



HAL
open science

La transition bimembranées/unimembranées : une révolution au royaume des bactéries ?

Damien Aubert

► **To cite this version:**

Damien Aubert. La transition bimembranées/unimembranées : une révolution au royaume des bactéries ?. 2013. hal-01063767

HAL Id: hal-01063767

<https://hal.science/hal-01063767>

Preprint submitted on 12 Sep 2014

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.

La transition bimembranées/unimembranées : une révolution au royaume des bactéries ?

The bimembranous/unimembranous transition: a revolution in the kingdom of bacteria?

Damien Aubert, professeur agrégé de sciences de la vie, sciences de la Terre et de l'Univers

Mots-clés : phylogénie, bactérie, Gram, LUCA, paraphylie, flagelle, membrane

Résumé

Selon le paradigme actuel de la microbiologie, l'ancienne dichotomie procaryotes/eucaryotes serait obsolète et le monde vivant serait plutôt divisible en trois domaines fondamentalement très différents : Bacteria, Archaea et Eucarya. Pourtant depuis quelques années certains travaux remettent en question cette vision de la systématique et semblent converger vers une phylogénie alternative. Cette controverse est complexifiée par son intrication avec une vieille querelle sur l'attitude à adopter face à la paraphylie, mais elle présente néanmoins des implications intéressantes quant à la nature de LUCA, le dernier ancêtre commun universel, ainsi que sur l'origine de la vie elle-même.

Summary

10 According to the current paradigm in microbiology, the old prokaryotes/eukaryotes dichotomy is supposed to be obsolete and the living world should rather be divided into three fundamentally different domains: Bacteria, Archaea and Eucarya. Several authors have however contested this vision of systematics for several years. Their work seems now to converge in the direction of an alternative phylogeny thanks to the contribution of several independent lines of evidence. This controversy is
15 complicated by the superposition of an old taxonomic conflict on the attitude to adopt about paraphyly. It presents nonetheless interesting implications about the nature of the Last Universal Common Ancestor (LUCA), and also about the origin of life itself. As a consequence, the confirmation of this new shape of the tree of life could make rejection of all paraphyletic groups practically untenable.

20 Introduction

L'essor de l'anatomie comparée dès la fin du XVIII^e siècle a permis de mettre systématiquement en évidence l'existence d'affinités naturelles entre les espèces. Cela a rendu possible la genèse d'une classification scientifique du monde vivant fondée sur ces affinités que l'on sait aujourd'hui être le résultat d'une origine évolutive commune (la monophylie, voir **Figure 1**). Mais les classifications proposées étaient alors limitées aux organismes macroscopiques, les animaux et les « végétaux », ces derniers regroupant alors tout ce qui n'était pas animal. L'exploration progressive du monde des organismes invisibles à l'œil nu, initiée dès le XVII^e siècle par quelques pionniers de la microscopie comme Antoine van Leeuwenhoek, a poussé les naturalistes à essayer de classer ces nouveaux êtres au sein des règnes animal et végétal, formellement institués en 1735 par Carl von Linné. Ce n'est qu'en 1866 qu'Ernst Haeckel forgea un troisième règne, celui des protistes (Protista), afin de désigner l'ensemble des organismes ne formant pas de tissus différenciés (mais non nécessairement unicellulaires). Les protistes de Haeckel incluaient ce qu'il appela les monères (Monera), des microorganismes sans structure et apparemment complètement homogènes. Dans les premiers temps les monères de Haeckel étaient mal circonscrites, excluant par exemple certains organismes anucléés comme *Nostoc*, un genre de cyanobactérie alors classé dans le règne

35 plantal.

La diversité de ces monères, supposée faible, n'attira véritablement l'attention des naturalistes qu'à la suite des travaux de Ferdinand Cohn qui inventa le terme de bactérie (Bacteria) en 1870 et qui tenta le premier de les classer rigoureusement selon leur morphologie. Alors que les bactéries de Cohn, quoique par définition non chlorophylliennes, faisaient selon lui partie du règne plantal, Haeckel révisait ses monères pour en faire un quasi-synonyme du terme de bactérie, mais incluant cette fois-ci les cyanobactéries [1]. La classification des monères, ayant été élevée au rang de règne dès 1938 par Herbert Copeland [2], devint un centre d'intérêt grandissant. Malheureusement l'anatomie comparée qui avait fait le succès de la classification des règnes supérieurs n'était pas applicable aux bactéries dont les différences morphologiques étaient trop peu nombreuses pour inférer une généalogie suffisamment solide [3].

45

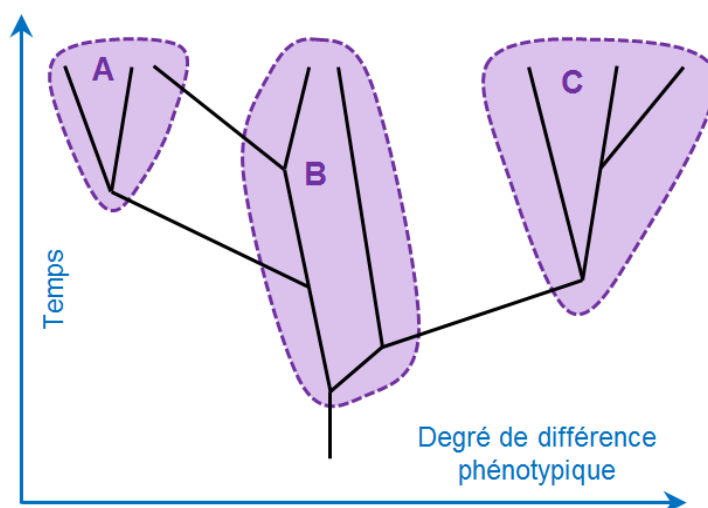


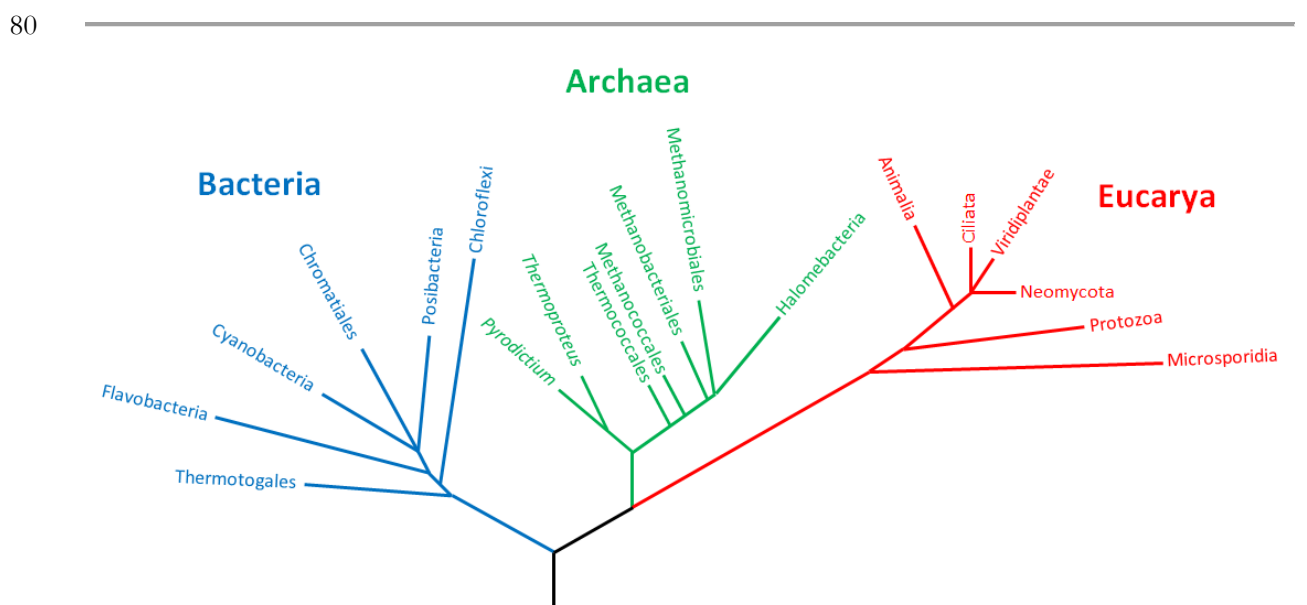
Figure 1. Les relations phylétiques. Sur cet arbre phylogénétique théorique le groupe **A** est **polyphylétique** car le dernier ancêtre commun des membres de ce groupe n'est pas inclus dans celui-ci. Le groupe **B** est qualifié de **paraphylétique** car il inclut bien le dernier ancêtre commun de ses membres mais pas l'ensemble des descendants de cet ancêtre. Le groupe **C** remplit quant à lui ces deux conditions et est donc **holophylétique**. Les groupes **B** et **C** illustrent deux cas particuliers de **monophylie**, c'est-à-dire qu'ils remplissent la condition d'inclusion du dernier ancêtre commun. Les groupes **A** et **B** illustrent quant à eux deux cas particuliers d'**hétérophylie**, c'est-à-dire qu'ils ne remplissent pas la condition d'inclusion de tous les descendants du dernier ancêtre commun de leurs membres. Seuls les groupes polyphylétiques sont aujourd'hui unanimement rejetés [4–7].

50

55 Le concept même de bactérie était d'ailleurs flou puisqu'il manquait toujours des critères unanimement
reconnus permettant de les distinguer à la fois des virus et des protistes. C'est seulement en 1957 qu'André
Lwoff put établir sans ambiguïté la distinction biochimique et structurale entre un virus et une bactérie [8].
C'est ensuite en 1962 que Roger Stanier et Cornelis van Niel définirent sans équivoque une bactérie par
l'absence d'organite membrané (et en particulier de véritable noyau, donc de mitose) [9]. Pour distinguer
60 cette organisation cellulaire de celle de tous les autres organismes ils les qualifièrent de procaryotes, par
opposition aux eucaryotes, deux termes forgés par Edouard Chatton en 1925 [10,11]. Cette dichotomie
eut un impact si important sur la communauté des microbiologistes que plusieurs d'entre eux proposèrent
d'élever Prokaryota et Eukaryota au rang de superrègne ou d'empire, faisant ainsi de cette différence
structurale la dichotomie fondamentale du monde vivant [3].

Le modèle des trois domaines du vivant

65 Bien que rapidement et universellement acceptée, la dichotomie procaryotes/eucaryotes fut bientôt remise
en question. Dans les années 1960-70, les avancées de la biologie moléculaire permirent pour la première
fois de séquencer des gènes, et donc de les comparer de manière quantitative. Le degré de différence entre
deux séquences pouvait tout simplement être interprété comme étant le reflet d'une parenté plus ou moins
éloignée. C'est ainsi qu'en comparant les séquences de l'ARNr 16S/18S, Carl Woese et George Fox
70 proposèrent de diviser le monde vivant en trois domaines très éloignés les uns des autres (**Figure 2**) : les
eucaryotes (Eukaryota), les archéobactéries (Archaeobacteria) et les eubactéries (Eubacteria) [12,13]. Selon
Woese le terme de procaryote était inapproprié car englobant deux réalités aussi éloignées l'une de l'autre
qu'elles ne le sont des eucaryotes. Pour ancrer ce dogme dans les esprits, Woese proposa de renommer ces
trois domaines en Eucarya, Archaea et Bacteria, ce qui permettait de supprimer l'élément « -bacteria »
75 commun à Archaeobacteria et Eubacteria [14]. Ces renommages étaient d'ailleurs critiquables d'un point de
vue purement technique car ils contrevenaient à plusieurs conventions nomenclaturales comme le principe
de stabilité des noms ou le principe d'antériorité (le Code International de Nomenclature Bactérienne ne
gouverne certes pas les taxons de rang supérieur à la classe, mais on comprend mal pourquoi ces derniers
devraient faire exception à des principes aussi fondamentaux) [5,15].



85 **Figure 2. Les trois domaines du vivant.** Redessiné d'après Woese *et al.* [14]. Cet arbre est représentatif de ce qui peut être
obtenu par le calcul des distances relatives entre les séquences de l'ARNr 16S/18S. Le positionnement des néomurains
(eucaryotes plus archéobactéries) à la base de ce phénogramme est probablement un artéfact d'attraction des longues branches [16]
qui pourrait découler d'une modification importante de la machinerie de réplication, de transcription et de traduction lors de
l'invasion d'une niche écologique thermophile et/ou en réponse à la pression de sélection des antibiotiques [17–19].

90 Woese semble avoir initialement fondé sa classification sur l'hypothèse suivant laquelle ces trois domaines
auraient émergé indépendamment d'un ancêtre commun extrêmement primitif : le progénote [3,12].
Cependant de nombreuses études phylogénétiques ultérieures ont permis de rejeter cette hypothèse, et il
semble aujourd'hui probable que les archéobactéries soient le groupe-frère des eucaryotes, les eubactéries
95 étant sûrement bien plus anciennes [17–20]. Par la suite le rejet d'un taxon Prokaryota s'appuya
essentiellement sur la paraphylie d'un tel assemblage. Cet argument a été particulièrement critiqué par le
théoricien de l'évolution Ernst Mayr. Celui-ci insista à plusieurs reprises [6,21,22] que rejeter
systématiquement les groupes paraphylétiques était une attitude dogmatique contraire aux objectifs
100 pratiques d'une classification en général, c'est-à-dire ranger ensemble des éléments similaires afin de
stocker et de retrouver facilement des informations. Rien ne s'oppose à ce que le contenu d'un groupe
paraphylétique soit homogène alors que par ailleurs rien ne vient garantir l'homogénéité d'un groupe
holophylétique (**Figure 1**). Le grand degré de similitude phénotypique entre les eubactéries et les
archéobactéries, par rapport aux eucaryotes, justifierait donc que ces organismes soient réunis dans un
même taxon [5,22,23] et en particulier que le terme traditionnel de bactérie pour cet ensemble soit
conservé [5,24]. Malgré cela, le modèle à trois domaines s'est progressivement imposé, devenant ainsi le
nouveau paradigme de la microbiologie [3,25–27].

Une dichotomie alternative des procaryotes

105 À la suite des études réalisées sur l'ARNr 16S/18S, la singularité des archéobactéries semblait être
confirmée par les phylogénies fondées sur d'autres molécules, comme les facteurs d'élongation de la
traduction EF-1/Tu et EF-2/G. La méthode utilisée consiste à regrouper ensemble les organismes dont
les séquences sont les plus proches. En effet si une séquence homologue change à un rythme constant
dans plusieurs lignées, le degré de parenté entre ces lignées peut être évalué grâce au degré de
110 ressemblance entre ces séquences. Par contre, si une séquence change bien plus rapidement dans une
lignée que dans les autres, elle deviendra vite bien différente de ces dernières. Ainsi, quelle que soit sa
position généalogique réelle, elle se retrouvera isolée sur l'arbre reconstituée à cause de son degré
important de différence avec les séquences ayant évolué plus lentement. Ce biais aujourd'hui bien connu
porte le nom d'attraction des longues branches (LBA) à cause de la tendance des branches à évolution
rapide à être fallacieusement « attirées » vers la base de l'arbre de parenté. Une évolution très rapide, au
115 moins à une certaine époque, des génomes eucaryotes et archéobactériens aurait donc pour conséquence de
transférer artificiellement ces deux branches du sommet de l'arbre des eubactéries vers sa base [16].

C'est ainsi que de nombreuses observations ont commencé à contredire ce modèle à trois domaines
holophylétiques. Radhey Gupta fit par exemple remarquer que de nombreuses protéines archéobactériennes
montraient une affinité avec leurs homologues chez les eubactéries à Gram positif [25]. Il existe par
120 exemple une délétion conservée de 23 acides aminés dans la protéine Hsp70 des archéobactéries et des
eubactéries à Gram positif, à l'exclusion des eubactéries à Gram négatif. On retrouve de même une
délétion conservée de 26 acides aminés pour la glutamine synthétase I, ou encore une insertion de 4 acides
aminés pour la diaminopimélate épimérase. Ces points communs ne peuvent s'expliquer que par une
ascendance commune, les groupes qu'ils délimitent sont donc monophylétiques. Les transferts
125 horizontaux de gènes (HGT) entre différentes lignées ne pourraient pas expliquer une telle cohérence dans
la distribution de ces indels (pour *insertion or deletion*), ce qui a été corroboré par d'autres études [16,19,20].
La prudence est légitime puisque les indels peuvent, comme tout autre caractère, être tributaires de
convergences évolutives, mais d'autres arguments moléculaires permettant de regrouper les archéobactéries
avec les bactéries à Gram positif ont été avancés, comme le fait que les actinomycétales possèdent un
130 protéasome 20S similaire à celui des archéobactéries et des eucaryotes [17,28]. Ce protéasome est en effet
une structure suffisamment complexe pour écarter à la fois la possibilité d'un transfert horizontal et celle
d'une évolution convergente.

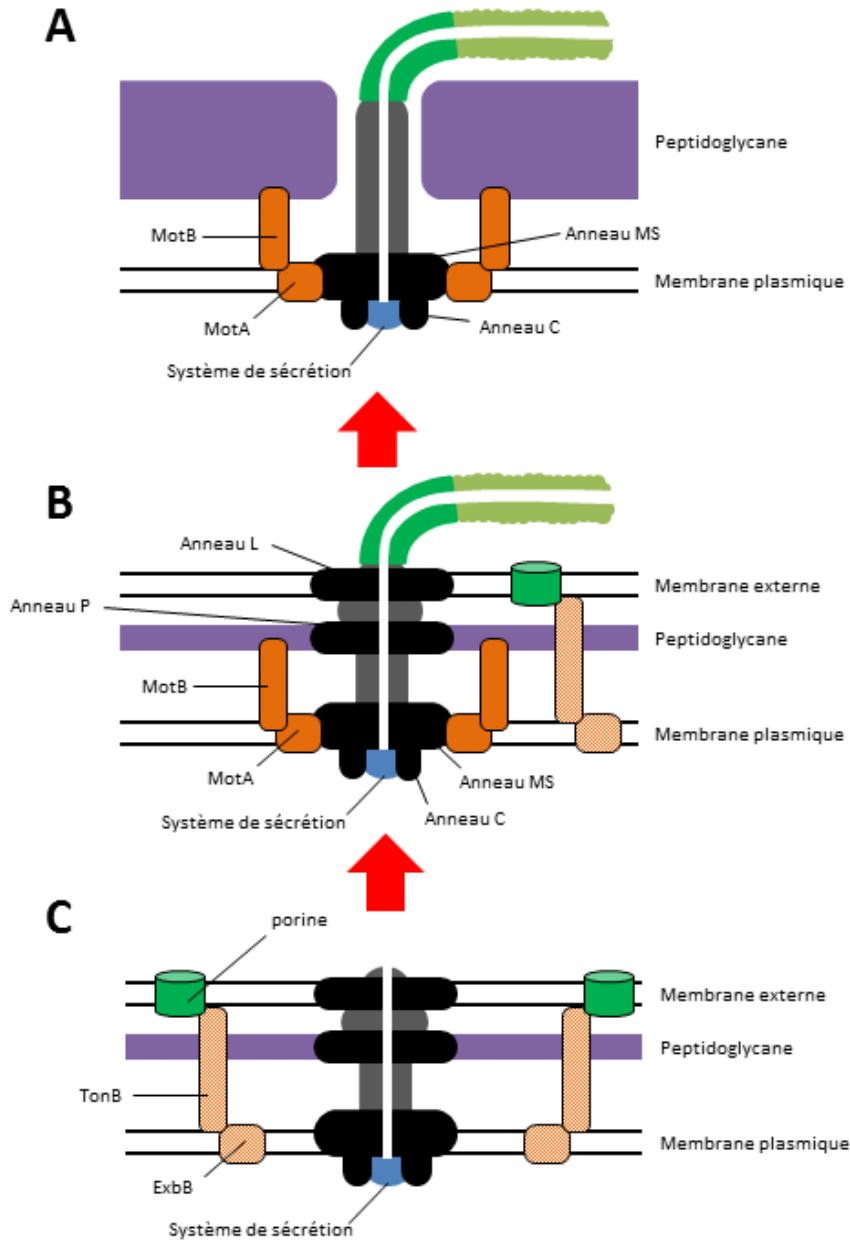


Figure 3. L'évolution du flagelle eubactérien. L'impossibilité qu'a le flagelle posibactérien (A) de se transformer en flagelle négabactérien (B) réside principalement dans la contrainte structurale imposée par l'ajout d'une membrane externe (OM) qui nécessiterait l'invention simultanée des anneaux L et P, des porines et du système de translocation des protéines vers la membrane externe. Le stator MotA/B est de plus homologue à TonB/ExbB impliqué dans l'import de molécules à travers l'OM des négabactéries. Le rotor enfin est probablement homologue au système de sécrétion du mucilage (C) des cyanobactéries [17]. L'idée que la motilité par glissement précède la motilité flagellaire n'est pas neuve et semble mécaniquement plausible [17].

135

140

Les fortes ressemblances anatomiques entre les eubactéries à Gram positif et les archéobactéries soutiennent ces conclusions. La coloration de Gram repose en effet sur la rétention du violet de gentiane par l'épais peptidoglycane qui sert de paroi aux eubactéries à Gram positif. Par opposition les eubactéries à Gram négatif n'ont qu'un fin peptidoglycane mais elles possèdent une membrane externe supplémentaire (OM pour *outer membrane*). Il existerait donc deux types fondamentalement différents de bactéries, caractérisés par la présence ou l'absence d'une OM. Comme les eubactéries à Gram positif, les archéobactéries n'ont pas d'OM. Remarquons que l'absence de peptidoglycane chez les archéobactéries peut

145

150 être considérée comme bien moins fondamentale puisque celui-ci a disparu indépendamment dans plusieurs lignées de bactéries unimembranées (par ex. les mycobactériacées) ou bimembranées (par ex. les planctomycées).

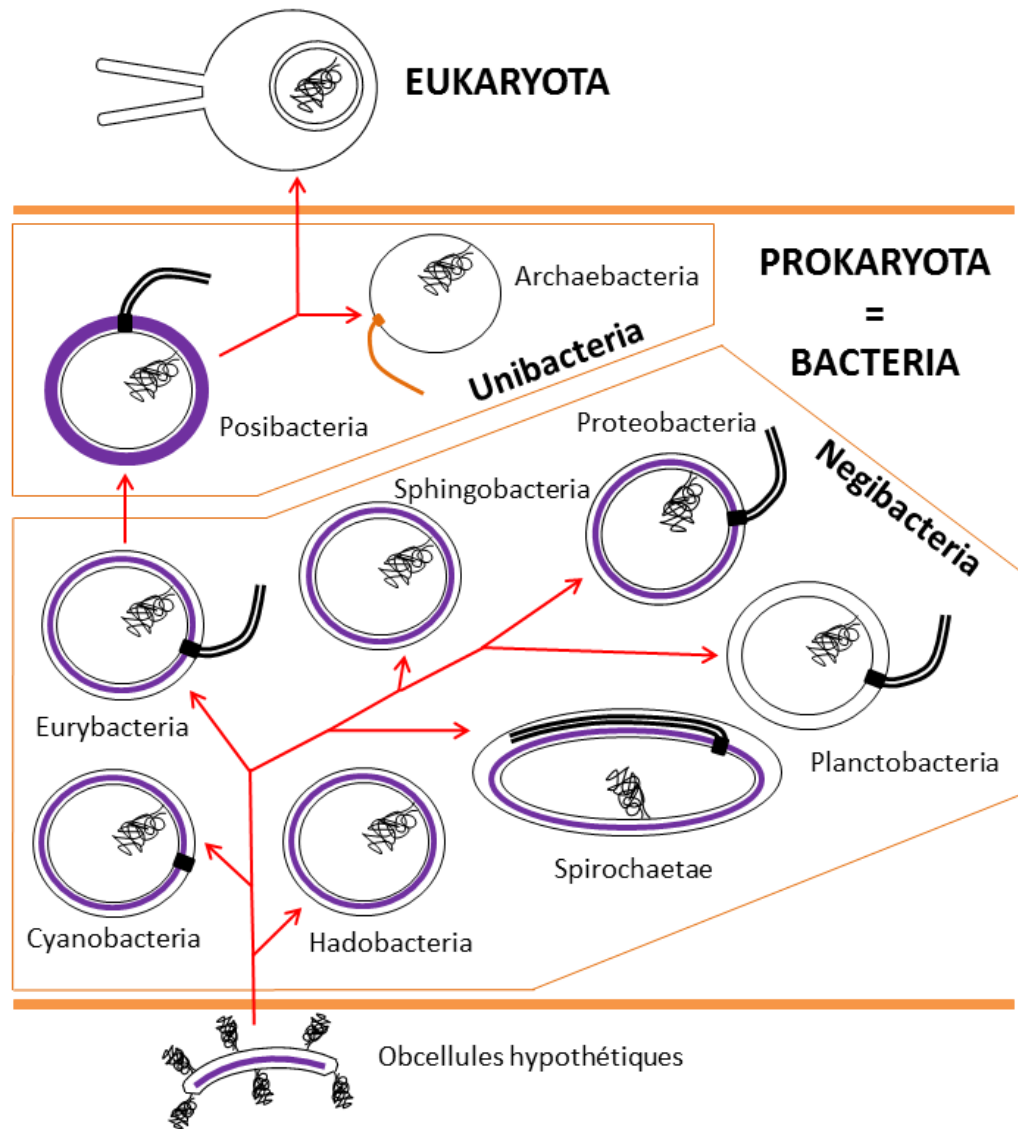
155 Cela amena ces auteurs à proposer une classification naturelle de l'empire des procaryotes selon leur structure cellulaire [5,17,25]. Les bactéries bimembranées formeraient ainsi le sous-règne Negibacteria, et les bactéries unimembranées le sous-règne Unibacteria, ce dernier regroupant lui-même deux embranchements : Posibacteria et Archaeobacteria [5,17]. Les spécificités des archéobactéries par rapport aux eubactéries semblent donc avoir été exagérées [5,17,19,22,25]. Cette nouvelle dichotomie au sein du règne Bacteria a permis de réaffirmer la validité et l'unité du concept de procaryote par opposition à celui d'eucaryote [5,17,22,24,25]. Ceci dit, cette nouvelle classification, loin de résoudre la question phylogénétique, a seulement permis de la formuler enfin correctement : des négabactéries ou des unibactéries, qui étaient là les premières ? Qui descend de qui ?

160 **La transition bimembranées/unimembranées**

165 Avec ses deux membranes et son compartiment périplasmique, l'organisation de la cellule négabactérienne est plus complexe que celle de la cellule unibactérienne. De fait, il semble difficile d'imaginer une évolution directe d'une cellule bimembranée sans passer par un stade unimembrané. Que les unibactéries représentent un grade ancestral et que les négabactéries en soient dérivées semblait donc être une hypothèse de travail prometteuse [25,29]. On a par exemple imaginé que les togobactéries, phylogénétiquement proches des posibactéries et possédant une OM atypique (quoiqu'encore mal caractérisée), pourrait représenter une sorte d'étape intermédiaire dans l'acquisition d'une OM typique [29]. Selon une telle hypothèse, la pression de sélection ayant permis cette transition évolutive pourrait avoir été la nécessité d'échapper à l'action des antibiotiques. En effet beaucoup de posibactéries comme 170 *Streptomyces* sécrètent ce type de molécule cytotoxique. Cela leur apporte un avantage dans leur compétition avec les espèces qui y sont sensibles. Or l'OM des négabactéries offre une protection contre les antibiotiques en retardant leur entrée dans la cellule ou en les inactivant grâce à des enzymes situées dans le périplasme [29]. Le problème essentiel de ce scénario reste malheureusement qu'il ne propose pas de mécanisme crédible pour expliquer comment l'OM a pu être construite *ex nihilo* par-dessus le 175 peptidoglycane [17,20]. Les membranes biologiques sont en effet toujours produites grâce à l'insertion de nouveaux lipides dans une membrane préexistante suivie par sa division [17,30,31].

180 Le problème de la transformation d'une unibactérie en une négabactérie se complique encore davantage lorsque l'on considère l'évolution du flagelle eubactérien. En effet les posibactéries et les négabactéries possèdent un flagelle complexe et de structure homologue. Son transfert d'un groupe à l'autre par HGT semble tout-à-fait impossible du fait du trop grand nombre de protéines dont il est constitué. Son héritage étant par conséquent strictement vertical, on en conclut que le chaînon qui relie les unibactéries et les négabactéries était une bactérie flagellée [17]. Ce flagelle est inséré dans la membrane plasmique dans les deux cas, mais à l'exception des spirochètes le flagelle des négabactéries est constitué d'une pièce supplémentaire enchâssée dans l'OM, l'anneau L, qui permet sa libre rotation (**Figure 3**). Sans cette 185 innovation le flagelle n'aurait pas pu traverser l'OM et rester fonctionnel, mais *a contrario* l'anneau L ne peut avoir été inventé avant qu'une OM ne soit présente. L'endoflagelle des spirochètes, qui se situe dans le périplasme, ne peut pas représenter un tel stade intermédiaire puisque celles-ci ont plusieurs caractères dérivés qui les distinguent fortement des autres négabactéries, par exemple la modification (*Leptospira*) ou la perte (les autres) du lipopolysaccharide (LPS) de l'OM. Deux larges insertions dans les sous-unités β et σ de l'ARN polymérase permettent par ailleurs de ranger les spirochètes parmi les gracilicutes, qui ne sont pas les négabactéries les plus proches des posibactéries [17]. Sur la base de similitudes de séquences de 190 l'ARNr, il est probable que les plus proches soient en fait être les sélénobactéries qui possèdent une OM et un flagelle négabactérien typique [17,20,25,29]. Ces dernières ont en outre la capacité de former des

195 endospores homologues à celles que l'on peut trouver chez certaines posibactéries. Outre la complexité de
 la biogenèse d'une OM sans altération du fonctionnement du flagelle, aucune posibactérie ne possède de
 structure primitive à partir de laquelle le flagelle aurait pu évoluer. Par contre certaines négabactéries
 possèdent de telles structures [17,20] : le rotor du flagelle est par exemple similaire au système de sécrétion
 du mucilage des cyanobactéries qui est à l'origine de leur motilité par glissement (**Figure 3**). Le stator du
 200 flagelle quant à lui, solidement ancré dans le peptidoglycane, semble dérivé du complexe TonB/ExbB qui
 est impliqué dans l'import de certaines molécules à travers l'OM, une structure que l'on ne retrouve jamais
 chez les unibactéries.



205 **Figure 4. L'arbre phylogénétique des bactéries (d'après Cavalier-Smith).** Le peptidoglycane plus ou moins épais est figuré
 en violet, les membranes sont représentées par les fines lignes noires, le matériel génétique par les pelotes, le flagelle eubactérien et
 son précurseur cyanobactérien sont représentés en noir alors que le flagelle archébactérien, non homologue, est représenté en
 orange. L'eucaryote est représenté avec deux cils (état probablement ancestral). Les 9 plans d'organisation schématisés
 correspondent aux 9 embranchements bactériens. L'absence de flagelle chez les sphingobactéries est une perte secondaire comme
 l'indique sa présence chez le genre *Salinibacter*. Chlorobacteria au sens de Cavalier-Smith [17] a été exclu de cette représentation
 210 puisqu'il a récemment été démontré que Chloroflexi au sens de Gupta [32] était un groupe de bactéries unimembranées (elles
 devront donc probablement être incluses au sein des posibactéries ou, si elles gardent leur statut d'embranchement, comme
 groupe-frère du reste des unibactéries). Les obcellules sont des organismes primitifs hypothétiques selon certains scénarios sur
 l'origine de la vie [31].

215 Dans le sens inverse, la transformation d'une négabactérie en une unibactérie semble mécaniquement plus
plausible puisqu'elle pourrait simplement être provoquée par la perte de l'OM, à la suite par exemple d'un
hypertrophie du peptidoglycane comme semble l'indiquer l'épaisseur de ce dernier chez la plupart des
posibactéries [17]. Cela ne nécessiterait pas d'adaptation majeure du flagelle, la perte de l'OM entraînant
seulement une simplification de sa structure. La perte de l'OM est cependant létale chez les négabactéries
220 actuelles et l'hypertrophie du peptidoglycane devrait avoir fortement perturbé la division cellulaire. Cette
perte ne peut donc s'être produite que chez une négabactérie dont la biogenèse de la paroi et les
mécanismes de division étaient préadaptés pour une autre raison. Ce scénario explique d'ailleurs pourquoi
les chloroplastes, les mitochondries et même les hydrogénosomes, tous descendants des négabactéries, ne
se sont jamais simplifiés au point de perdre leur OM : la perte préalable du peptidoglycane a rendu cette
simplification mécaniquement impossible. Cet évènement révolutionnaire n'est donc survenu qu'une seule
225 fois au sein du règne bactérien (**Figure 4**).

Perspectives

Le fait que le dernier ancêtre commun universel, nommé LUCA [26], pourrait être une bactérie déjà
bimembranée est contre-intuitif, essentiellement parce qu'un stade bimembrané semble de toute manière
devoir être précédé par un stade unimembrané [29]. Certains scénarios sur l'origine de la vie résolvent
230 toutefois ce paradoxe apparent en proposant que les premiers organismes n'étaient pas des cellules, mais
des « obcellules », c'est-à-dire des sortes de vésicules aplaties ayant leur matériel génétique et leurs enzymes
ancrés sur leur face externe [31]. La première cellule serait née de la fusion de plusieurs de ces obcellules
vivant en colonies (**Figure 4**). L'avantage de ce scénario détaillé est qu'il élimine de nombreuses difficultés
sur l'origine de la vie comme l'import des molécules organiques à travers la membrane plasmique chez un
235 être censé être primitif. Il explique en outre l'origine de l'OM et de la membrane plasmique par un
mécanisme progressif de différenciation à partir de la membrane de l'obcellule.

Les conclusions de ces travaux sur la structure de l'arbre de vie, loin d'être définitives, sont encore très
controversées pour plusieurs raisons. Premièrement parce qu'elles bousculent violemment le modèle des
trois domaines, le paradigme actuellement dominant [25–27], en reléguant le fossé qui devait séparer les
240 archéobactéries du reste du vivant à une division de troisième importance (après le fossé qui sépare les
procaryotes des eucaryotes et celui qui sépare les négabactéries et des unibactéries, voir **Figures 2 et 4**).
Deuxièmement parce que de nombreux groupes bactériens de première importance dans la résolution de
ces questions sont peu étudiés et mal caractérisés comme le montre la récente « découverte » que les
chlorobactéries, d'abord supposées bimembranées [17,18,20], sont en fait unimembranées [29,32]. Enfin
245 ces travaux mettent en évidence qu'une classification naturelle nécessite l'acceptation de groupes
paraphylétiques [5–7,18,22,25], ce qui est contraire au paradigme actuellement dominant en matière de
taxonomie. Sans cela, il faudrait nous résoudre soit à abandonner le terme de bactérie, soit à considérer
que tous les organismes actuels sont des bactéries !

250 **Références**

1. Haeckel EHPA. *Wonders of life*. London : Watts, 1904 : 501 p.
2. Copeland HF. The Kingdoms of Organisms. *The Quarterly Review of Biology* 1938 ; 13 : 383.
3. Sapp J. Two faces of the prokaryote concept. *Int. Microbiol.* 2006 ; 9 : 163–172.
4. Ashlock PD. Monophyly Again. *Systematic Zoology* 1972 ; 21 : 430.
- 255 5. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1998 ; 73 : 203–266.
6. Mayr E, Bock WJ. Classifications and other ordering systems. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 2002 ; 40 : 169–194.
7. Zander RH. Structuralism in Phylogenetic Systematics. *Biological Theory* 2011 ; 5 : 383–394.
8. Lwoff A. The concept of virus. *J. Gen. Microbiol.* 1957 ; 17 : 239–253.
- 260 9. Stanier RY, Niel CB van. The concept of a bacterium. *Arch Mikrobiol* 1962 ; 42 : 17–35.
10. Chatton E. Pansporella perplexa. Réflexions sur la biologie et la phylogénie des protozoaires. *Ann. Sci. Nat. Zool.* 1925 ; VII : 1–84.
11. Katscher F. The history of the terms prokaryotes and eukaryotes. *Protist* 2004 ; 155 : 257–263.
12. Woese CR, Fox GE. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1977 ; 74 : 5088–5090.
- 265 13. Balch WE, Magrum LJ, Fox GE, *et al.* An ancient divergence among the bacteria. *J. Mol. Evol.* 1977 ; 9 : 305–311.
14. Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1990 ; 87 : 4576–4579.
- 270 15. Lapage S, Sneath P, Lessel E, *et al.* eds. *International Code of Nomenclature of Bacteria: Bacteriological Code, 1990 Revision*. Washington (DC) : ASM Press, 1992 : 232 p.
16. Lake JA, Skophammer RG, Herbold CW, *et al.* Genome beginnings: rooting the tree of life. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 2009 ; 364 : 2177–2185.
17. Cavalier-Smith T. Rooting the tree of life by transition analyses. *Biol. Direct* 2006 ; 1 : 19.
- 275 18. Cavalier-Smith T. Deep phylogeny, ancestral groups and the four ages of life. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 2010 ; 365 : 111–132.
19. Valas RE, Bourne PE. The origin of a derived superkingdom: how a gram-positive bacterium crossed the desert to become an archaeon. *Biol. Direct* 2011 ; 6 : 16.
20. Valas RE, Bourne PE. Structural analysis of polarizing indels: an emerging consensus on the root of the tree of life. *Biol. Direct* 2009 ; 4 : 30.
- 280 21. Mayr E. Cladistic analysis or cladistic classification? *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 1974 ; 12 : 94–128.
22. Mayr E. Two empires or three? *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998 ; 95 : 9720–9723.

23. Martin W, Koonin EV. A positive definition of prokaryotes. *Nature* 2006 ; 442 : 868.
- 285 24. Cavalier-Smith T. Concept of a bacterium still valid in prokaryote debate. *Nature* 2007 ; 446 : 257.
25. Gupta RS. Life's third domain (Archaea): an established fact or an endangered paradigm? *Theor Popul Biol* 1998 ; 54 : 91–104.
26. Forterre P, Gribaldo S, Brochier C. Luca : À la recherche du plus proche ancêtre commun universel. *médecine/ sciences* 2005 ; 21 : 860–865.
- 290 27. Lyons SL. Thomas Kuhn is alive and well: the evolutionary relationships of simple life form--a paradigm under siege ? *Perspect. Biol. Med.* 2002 ; 45 : 359–376.
28. Valas RE, Bourne PE. Rethinking proteasome evolution: two novel bacterial proteasomes. *J. Mol. Evol.* 2008 ; 66 : 494–504.
- 295 29. Gupta RS. Origin of diderm (Gram-negative) bacteria: antibiotic selection pressure rather than endosymbiosis likely led to the evolution of bacterial cells with two membranes. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2011 ; 100 : 171–182.
30. Cavalier-Smith T. Membrane heredity and early chloroplast evolution. *Trends Plant Sci.* 2000 ; 5 : 174–182.
- 300 31. Cavalier-Smith T. Obcells as proto-organisms: membrane heredity, lithophosphorylation, and the origins of the genetic code, the first cells, and photosynthesis. *J. Mol. Evol.* 2001 ; 53 : 555–595.
- 305 32. Gupta RS, Chander P, George S. Phylogenetic framework and molecular signatures for the class Chloroflexi and its different clades; proposal for division of the class Chloroflexi class. nov. into the suborder Chloroflexineae subord. nov., consisting of the emended family Oscillochloridaceae and the family Chloroflexaceae fam. nov., and the suborder Roseiflexineae subord. nov., containing the family Roseiflexaceae fam. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2012 ; 103 : 99–119.