Oopsacas minuta, un animal amibotien :

Les preuves génétiques soutiennent un cas d'évolution multicellulaire à partir d'un ancêtre amibozoaire

Auteurs : Ashley M. Gjøvik, B.S., J.D. (ashleymgjovik@protonmail.com)| **Date** : 06 juillet 2025

Translated to French with DeepL Translate

Résumé

Une analyse moléculaire complète de l'éponge de verre Lyssacinosida *Oopsacas minuta* avec des recherches BLAST bidirectionnelles a produit un long alignement, 80-85% d'identité de séquence avec des amibozoaires nucléariidés (*Nuclearia thermophila*, *N. simplex*, *N. pattersoni*) à travers les marqueurs ARNr 18S, ARNr 28S, et mitochondriaux. La validation croisée révèle de fortes affinités avec *Fonticula alba*, y compris à travers un alignement de 5,2 kb de facteurs de traitement du pré-ARNm. Une analyse BLAST récursive a révélé d'autres correspondances fortes entre *Oopsacas minuta* et des amibozoaires, des champignons prédateurs, des protistes complexes, des Excavata et des holozoaires basaux.

Une validation élargie des espèces d'éponges de verre a confirmé que ces fortes correspondances ne sont pas présentes dans d'autres éponges de verre. En outre, les tests ont montré que même les espèces de Lyssacinosida étroitement apparentées ne partageaient pas du tout les correspondances ou ne présentaient que des alignements faibles.

Ces signatures génétiques, combinées à la compréhension actuelle de la physiologie et du génome inhabituels d'*Oopsacas minuta*, semblent indiquer qu'*Oopsacas minuta* représente une lignée d'amibozoaires qui a atteint une organisation multicellulaire permanente indépendamment des voies de développement des métazoaires, présentant une convergence morphologique vers une architecture semblable à celle des éponges tout en conservant l'identité génétique fondamentale des amibozoaires.

Mots-clés

Oopsacas minuta, phylogénétique moléculaire, BLAST, Amoebozoa, Nuclearia, Fonticula, Hexactinellida, Lyssacinosida, évolution multicellulaire, systématique eucaryote, ascendance amoebozoaire, évolution métazoaire, multicellularité alternative, organisation syncytiale.

Citation

Gjøvik, Ashley M. "*Oopsacas minuta*, un animal amibotien : Genetic Evidence Supports a Case of Multicellular Evolution from Amoebozoan Ancestry", *The Journal of Decolonized Ecology and Evolution* 1, no. 1 (6 juillet 2025). DOI 10.5281/zenodo.15815730

Données supplémentaires

Journal : https://osf.io/ur79d/ DOI 10.17605/OSF.IO/UR79D

Données du premier numéro : https://osf.io/69whf/ DOI 10.17605/OSF.IO/69WHF

Table des matières

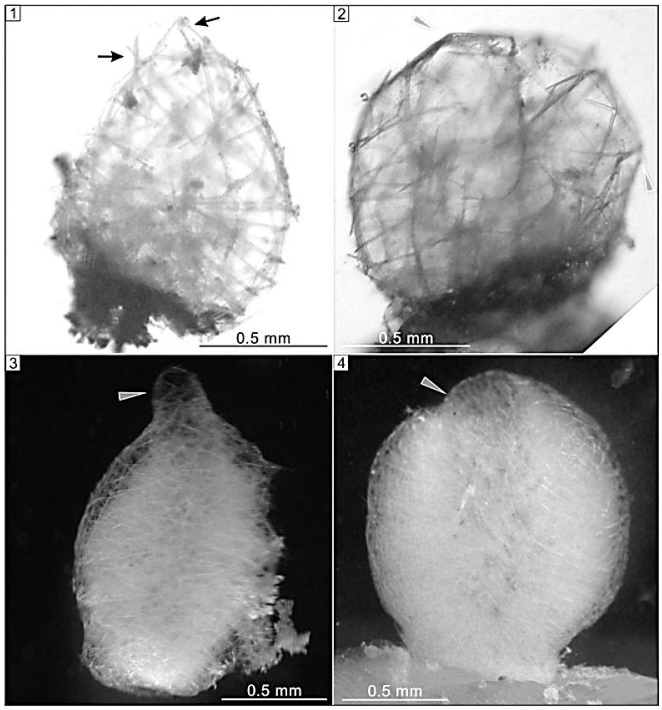
Introduction 3
Contexte : La nature anormale d'Oopsacas minuta 3
Position taxonomique et caractéristiques morphologiques 3
Architecture et formation des spicules 3
Divergence physiologique et développementale 4
Simplification génomique 4
Absence critique de la machinerie de silicification 5
Méthodes utilisées 5
Résultats 5
De fortes affinités phylogénétiques avec les amibozoaires 5
Conservation du génome mitochondrial 6
Fonticula alba : La connexion des amibozoaires sœurs 6
Analyse complète des gènes codant pour les protéines 6
Relations eucaryotes plus larges 6
Validation par l'analyse d'une base de données élargie 7
Vérification des sources et intégrité des données 7
Couverture complète de la base de données : Analyse BLAST récursive 7
Relation avec les éponges de verre hexactinellides 7
Test comparatif de l'ascendance des protistes dans les lignées d'éponge de verre 8
Correspondances avec la base de données sur les procaryotes : Signaux évolutifs anciens 8
Base de données personnalisée sur les amiboïdes : Renforcement des affinités avec les amibozoaires 8
Validation au niveau des protéines et analyse fonctionnelle 9
Conclusion de l'analyse systématique : Lignes de preuve convergentes 9
Discussion 9
Un nouvel animal amibozoaire 9
Multicellularité des amibozoaires et hypothèse des prototypes multiples 10
Autres explications des similitudes moléculaires 11
Lacunes de la recherche et biais taxonomiques 12
Lyssacinosida : l'architecture ancestrale des éponges 12
Orientations futures de la recherche 13
Conclusions de l'étude 13
Remerciements 14
Références 14

Introduction

Dans cette étude, des recherches BLAST bidirectionnelles démontrent qu'*Oopsacas minuta* présente une identité de séquence de 80 à 85 % avec les amibozoaires nucléariidés pour de multiples marqueurs conservés, y compris l'ARNr 18S, l'ARNr 28S et les gènes mitochondriaux. Ces affinités phylogénétiques sont cohérentes dans les directions de recherche avant et arrière, avec une similarité particulièrement forte avec *Nuclearia thermophila* et *Fonticula alba*. En particulier, l'analyse du génome mitochondrial montre une identité de 81,1 % avec *N. thermophila* sur 1 985 paires de bases.

Ces signatures moléculaires suggèrent qu'*Oopsacas minuta* pourrait représenter une lignée d'amibozoaires ayant atteint indépendamment une organisation multicellulaire. Les données indiquent une évolution convergente possible vers une architecture semblable à celle des éponges par différentes voies de développement, ce qui justifie un réexamen des origines évolutives de l'organisme.

Contexte : La nature anormale d'Oopsacas minuta

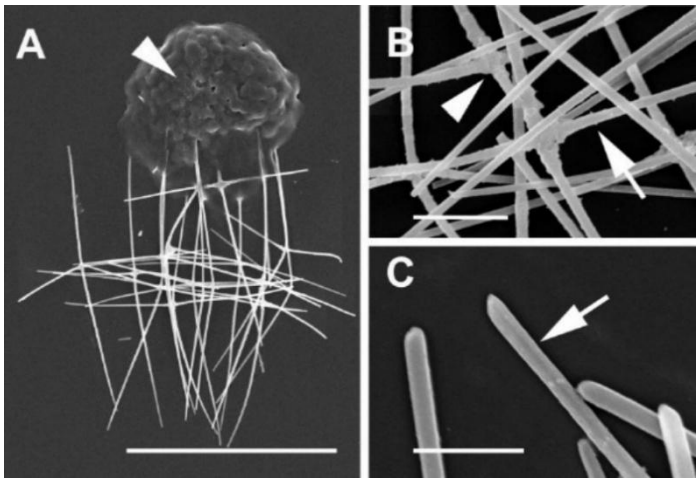


Oopsacas minuta aux premiers stades de sa vie (Tang, et al, 2020 ; Leys, 2007).

Position taxonomique et caractéristiques morphologiques

Oopsacas minuta est actuellement classé dans le règne Animalia, le phylum Porifera, la classe Hexactinellida, l'ordre Lyssacinosida et la famille Leucopsacidae, selon les cadres taxonomiques en vigueur (Dohrmann et al., 2012). Les analyses phylogénétiques moléculaires placent les Hexactinellida comme frères des Demospongiae, les éponges de verre présentant une divergence ancienne par rapport aux autres lignées d'éponges. Au sein des Hexactinellida, *Oopsacas minuta* est regroupée avec d'autres espèces de lyssacinosidés caractérisées par des spicules parenchymateuses non connectées, ce qui les distingue des hexactinellidés dont le squelette est fusionné.

Oopsacas minuta présente des caractéristiques morphologiques qui la distinguent des autres éponges. L'espèce présente un petit corps cylindrique de 0,5 à 3,5 cm de long avec une forme allongée en vase montrant une nette polarité basale-apicale (Boury-Esnault & Vacelet, 1994). Contrairement aux éponges typiques, *Oopsacas minuta* n'a pas d'oscules évidents, l'écoulement de l'eau se faisant à travers la paroi de l'éponge plutôt que par des ouvertures discrètes.



Oopsacas minuta. "spicules" et "masse lipidique antérieure". (Leys, 2003).

Architecture et formation des spicules

La divergence morphologique la plus frappante chez *Oopsacas minuta* réside dans la formation de ses spicules, qui s'écarte fondamentalement de celle des hexactinellides typiques. Chez les hexactinellides classiques, les spicules se forment dans des vésicules de dépôt de silice autour de filaments axiaux hexagonaux contenant la protéine hexaxiline (López-Escardó et al., 2023). Ces spicules présentent typiquement une symétrie hexactinique, triaxonique ou cubique, ou dérivent de ces géométries par réduction ou ramification des rayons primaires (Lukowiak et al., 2022).

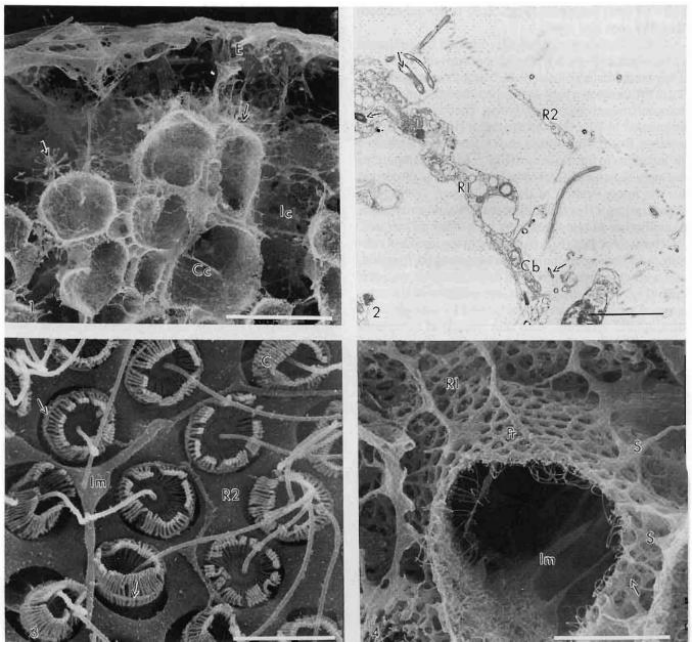
En revanche, *Oopsacas minuta* produit des spicules larvaires organisés autour de filaments axiaux rectangulaires. Cela conduit à la formation de structures à quatre rayons ("stauractines") plutôt qu'aux hexactines caractéristiques à six rayons. Ces stauractines mesurent de 27 à 45 µm sur les rayons transversaux et de 40 à 80 µm sur les rayons longitudinaux, ce qui les rend nettement plus

petites et structurellement distinctes des mégasclères typiques des autres hexactinellides (Leys, 2003).

Divergence physiologique et développementale

Les caractéristiques physiologiques et développementales d'*Oopsacas minuta* le distinguent encore plus des hexactinellides canoniques et des métazoaires en général. Contrairement à la plupart des hexactinellides, qui vivent dans des environnements marins profonds à des profondeurs supérieures à 450-900 mètres, *Oopsacas minuta* a été trouvé dans des grottes sous-marines peu profondes à des profondeurs supérieures à 200 mètres (Leys et al., 2007).

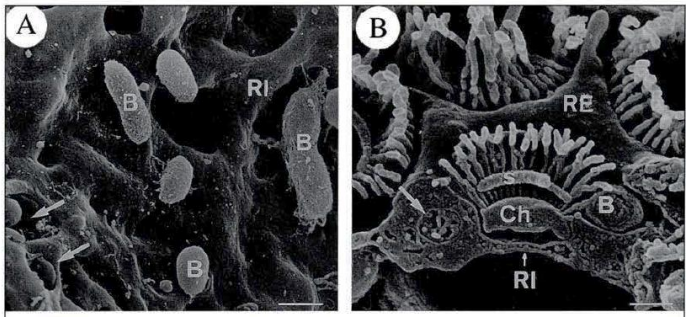
Ces habitats offrent des conditions froides, aphotiques et thermiquement stables allant de 13 à 14,5 °C (paramètres typiquement associés aux espèces d'eaux profondes). (Vacelet et al., 1994 ; Bakran-Petricioli et al., 2007). Leur découverte dans des systèmes de grottes anchihalines le long des côtes françaises et croates soutient l'hypothèse que de tels environnements de grottes peuvent agir comme des "mésocosmes" d'eau peu profonde qui piègent des masses d'eau froides et denses et reproduisent les conditions bathyales tout au long de l'année (Harmelin, 1997).



Oopsacas minuta "Cryofracture transversale à travers l'ectosome et le choanosome d'un spécimen désilicifié." (Boury-Esnault, N., & Vacelet, J., 1994).

Oopsacas minuta possède une architecture tissulaire syncytiale unique. Environ 75 % du corps adulte est constitué d'un seul syncytium multinucléé, la continuité cytoplasmique étant maintenue par des ponts reliant des régions spécialisées. Ce réticulum syncytial forme les couches interne et externe du corps et contient des zones fonctionnelles distinctes : les archéocytes pour le stockage des nutriments, les choanoblastes liés aux chambres flagellées et les sclérocytes responsables de la formation des spicules (Leys et al., 2006).

L'embryogenèse chez *Oopsacas minuta* se déroule par clivage spiralé et gastrulation par délamination primaire. (Boury-Esnault et al., 1999). Il est remarquable que ces capacités de reproduction apparaissent chez *Oopsacas minuta* en l'absence totale de mécanismes de développement canoniques tels que la voie de signalisation Wnt et les principaux facteurs de transcription des métazoaires.



Oopsacas minuta (Perez, T., 1996).

Simplification génomique

Le génome complet d'*Oopsacas minuta* révèle un cas unique de rationalisation, remettant en question des hypothèses de longue date sur la complexité génomique requise pour une multicellularité de type animal. Le génome mitochondrial s'étend sur 19 kb avec un contenu en GC de 31%. Il contient 14 gènes codant pour des protéines, trois sous-unités d'ATP synthase, 22 ARNt et deux ARNr. Cependant, le génome d'*Oopsacas minuta* est notamment dépourvu du gène *trnaW*. (Jourda et al., 2015).

Avec une taille de génome estimée à 61 Mb et 16 413 gènes prédits, *Oopsacas minuta* possède l'un des plus petits génomes de métazoaires non parasites rapportés. (Santini, S. et al, 2023).

La taille réduite est principalement liée à l'omission de protéines codant pour des activités enzymatiques, des propriétés de liaison de biomolécules et des processus métaboliques. La voie de signalisation canonique Wnt est absente, y compris les ligands *Wnt*, les gènes *ébouriffés* et les gènes *Wntless*. Ces éléments sont considérés comme essentiels même chez les métazoaires basaux. (Santini, S. et al, 2023).

L'architecture rationalisée du génome d'*Oopsacas minuta* reflète le maintien et le raffinement d'une stratégie génomique ancestrale distincte qui soutient l'organisation multicellulaire sans dépendre des outils génétiques canoniques des métazoaires.

Absence critique de la machinerie de silicification

La machinerie de silicification qui définit les éponges siliceuses, en particulier au sein des Hexactinellida, est également absente des gènes d'*Oopsacas minuta* (Santini et al., 2023). *Oopsacas minuta* est dépourvu de tous les gènes principaux impliqués dans la biominéralisation de la silice, y compris la *silicateine*, la *silintaphine*, la *galectine* et l'*hexaxiline*. À leur place, le génome code 13 gènes de *cathepsine L*, un seul gène de *glassine*, un gène de *ferritine* et un gène de *chitine synthase*.

L'absence de *silicateine* est particulièrement significative, car cette enzyme catalyse la polymérisation de la silice et forme les filaments axiaux des spicules (Riesgo et al., 2015). Il manque également les protéines *silintaphines*, qui interagissent avec la *silicateine* pour médier le transport et le dépôt de la silice liée aux vésicules, et les *galectines*, qui servent de médiateurs de liaison aux hydrates de carbone pendant l'assemblage de la silice. En outre, *Oopsacas minuta* est totalement dépourvue d'*hexaxiline* et de *périsiline*. Ces protéines sont responsables de la symétrie des spicules et du dépôt périphérique de la silice dans les éponges de verre (López-Escardó et al., 2023 ; Shimizu et al., 2015).

Méthodes utilisées

Cette étude a utilisé une méthodologie récursive de découverte d'homologie profonde pour identifier systématiquement les relations phylogénétiques par le biais de recherches BLAST récursives et itératives de séquences génomiques *d'Oopsacas minuta* dans les bases de données du NCBI. Cette approche élargit progressivement les paramètres de recherche afin de détecter des relations évolutives profondes souvent ignorées par les méthodes phylogénétiques conventionnelles. (Gjøvik, 10 juin 2025)

Un ensemble de données curatives de séquences de gènes d'ADN a été assemblé pour évaluer la relation des Hexactinellida dans le paysage évolutif de la vie complexe et multicellulaire précoce. Les séquences ont été dérivées de résultats de recherche de similarités à haut débit, avec des mesures d'alignement comprenant la longueur d'alignement (bp), le score de bit, le pourcentage d'identité et la valeur E enregistrée pour chaque résultat. Parmi les résultats obtenus pour les Hexactinellida, deux correspondances fortes et curieuses sont apparues : *Nuclearia* et *Fonticula*, qui ne correspondent toutes deux qu'à *Oopsacas minuta*, et cette étude avait pour but de valider et de comprendre ces correspondances.

Pour étudier les relations génétiques d'*Oopsacas minuta*, des séquences nucléotidiques représentatives ont été obtenues auprès de NCBI GenBank et de l'European Nucleotide Archive. L'analyse a compilé des fichiers de référence multi-FASTA distincts pour chaque groupe taxonomique, la sélection des séquences de référence représentant des taxons bien caractérisés au sein de chaque groupe d'intérêt. Les séquences génomiques d'*Oopsacas minuta* analysées comprenaient l'ARN ribosomique 18S (AF207844.1), l'ARN ribosomique 28S (FR848914.1) et le génome mitochondrial (NC_027419.1).

Cette analyse a effectué des comparaisons de nucléotides par paire afin d'évaluer l'homologie potentielle entre les séquences. Deux stratégies de recherche ont été utilisées : BLASTn standard avec des paramètres de stringence élevés (-evalue 1e-10) et MegaBLAST discontigu optimisé pour les comparaisons inter-espèces (-task dc-megablast, -evalue 1e-5). Toutes les recherches ont généré des résultats sous forme de tableaux avec des données d'alignement complètes, y compris les ID de la requête et du sujet, la longueur de l'alignement, le pourcentage d'identité, le score de bits, la valeur e, le nombre de non-concordances, les métriques de couverture et les ouvertures de lacunes.

Pour éviter les alignements automatiques faussement positifs, les résultats ont fait l'objet d'un filtrage post hoc à l'aide de conditions logiques excluant les alignements automatiques. Les alignements résultants ont été évalués pour leur signification biologique. Alors que BLASTn excelle dans la détection de la similarité locale des séquences, les méthodes basées sur les arbres n'ont pas réussi à résoudre les topologies dans l'ensemble des données en raison des contraintes de longueur des séquences, des profils de correspondance inter-royaumes allant des protistes aux holozoaires, et des intermédiaires manquants provenant de lignées éteintes ou mal séquencées.

Résultats

De fortes affinités phylogénétiques avec les amibozoaires

Une analyse BLAST bidirectionnelle complète a révélé de fortes similitudes de séquence entre *Oopsacas minuta* et les amibozoaires nucléariidés à travers de multiples marqueurs moléculaires. Ces relations font preuve d'une cohérence remarquable dans les directions de recherche avant et arrière, fournissant des preuves solides contre la contamination ou la similarité fortuite tout en établissant une affinité phylogénétique claire avec ce clade opisthokont basal.

L'analyse de l'ARNr 18S entre les espèces *Oopsacas* et *Nuclearia* a donné des résultats frappants et cohérents pour toutes les espèces testées. Dans le sens direct (*Oopsacas* → *Nuclearia*), *Oopsacas minuta* a montré une identité de 80,6 % avec *N. simplex* sur 2 034 pb avec E=0 (AF207844.1 vs KY454455.1), ce qui représente une correspondance exceptionnellement forte pour une comparaison taxonomique croisée. L'identité de 81,0 % avec *N. thermophila* sur 2 013 pb avec E=0 (AF207844.1 vs

MK547178.1) et l'identité remarquable de 84,1 à 84,4 % avec *N. pattersoni* sur 1 140 pb avec E=0 (AF207844.1 vs LN875110.1) sont tout aussi convaincantes.

Les recherches en sens inverse ont permis de valider ces relations, confirmant que les affinités sont réelles. *N. thermophila* a montré 81,3 % d'identité avec *Oopsacas minuta* sur 2 020 pb avec E=0 (MK547178.1 vs JAKMXF010000046.1), tandis que *N. simplex* a montré 80,8 % d'identité sur 2 035 pb avec E=0 (KY454455.1 vs JAKMXF010000046.1). *N. pattersoni* a également montré 80,5 % d'identité sur 2 034 pb avec E=0 (AY364635.1 vs JAKMXF010000330.1). Cette cohérence bidirectionnelle entre plusieurs espèces et accessions de séquences plaide fortement contre une contamination, une erreur de laboratoire ou une similarité fortuite.

Conservation du génome mitochondrial

L'analyse du génome mitochondrial apporte des preuves encore plus convaincantes, car les schémas de conservation évolutive fournissent des signaux phylogénétiques particulièrement forts. L'ADNmt de *Nuclearia thermophila* et d'*Oopsacas minuta* présente une identité de 81,1 % sur 1 985 pb avec E=0 (LN875109.1 vs JAKMXF010000330.1), ce qui représente un niveau de conservation impressionnant pour des organismes censés être séparés par la grande distance phylogénétique entre les amibozoaires et les métazoaires.

Ce niveau de conservation mitochondriale est phylogénétiquement significatif car l'ADN mitochondrial évolue lentement et présente une faible tolérance aux changements radicaux de séquence par rapport aux gènes nucléaires. La conservation étendue observée ici suggère une ascendance commune beaucoup plus récente que celle à laquelle on pourrait s'attendre si *Oopsacas minuta* était vraiment une éponge métazoaire. Les gènes mitochondriaux sont également moins sujets au transfert horizontal de gènes et aux artefacts de contamination, ce qui fait de ces correspondances des indicateurs particulièrement fiables d'une véritable relation phylogénétique plutôt que d'une évolution convergente des séquences ou d'artefacts techniques.

Fonticula alba : La connexion des amibozoaires sœurs

Les relations s'étendent au-delà de *Nuclearia* pour inclure *Fonticula alba*, une autre lignée clé d'amibozoaires qui se ramifie en sœur de *Nuclearia* (Brown et al., 2009). L'ADNmt de *Fonticula alba* présente 69,1 % d'identité sur 1 241 pb avec une valeur E de 5,85E-134 (JAKMXF010000221.1 vs XM_009498215.1).

Fait remarquable, le facteur 8 (PRPF8) de traitement et d'épissage du pré-ARNm de la *fonticule* a montré 65,0 % d'identité sur 5 177 pb avec un score de bit de 1 069 et E=0 (JAKMXF010000210.1 vs XM_009499900.1). Cet alignement de séquence d'environ 5,2 kb entre *Oopsacas minuta* et *Fonticula alba* représente une correspondance de haute confiance d'une longueur exceptionnelle qui met en évidence la conservation évolutive profonde de la machinerie spliceosomale. (PRPF8 est un composant catalytique et structurel central du spliceosome majeur, impliqué dans l'excision précise des introns du pré-ARNm).

En outre, les échafaudages génomiques ont montré une identité de 64,8 % sur 3 666 pb avec un score de bit de 730 et E=0 (JAKMXF010000210.1 vs NW_009242990.1). En outre, la protéine de choc thermique présentait une identité de 65,5 % sur 1 576 pb avec un score de bit de 352 et une valeur E de $5{,}54\times10^{-93}$ (JAKMXF010000320.1 vs XM_009497412.1). L'étendue de ces correspondances dans plusieurs catégories de gènes indique une similarité génétique systématique plutôt que des événements de conservation isolés.

Analyse complète des gènes codant pour les protéines

Les relations entre les gènes codant pour les protéines de *Fonticula alba* révèlent une conservation étendue chez *Oopsacas minuta* au niveau de la machinerie cellulaire fondamentale. Les séquences d'actine ont montré une conservation à une longueur de 1 204 pb avec 64,9-83% d'identité à travers des alignements multiples, indiquant la préservation de ce composant du cytosquelette. La tubuline présente 74,6 % d'identité sur 1 265 pb, ce qui reflète à nouveau la conservation d'une architecture cellulaire essentielle. L'ATP synthase présente 69,1 % d'identité sur 1 241 pb, ce qui indique la préservation de la machinerie bioénergétique, tandis que les protéines de division cellulaire présentent 69,1 % d'identité sur 1 401 pb, ce qui suggère la conservation des mécanismes de régulation du cycle cellulaire.

Les facteurs de traitement des pré-ARNm représentent peut-être la découverte la plus significative, avec 65 % d'identité sur 5 177 pb, ce qui représente le plus long alignement de haute confiance de l'ensemble des données. Ce niveau de conservation de la machinerie spliceosomale indique qu'*Oopsacas minuta* partage des mécanismes fondamentaux d'expression génique avec des lignées d'amiboaires.

Relations eucaryotes plus larges

Au-delà des affinités avec les nucléariidés, *Oopsacas minuta* partage de fortes relations avec les eucaryotes basaux de plusieurs lignées. Les alignements les plus longs et les scores de bits les plus élevés représentent des correspondances d'ARNr avec des Filozoa, y compris des choanoflagellés et des Filasterea.

Les correspondances les plus remarquables sont celles avec *Salpingoeca huasca* (1 868 pb, 71,9 % d'identité, 959 bit score, E=0), *Tunicaraptor unikontum* (1 120 pb, 85 %

d'identité, 1 247 bit score, E=0) et *Monosiga brevicollis* (1 118 pb, 85 % d'identité, 1 237 bit score, E=0).

Il existe également des relations importantes entre l'ADNmt et de nombreuses espèces d'Excavata et de Filasterea. Il s'agit notamment de correspondances fortes avec *Ministeria vibrans*, *Malawimonas*, *Imasa heleensis*, Aphelidiaceae, *Histiona aroides*, *Jakoba bahamiensis* et *Reclinomonas americana*.

Les alignements mitochondriaux les plus forts concernent *Malawimonas* sp. (1 438 pb, 69,7 % d'identité, 584 Bit Score, et valeur E $1{,}51E^{(-163)}$)) et *Imasa heleensis* (1 317 pb, 69 % d'identité, 498 Bit Score, et valeur E $1{,}72E^{-137)}$.

Validation par l'analyse d'une base de données élargie

La validation de ces résultats a nécessité une vérification complète au moyen de recherches dans de multiples bases de données et de l'authentification des sources. Toutes les séquences les mieux appariées ont été vérifiées à partir des listes de sources dans les bases de données des NIH, les métadonnées étant soigneusement examinées pour garantir l'intégrité des données et exclure les artefacts de contamination potentiels. L'authentification des sources révèle un schéma d'efforts de séquençage indépendants dans plusieurs laboratoires et lieux géographiques, ce qui renforce la confiance dans la nature authentique de ces relations.

Vérification des sources et intégrité des données

Les séquences d'*Oopsacas minuta* proviennent de plusieurs sources indépendantes, ce qui permet une validation solide contre la contamination en laboratoire. Les séquences primaires comprennent PRJNA761294 avec le séquençage du génome entier effectué au Centre national français de la recherche scientifique sur la base d'échantillons provenant de la grotte de La Ciotat 3PP (Santini et al., 2023), et AF207844.1 avec le séquençage de l'ARNr 18S au Centre d'océanologie de Marseille en France (Borchiellini et al., 2001).

Les séquences de *Nuclearia* représentent des isolations indépendantes provenant de diverses sources : *N. thermophila* MK547178.1 à partir du séquençage de la petite sous-unité d'ARNr et de l'ITS1 à Microbiennes, Université Paris Sud-Saclay (Galindo et al., 2019), *N. simplex* KY454455.1 provenant d'une culture de masse de *Scendesmus* à l'Institut d'hydrobiologie de l'Académie chinoise des sciences (2017), et *N. pattersoni* AY364635.1 provenant du séquençage de l'ARNr 18S à l'Institut de parasitologie de la République tchèque (Dyková et al., 2003).

Les séquences de *Fonticula alba* proviennent du séquençage génomique complet de spécimens collectés dans des excréments de chiens à Grainfield, au Kansas, traité par la plateforme génomique du Broad Institute du MIT et de Harvard (2013).

Couverture complète de la base de données : Analyse BLAST récursive

Pour comprendre le contexte évolutif complet de ces relations, la séquence d'ARNr 18S *d'Oopsacas minuta* (AF207844.1) a été soumise à une analyse BLAST récursive complète par rapport à plusieurs bases de données spécialisées. Les recherches dans les bases de données core_nt et nt_euk du NCBI ont donné des résultats limités aux éponges de verre Hexactinellid.

Les recherches dans la base de données nt_others ont révélé des correspondances qui élargissent le tableau phylogénétique. Parmi les correspondances les plus fortes figurent les démosponges Suberitida *Hymeniacidon* et *Halichondria*, les algues vertes Chlorophyta *Chlorolobion lunulatum* et *Polytoma oligochromatum*, et notamment des séquences d'ARNr 18S de champignons, dont *Trichophyton tonsurans*. La correspondance avec *Trichophyton sp.* est intéressante car une étude récente a montré qu'une autre espèce de *Trichophyton* avait des affinités génétiques étroites avec des eucaryotes basaux. (Gjøvik, 22 juin 2025).

La base de données nt_viruses présente également une correspondance modérée avec le virus du syndrome des taches blanches (score de 588 bits, identité de 81,6 % et valeur e de $7e^{-163)}$.

La séquence d'ARNm de *Fonticula alba* pour le "pre-mRNA-processing-splicing factor 8" qui correspondait à l'alignement de 5 177 pb avec *Oopsacas minuta* a également été utilisée pour effectuer une recherche dans les mêmes bases de données des NIH. Les résultats des recherches core_nt et nt_euk prédisent principalement des protéines hypothétiques, à l'exception de fortes correspondances avec l'amibe Discosea *Acanthamoeba castellanii*, l'algue haptophyte Pavlovaceae *Rebecca billardiae, le* picoplancton *Micromonas* et le chytride *Polychytrium aggregatum*.

Aucun résultat remarquable n'a été observé dans les résultats nt_prok, nt_virus ou nt_autres, à l'exception de correspondances répétées mais faibles avec la bactérie filamenteuse *Nocardia sp.* (connue pour coloniser les cavités buccales de l'*Homo sapiens*).

Relation avec les éponges de verre hexactinellides

La séquence de l'ADNmt d'*Oopsacas minuta* a été comparée à une base de données personnalisée contenant des séquences d'espèces représentatives d'Hexactinellidés. Pour le contexte, l'auto-appariement était d'une longueur de 19 042 pb avec un score de bit de 35 165.

En comparaison, les correspondances les plus fortes entre

non-soi ne dépassaient pas 9 000 pb ou un score de 6 000 bits. Les correspondances les plus fortes incluaient l'ADNmt (pas l'ARN) des groupes Euplectellidae et Rossellidae au sein des Lyssacinosida. (Remarque : les deux autres espèces du groupe Leucopsacidae semblent actuellement ne pas disposer de données génomiques suffisamment détaillées pour être incluses dans les résultats, aucune séquence publique ne dépassant 2 000 pb).

La correspondance la plus longue était un alignement de l'ADNmt avec l'espèce Euplectellidae *Vazella pourtalesi* (8 963 pb, 74% d'identité, 5 374 Bit Score, E=0). La correspondance la plus élevée en termes de score de bits est celle avec l'espèce d'Euplectellidae *Bathydorus laniger* (6 693 pb, 80,8 %, 5,986 score de bits, E=0). Les autres correspondances les plus fortes étaient celles des espèces Rossellidae *Caulophacus iocasicus*, *Sympagella nux*, et *Bolosoma cyanae* (5 503bp-8 963bp, 79,7-80,5% d'identité, 3 743-5 855 Bit Scores, et E=0). Lorsque ces mêmes séquences d'ADNmt ont été alignées les unes sur les autres sur NIH BLAST web, les scores de bits et les pourcentages d'identité se situaient dans cette fourchette, ce qui implique que leurs correspondances avec *Oopsacas minuta* s'alignent sur leurs correspondances au sein de leur clade.

Les résultats d'*Oopsacas minuta* NCBI core_nt et nt_euk discutés précédemment comprenaient des correspondances fortes, Leucopsacidae (*Leocopsacus*) et Rossellidae (*Acanthascus, Asconema, Nodastrella*, et *Bathydorus*).

Test comparatif de l'ascendance des protistes dans les lignées d'éponge de verre

Pour déterminer si les signatures génétiques des amibozoaires d'*Oopsacas minuta* représentaient une histoire évolutive unique ou reflétaient des schémas plus larges parmi les éponges de verre, une analyse BLAST comparative avec des bases de données de nucléariidés et de cercozoaires a été effectuée. Les résultats ont révélé qu'*Oopsacas minuta* présentait de fortes correspondances avec les deux lignées. Dans les deux tests, il n'y avait pas de correspondances sûres avec d'autres hexactinellides. Les correspondances les plus fortes étaient celles avec Lyssacinosida , et plus particulièrement avec *Oopsacas minuta*.

Les correspondances Cercozoan les plus fortes étaient entre *Oopsacas minuta* et le protiste unicellulaire biflagellé *Orciraptor agilis*, et les algues chlorarachniophytes flagellées *Bigelowiella natans* et *Lotharella globosa*. (5 560pb+ 69,5+% d'identité, 2 261+ Bit Score, E=0).

D'autres éponges de verre lyssacinosidées (*Caulophacus, Walteria, Flavovirens*) ont montré des correspondances cercozoïques plus faibles, principalement avec *Paulinella microspora*, avec des scores de bits et des niveaux de confiance significativement plus faibles. La connexion *Oopsacas-Orciraptor* s'est révélée particulièrement robuste parmi les éponges de verre.

Correspondances avec la base de données sur les procaryotes : Signaux évolutifs anciens

Les recherches dans la base de données nt_prok ont donné lieu à un éventail inattendu de correspondances procaryotes qui peuvent refléter d'anciennes relations évolutives ou des événements de transfert horizontal de gènes. Les correspondances les plus fortes concernent les crénoarchaeotes *Hypherthermus*, les entérobactéries *Klebsiella pneumoniae* et *Edwardsiella*, les cyanobactéries *Microcystis*, les firmicutes *Staphylococcus aureus* et *Clostridium* sp., les γ-protéobactéries *Azotobacter vinelandii*, *Halomonas* et *Vibrio*, et la β-protéobactérie *Hydrogenophaga*.

Une variété d'espèces Hexactinellida (y compris les séquences *Oopsacas minuta*) a également été comparée à une base de données personnalisée de séquences de champignons, en mettant l'accent sur les espèces basales et nouvelles. Les correspondances les plus fortes étaient principalement constituées de séquences d'*Oopsacas minuta* et les meilleures correspondances incluaient les champignons prédateurs *Arthrobotrys conoides* qui sont connus pour l'utilisation d'outils et la construction de pièges (1,158bp, 82% identité, 1,150 Bit Score, E=0), les champignons parasites Kickxellomycotina *Dimargaris xerosporica* (1,887bp, 66.7% d'identité, 526 Bit Score, et E-Value de $2.61E^{-145)}$, et le chytride *Spizellomyces punctatus* (1,709bp, 68.9% d'identité, 656 Bit Score, E=0).

La seule autre éponge Hexactinellida parmi les meilleures correspondances était l'éponge Rossellidae *Acanthascus dawsoni*, qui présentait des correspondances beaucoup plus faibles, et les champignons les mieux assortis étaient *Geoglossum simile* ("langues de terre") et *Radiomyces spectabilis*.

Ces relations entre procaryotes et champignons, même si elles doivent être interprétées avec prudence, peuvent refléter l'héritage évolutif ancien d'*Oopsacas minuta* et sa position à un nœud crucial de l'évolution des eucaryotes.

En outre, la présence d'*Arthrobotrys conoides* dans ces résultats soulève encore plus d'incertitude quant à la place correcte des espèces d'*Arthrobotrys*. Bien qu'il soit microscopique et caractérisé comme un champignon, il semble penser et se comporter comme un animal, à l'instar de la moisissure visqueuse.

Base de données personnalisée sur les amiboïdes : Renforcement des affinités avec les amibozoaires

Lorsque les séquences d'*Oopsacas minuta* ont été analysées par rapport à une base de données personnalisée complète d'espèces d'amibes et d'amiboïdes, les résultats ont renforcé

de manière écrasante les relations avec les nucléariidés. L'alignement le plus long correspondait à l'ARNr 18S de *Nuclearia thermophila* (1 990 pb, 80,7 % d'identité, E=0), ce qui confirme qu'il s'agit de la relation unique la plus forte parmi toutes les recherches effectuées dans la base de données. Le deuxième alignement le plus long est celui de *Gromia oviformis* (1 181 pb, 77,8 % d'identité, E=0), un autre organisme amiboïde qui prolonge le modèle d'affinités amibotiennes.

La correspondance la plus élevée en termes de score binaire est à nouveau celle avec *Nuclearia thermophila* (score binaire de 1 799), ce qui établit cette relation comme la plus forte détectable par la méthodologie BLAST. De manière significative, les deuxième et troisième correspondances les plus élevées en termes de score de bits étaient avec d'autres organismes amiboïdes : l'amibe filosique *Pompholyxophrys punicea*, porteuse d'écailles de silice (1 105 pb, 84,9 % d'identité, score de bits 1 232, E=0) et la gymnamoebae *Vermistella antarctica* (1 147 pb, 82,3 % d'identité, score de bits 1 100, E=0).

Lorsque les séquences d'*Oopsacas minuta* ont été analysées par rapport à une base de données personnalisée spécifique aux Cercozoa, les résultats ont montré de fortes correspondances à long alignement (6 000 pb+, 68,3-69,8 % d'identité, 2 300+ Bit Score, E=0) entre l'ADN WGS d'*Oopsacas minuta* et l'ARN TSA de l'algue chlorarachniophyte flagellée *Bigelowiella natans* et du flagellé planant et algivore *Orciraptor agilis*.

Validation au niveau des protéines et analyse fonctionnelle

L'analyse REBLAST des protéines d'*Oopsacas minuta* apparemment spécifiques aux spicules a fourni de faibles correspondances. La protéine glassin d'*Oopsacas minuta* (KAI6653225.1) correspondait à *Vazella pourtalesii* avec un score de bit de 398, une identité de 52,7 % et une valeur e de $5e^{-132}$, ce qui représente une correspondance relativement faible qui reflète probablement une similarité de domaine protéique générique plutôt qu'une homologie fonctionnelle.

Une protéine d'assemblage de clusters fer-soufre (KAI6645809.1) a montré des correspondances modérées avec la guêpe bijou *Nasonia vitripennis* (144 bit score, 46,9% d'identité, $4e^{-40}$e-value) et le bâton de marche basal *Timema tahoe* (144bp, 53,5% d'identité, $1e^{-39}$e-value).

Les protéines de chitine d'*Oopsacas minuta* (KAI6645780.1, KAI6646189.1) n'ont montré que des correspondances de faible qualité (<35% d'identité) lorsqu'elles ont été soumises à l'analyse blastp. Les correspondances incluaient principalement des éponges, des coraux pierreux et des bactéries.

Conclusion de l'analyse systématique : Lignes de preuve convergentes

Les bases de données des NIH contiennent 10 séries d'analyses systématiques pour *Oopsacas minuta* utilisant les technologies de séquençage PacBio et Illumina, ce qui fournit de multiples sources indépendantes pour la validation. L'analyse de fragments courts a constamment rapporté ≥95% de lectures correspondant à de la "matière noire" non identifiée avec des correspondances supérieures à diverses bactéries. (par exemple, SRR23032957, SRR23032961).

Les analyses d'Illumina sur des fragments de 3 à 11 kb ont rapporté 61,2-64.4% de "matière noire", avec des correspondances identifiées avec des primates, y compris *Homo sapiens, le* crinoïde *Anneissia japonica*, le coccolithophore *Paramecium tetraurelia*, les protistes apicomplexes *Plasmodium gaboni* et *Babesia ovata, le* cilate *Paramecium tetraurelia, la* diatomée Stramenopiles *Thalassiosira pseudonana*, les champignons Mucoromycota et *Rhizophagus irregularis,* et *Klebsiella sp.* Enterobacteriaceae. La seule correspondance avec les Porifera était faible et concernait la démosponge *Amphimedon queenslandica*. (SRA : SRR23032958, SRR23032952, SRR23032960).

Ce modèle de "matière noire" étendue dans les bases de données de séquences, combiné à l'ampleur taxonomique inattendue des correspondances, soutient l'interprétation selon laquelle *Oopsacas minuta* représente une lignée très divergente qui ne s'intègre pas confortablement dans les cadres taxonomiques existants. La présence d'un important matériel génétique non identifiable suggère que cet organisme conserve d'anciennes signatures génétiques qui ont été perdues dans la plupart des autres lignées eucaryotes, ce qui est cohérent avec son statut proposé de prototype multicellulaire. (Gjøvik, 23 juin 2025).

Les lignes de preuves convergentes issues de multiples recherches dans les bases de données, d'efforts de séquençage indépendants, de sources géographiques diverses et d'approches analytiques variées aboutissent toutes à la même conclusion : *Oopsacas minuta* partage une architecture génétique fondamentale avec des lignées d'amibozoaires.

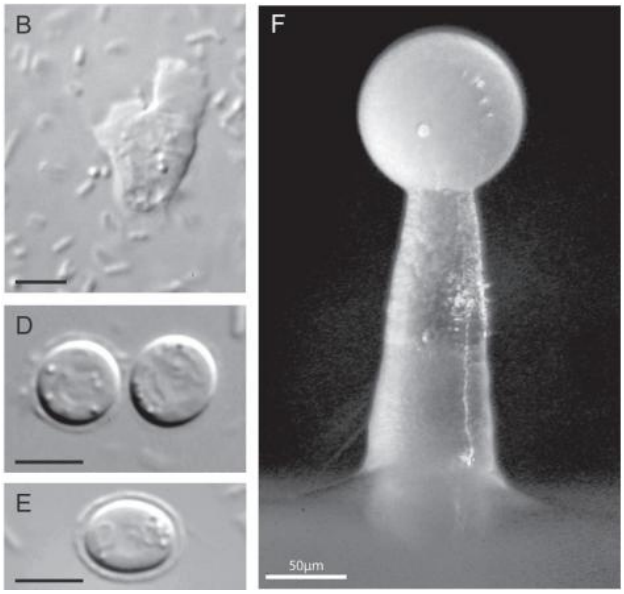
Discussion

Un nouvel animal amibozoaire

Les preuves moléculaires complètes présentées dans cette étude obligent à une réinterprétation radicale de l'identité évolutive d'*Oopsacas minuta*. Plutôt que de constituer un membre dérivé des éponges hexactinellides, les données indiquent qu'*Oopsacas minuta* représente une lignée amibozoaire distincte qui a indépendamment atteint une organisation multicellulaire et convergé

morphologiquement avec les plans corporels des éponges par le biais de mécanismes développementaux et génétiques entièrement différents.

Comprendre cette réinterprétation nécessite de situer *Oopsacas minuta* au sein de ses parents amiboïdes. Les nucléariens sont reconnus comme la lignée la plus ancienne des Holomycota, formant un groupe frère des champignons dans les analyses phylogénomiques modernes (Galindo et al., 2019 ; Gabaldón et al., 2022). *Fonticula alba*, une moisissure visqueuse cellulaire, est un groupe frère de *Nuclearia* (Brown et al., 2009). Les deux lignées présentent des traits convergents qui préfigurent une organisation de type éponge, offrant un pont évolutif plausible vers l'architecture observée chez *Oopsacas minuta*.

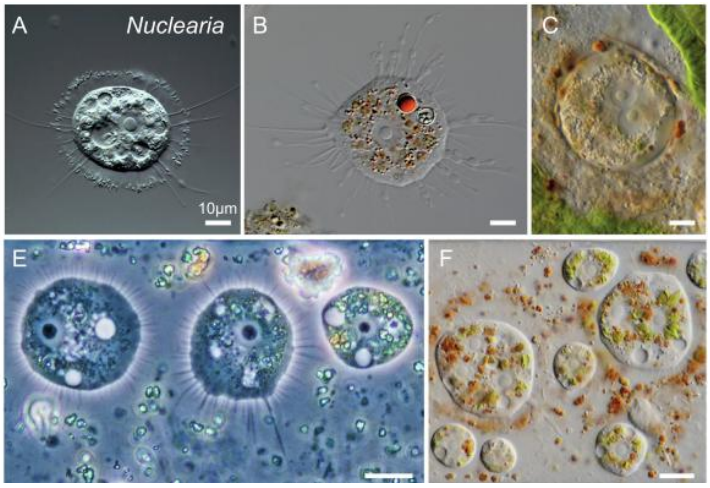


Fonticula alba, (Matthew W. Brown et Alexander K. Tice via Gabaldon, T. et al., 2022)

La fonticule présente une multicellularité agrégative, formant des corps fructifères coordonnés grâce au mouvement et à la différenciation collectifs des cellules. Elle se nourrit de bactéries, sécrète une matrice extracellulaire pour assurer son intégrité structurelle et fait preuve d'une dynamique leader-suiveur lors de l'acquisition collective de ressources (Toret et al., 2022).

Les espèces de *Nuclearia* se livrent à un filtrage phagocytaire, souvent en association avec des symbiotes bactériens, et ont été documentées comme colonisant des tissus métazoaires (Dirren et al., 2017 ; Galindo et al., 2019). Ces comportements écologiques reflètent ceux observés chez les éponges, en particulier dans leurs stratégies d'alimentation et leurs associations d'hôtes, ce qui souligne davantage leur pertinence en tant que modèles comparatifs pour *Oopsacas minuta*.

La preuve la plus décisive provient peut-être du génome mitochondrial. L'identité de séquence de 81,1 % entre *Oopsacas minuta* et *Nuclearia thermophila* sur 1 985 paires de bases est extraordinairement élevée, en particulier si l'on tient compte du faible taux de mutation et de l'évolution conservatrice de l'ADN mitochondrial.



Nuclearia (Gabaldon, T. et al., 2022)

Multicellularité des amibozoaires et hypothèse des prototypes multiples

L'identification d'*Oopsacas minuta* comme organisme multicellulaire dérivé d'une lignée d'amibozoaires oblige à repenser radicalement la manière dont la complexité animale peut évoluer. Ce clade semble avoir pris naissance non pas dans la lignée des métazoaires, mais dans celle des amibozoaires. Son existence constitue une preuve directe que la vie complexe peut apparaître indépendamment à partir de points de départ génomiques et cellulaires entièrement différents.

L'architecture évolutive d'*Oopsacas minuta* remet en question presque toutes les hypothèses sur ce qui est nécessaire pour construire un animal. Les caractéristiques dont on pense souvent qu'elles exigent une machinerie de signalisation classique chez les métazoaires sont toutes présentes, alors que les voies génétiques sous-jacentes qui en sont généralement responsables ne semblent pas exister.

Oopsacas minuta est dépourvu de la voie de signalisation Wnt et de nombreux facteurs de transcription considérés comme indispensables au développement précoce de l'animal. Pourtant, il exécute des coordinations physiologiques complexes. Il ne s'agit pas d'un métazoaire dégénéré, mais d'une forme de vie multicellulaire cohérente et pleinement fonctionnelle qui a simplement emprunté une autre voie.

Ceci nous amène à une implication théorique plus large : *Oopsacas minuta* corrobore l'hypothèse du prototype multicellulaire multiple (MMCP), selon laquelle des organismes multicellulaires fonctionnellement complexes sont apparus indépendamment dans de multiples lignées eucaryotes. Il ne s'agit pas de branches divergentes issues d'un ancêtre multicellulaire unique, mais d'une radiation

parallèle à partir de progéniteurs unicellulaires distincts (Gjøvik, 9 juin 2025).

Dans ce cadre, les caractéristiques que nous associons aux animaux ne sont pas limitées à une seule voie évolutive, mais représentent des solutions récurrentes au problème de l'expansion de la vie.

Les preuves moléculaires appuient ce point de vue. *Oopsacas minuta* n'a pas évolué à partir du même prototype multicellulaire que les métazoaires canoniques. Alors que la plupart des animaux sont supposés descendre d'un LECA holozoaire, *Oopsacas minuta* semble avoir évolué à partir d'un LECA amiboaire étroitement lié à *Nuclearia* et *Fonticula*.

Les marqueurs nucléaires et mitochondriaux présentent une identité de séquence de 80 à 85 %, des valeurs e nulles et de longs alignements avec les génomes des nucléariidés. Les parallèles structurels, écologiques et physiologiques semblent importants.

En outre, ses affinités génomiques vont au-delà des Amoebozoa. Des correspondances avec des séquences d'Excavata, de Filasterea, de Fungi et même de bactéries indiquent une profonde rétention génétique depuis le début de l'évolution eucaryote. Ces similitudes très variées reflètent la position d'*Oopsacas minuta* en tant que fossile vivant d'une ancienne trajectoire évolutive.

Dans cette optique, *Oopsacas minuta* n'est pas un cas isolé, mais un représentant d'un principe plus large : la transition vers la multicellularité de type animal s'est produite plus d'une fois, à travers différentes boîtes à outils de développement et conditions ancestrales. Au minimum, nous disposons aujourd'hui de preuves de l'existence de deux voies principales (holozoaires et amiboaires), chacune capable de produire des organismes répondant à la définition fonctionnelle du terme "animal".

Le cadre MMCP recadre l'histoire de l'évolution animale comme un champ d'expériences ramifiées, certaines réussies, d'autres oubliées et une, dans le cas d'*Oopsacas minuta*, cachée à la vue de tous.

Autres explications des similitudes moléculaires

Bien que les preuves génomiques et biochimiques appuient de façon écrasante l'ascendance amiboenne d'*Oopsacas minuta*, la force de cette conclusion nécessite un examen attentif des autres explications possibles.

L'alignement de l'ADNmt partagé entre *Oopsacas minuta* et d'autres éponges Lyssacinosida était plus fort que les correspondances avec les nucléariides, mais ces espèces n'avaient pas de correspondances fortes avec l'ARN. Les correspondances d'ADNmt entre Lyssacinosida étaient de la même qualité dans l'ensemble du groupe. En outre, *Oopsacas minuta* a un génome plus petit que les autres espèces, ce qui complique les comparaisons.

Les autres espèces de Lyssacinosida ne correspondent pas aux mêmes espèces d'amiboïdes qu'*Oopsacas minuta* et toutes les correspondances sont également plus faibles. Tout cela indique qu'*Oopsacas minuta* est soit la première expérience réussie du groupe, soit une espèce qui a commencé à évoluer à partir d'un pool génétique similaire, mais qui a pris une direction différente de celle de ses congénères.

Le transfert horizontal de gènes (HGT) est soumis à des contraintes mécaniques spécifiques qui limitent son pouvoir explicatif des modèles observés. Le transfert horizontal de gènes est bien documenté chez les procaryotes et s'est produit à grande échelle au début de l'évolution des eucaryotes, en particulier avec des bactéries endosymbiotiques et des partenaires archéens. Cependant, le transfert de matériel génétique est de plus en plus limité chez les eucaryotes complexes en raison de la compartimentation du matériel génétique, des cycles de reproduction sexuée qui éliminent l'ADN étranger et des réseaux intégrés de régulation des gènes.

Les correspondances avec les eucaryotes ne remettent pas en cause la théorie de l'évolution animale des amibozoaires. Au contraire, les correspondances avec les eucaryotes sont de moins bonne qualité que celles avec les nucléariidés, avec des scores de bits et des longueurs inférieurs. Elles représentent plutôt *Oopsacas minuta*, reflétant le pool génétique partagé des multiples prototypes multicellulaires.

Les similitudes de séquence entre *Oopsacas minuta* et amiboïdes nucléariidés couvrent les gènes de l'ARN ribosomal nucléaire, les génomes mitochondriaux et diverses séquences codant pour des protéines. L'HGT expliquant ces schémas nécessiterait des événements de transfert coordonnés entre les compartiments nucléaires et mitochondriaux, ce qui n'est pas plausible d'un point de vue mécanique, étant donné que ces compartiments fonctionnent selon des voies et des pressions sélectives différentes. Les identités de séquence de 80 à 85 % reflètent une conservation systématique sur des milliers de paires de bases, caractéristique de l'héritage phylogénétique, plutôt que des acquisitions de gènes isolés typiques des événements HGT.

Les séquences d'*Oopsacas minuta* ont été générées indépendamment à partir de populations géographiquement distinctes en utilisant plusieurs technologies de séquençage par des groupes de recherche distincts. Les séquences correspondantes des nucléariidés et des *fonticules* ont également été isolées et séquencées indépendamment. L'ampleur des similitudes moléculaires entre les gènes, les lignées et les sources de données dépasse les schémas locaux et sporadiques typiques de la contamination.

L'identité de séquence de 80 à 85 % observée entre les

grands fragments d'ARNr et les fragments mitochondriaux dépasse les seuils attendus pour une évolution convergente. L'évolution convergente des séquences dans des loci hautement conservés est de loin moins probable que la convergence morphologique sous l'effet de pressions écologiques partagées.

L'hypothèse de la "perte de gènes" (selon laquelle les organismes basaux possédaient autrefois une machinerie de développement complexe qu'ils ont ensuite perdue) représente un scénario évolutif contre-intuitif. Du point de vue de la parcimonie, il est plus probable que ces gènes aient évolué plus tard, au fur et à mesure que les organismes devenaient plus complexes, plutôt que d'apparaître tôt pour être ensuite éliminés de manière sélective. Si *Oopsacas minuta* représente un point d'embranchement précoce dans cette trajectoire évolutive, l'absence de systèmes de développement métazoaires refléterait une condition ancestrale plutôt qu'une perte secondaire.

Si d'anciennes caractéristiques eucaryotes peuvent expliquer certains éléments conservés, cette hypothèse ne peut expliquer le degré et la spécificité des correspondances, l'absence totale de machinerie de silicification ou la présence de protéines d'échafaudage spécifiques aux amibozoaires. La conservation à long terme de plusieurs loci indépendants sans contrainte fonctionnelle à travers des divergences de plusieurs milliards d'années est improbable.

Les preuves moléculaires indiquent de manière cohérente une véritable affinité évolutive entre *Oopsacas minuta* et les lignées d'amibozoaires.

Lacunes de la recherche et biais taxonomiques

Plusieurs facteurs expliquent pourquoi la véritable histoire évolutive d'*Oopsacas minuta* est restée inconnue pendant près d'un siècle. La systématique moléculaire contemporaine se concentre principalement sur la résolution des relations au sein des groupes taxonomiques établis plutôt que sur la question de savoir si ces groupes sont correctement définis.

En outre, le type d'analyse exploratoire complète des séquences qui a permis de mettre en évidence ces relations est rarement réalisé dans le cadre des programmes de recherche actuels. Les priorités actuelles en matière de financement et de publication accordent peu d'importance à la recherche moléculaire exploratoire, alors que la biologie évolutive du développement a fondamentalement besoin d'une telle exploration pour identifier de nouvelles relations et remettre en question les cadres existants.

Pour combler cette lacune, la méthodologie récursive de découverte d'homologies profondes employée ici recherche systématiquement dans les bases de données moléculaires pour détecter des affinités évolutives profondes que les approches étroites ne parviennent pas à détecter.

Lyssacinosida : l'architecture ancestrale des éponges

Les recherches existantes placent *Oopsacas minuta* dans la famille des Leucopsacidae de l'ordre des Lyssacinosida (Dohrmann et al. 2023). Les Lyssacinosida sont considérés comme un groupe "souche" et les premiers hexactinellides, avec des fossiles identifiés datant de l'Ordovicien supérieur (Botting et al. 2025 ; Li et al. 2019).

Récemment, des fossiles de Rossellidae ont été identifiés dans le biote hirnantien d'Anji, au Zhejiang, en Chine, y compris ce qui semblait être un "chaînon manquant" entre les démosponges et les hexactinellides (Botting et al., 2017 ; Botting et al. 2022 ; Botting et al. 2025).

L'organisation du squelette des lyssacines est caractérisée par des spicules parenchymateuses généralement non connectées, contrairement aux autres éponges de la sous-classe où les spicules forment un squelette plus ou moins étroitement connecté. Des analyses phylogénétiques récentes révèlent que la division majeure des Hexasterophora n'est pas entre les taxons lyssacins et dictyonaux, mais plutôt entre les taxons avec et sans sceptrules et uncinates, plaçant les lyssacinosidans en position basale (Dohrmann et al. 2017).

L'organisation tissulaire syncytiale caractéristique des hexactinellides trouve son expression la plus extrême chez lyssacinosidans, la majorité des tissus de l'adulte étant constituée d'un seul syncytium géant multinucléé (Leys et al. 2006). Cette architecture cellulaire, combinée à l'absence de mécanismes de signalisation électrique connus dans d'autres classes d'éponges (Leys et al. 2007), suggère le maintien de mécanismes de coordination cellulaire de type protiste.

Le développement embryologique *des Oopsacas* montre la formation de syncytia par fusion de blastomères (Leys et al. 2006), un processus qui est plus proche de l'organisation coloniale des protistes que de l'embryogenèse typique des métazoaires.

Les scores élevés de similarité génétique entre *Oopsacas minuta* et certains genres de rossellidés par rapport à d'autres éponges de verre (Santini et al. 2023), suggèrent que ces lignées partagent des modules génétiques conservés qui ont été perdus ou ont divergé dans d'autres lignées d'hexactinellidés. Ce modèle de conservation à travers les frontières supposées des familles indique une ascendance partagée qui précède la radiation des familles modernes d'hexactinellidés, en accord avec la rétention d'une architecture génétique ancestrale dérivée des protistes.

Ces résultats soutiennent collectivement l'hypothèse selon laquelle les "éponges de verre" lyssacinosidan représentent soit des formes de métazoaires extrêmement précoces qui

conservent une organisation semblable à celle des protistes, soit une lignée distincte de descendants de protistes qui ont évolué de manière convergente vers des morphologies semblables à celles des éponges tout en conservant des différences fondamentales dans l'organisation génomique et l'architecture cellulaire par rapport aux métazoaires.

En outre, au sein de l'assemblage des lyssacinosides, *Oopsacas minuta* représente un cas particulièrement frappant de divergence évolutive par rapport à l'ancêtre commun supposé ou de preuve que certains processus métazoaires fondamentaux peuvent se produire et se produisent effectivement sans les outils génétiques des métazoaires.

Selon la première théorie, la combinaison d'une biologie avancée et d'une complexité génomique réduite suggère qu'*Oopsacas* représente une solution évolutive alternative à l'organisation multicellulaire qui a divergé précocement des autres lyssacinosidés et a continué à évoluer selon une trajectoire nouvelle.

Selon la seconde théorie, des processus avancés que l'on croyait appartenir exclusivement aux métazoaires peuvent se produire et se produisent effectivement sans les gènes principaux des métazoaires, ce qui indique que certaines des fonctions biologiques complexes que nous attribuons aux "animaux" ne sont en fait pas exclusives aux métazoaires.

Le génome d'*Oopsacas minuta* fournit des preuves irréfutables de l'existence d'une organisation cellulaire semblable à celle des protistes. Avec seulement 16 413 gènes, il fait partie des plus petits génomes de métazoaires non parasites rapportés à ce jour, avec l'absence de nombreux gènes généralement considérés comme ancestraux et essentiels pour les processus morphogénétiques des métazoaires, y compris une voie Wnt fonctionnelle et de nombreux facteurs de transcription (Santini et al. 2023). Cette architecture génomique est cohérente avec la rétention d'une boîte à outils génétique de type protiste qui a précédé l'élaboration d'une machinerie de développement complexe chez les métazoaires.

Ces deux théories indiquent que l'assemblage du lyssacinosidan peut englober de multiples expériences évolutives indépendantes dans la transition d'une organisation de type protiste à une organisation de type animal.

Orientations futures de la recherche

La reclassification proposée d'*Oopsacas minuta* en tant qu'amibozoaire multicellulaire exige une confirmation expérimentale rigoureuse et des recherches plus approfondies.

En outre, bien que les preuves moléculaires et morphologiques indiquent une architecture organique, non siliceuse, une validation chimique définitive reste essentielle. Les techniques analytiques telles que la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie, la diffraction des rayons X, la spectroscopie FTIR et les essais de dissolution à l'acide fluorhydrique devraient être prioritaires pour déterminer si ses spicules sont composés de silice ou d'une matrice organique.

S'il s'avère que cet organisme n'utilise même pas de silice comme le font les éponges de verre, il faudra le retirer des Hexactinellida, ce qui entraînera probablement une affectation temporaire aux *Porifera incertae sedis* ou justifiera même la création d'un nouveau groupe taxonomique de haut niveau pour les organismes multicellulaires non métazoaires. Cela pourrait également permettre à la moisissure visqueuse de trouver enfin un foyer taxonomique approprié.

Les efforts de recherche parallèles devraient inclure un échantillonnage phylogénomique élargi aux éponges siliceuses et non siliceuses pour résoudre les relations profondes et tester d'autres lignées mal classées, ainsi que des études fonctionnelles de ses enzymes de construction d'échafaudages et de sa voie de reproduction.

La préservation est désormais une priorité scientifique urgente. Le confinement apparent d'*Oopsacas minuta* aux grottes d'anchialine méditerranéennes (habitats fragiles et à faible énergie) le rend extrêmement vulnérable aux perturbations anthropogéniques, à l'acidification des océans et au réchauffement régional. Des protocoles de culture devraient être mis au point pour permettre le développement, l'étude, les soins et la conservation à long terme.

Cet organisme est peut-être le seul représentant survivant d'une voie évolutive vieille d'un milliard d'années, et sa survie ne doit pas être laissée au hasard.

Conclusions de l'étude

Cette étude présente des preuves moléculaires qui remettent en question la classification actuelle d'*Oopsacas minuta*. L'organisme présente une homologie de séquence cohérente et inhabituellement forte avec les amibozoaires *Nuclearia thermophila* et *Fonticula alba*. Ces affinités apparaissent dans de multiples loci conservés, y compris l'ARNr 18S et 28S, les séquences mitochondriales et une région de 5,2 kb de PRPF8, qui ne sont pas attendus dans une lignée de métazoaires.

La combinaison de l'identité moléculaire des amibozoaires, de l'absence de systèmes de développement clés des métazoaires et de caractéristiques multicellulaires ayant évolué de manière indépendante soutient l'hypothèse selon laquelle *Oopsacas minuta* représente une lignée évolutive distincte. Ces caractéristiques ne s'expliquent pas facilement par la seule ascendance de l'éponge et semblent

refléter une convergence vers une physiologie semblable à celle de l'éponge à partir d'un point de départ différent.

Oopsacas minuta et l'ensemble plus large des lyssacinosidés représentent un cas remarquable d'évolution convergente vers une complexité de niveau animal par une voie évolutive entièrement non métazoaire. Les alignements génétiques entre *Oopsacas* et des amibozoaires comme *Nuclearia* et *Fonticula alba*, combinés à l'architecture syncytiale étendue et aux capacités uniques du groupe, suggèrent que ces organismes ont atteint des fonctions animales grâce à la machinerie cellulaire des amibozoaires (c'est-à-dire la signalisation du réseau cytoplasmique et l'organisation syncytiale multinucléée) plutôt que par les voies de développement canoniques des métazoaires.

La trajectoire évolutive semble progresser depuis les prototypes *de type Oopsacas* utilisant une génétique purement amiboenne pour réaliser des fonctions animales, jusqu'aux éponges de verre qui ont "métazoanisé" ces innovations initialement amiboennes, en passant par les formes transitoires de type lyssacinosidan qui ont acquis des gènes métazoens tout en conservant des architectures amiboennes.

Il s'agit d'une évolution indépendante de la complexité multicellulaire parallèle à celle des métazoaires conventionnels, ce qui confirme l'hypothèse du prototype multicellulaire multiple. Plutôt que d'être des animaux dégénérés auxquels il manque des gènes essentiels, les éponges de verre semblent être des amibozoaires qui ont inventé des stratégies écologiques de type animal avant les métazoaires, influençant par la suite l'évolution des métazoaires ou convergeant avec elle, tout en conservant leur héritage cellulaire amibozoaire distinctif.

Remerciements

L'auteur a conceptualisé l'étude, élaboré le cadre théorique et effectué toutes les analyses. Cette recherche n'a bénéficié d'aucun financement externe et a été menée à l'aide de ressources acquises personnellement. Aucune nouvelle donnée n'a été créée pour cet article.

L'auteur remercie les ressources génomiques en libre accès et les bases de données qui ont rendu cette analyse possible, en particulier les projets de génome d'*Oopsacas minuta* et les dépôts de séquences du NCBI.

L'auteur remercie Claude AI, le biologiste moléculaire GPT et le chercheur GPT pour leur aide dans la préparation du manuscrit, les discussions sur l'interprétation des données et le développement de la recherche au cours de cette enquête.

Copyright (C) Ashley Gjovik. Ce travail est mis à disposition gratuitement sous la licence Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

Références

Anderson, Oopsacas. (2018). Un demi-siècle de recherche sur les amibes libres (1965-2017) : Revue des études biogéographiques, écologiques et physiologiques. Acta Protozoologica. 57. 1-28.

Bakran-Petricioli, T., Vacelet, J., Zibrowius, H., Petricioli, D., Chevaldonné, P., & Raa, T. (2007). New data on the distribution of the "deep-sea" sponges *Asbestopluma hypogea* and *Oopsacas minuta* in the Mediterranean Sea. *Marine Ecology*, 28(Suppl. 1), 10-23.

Belahbib H, Renard E, Santini S, et al. New genomic data and analyses challenge the traditional vision of animal epithelium evolution. *BMC Genomics*. 2018;19(1):393.

Borchiellini, C., Manuel, M., Alivon, E., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., & Le Parco, Y. (2001). Sponge paraphyly and the origin of Metazoa. *Journal of evolutionary biology*, *14*(1), 171-179.

Botting, Joseph & Janussen, Dorte & Dohrmann, Martin & Muir, Lucy & Zhang, Yuandong & Junye, Ma. (2025). Advanced crown-group Rossellidae (Porifera : Hexactinellida) resembling extant taxa from the Hirnantian (Late Ordovician) Anji Biota. Papers in Palaeontology. 11.

Botting, Joseph. "Cyathophycus and the Origin of Demosponges". Lethaia, Taylor & Francis, 2003.

Botting, Joseph P., Yuchen Lu, Lucy A. Muir, Junfeng Guo, Guwei Li, Chao Chang et Peiyun Cong. "A Probable Hyalonematid Sponge (Hexactinellida : Amphidiscophora) from the Middle Ordovician of the Builth Inlier, Wales". *Palaeoworld* 31, no. 4 (2022) : 704-722.

Botting, Joseph & Zhang, Yuandong & Muir, Lucy (2017). La découverte d'un chaînon manquant entre les démosponges et les hexactinellides confirme le modèle paléontologique de l'évolution des éponges. Scientific Reports. 7.

Boury-Esnault, N., Efremova, S., Bézac, C., & Vacelet, J. (1999). Reproduction d'une éponge hexactinellide : première description de la gastrulation par délamination cellulaire chez les Porifères. *Invertebrate Reproduction and Development*, 35(3), 187-201.

Boury-Esnault, N., & Vacelet, J. (1994). Etudes préliminaires sur l'organisation et le développement d'une éponge hexactinellide d'une grotte méditerranéenne, *Oopsacas minuta*. In R.W.M. van Soest, Th.M.G. van Kempen, & J.-C. Braekman (Eds.), *Sponges in Time and Space* (pp. 407-415). Balkema.

Brown, M. W., Spiegel, F. W., & Silberman, J. D. (2009). La phylogénie de la moisissure visqueuse cellulaire "oubliée", *Fonticula alba*, révèle une branche évolutive clé au sein d'Opisthokonta. *Molecular Biology and Evolution*,

26(12), 2699-2709.

Brunet T. Cell contractility in early animal evolution. *Curr Biol*. 2023;33(18):R966-R985.

Clark, H.J. (1868). On the Spongiae Ciliatae as Infusoria Flagellata ; or, observations on the structure, animality, and relationship of Leucosolenia botryoides, Bowerbank. *Mémoires de la Société d'histoire naturelle de Boston.* 1(III) : 305-340.

Dayel MJ, Alegado RA, Fairclough SR, et al. Cell differentiation and morphogenesis in the colony-forming choanoflagellate Salpingoeca rosetta. *Dev Biol*. 2011;357(1):73-82.

Dirren, S., Pitsch, G., Silva, M. Oopsacas D., & Posch, T. (2017). Pâturage de *Nuclearia thermophila* et *Nuclearia delicatula* (Nucleariidae, Opisthokonta) sur la cyanobactérie toxique *Planktothrix rubescens*. *European Journal of Protistology*, 60, 87-101.

Dohrmann, Martin & Erpenbeck, Dirk & Larroux, Claire & Maldonado, Manuel & Voigt, Oliver & Borchiellini, Carole & Lavrov, Dennis. (2012). Phylogénie profonde et évolution des éponges (Phylum Porifera). *Advances in marine biology (Progrès en biologie marine).* 61. 1-78.

Dohrmann, Martin, Dorte Janussen, Joachim Reitner, Allen G. Collins, et Gert Wörheide. "Phylogénie et évolution des éponges de verre (Porifera, Hexactinellida)". *Systematic Biology* 57, no. 3 (2008) : 388-405.

Dohrmann, Martin, Chris Kelley, Michelle Kelly, Andrzej Pisera, John N.A. Hooper et Henry M. Reiswig. "An integrative systematic framework helps to reconstruct skeletal evolution of glass sponges (Porifera, Hexactinellida)" (Un cadre systématique intégratif aide à reconstruire l'évolution du squelette des éponges de verre (Porifera, Hexactinellida)). *Frontiers in Zoology* 14 (2017) : 18.

Dohrmann, M., D. Janussen, J. Reitner, A.G. Collins et G. Wörheide. 2012. Phylogénie et évolution des éponges de verre (Porifera, Hexactinellida). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63 : 23-34.

Dohrmann, Martin, Henry M. Reiswig, Michelle Kelly, Sadie Mills, Simone Schätzle, Miriam Reverter, Natascha Niesse, Sven Rohde, Peter Schupp et Gert Wörheide. "Expanded Sampling of New Zealand Glass Sponges (Porifera : Hexactinellida) Provides New Insights into Biodiversity, Chemodiversity, and Phylogeny of the Class". *PeerJ* 11 (2023) : e15017.

Dyková I, Veverková M, Fiala I, Machácková B, Pecková H. Nuclearia pattersoni sp. n. (Filosea), une nouvelle espèce d'amibe amphizoïque isolée des branchies du gardon (Rutilus rutilus), et son endosymbion rickettsial. *Folia Parasitol (Praha)*. 2003;50(3):161-170.

Fontorbe, G., et al. (2017). The silicon isotopic composition of Ethmodiscus rex laminated diatom mats from the tropical Atlantic : Implications for silica cycling in the equatorial Pacific during the Miocene. *Paléocéanographie et paléoclimatologie*, 32, 1-15.

Gabaldón, T., Völcker, E. et Torruella, G. (2022). Sur la biologie, la diversité et l'évolution des amibes nucléariides (Amorphea, Obazoa, Opisthokonta). *Protist*, 173(4), 125895.

Galindo, L. J., Torruella, G., Moreira, D., Eglit, Y., Simpson, A. G. B., Völcker, E., Clauß, S., & López-García, P. (2019). Approches combinées de culture et de cellule unique pour la phylogénomique des amibes nucléariides, proches parents des champignons. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 374(1786), 20190094.

Gerovasileiou V, Voultsiadou E. Marine caves of the Mediterranean Sea : a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS One*. 2012;7(7):e39873.

Gertraud Burger, Michael W. Gray, Lise Forget, B. Franz Lang, Strikingly Bacteria-Like and Gene-Rich Mitochondrial Genomes throughout Jakobid Protists, *Genome Biology and Evolution*, Volume 5, Issue 2, February 2013, Pages 418-438.

Gjøvik, Ashley M. "The Multiple Multicellular Prototype Framework : Silica-based Biomineralization and Early Eukaryotic Diversification". *The Journal of Decolonized Ecology and Evolution* 1, no. 1 (9 juin 2025). https://doi.org/10.5281/zenodo.15622349.

Gjøvik, Ashley M. "A Recursive Strategy for Deep Homology Discovery in Genetic Sequence Alignment". *The Journal of Decolonized Ecology and Evolution* 1, no. 1 (10 juin 2025). https://doi.org/10.5281/zenodo.15628144

Gjøvik, Ashley, M. "Molecular Characterization of Trichophyton Schoenleinii Reveals Systematic Affinities with Ancient Eukaryotic Lineages". The Journal of Decolonized Ecology and Evolution 1, no. 1 (22 juin 2025). https://doi.org/10.5281/zenodo.15717921.

Gjøvik, Ashley, M. "Compiled Chemistry : Structural Inheritance and the Deep Origins of Biological Function". *The Journal of Decolonized Ecology and Evolution* 1, no. 1 (23 juin 2025). https://doi.org/10.5281/zenodo.15717955

Gong, Lin, Mei Yang, Dorte Janussen, Martin Dohrmann et Xikun Li. "A new species of Caulophacus (Hexactinellida : Lyssacinosida : Rossellidae) from the western Pacific Ocean, with new insights into the mitochondrial genome characteristics of hexactinellid sponges". *Frontiers in Marine Science* 10 (2023) : 979912.

Harmelin JG, Vacelet J (1997) Clues to deep-sea biodiversity in a nearshore cave. Vie Milieu 47 : 351-354.

Heiss AA, Kolisko M, Ekelund F, Brown MW, Roger AJ,

Simpson AGB. Réexamen morphologique et phylogénomique combiné des malawimonads, un taxon critique pour déduire l'histoire évolutive des eucaryotes. *R Soc Open Sci*. 2018;5(4):171707.

Hendry, K. R. et Robinson, L. F. (2012). La relation entre le fractionnement isotopique du silicium dans les éponges et la concentration en acide silicique : Modern and core-top studies of biogenic opal. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 81, 1-12.

Hendry, K. R., Swann, G. E. A., Leng, M. J., et al. (2019). Note technique : Silica stable isotopes and silicification in a carnivorous sponge *Asbestopluma* sp. *Biogeosciences*, 16, 3677-3691.

Krautter, Manfred. "Fossil Hexactinellida : An Overview". In *Systema Porifera*, édité par J.N.A. Hooper et R.W.M. Van Soest, 1211-1223. Boston : Springer, 2002.

Jourda, C., Santini, S., Rocher, C., Le Bivic, A., & Claverie, J. M. (2015). Séquence du génome mitochondrial de l'éponge de verre Oopsacas minuta. *Genome announcements*, *3*(4), e00823-15.

Leon F, EspinozaEsparza JM, Deng V, Coyle MC, Espinoza S, Booth DS. 2025. Cell differentiation controls iron assimilation in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. mSphere 10:e00917-24.

Leys, S. P. (2003). Étude comparative de la spiculogenèse chez les larves de démosponge et d'hexactinellide. *Microscopy Research and Technique*, 62(4), 300-311.

Leys SP. The significance of syncytial tissues for the position of the hexactinellida in the metazoa. *Integr Comp Biol*. 2003;43(1):19-27.

Leys, S. P., Cheung, E., & Boury-Esnault, N. (2006). Embryogenèse chez l'éponge de verre *Oopsacas minuta* : formation de syncytia par fusion de blastomères. *Integrative and Comparative Biology*, 46(2), 104-117.

Leys, S. P., Mackie, G. Oopsacas, & Reiswig, H. M. (2007). The biology of glass sponges. *Advances in Marine Biology*, 52, 1-145.

Leys, S. P., Kamarul Zaman, A., & Boury-Esnault, N. (2016). Cartographie tridimensionnelle du devenir des tissus larvaires au cours de la métamorphose chez l'éponge de verre *Oopsacas minuta*. *Invertebrate Biology*, 135(3), 259-272.

Li, Luoyang, Dorte Janussen, Renbin Zhan, Jisuo Jin, Mu Liu, Junye Ma, Yuandong Zhang et Xueping Ma. "Le plus ancien fossile connu de Rossellidés (Hexactinellida, Porifera) de la transition Ordovicien-Silurien de l'Anhui, Chine du Sud". *PalZ* 93 (2019) : 559-566.

López-Escardó, D., et al. (2023). Les protéines associées à la silice des éponges hexactinellides soutiennent un scénario évolutif alternatif pour la biominéralisation chez les Porifères. *Nature Communications*, 14, 8145.

Łukowiak M, Van Soest R, Klautau M, Pérez T, Pisera A, Tabachnick K. The terminology of sponge spicules. *J Morphol*. 2022;283(12):1517-1545.

Lundsten, Lonny, Susan von Thun, Linda Kuhnz, Jim Barry, Freya Goetz, George Matsumoto, Henry Reiswig et Welton Lee. "Time-series analysis of six deep-sea demosponge species from Monterey Canyon reveals species-specific responses to environmental changes" (Analyse des séries temporelles de six espèces de démosponge d'eau profonde du canyon de Monterey révèle les réponses spécifiques des espèces aux changements environnementaux). *Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers* 96 (2015) : 108-117.

Lynn, Robert J. "Seasonal variation of temperature and salinity at 10 meters in the California Current". *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports* 11 (1967) : 157-175.

Mackie, G.Oopsacas et C.L. Singla. 1983. Studies on hexactinellid sponges. I. Histologie de *Rhabdocalyptus dawsoni* (Lambe, 1873). *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 301 : 365-400.

Maldonado, M., López-Acosta, M., Beazley, L., Kenchington, E., Koutsouveli, V. et Riesgo, A. (2020). La coopération entre les transporteurs de silicium passifs et actifs clarifie l'écophysiologie et l'évolution de la biosilicification chez les éponges. *Science Advances*, 6(28), eaba9322.

Mair, Magdalena & Ruther, Joachim. (2019). Écologie chimique du genre de guêpe parasitoïde Nasonia (Hymenoptera, Pteromalidae). *Frontiers in Ecology and Evolution.* 7.

Manuel, M., Le Parco, Y. et Borchiellini, C. (2004). Comparative analysis of Brachyury T-domains, with the characterization of two new sponge sequences, from a hexactinellid and a calcisponge. *Gene*, 340(2), 291-301.

Moran, D.M., Anderson, OopsacasR., Dennett, M.R., Caron, D.A., Gast, R.J. 2007. A Description of Seven Antarctic Marine Gymnamoebae Including a New Subspecies, Two New Species and a New Genus : *Neoparamoeba aestuarina antarctica* n. subsp., *Platyamoeba oblongata* n. sp., *Platyamoeba contorta* n. sp. et *Vermistella antarctica* n. gen. n. sp.*J. Eukaryotic Microbiology* **54** : 169-183

Müller, W. E. G., Eckert, C., Kropf, K., et al. (2007). Formation of giant spicules in the deep-sea hexactinellid *Monorhaphis chuni* (Schulze 1904) : electron-microscopic and biochemical studies (Formation de spicules géants chez l'hexactinellide des grands fonds *Monorhaphis chuni* (Schulze 1904) : études microscopiques et biochimiques).

Cell and Tissue Research, 329(2), 363-378.

Müller, W. E. G., Wang, X., Burghard, Z., et al. (2009). Bio-sintering processes in hexactinellid sponges : fusion of bio-silica in giant basal spicules from *Monorhaphis chuni*. *Journal of Structural Biology*, 168(3), 548-561.

Nielsen C. Six major steps in animal evolution : are we derived sponge larvae ? *Evol Dev*. 2008;10(2):241-257.

Perez, T. (1996). La rétention de particules par une éponge hexactinellide, Oopsacas minuta (Leucopsacasidae) : le rôle du réticulum. *CR Acad. Sci. Ser. III Life Sci*, *319*, 385-391.

Pisera, A., Łukowiak, M., Masse, S., et al. (2021). Aperçu de la structure et de la morphogenèse de la spicule basale géante de l'éponge de verre *Monorhaphis chuni*. *Frontiers in Zoology*, 18(1), 58.

Reiswig, Henry M., et Juan Francisco Araya. "A review of the Hexactinellida (Porifera) of Chile, with the first record of Caulophacus Schulze, 1885 (Lyssacinosida : Rossellidae) from the Southeastern Pacific Ocean". *Zootaxa* 3889, no. 3 (2014) : 414-428.

Reynolds, Andrew. (2008). Amoebae as Exemplary Cells : La nature protéiforme d'un organisme élémentaire. Journal of the history of biology. 41. 307-37.

Riesgo, A., Maldonado, M., López-Legentil, S. et Giribet, G. (2015). Une proposition pour l'évolution de la cathepsine et de la silicateine chez les éponges. *Journal of Molecular Evolution*, 80(5), 278-291.

Rodríguez-Ezpeleta N, Brinkmann H, Burger G, et al. Toward resolving the eukaryotic tree : the phylogenetic positions of jakobids and cercozoans. *Curr Biol*. 2007;17(16):1420-1425.

Ros-Rocher N, Pérez-Posada A, Leger MM, Ruiz-Trillo I. The origin of animals : an ancestral reconstruction of the unicellular-to-multicellular transition (L'origine des animaux : une reconstruction ancestrale de la transition unicellulaire-multicellulaire). *Open Biol*. 2021;11(2):200359.

Rossi, M. Eleonora & et al. (2024). Independent origins of spicules reconcile the evolutionary history of sponges.

Santini, S., Schenkelaars, Q., Jourda, C., et al. (2023). Le génome compact de l'éponge *Oopsacas minuta* (Hexactinellida) est dépourvu de gènes clés de métazoaires. *BMC Biology*, 21, 139.

Schenkelaars, Quentin & Pratlong, Marine & Kodjabachian, Laurent & Fierro-Constain, Laura & Vacelet, Jean & Le Bivic, André & Renard, Emmanuelle & Borchiellini, Carole. (2017). Multicellularité et polarité animales sans signalisation Wnt. Scientific Reports. 7. 10.

Shimizu, K., Amano, T., Bari, M. R., et al. (2015). Glassin, une protéine riche en histidine du système squelettique siliceux de l'éponge marine *Euplectella*, dirige la polycondensation de la silice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(37), 11449-11454.

Shimizu K, Nishi M, Sakate Y, et al. Silica-associated proteins from hexactinellid sponges support an alternative evolutionary scenario for biomineralization in Porifera. *Nat Commun*. 2024;15(1):181.

Simpson AG, Inagaki Y, Roger AJ. Comprehensive multigene phylogenies of excavate protists reveal the evolutionary positions of "primitive" eukaryotes. *Mol Biol Evol*. 2006;23(3):615-625.

Sperling, E. A., Rosales-Lagarde, L., Aubrecht, R., et al. (2019). L'analyse statistique des données géochimiques du fer suggère une oxygénation limitée de la fin du Protérozoïque. *Nature*, 523, 451-454.

Tang Q, Hu J, Xie G, et al. A problematic animal fossil from the early Cambrian Hetang Formation, South China. *J Paleontol*. 2019.

Topsent, E. (1927). Diagnoses d'Éponges nouvelles recueillies par le Prince Albert Ier de Monaco. *Bulletin de l'Institut océanographique Monaco*, 502, 1-19.

Topsent, E. (1928). Spongiaires de l'Atlantique et de la Méditerranée provenant des croisières du Prince Albert ler de Monaco. [Spongiaires de l'Atlantique et de la Méditerranée provenant des croisières du Prince Albert Ier de Monaco.] *Résultats des campagnes scientifiques accomplies par le Prince Albert I. Monaco.* 74:1-376, pls I-XI. page(s) : 75-76.

Tong, S. M. (1997). Heterotrophic flagellates and other protists from Southampton Water, U.K. *Ophelia.* 47(2) : 71-131

Toret, C. P., Peled, S., Eelkema, R., Kaksonen, M. et Bassereau, P. (2022). La moisissure visqueuse cellulaire *Fonticula alba* forme un collectif dynamique et multicellulaire tout en se nourrissant de bactéries. *Current Biology*, 32(7), 1398-1411.

Uriz, M. J., Turon, X., Becerro, M. A. et Agell, G. (2003). Siliceous spicules and skeleton frameworks in sponges : origin, diversity, ultrastructural patterns, and biological functions. *Microscopy Research and Technique*, 62(4), 279-299.

Vacelet, J., Boury-Esnault, N., & Harmelin, J.-G. (1994). Hexactinellid cave, a unique deep-sea habitat in the scuba zone. *Deep Sea Research Part I*, 41(7), 965-973.

Wang, X., Schröder, H. C., & Müller, W. E. G. (2009). Giant siliceous spicules from the deep-sea glass sponge *Monorhaphis chuni*. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 273, 69-115.

Werren, J. H., & Loehlin, D. W. (2009). The parasitoid wasp Nasonia : an emerging model system with haploid male genetics. *Cold Spring Harbor protocols*, *2009*(10), pdb.emo134.

Wörheide, G., M. Dohrmann, D. Erpenbeck, C. Larroux, M. Maldonado, Oopsacas Voigt, C. Borchiellini, et D. Lavrov. 2012. Deep phylogeny and evolution of sponges (phylum Porifera). *Advances in Marine Biology* 61 : 1-78.

Worley, A. C., Raper, K. B., & Kessler, D. (1979). *Fonticula alba* : a new cellular slime mold (Acrasiomycetes). *Mycologia*, 71(4), 746-760.