un certain nombre de transitions du cycle de vie durant plus de 260 millions d'années comme l'hématophagie, la phytophagie et le parasitisme. CONDAMINE *et al.* (2012) ont étudié le gradient latitudinal de diversité des Papilionidae (origine autour de 52 millions d'années) et ont mis en évidence des taux différents de diversification entre les clades tropicaux et tempérés. En outre ils montrent que les clades tropicaux et tempérés ont répondu différemment lors des changements climatiques passés, à savoir que les refroidissements climatiques ont positivement influencé le clade tropical et au contraire les réchauffements climatiques ont positivement impacté le clade tempéré. Un dernier exemple est la mise en évidence d'une extinction de masse chez les Abeilles Xylocopinae il y a 66 millions d'années (REHAN *et al.*, 2013). Compte tenu de la répartition très inégale des Abeilles dans le registre fossile, identifier de tels évènements en utilisant celui-ci est très difficile, ce qui démontre l'avantage d'utiliser les phylogénies datées et des modèles statistiques performants. Les approches étudiant le rôle des caractères (morphologiques par exemple) dans la diversification ont apporté énormément à notre compréhension des processus biologiques qui conduisent à la diversification chez certains groupes (PRICE *et al.*, 2012), cependant ces outils de diversification ont encore été peu utilisés sur des groupes d'Insectes.

Enfin, les méthodes macroévolutives permettent d'explorer les patrons spatiaux de diversification, ou encore appelés patrons de distributions. Étant donnée une phylogénie datée et des données de répartition des espèces, il est aujourd'hui possible de reconstruire les aires ancestrales aux évènements de spéciation et de remonter jusqu'à l'origine du groupe [biogéographie historique (LOMOLINO *et al.*, 2010)]. Là encore, la multiplication des phylogénies a favorisé l'apparition de méthodes pour étudier la biogéographie et il existe plusieurs types d'approches mais un consensus apparaît avec le développement des méthodes en maximum de vraisemblance et bayésiennes (RONQUIST & SANMARTIN, 2011). Notamment ces méthodes prennent en compte les âges des clades et évènements de spéciation, mais aussi l'histoire géologique de la région sur laquelle le groupe se trouve aujourd'hui (REE & SMITH, 2008 ; SMITH, 2009 ; LANDIS *et al.*, 2013). Ces approches permettent de reconstruire plus ou moins finement des scénarios biogéographiques données en testant des hypothèses de vicariance ou de dispersion selon la configuration des régions à l'époque, les données de répartition et de la phylogénie. Plusieurs études ont utilisé ces méthodes sur des groupes d'Insectes et ont permis de montrer que l'histoire biogéographique est plus compliquée que l'on pensait. En effet, il est commun de retrouver des effets confondants entre vicariance et dispersion à tel point que la signature de l'un peut être masquée par l'autre du fait d'évènements de dispersion à longue distance (CLAYTON *et al.*, 2009 ; CRISP *et al.*, 2011). Par exemple chez les Papilionidae, un groupe supposé ancien et apparu dans le Gondwana, révèle en fait une origine dans la région de Béring il y a 52 millions d'années quand le climat était subtropical. Les analyses montrent une combinaison d'évènements de vicariance dus à des changements climatiques, plutôt qu'à la tectonique, et des dispersions vers le sud pour atteindre les régions tropicales équatoriales (CONDAMINE *et al.*, 2013c). Cet exemple n'est pas isolé car plusieurs analyses récentes mettent en évidence la complexité des patrons de diversification géographique et cela est encore plus vrai quand le groupe est en étroite interaction avec des plantes nourricières (CRUAUD *et al.*, 2012).

Bien que toutes ces méthodes apportent énormément à notre compréhension de la diversité des Insectes, il reste néanmoins des limites à certaines approches dont la plus fondamentale est notre vision dichotomique de la diversification des espèces (représentée par des phylogénies bifurquées). Les polytomies sont considérées comme des artefacts dus soit à un manque de données pour résoudre la polytomie soit à des biais méthodologiques. Cependant une évolution non dichotomique est plausible et peut représenter de réels phénomènes évolutifs. De plus la spéciation n'est pas uniquement un événement instantané (encadré 2) et certains auteurs pensent qu'une spéciation qui se met en place sur une longue durée contribue à l'évolution de certains groupes (ETIENNE & ROSINDELL, 2012). Même si cette forme de spéciation ne peut pas rendre compte de toutes les tendances observées, elle permet d'expliquer certains phénomènes évolutifs comme le tri incomplet de lignée ou la paraphylie d'espèces (ETIENNE & ROSINDELL, 2012). Par ailleurs, de plus en plus de cas où les espèces ont une origine et une évolution réticulées, par hybridation et transfert de fragments de génome, sont documentés, comme en témoignent les études sur *Heliconius heurippa* (MAVAREZ *et al.*, 2006) et *H. timareta* (HELICONIUS GENOME CONSORTIUM, 2012).

Perspectives : vers une meilleure intégration des disciplines. – En résumé, il existe de nombreux outils pour étudier et analyser la biodiversité, selon l'échelle taxonomique à laquelle le chercheur se place. Cependant, chaque approche est généralement pratiquée par des équipes de recherche différentes, créant souvent un fossé entre micro- et macroévolution. Il est de plus en plus reconnu qu'il faut combiner les différentes échelles d'étude taxonomique afin de mieux comprendre les processus évolutifs se produisant aux événements de spéciation. De nombreuses questions sur la génération de biodiversité restent en suspens (BUTLIN *et al.*, 2012). Grâce au séquençage haut débit, certaines de ces questions pourront être étudiées (SOUSA & HEY, 2013), mais une approche intégrative est nécessaire pour relever les défis posés.

Dans cet élan d'intégration, il est crucial de préserver une connaissance profonde de la biodiversité en intégrant des systématiciens et taxonomistes, qui apportent en outre de précieuses données morphologiques permettant par exemple d'inclure des espèces rares ou éteintes dans les phylogénies moléculaires (WOOD *et al.*, 2013). De plus, il reste important de continuer l'inventaire de la biodiversité car beaucoup d'espèces attendent d'être décrites. Dans cette perspective, l'association du *barcoding* avec les taxonomistes devient essentielle (PADIAL *et al.*, 2010).

Enfin, et bien que la majorité de la biodiversité des Insectes reste non étudiée d'un point de vue moléculaire, l'apport de ces méthodes va grandement bénéficier à notre compréhension des facteurs qui ont conduit à une telle richesse spécifique et morphologique. En utilisant les modèles de diversification, il devient possible de comprendre l'impact des événements climatiques passés sur la réponse de la biodiversité (MAYHEW *et al.*, 2008). De telles études permettraient en outre d'anticiper les réponses actuelles et futures dans un contexte de changement climatique.

Remerciements. – Nous remercions Patrick Blandin pour nous avoir invités à présenter ce texte au colloque de la *Société entomologique de France* du 15-16 novembre 2013, intitulé "L'entomologie en France : son utilité publique".

AUTEURS CITÉS

- ALFARO M. E., SANTINI F., BROCK C., ALAMILLO H., DORNBURG A., RABOSKY D. L., CARNEVALE G. & HARMON L. J., 2009. – Nine exceptional radiations plus high turnover explain species diversity in jawed vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **106** : 13410-13414.
- ALROY J., 2010. – The shifting balance of diversity among major marine animal groups. *Science*, **329** : 1191-1194.
- ARMSTRONG K. F. & BALL S. L., 2005. – DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, (B) **360** : 1813-1823.

- BASSET Y., CIZEK L., CUÉNOUD P., DIDHAM R. K., GUILHAUMON F., MISSA O., NOVOTNY V., ØDEGAARD F., ROSLIN T., SCHMIDL J., TISHECHKIN A. K., WINCHESTER N. N., ROUBIK D. W., ABERLENC H.-P., BAIL J., BARRIOS H., BRIDLE J. R., CASTAÑO-MENESES G., CORBARA B., CURLETTI G., DUARTE DA ROCHA W., DE BAKKER D., DELABIE J. H. C., DEJEAN A., FAGAN L. L., FLOREN A., KITCHING R. L., MEDIANERO E., MILLER S. E., GAMA DE OLIVEIRA E., ORIVEL J., POLLET M., RAPP M., RIBEIRO S. P., ROISIN Y., SCHMIDT J. B., SØRENSEN L. & LEPONCE M., 2012. – Arthropod diversity in a tropical forest. *Science*, **338** : 1481-1484.
- BERGSTEN J., BILTON D. T., FUJISAWA T., ELLIOTT M., MONAGHAN M. T., BALKE M., HENDRICH L., GEIJER J., HERRMANN J., FOSTER G. N., RIBERA I., NILSSON A. N., BARRACLOUGH T. G. & VOGLER A. P., 2012. – The effect of geographical scale of sampling on DNA barcoding. *Systematic Biology*, **61** : 851-869.
- BLAXTER M., 2003. – Counting angels with DNA. *Nature*, **421** : 122-124.
- BOCAK L., BARTON C., CRAMPTON-PLATT A., CHESTERS D., AHRENS D. AND VOGLER A. P., 2013. – Building the Coleoptera tree-of-life for >8000 species: composition of public DNA data and fit with Linnaean classification. *Systematic Entomology*, **39** : 97-110.
- BUTLIN R., DEBELLE A., KERTH C., SNOOK R. R., BEUKEBOOM L. W., CASTILLO CAJAS R. F., DIAO W., MAAN M. E., PAOLUCCI S., WEISSING F. J., VAN DE ZANDE L., HOIKKALA A., GEUVERINK E., JENNINGS J., KANKARE M., KNOTT K. E., TYUKMAEVA V. I., ZOUHADAKIS C., RITCHIE M. G., BARKER D., IMMONEN E., KIRKPATRICK M., NOOR M., MACIAS GARCIA C., SCHMITT T. & SCHILTHUIZEN M., 2012. – What do we need to know about speciation? *Trends in Ecology and Evolution*, **27** : 27-39.
- CLAYTON J. W., SOLTIS P. S. & SOLTIS D. E., 2009. – Recent long-distance dispersal overshadows ancient biogeographical patterns in a pantropical angiosperm family (Simaroubaceae, Sapindales). *Systematic Biology*, **58** : 395-410.
- CONDAMINE F. L., SPERLING F. A., WAHLBERG N., RASPLUS J.-Y. & KERGOAT G. J., 2012. – What causes latitudinal gradients in species diversity? Evolutionary processes and ecological constraints on swallowtail biodiversity. *Ecology Letters*, **15** : 267-277.
- CONDAMINE F. L., TOUSSAINT E. F. A., COTTON A. M., GENSON G. S., SPERLING F. A. H. & KERGOAT G. J., 2013a. – Fine-scale biogeographical and temporal diversification processes of peacock swallowtails (*Papilio* subgenus *Achillides*) in the Indo-Australian Archipelago. *Cladistics*, **29** : 88-111.
- CONDAMINE F. L., ROLLAND J. & MORLON H., 2013b. – Macroevolutionary perspectives to environmental change. *Ecology Letters*, **16** : 72-85.
- CONDAMINE F. L., SPERLING F. A. H. & KERGOAT G. J., 2013c. – Global biogeographical pattern of swallowtail diversification demonstrates alternative colonization routes in the Northern and Southern hemispheres. *Journal of Biogeography*, **40** : 9-23.
- CRANSTON P. S., HARDY N. B., MORSE G. E., PUSLEDNIK L. & MCLUEN S. R., 2010. – When molecules and morphology concur: the ‘Gondwanan’ midges (Diptera: Chironomidae). *Systematic Entomology*, **35** : 636-648.
- CRANSTON P. S., HARDY N. B. & MORSE G. E., 2012. – A dated molecular phylogeny for the Chironomidae (Diptera). *Systematic Entomology*, **37** : 172-188.
- CRISP M. D., TREWICK S. A. & COOK L. G., 2011. – Hypothesis testing in biogeography. *Trends in Ecology and Evolution*, **26** : 66-72.
- CRUAUD A., RØNSTED N., CHANTARASUWAN B., CHOU L. S., CLEMENT W., COULOUX A., COUSINS B., FOREST F., GENSON G., HARRISON R.D., HOSSAERT-McKEY M., JABBOUR-ZAHAB R., JOUSSELIN E., KERDELHUÉ C., KJELLBERG F., LOPEZ-VAAMONDE C., PEEBLES J., PEREIRA R. A. S., SCHRAMM T., UBADILLAH R., VAN NOORT S., WEIBLEN G. D., YANG D. R., YAN-QIONG P., YODPINYANEE A., LIBESKIND-HADAS R., COOK J. M., RASPLUS J.-Y. & SAVOLAINEN V., 2012. – An extreme case of plant-insect co-diversification: figs and fig-pollinating wasps. *Systematic Biology*, **61** : 1029-1047.
- CRYAN J. R. & SVENSON G. J., 2010. – Family-level relationships of the spittlebugs and froghoppers (Hemiptera: Cicadomorpha: Cercopoidea). *Systematic Entomology*, **35** : 393-415.
- CRYAN J. R. & URBAN J. M., 2012. – Higher-level phylogeny of the insect order Hemiptera: is Auchenorrhyncha really paraphyletic? *Systematic Entomology*, **37** : 7-21.
- DAVIES M. P., MIDFORD P. E. & MADDISON W. P., 2013. – Exploring power and parameter estimation of the BiSSE method for analysing species diversification. *BMC Evolutionary Biology*, **13** : 38.

- DAYRAT B., 2005. – Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85** : 407-415.
- DRUMMOND A. J., HO S. Y. W., PHILLIPS M. J. & RAMBAUT A., 2006. – Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, **4** : e88.
- DRUMMOND A. J., SUCHARD M. A., XIE D. & RAMBAUT A., 2012. – Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, **29** : 1969-1973.
- ELIAS M., HILL R. I., WILLMOTT K. R., DASMAHAPATRA K. K., BROWER A. V. Z., MALLET J. & JIGGINS C. D., 2007. – Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B) **274** : 2881-2889.
- ETIENNE R. S., HAEGEMAN B., STADLER T., AZE T., PEARSON P. N., PURVIS A. & PHILLIMORE A. B., 2012. – Diversity-dependence brings molecular phylogenies closer to agreement with the fossil record. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B) **279** : 1300-1309.
- ETIENNE R. S. & ROSINDELL J., 2012. – Prolonging the past counteracts the pull of the present: Protracted speciation can explain observed slowdowns in diversification. *Systematic Biology*, **61** : 204-213.
- FEDER J. L. & NOSIL P., 2010. – The efficacy of divergence hitchhiking in generating genomic islands during ecological speciation. *Evolution*, **64** : 1729-1747.
- FITZJOHN R. G., MADDISON W. P. & OTTO S. P., 2009. – Estimating trait-dependent speciation and extinction rates from incompletely resolved phylogenies. *Systematic Biology*, **58** : 595-611.
- FUNK D. J. & OMLAND K. E., 2003. – Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **34** : 397-423.
- GIRALDO N., SALAZAR C., JIGGINS C., BIRMINGHAM E. & MAURICIO L., 2008. – Two sisters in the same dress: *Heliconius* cryptic species. *BMC Evolutionary Biology*, **8** : 324
- GOLDBERG E. E., LANCASTER L. T. & REE R. H., 2011. – Phylogenetic inference of reciprocal effects between geographic range evolution and diversification. *Systematic Biology*, **60** : 451-465.
- HEBERT P. D. N., CYWINSKA A., BALL S. L. & DE WAARD J. R., 2003. – Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B) **270** : 313-322.
- HEBERT P. D. N., PENTON E. H., BURNS J. M., JANZEN D. H. & HALLWACHS W., 2004. – Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astrapes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101** : 14812-14817.
- HEIKKILÄ M., KAILA L., MUTANEN M., PENA C. & WAHLBERG N., 2012. – Cretaceous origin and repeated tertiary diversification of the redefined butterflies. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B) **279** : 1093-1099.
- HELICONIUS GENOME CONSORTIUM, 2012. – Butterfly genome reveals promiscuous exchange of mimicry adaptations among species. *Nature*, **487** : 94-98.
- HENNIG W., 1965. – Phylogenetic systematics. *Annual Review of Entomology*, **10** : 97-116.
- HUNT T., BERGSTEN J., LEVKANIČOVA Z., PAPADOPOULOU A., SAINT JOHN O., WILD R., HAMMOND P. M., AHRENS D., BALKE M., CATERINO M. S., GÓMEZ-ZURITA J., RIBERA I., BARRACLOUGH T. G., BOCAKOVA M., BOCAK L. & VOGLER A. P., 2007. – A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a superradiation. *Science*, **318** : 1913-1916.
- KJER K. M., BLAHNIK R. J. & HOLZENTHAL R. W., 2002. – Phylogeny of caddisflies (Insecta, Trichoptera). *Zoologica Scripta*, **31** : 83-91.
- KJER K. M., 2004. – Aligned 18S and insect phylogeny. *Systematic Biology*, **53** : 506-514.
- LABANDEIRA C. C. & SEPKOSKI JR. J. J., 1993. – Insect diversity in the fossil record. *Science*, **261** : 310-315.
- LANDIS M. J., MATZKE N. J., MOORE B. R. & HUELSENBECK J. P., 2013. – Bayesian analysis of biogeography when the number of areas is large. *Systematic Biology*, **62** : 789-804.
- MADDISON W. P., MIDFORD P. E. & OTTO S. P., 2007. – Estimating a binary character's effect on speciation and extinction. *Systematic Biology*, **56** : 701-710.
- MAVAREZ J., SALAZAR C. A., BIRMINGHAM E., SALCEDO C., JIGGINS C. D. & LINARES M., 2006. – Speciation by hybridization in *Heliconius* butterflies. *Nature*, **441** : 868-871.
- MAYHEW P. J., JENKINS G. B. & BENTON T. G., 2008. – A long-term association between global temperature and biodiversity, origination and extinction in the fossil record. *Proceedings of the Royal Society of London*, (B) **275** : 47-53.

- MAYR E., 1942. – Systematics and the Origin of Species. New York : Columbia University Press.
- McKENNA D. D., SEQUEIRA A. S., MARVALDI A. E. & FARRELL B. D., 2009. – Temporal lags and overlap in the diversification of weevils and flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **106** : 7083-7088.
- McKENNA D. D. & FARRELL B. D., 2010. – 9-genes reinforce the phylogeny of Holometabola and yield alternate views on the phylogenetic placement of Strepsiptera. *PLoS One*, **5** : e11887.
- MÉROT C., MAVÁREZ J., DASMAHAPATRA K. K., MALLET J., LAMAS G. & JORON M., 2013. – Genetic differentiation without mimicry shift in a pair of hybridizing *Heliconius* species. *Biological Journal of the Linnean Society*, **109** : 830-847.
- MEYER C. P. & PAULAY G., 2005. – DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biology*, **3** : 2229-2238.
- MORA C., TITTENSOR D. P., ADL S., SIMPSON A. G. B. & WORM B., 2011. – How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biology*, **9** : e1001127.
- MOREAU C. S. & BELL C. D., 2013. – Testing the museum versus cradle biological diversity hypothesis: Phylogeny, diversification, and ancestral biogeographic range evolution of the ants. *Evolution*, **67** : 2240-2257.
- MORLON H., PARSONS T. L. & PLOTKIN J., 2011. – Reconciling molecular phylogenies with the fossil record. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **108** : 16327-16332.
- MUNRO J. B., HERATY J. M., BURKS R. A., HAWKS D., MOTTERN J., CRUAUD A., RASPLUS J.-Y. & JANSTA P., 2011. – A molecular phylogeny of the Chalcidoidea (Hymenoptera). *PLoS One*, **6** : e27023.
- NEE S., MAY R. M. & HARVEY P. H., 1994. – The reconstructed evolutionary process. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, (B) **344** : 305-311.
- NEE S., 2006. – Birth-death models in macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **37** : 1-17.
- PADIAL J. M., MIRALLES A., DE LA RIVA I., VENCES M., 2010. – The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, **7** : 16.
- PONS J., BARROCLOUGH T. G., GOMEZ-ZURITA J., CARDOSO A., DURAN D. P., HAZELL S., KAMOUN S., SUMLIN W. D. & VOGLER A. P., 2006. – Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, **55** : 595-609.
- PRICE S. A., HOPKINS S. S. B., SMITH K. K. & ROTH V. L., 2012. – Tempo of trophic evolution and its impact on mammalian diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **109** : 7008-7012.
- RABOSKY D. L., SANTINI F., EASTMAN J., SMITH S. A., SIDLAUSKAS B., CHANG J. & ALFARO M. E., 2013. – Rates of speciation and morphological evolution are correlated across the largest vertebrate radiation. *Nature Communications*, **4** : 1958.
- REE R. H. & SMITH S. A., 2008. – Maximum-likelihood inference of geographic range evolution by dispersal, local extinction, and cladogenesis. *Systematic Biology*, **57** : 4-14.
- REGIER J. C., MITTER C., ZWICK A., BAZINET A. L., CUMMINGS M. P., KAWAHARA A. Y., SOHN J.-C., ZWICKL D. J., CHO S., DAVIS D. R., BAIXERAS J., BROWN J., PARR C., WELLER S., LEES D. C. & MITTER K. T., 2013. – A large-scale, higher-level, molecular phylogenetic study of the insect order Lepidoptera (moths and butterflies). *PLoS One*, **8** : e58568.
- REHAN S. M., LEYS R. & SCHWARZ M. P., 2013. – First evidence for a massive extinction event affecting bees close to the K-T boundary. *PLoS One*, **8**, e76683.
- RIBERA I., VOGLER A. P. & BALKE M., 2008. – Molecular phylogeny and diversification of diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae). *Cladistics*, **24** : 563-590.
- RONQUIST F. & SANMARTÍN I., 2011. – Phylogenetic methods in biogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **42** : 441-464.
- RONQUIST F., TESLENKO M., VAN DER MARK P., AYRES D. L., DARLING A., HÖHNA S., LARGET B., LIU L., SUCHARD M. A. & HUELSENBECK J. P., 2012. – MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, **61** : 539-542.
- SAVOLAINEN V., COWAN R. S., VOGLER A. P., RODERICK G. K. & LANE R., 2005. – Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, (B) **360** : 1805-1811.

- SCHLICK-STEINER B. C., STEINER F. M., SEIFERT B., STAUFFER C., CHRISTIAN E. & CROZIER R. H., 2010. – Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology*, **55** : 421-438.
- SILVESTRO D., SCHNITZLER J. & ZIZKA G., 2011. – A Bayesian framework to estimate diversification rates and their variation through time and space. *BMC Evolutionary Biology*, **11** : 311.
- SMITH S. A., 2009. – Taking into account phylogenetic and divergence-time uncertainty in a parametric biogeographical analysis of the Northern Hemisphere plant clade Caprifoliaceae. *Journal of Biogeography*, **36** : 2324-2337.
- SOUSA V. & HEY J., 2013. – Understanding the origin of species with genome-scale data: modelling gene flow. *Nature Reviews Genetics*, **14** : 404-414.
- STADLER T., 2011. – Mammalian phylogeny reveals recent diversification rate shifts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **108** : 6187-6192.
- 2013. – Recovering speciation and extinction dynamics based on phylogenies. *Journal of Evolutionary Biology*, **26** : 1203-1219.
- STEINER F. M., SCHLICK-STEINER B. C., KONRAD H., MODER K., CHRISTIAN E., SEIFERT B., CROZIER R. H., STAUFFER C. & BUSCHINGER A., 2006. – No sympatric speciation here: multiple data sources show that the ant *Myrmica microrubra* is not a separate species but an alternate reproductive morph of *Myrmica rubra*. *Journal of Evolutionary Biology*, **19** : 777-787.
- TAUTZ D., ARCTANDER P., MINELLI A., THOMAS R. H. & VOGLER A. P., 2003. – A plea for DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, **2** : 70-74.
- THORNE J. L., KISHINO H. & PAINTER I. S., 1998. – Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **15** : 1647-1657.
- TRAUTWEIN M. D., WIEGMANN B. M., BEUTEL R., KJER K. M. & YEATES D. Y., 2012. – Advances in insect phylogeny at the Dawn of the Postgenomic Era. *Annual Review of Entomology*, **57** : 449-458.
- VEPSALAINEN K., EBSEN J. R., SAVOLAINEN R. & BOOMSMA J. J., 2009. – Genetic differentiation between the ant *Myrmica rubra* and its microgynous social parasite. *Insectes Sociaux*, **56** : 425-437.
- WAHLBERG N., LENEVEU J., KODANDARAMAIAH U., PENA C., NYLIN S., FREITAS A. V. L. & BROWER A. V. Z., 2009. – Nymphalid butterflies diversify following near demise at the Cretaceous/Tertiary boundary. *Proceedings of the Royal Society of London, (B)* **276** : 4295-4302.
- WHEELER Q. D., 2005. – Losing the plot: DNA “barcodes” and taxonomy. *Cladistics*, **21** : 405-407.
- WIEGMANN B. M., TRAUTWEIN M. D., KIM J. W., CASSEL B. K., BERTONE M. A., WINTERTON S. L. & YEATES D. K., 2009. – Single-copy nuclear genes resolve the phylogeny of the holometabolous insects. *BMC Evolutionary Biology*, **7** : 34.
- WIEGMANN B. M., TRAUTWEIN M. D., WINKLER I. S., BARR N. B., KIM J.-W., LAMBKIN C., BERTONE M. A., CASSEL B. K., BAYLESS K. M., HEIMBERG A. M., WHEELER B. M., PETERSON K. J., PAPE T., SINCLAIR B. J., SKEVINGTON J. H., BLAGODEROV V., CARAVAS J., NARAYANAN KUTTY S., SCHMIDT-OTT U., KAMPMEIER G. E., THOMPSON F. C., GRIMALDI D. A., BECKENBACH A. T., COURNEY G. W., FRIEDRICH M., MEIER R. & YEATES D. K., 2011. – Episodic radiations in the fly tree of life. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **108** : 5690-5695.
- WILL K. W. & RUBINOFF D., 2004. – Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification. *Cladistics*, **20** : 47-55.
- WILL K. W., MISHLER B. D. & WHEELER Q. D., 2005. – The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic Biology*, **54** : 844-851.
- WILSON E. O., 2004. – Taxonomy as a fundamental discipline. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, (B)* **359** : 739.
- WOOD H. M., MATZKE N. J., GILLESPIE R. G. & GRISWOLD C. E. 2013. – Treating fossils as terminal taxa in divergence time estimation reveals ancient vicariance patterns in the palimanoid spiders. *Systematic Biology*, **62** : 264-284.
- ZUCKERKANDL E. & PAULING L., 1962. – Molecular disease, evolution, and genetic heterogeneity (p. 189-225). In : Kasha M. & Pullman B. (éds), *Horizons in Biochemistry*. New York : Academic Press, 604 p.