

# ARTÍCULO DE REVISIÓN

## Evolución de la multicelularidad y diferenciación

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# ACERCA DEL ORIGEN DE LOS ORGANISMOS MULTICELULARES Y LA APARICIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

Federico Castro-Muñozledo\* (1)

(1) Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Apartado Postal 14-740, Ciudad de México 07000, México.

\*Autor de correspondencia correo E: [federico.castro@cinvestav.mx](mailto:federico.castro@cinvestav.mx)

### RESUMEN

El origen de la multicelularidad, y por consecuencia, de la expresión de funciones especializadas en las células que constituyen a un individuo son de gran interés para entender los procesos evolutivos que llevaron al surgimiento de los metazoarios, de las plantas, de los hongos, así como de otros grupos caracterizados por su organización multicelular en sólo una etapa de su ciclo de vida. Se considera que la multicelularidad tuvo un origen: i) clonal o por división sin separación de las células hijas, ii) por agregación de individuos, iii) por septación de cenocitos o sincicios, o bien fue iv) una respuesta adaptativa a las presiones del medio. De manera adicional, la evidencia derivada de estudios filogenéticos, sumada a la secuenciación de moléculas altamente conservadas durante la evolución y la comparación entre genomas de organismos de diferentes grupos taxonómicos sugieren que la aparición del estado multicelular fue precedida por el establecimiento de las familias génicas que codifican para las proteínas que componen la maquinaria de señalización y la maquinaria de regulación de la expresión genética en los ancestros unicelulares de los metazoarios. Estos eventos establecieron el escenario para que apareciera la división de funciones en los primeros organismos multicelulares, y, por ende, la formación de los primeros tejidos con funciones especializadas. En este trabajo hacemos una breve reseña de estos procesos.

### PALABRAS CLAVE

Diferenciación celular, multicelularidad, evolución, metazoarios

## ABSTRACT

The origin of multicellularity, and consequently, the origin of specialized functions in the cells that constitute an organism, are issues of great interest to understand the evolutionary processes that led to the emergence of metazoans, plants, fungi, as well as other groups characterized by their multicellular organization along their life cycle. Until now, it is considered that multicellularity is the result of either: i) clonal division or division without separation of daughter cells, ii) the aggregation of individuals, iii) the septation of coenocytes or syncytia, or alternatively, iv) it consists in an adaptative response to environmental pressures, improving survival and reproduction of individuals. Evidence derived from phylogenetic studies, from sequencing highly conserved molecules, and from the comparison of genomes from organisms belonging to different taxa, suggests that the emergence of the multicellular state was preceded by the establishment of gene families encoding proteins involved in signaling pathways and in regulation of gene expression in the unicellular ancestors of metazoans. These events set the stage for the functional division in early multicellular organisms, and, therefore, the appearance of the first tissues with specialized functions. Here, we present a brief review of these processes.

## KEYWORDS

Cell  
differentiation,  
multicellularity,  
evolution,  
metazoans

## Introducción

La aparición de los organismos multicelulares a partir de un ancestro unicelular es uno de los eventos más importantes en la historia evolutiva, y es reconocida como una de las principales transiciones en la evolución, ya que los primeros organismos multicelulares dieron origen a todas las formas complejas de vida que conocemos.

Se considera que la vida en la Tierra apareció hace más de 3500 millones de años representada por microorganismos unicelulares. Sin embargo, puesto que sólo contamos con evidencia fósil, aún no son claros los fenómenos que condujeron al desarrollo de la multicelularidad ni los mecanismos involucrados en la aparición de organismos que presentan patrones de desarrollo espacial, así como también sufren morfogénesis y diferenciación celular (1).

**Origen de la multicelularidad.** Ernst Haeckel (1834-1919), uno de los zoólogos darwinistas más eminentes de finales del siglo XIX, propuso en 1874 el primer modelo que explicó el origen de los metazoarios. Según su teoría de la gastraea (2), la transición de la unicelularidad hacia la multicelularidad ocurrió en dos etapas consecutivas: en la primera, organismos flagelados unicelulares se agregaron para formar una colonia esferoidal hueca;

a esta estructura la denominó blastaea para subrayar su similitud con un embrión temprano en la etapa de blástula. Posteriormente, en una segunda fase, la pared celular de la blastaea se invaginó para formar una segunda capa correspondiente al precursor del intestino. En esta segunda etapa, se expresaba por primera vez un proceso primario de diferenciación celular, en el que se distinguían dos capas embrionarias básicas: el ectodermo y el endodermo. Haeckel llamó gastraea a esta segunda estructura hipotética para indicar su similitud con la gástrula observada durante el desarrollo en muchos grupos de metazoarios. De acuerdo con esta hipótesis, los corales y las esponjas son descendientes directos de una gastraea ancestral debido a que su cuerpo se deriva de dos capas embrionarias.

Posteriormente, surgieron otras hipótesis relacionadas con esta explicación, pero sólo modificaban la forma en que se constituye el agregado multicelular inicial. No obstante, las herramientas conceptuales y metodológicas proporcionadas por la filogenética, las técnicas de secuenciación y la comparación entre genomas de diferentes grupos taxonómicos permitieron concluir que la transición hacia la multicelularidad ocurrió en los tres dominios reconocidos de seres vivos (Bacteria, Archaea, y Eukarya), entre 10 y 25 veces desde que se origi-

nó la vida (3-5); por lo que podemos encontrar diferentes linajes multicelulares en cada uno de éstos. Sin embargo, la opinión predominante sugiere que los principales clados multicelulares aparecieron hace unos 1000 millones de años (4, 5). Otras transiciones más recientes hacia la multicelularidad ocurrieron en algunos grupos de procariontes como las myxobacterias y las cianobacterias; así como en grupos de eucariontes entre los que destacan algunos ciliados, mixomicetos, diatomeas y algas verdes como *Volvox* y *Eudorina* (5).

Actualmente se considera que la multicelularidad estuvo confinada a períodos limitados o temporales durante el ciclo vital de los primeros organismos. En estos agregados multicelulares, los trabajos especializados fueron o son ejecutados por células multifuncionales con programas de expresión genética asociados a estas etapas; como ocurre para la reproducción. En relación con este aspecto, las mixobacterias y los dictiostélidos constituyen un ejemplo extremadamente interesante. Ambos grupos (un linaje procarionte y un linaje eucarionte, respectivamente), presentan fases multicelulares similares, por lo que constituyen un ejemplo de convergencia evolutiva (6). Las mixobacterias se caracterizan por organizarse en consorcios celulares, aunque pueden presentar fases individuales no agregativas (7). Por otra parte, los dictiostélidos se comportan como células solitarias que actúan independientemente y que sólo establecen interacciones célula-célula cuando se agregan (8). No obstante, cuando estos organismos son expuestos a condiciones de inanición, se agregan y convierten en estructuras llamadas cuerpos fructíferos (9, 10).

Mientras en mixobacterias las células se programan hacia al menos dos tipos celulares diferentes (bastones periféricos y esporas) (11), en el eucarionte *Dictyostelium discoideum* el cuerpo fructífero presenta una fase de diferenciación que conlleva a la formación de al menos dos tipos celulares: las células del tallo y las esporas (12). En ambos casos, cuando se restablece la disponibilidad de nutrientes, las esporas son liberadas por el cuerpo fructífero y germinan.

Para desarrollar una organización multicelular permanente se hizo necesario construir un plan corporal. Dicho plan requirió el establecimiento de: i) mecanismos de comunicación de célula a célula, con la expansión concomitante de redes de señaliza-

ción y modificación de proteínas (13, 14); ii) la aparición de adherencia intercelular y de esquemas cooperativos de adhesión (15); y iii) la aparición de procesos de división celular que no generen organismos unicelulares independientes asociados a la alteración de los procesos que conducen a la separación de las células hijas (16-19). El surgimiento de tales eventos precedió o fue concurrente con los orígenes de la multicelularidad, y condujo a la expansión y diversificación de las redes que regulan la expresión de los genes (20, 21), y como consecuencia, al desarrollo de tipos celulares permanentemente especializados o diferenciados en un solo organismo multicelular (22). Así, aparte de los organismos que poseen multicelularidad temporal o muy simple, sólo las plantas y los animales poseen multicelularidad lo suficientemente compleja y persistente para constituir tejidos y órganos.

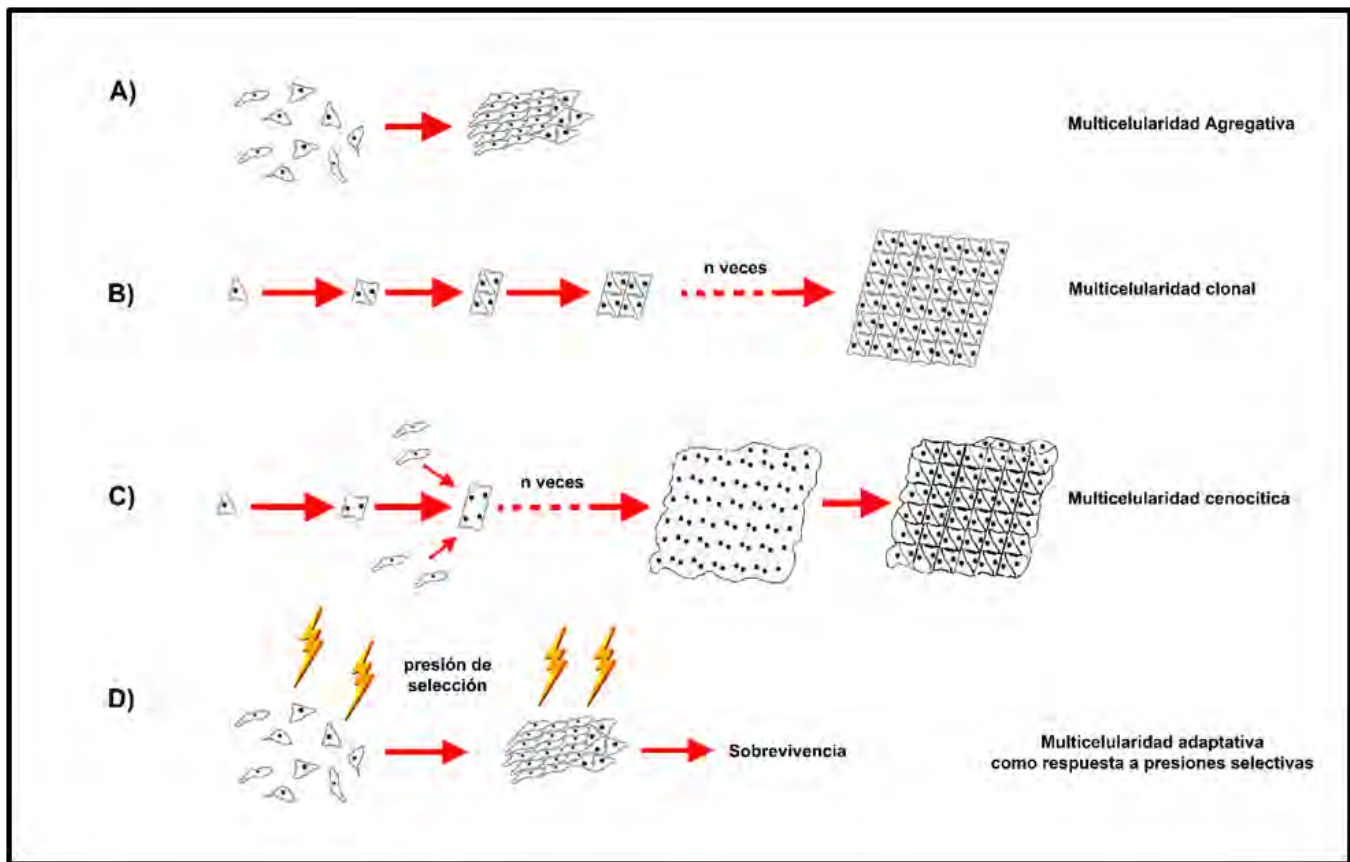
Actualmente, la evidencia acumulada sugiere que la multicelularidad se pudo originar mediante cuatro diferentes estrategias, como se muestra en la figura 1.

**A) Multicelularidad agregativa.** En ésta, las células individuales se agregan durante parte de un ciclo de vida, principalmente en condiciones adversas, facilitando el aprovechamiento de nutrientes que de otra manera no son asequibles a las células individuales (23). Este mecanismo origina agregados menos estables debido a que las células que lo componen no comparten el mismo material genético. Un ejemplo representativo de este tipo de organización son los mixomicetos. No obstante, diversos autores señalan que la multicelularidad agregativa constituye un obstáculo para la evolución de la división de labores entre las diferentes células que constituyen al agregado debido a que la masa multicelular no comparte un bagaje genético común (24).

**B) Multicelularidad clonal o multicelularidad por división.** Implica la división celular sin separación de un individuo hasta formar un agregado multicelular (25). De manera interesante, este tipo de multicelularidad también se observa en procariontes como *actinomyces* y en las cianobacterias, y puede ser el mecanismo por el que los primeros ancestros eucariontes de los animales aparecieron (26). Evolutivamente, este mecanismo pudo ser favorecido por el hecho de que todas las células que conformaron al ancestro multicelular compartían la misma información genética, lo que posiblemente le

conferió la capacidad de resistir el ataque de los predadores, permitió la división de labores y la formación de un medio interno de composición estable (27).

Un ejemplo de multicelularidad clonal se encuentra entre los coanoflagelados (Choanoflagellata; Cavalier, 1998). Se considera que estos protozoarios comparten un ancestro común con los animales (26,



**Figura 1.** El esquema muestra los 4 diferentes tipos de procesos mediante los que pudo desarrollarse la multicelularidad a lo largo de la evolución. **A)** En la multicelularidad agregativa, las células individuales, genéticamente diferentes, se agregan durante parte de un ciclo de vida. **B)** En la multicelularidad clonal, las células se dividen sin separarse hasta constituir un agregado de células que comparten el mismo genoma. **C)** Multicelularidad cenocítica es la celularización de una masa citoplásmica multinucleada o sincicio, que puede resultar de la agregación de individuos y la división de éstos, sin que existan divisiones morfológicas entre ellos. En este caso, los individuos no comparten la misma información genética. **D)** Multicelularidad como respuesta adaptativa, es el resultado de la agregación propiciada por algún agente externo, principalmente un depredador, o el mejor aprovechamiento de nutrientes, etc. En **B)** *n veces* implica un número indefinido de divisiones celulares. En **C)** *n veces* implica un número indefinido de células en agregación, sin separación física, o la división de núcleos celulares sin separación física de los mismos.

28), y siendo organismos unicelulares, pueden presentar etapas coloniales multicelulares generadas por división celular (29); por lo que sirven como sistemas modelo para estudiar el desarrollo de la multicelularidad en los Urmetazoarios, que son los ancestros hipotéticos de todos los metazoarios (26, 30).

**C) Multicelularidad cenocítica.** La organización cenocítica es el resultado de la división nuclear repetida sin que se presenten la división correspondiente del citoplasma ni la formación de septos o paredes celulares, es decir, los núcleos comparten

un mismo citoplasma. Este tipo de organización, donde el organismo consiste en un cenocito, es característico de algunos grupos de algas, de protozoarios y de hongos. En este caso, el origen de la multicelularidad se explica a partir de un organismo ancestral cenocítico que sufrió la celularización, es decir la formación de septos o particiones que condujeron a la formación de una membrana interna alrededor de cada uno de sus núcleos, constituyendo células definidas. Esta propuesta utiliza como evidencia ejemplos de

celularización observados en algas xantofitas o en foraminíferos (31, 32).

#### **D) Multicelularidad como respuesta adaptativa.**

Recientemente, se describió un mecanismo alternativo en el que el estado multicelular se desarrolla en procariontes por influencia de factores ambientales. En este caso, colonias de bacterias aisladas de las corrientes de agua de una cueva cárstica (producida por la acción erosiva del agua), desarrollan un status de tipo cristal-líquido que favorece la multicelularidad (33). Ante este hecho, se sugiere la posibilidad de que el contexto ecológico influyó de manera fundamental en la aparición de la multicelularidad (33). En este mecanismo, el desarrollo del estado multicelular es una respuesta adaptativa a las presiones de selección ejercidas por el medio. Esta respuesta adaptativa permite la sobrevivencia y reproducción diferencial de los individuos adaptados a las presiones de selección.

En cualquiera de los casos, la transición hacia la multicelularidad es mucho más compleja que el establecimiento de relaciones cooperativas entre individuos y el desarrollo del plan corporal. La multicelularidad implica de manera muy importante, el desarrollo de mecanismos de diferenciación celular que permitan el establecimiento de funciones especializadas en la reproducción, y de tejidos funcionales que involucran una coordinación profunda entre las poblaciones celulares que constituyen al organismo.

De esta manera, algunos autores proponen que la diferenciación apareció como una etapa temporal que se manifestaba en seres unicelulares y premetazoarios coloniales, y que sirvió de plataforma de origen del estado diferenciado durante el surgimiento de los animales primitivos (34). La figura 2 muestra las relaciones filogenéticas entre los diferentes grupos de organismos multicelulares.

**Multicelularidad y diferenciación.** La existencia de organismos multicelulares requirió el desarrollo de mecanismos moleculares para mantener el estado diferenciado, así también para la expresión de fenotipos alternativos durante el ciclo de vida o en respuesta a los cambios ambientales (35). Ejemplos representativos se encuentran en *Volvox* donde existen células somáticas y células reproductivas cuyo destino está determinado por divisiones celulares asimétricas y por el gen hipermutable *regA*

(36, 37); o en *Chlamydomonas* cuando se especializa para formar gametos haploides (38); o cuando existe la transición de un organismo multinucleado a uno multicelular (18).

Como propuesta alternativa se sugiere que los agregados multicelulares iniciales estaban constituidos por células no diferenciadas, y cuya especialización apareció por presiones de selección como la depredación, lo que condujo a la división de tareas en el agregado.

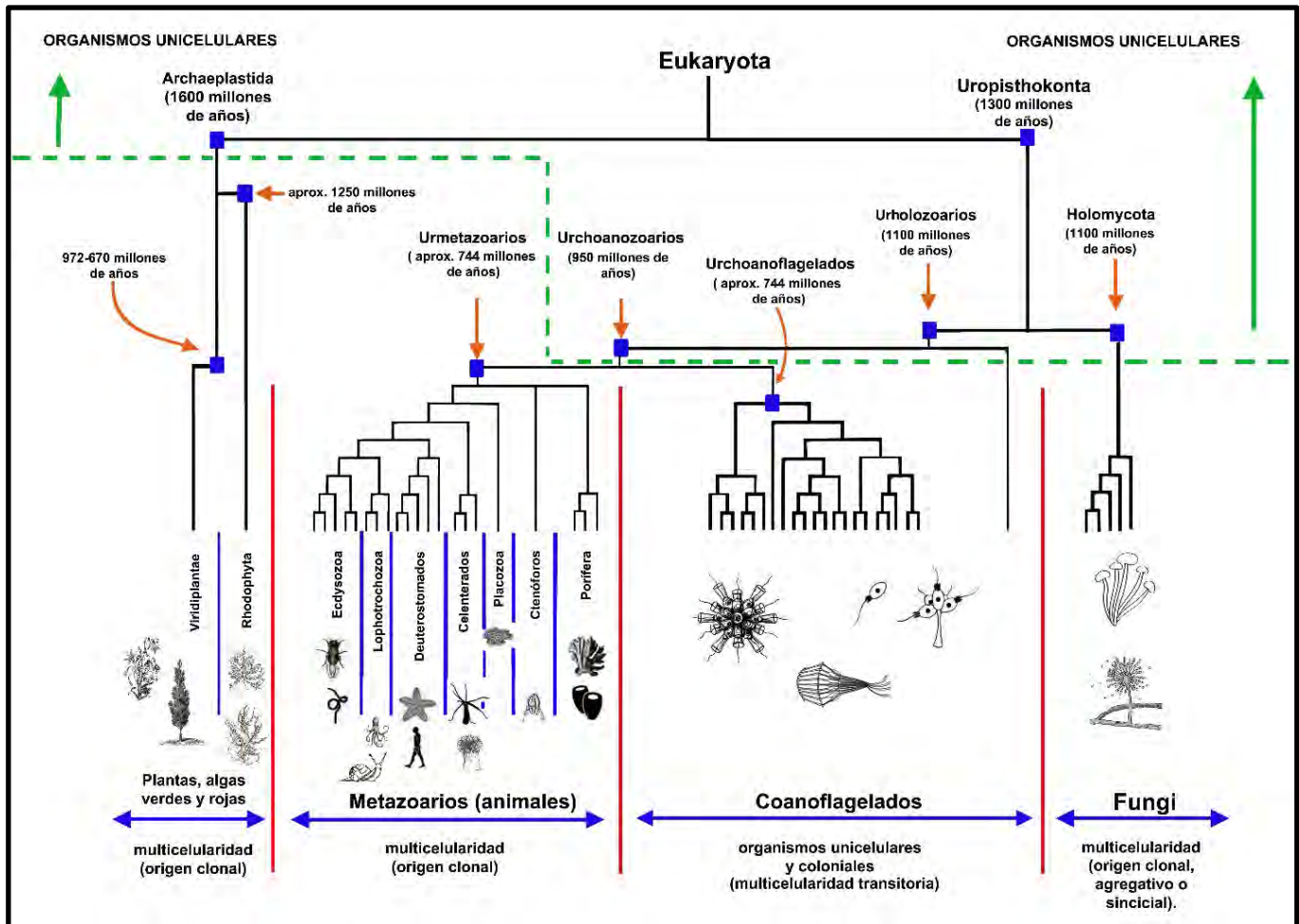
También es posible que la división de funciones estuviera asociada a la segregación de vías metabólicas o funciones que son incompatibles con el metabolismo general. Tal es el caso de los heterocistos de cianobacterias filamentosas (por ejemplo, *Nostoc* sp. o *Anabaena* sp.). En estas algas, mientras la mayor parte de las células son fotosintéticas, el heterocisto es una célula terminalmente diferenciada, incapaz de dividirse, que se especializa en la fijación del nitrógeno. Esta característica determina que el heterocisto tenga una estructura diferente, ya que la enzima esencial para su función sólo es activa en condiciones anoxigénicas (39, 40).

Independientemente del mecanismo, es evidente que durante la evolución se requirió la participación de diferentes tipos de proteínas que favorecieran la aparición del estado multicelular. A esta conclusión se llegó mediante experimentos en los que se obtuvieron mutantes con multicelularidad facultativa, es decir, organismos que pasan la mayor parte de su ciclo vital en un estado unicelular, para formar agregados multicelulares bajo condiciones ambientales específicas (41). Por lo tanto, se propone que, a partir de un conjunto de proteínas ancestrales, las familias génicas existentes se expandieron y diversificaron para originar familias completas de factores de transcripción y cascadas de señalización (42, 43). Esta misma conclusión se hizo extensiva a las categorías funcionales que agrupan a los componentes de matriz extracelular y moléculas de adhesión (44), y a las que regulan el ciclo celular (45).

Una vez que aparecieron los primeros organismos multicelulares, aún fueron necesarios mecanismos que permitieran formar agregados celulares con arreglos tridimensionales. En el inicio, las divisiones celulares debieron ser predominantemente simétricas, y como consecuencia, los primeros metazoarios fueron filamentos multicelulares lineales o bien,

estructuras planares (46). Posteriormente, el desarrollo de organismos compuestos por diferentes tipos celulares que presentaban una distribución espacial

controlada requirió la segregación diferencial de componentes citoplasmáticos y, por ende, la existencia de la división celular asimétrica (47-49).



**Figura 2.** Esquema que muestra el desarrollo de la multicelularidad en los diferentes grupos taxonómicos. Sólo se incluyen los grupos principales. Se propone que tanto los metazoarios como las plantas desarrollaron su estado multicelular mediante un proceso de división clonal, mientras que los hongos (Fungi) desarrollaron su multicelularidad por caminos evolutivos diferentes siguiendo procesos tanto clonales como agregativos y cenocíticos. Cabe señalar que los coanoflagelados y los ancestros de los metazoarios divergieron a partir de grupo ancestral, los urchoanozoarios hace aproximadamente 744 millones de años; con base a sus características, se considera que los coanoflagelados son los parientes vivos más cercanos de los animales. Se señalan los tiempos aproximados de separación de los diferentes taxa. (figura basada en los datos recopilados durante la revisión del material utilizado en este trabajo).

De este modo, con base en la presencia de genes involucrados en el desarrollo del plano corporal multicelular y en la diferenciación en coanoflagelados (50, 51), se propone que el desarrollo de organismos multicelulares complejos dependió de la segregación de funciones específicas originalmente ejecutadas por una sola célula. Esta segregación produjo tipos celulares especializados que presentaban una distribución espacial definida (52, 53), y llevó a la desaparición de la alternancia de fenotipos

característica del ciclo de vida de algunos organismos (34).

Por lo tanto, la aparición del estado diferenciado dependió, por una parte, de la evolución de los elementos que forman parte de las cascadas de señalización; y por otra, de los factores de transcripción que regulan la expresión específica de tejido. Durante mucho tiempo se ha pensado que las proteínas representantes de ambos grupos aparecieron durante la transición hacia la multicelularidad.

laridad o junto con ella, postulándose su exclusividad en expresión a los metazoarios ya que los análisis filogenéticos dieron evidencia de su distribución restringida en estos taxones (30).

No obstante, la secuenciación del genoma de numerosas especies de coanoflagelados (eucariontes unicelulares formadores de colonias más cercanos al metazoario ancestral), ha demostrado que en estos organismos se expresan proteínas que participan en procesos de diferenciación y que previamente eran consideradas exclusivas de los metazoarios (30, 54, 55). Así, en 2001 se identificó el primer receptor del tipo tirosina cinasa descrito fuera de los metazoarios en el coanoflagelado *Monosiga brevicollis* (56). Este hallazgo se considera como evidencia de que la evolución de algunas moléculas de señalización precedió a la multicelularidad (56).

Otros ejemplos de moléculas características de metazoarios detectadas en coanoflagelados son las que pertenecen a las familias génicas del receptor Notch y su agonista Delta, así como algunos homólogos de los receptores Toll-like (54). Estas moléculas, como ocurre en el caso del receptor Notch, participan en interacciones célula-célula, o bien en el reconocimiento de patógenos. Asimismo, desde que miembros de las vías de señalización Wnt, TGF- $\beta$  y Hedgehog, esenciales para coordinar el crecimiento y los patrones de desarrollo de estructuras complejas, tejidos funcionales, y órganos, se encontraron en esponjas y celenterados, se considera la posibilidad de que muchos de los mecanismos que participan en el desarrollo estuvieran activos en el metazoario ancestral (57).

Uno de los elementos cruciales para el desarrollo de funciones especializadas en las células de un individuo multicelular, fue la diversificación de los factores de transcripción. Entre los factores de transcripción asignados previamente como exclusivos de los metazoarios y ahora descritos en holozoarios y coanoflagelados, se encuentra la familia RunX (55, 58). Esta familia actualmente está involucrada en regular la miogénesis, la hematopoyesis y la neurogénesis entre otros, y su evolución implicó eventos de duplicación y divergencia a partir de un gene ancestral RunX que posiblemente se originó antes de la divergencia entre holozoarios, coanoflagelados y metazoarios, para posteriormente diversificarse en los 3 parálogos encontrados en vertebrados (55; 59).

Del mismo modo, en algunos coanoflagelados como *Monosiga brevicollis* se reportó la existencia de un conjunto básico de factores de transcripción constituido por p53, Myc, miembros de la familia Sox/TCF (60), y en el holozoario *Capsaspora owczarzaki*, se identificó a ortólogos de Myc, Mad, SREBP y Fox entre otros (55) lo que llevó a la propuesta de que estos factores de transcripción ya estaban presentes en el ancestro común de los opisthokontes. De esta manera, la diversificación y evolución de las rutas de señalización y de las proteínas reguladoras de la expresión genética debió conducir a la aparición de los primeros tipos celulares especializados, que se observaron en organismos como los placozoarios, esponjas, ctenóforos y celenterados, que constituyen la base del linaje de los metazoarios.


### Conclusión

La multicelularidad tal como la conocemos en la actualidad, es el resultado de un proceso que se ha presentado cerca de 25 veces durante la historia de nuestro planeta, a través de una serie de mecanismos que se hacen evidentes al observar los diferentes grupos de organismos. Aunque la propuesta ampliamente aceptada sostiene que la multicelularidad de los animales y las plantas tuvo un origen clonal (25, 26), la evidencia sugiere que ambos grupos la desarrollaron de manera independiente, ya que divergieron mucho tiempo antes del estado multicelular, lo cual es evidente debido a las diferentes estrategias seguidas para alcanzarlo. En contraste, en los hongos, el desarrollo del estado multicelular siguió un camino evolutivo diferente, y parece ser consecuencia tanto de procesos clonales, como de eventos agregativos, o el resultado de la formación de septos en un sincicio (23).

No obstante, los mecanismos para explicar el origen del estado multicelular no permiten entender la aparición del proceso de diferenciación. Actualmente, los estudios filogenéticos y la comparación de genomas de diferentes grupos taxonómicos nos sugieren que la aparición y diversificación de las familias génicas que componen la maquinaria de señalización y la maquinaria que regula la expresión genética, fueron necesarias para la evolución de la multicelularidad. La existencia, previa a la multicelularidad, de estos mecanismos regulatorios es apoyada por la presencia de sus miembros en coanoflagelados y holozoarios. Subsecuentemente, el establecimiento de la división de labores entre las células



debió dirigir la evolución hacia la expansión y diversificación de estas familias génicas basales y por lo tanto favorecer la expresión de fenotipos terminalmente diferenciados.

Sin embargo, queda aún pendiente tener más evidencias que refuercen estas suposiciones, y entender cómo la evolución promovió el desarrollo de la complejidad morfogénica y funcional de los individuos. 

## REFERENCIAS

1. Maynard Smith J, Szathmáry E. The major transitions in evolution. Oxford: University Press. 1995; 360 pp.
2. Mikhailov KV, Konstantinova AV, Nikitin MA, Troshin PV, Rusin LY, Lyubetsky VA, Panchin YV, Mylnikov AP, Moroz LL, Kumar S, Aleoshin VV. The origin of Metazoa: a transition from temporal to spatial cell differentiation. *BioEssays* 2009; 31:758-68.
3. Ruiz-Trillo I, Burger G, Holland PWH, King N, Lang BF, Roger AJ, Gray M. The origins of multicellularity: a multi-taxon genome initiative. *Trends in Genetics* 2007; 23:113-8.
4. Grosberg RK, Strathmann RR. The evolution of multicellularity: A minor major transition? *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2007; 38:621-54.
5. Rainey PB, Kerr B. Cheats as first propagules: A new hypothesis for the evolution of individuality during the transition from single cells to multicellularity. *Bioessays* 2010; 32:872-80.
6. Arias-Del Angel JA, Nanjundiah V, Benítez M, Newman SA. Interplay of mesoscale physics and agent-like behaviors in the parallel evolution of aggregative multicellularity. *EvoDevo.* 2020; 11:21.
7. Kaplan HB. Cell-cell interactions that direct fruiting body development in *Myxococcus xanthus*. *Curr Opin Genet Dev.* 1991; 1:363-9.
8. Keating MT, Bonner JT. Negative chemotaxis in cellular slime molds. *J Bacteriol.* 1977; 130:144-7.
9. Müller K, Gerisch G. A specific glycoprotein as the target of adhesion blocking Fab in aggregating *Dictyostelium* cells. *Nature.* 1978; 274:445-7.
10. Loomis WF. Cell-cell adhesion in *Dictyostelium discoideum*. *Dev Genet.* 1988; 9:549-59.
11. Pelling AE, Li Y, Cross SE, Castaneda S, Shi W, Gimzewski JK. Self-organized and highly ordered domain structures within swarms of *Myxococcus xanthus*. *Cell Motil Cytoskel.* 2006; 63:141-8.
12. Bonner JT. Aggregation and differentiation in the cellular slime molds. *Annu Rev Microbiol.* 1971; 25:75-92.
13. Liu BA, Nash PD. Evolution of SH2 domains and phosphotyrosine signalling networks. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2012; 367:2556-73.
14. Anantharaman V, Iyer LM, Aravind L. Comparative genomics of protists: new insights into the evolution of eukaryotic signal transduction and gene regulation. *Annu Rev Microbiol.* 2007; 61:453-75.
15. Sebé-Pedrós A, Roger AJ, Lang FB, Ruiz-Trillo I. Ancient origin of the integrin-mediated adhesion and signaling machinery. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107:10142-7.
16. Cavalier-Smith T. Origin of animal multicellularity: precursors, causes, consequences - the choanoflagellate/sponge transition, neurogenesis, and the Cambrian explosion. *Phil Trans R Soc. B.* 2017; 372:20150476.
17. Mora Van Cauwelaert E, Arias Del Angel JA, Benítez M, Azpeitia EM. Development of cell differentiation in the transition to multicellularity: a dynamical modeling approach. *Front. Microbiol.* 2015; 6:603.

18. Niklas KJ. The Evolutionary-Developmental Origins of Multicellularity. *Am J Botany*. 2014; 101: 6-25.
19. Sachs JL. Resolving the first steps to multicellularity. *Trends Ecol Evol*. 2008; 23:245-8.
20. Jindrich K, Degnan BM. The diversification of the basic leucine zipper family in eukaryotes correlates with the evolution of multicellularity. *BMC Evolutionary Biology*. 2016; 16:28.
21. Degnan BM, Vervoort M, Larroux C, Richards GS. Early evolution of metazoan transcription factors. *Curr Opin Genet Dev*. 2009; 19:591-9.
22. Richards GS, Simionato E, Perron M, Adamska M, Vervoort M, Degnan BM. Sponge Genes Provide New Insight into the Evolutionary Origin of the Neurogenic Circuit. *Current Biology*. 2008; 18:1156-61.
23. Koschwanez JH, Foster KR, Murray AW. Sucrose Utilization in Budding Yeast as a Model for the Origin of Undifferentiated Multicellularity. *PLoS Biol*. 2011; 9: e1001122.
24. Buss LW. *The Evolution of Individuality*. Princeton University Press. Princeton, NJ. 1988; 203 pp.
25. Parfrey LW, Lahr DJG. Multicellularity arose several times in the evolution of eukaryotes. *Bioessays*. 2013; 35:339-47.
26. Brunet T, King N. The origin of animal multicellularity and cell differentiation. *Dev Cell*. 2017; 43:124-40.
27. Margulis. L. *Symbiosis in Cell Evolution*. W.H. Freeman & Co., Ltd. San Francisco, USA. 1981; 419 pp.
28. Lang BF, O'Kelly C, Nerad T, Gray MW, Burger G. The closest unicellular relatives of animals. *Curr Biol*. 2002; 12:1773-8.
29. Dayel MJ, Alegado RA, Fairclough SR, Levin TC, Nichols SA, McDonald K, King N. Cell differentiation and morphogenesis in the colony-forming choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *Dev Biol*. 2011; 357:73-82.
30. Müller WEG. Review: How was metazoan threshold crossed? The hypothetical Urmetazoa. *Comp Biochem Physiol. Part A* 2001; 129:433-60.
31. Niklas KJ, Newman SA. The origins of multicellular organisms: multicellular origins. *Evol Dev*. 2013; 15:41-52.
32. Suga H, Ruiz-Trillo I. Evolution of Developmental Control Mechanism: Development of ichthyosporeans sheds light on the origin of metazoan multicellularity. *Dev Biol*. 2013; 377:284-92.
33. Mizuno K, Maree M, Nagamura T, Koga A, Hirayama S, Furukawa S, Tanaka K, Morikawa K. Novel multicellular prokaryote discovered next to an underground stream. *eLife* 2022; 11:e71920.
34. Mikhailov KV, Konstantinova AV, Nikitin MA, Troshin PV, Rusin LY, Lyubetsky VA, Panchin YV, Mylnikov AP, Moroz LL, Kumar S, Aleoshin VV. The origin of Metazoa: a transition from temporal to spatial cell differentiation. *Bioessays*. 2009; 31:758-68.
35. Ispolatov I, Ackermann M, Doebeli M. Division of labour and the evolution of multicellularity. *Proc. R. Soc. B*. 2012; 279:1768-76.
36. Kirk DL, Harper JF. Genetic, biochemical, and molecular approaches to *Volvox* development and evolution. *Int Rev Cytol*. 1986; 99:217-93.
37. Kirk DL, Baran GJ, Harper JF, Huskey RJ, Huson KS, Zagris N. Stage-specific hypermutability of the *regA* locus of *Volvox*, a gene regulating the germ-soma dichotomy. *Cell*. 1987; 48:11-24.
38. Von Gromoff ED, Beck CF. Genes expressed during sexual differentiation of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol Gen Genet*. 1993; 241:415-21.
39. Zeng X, Zhang CC. The Making of a Heterocyst in Cyanobacteria. *Annu Rev Microbiol*. 2022; 76:597-618.
40. Wolk CP. Heterocyst formation. *Annu Rev Genet*. 1996; 30:59-78.
41. Conlin PL, Ratcliff WC. Evolution: understanding the origins of facultative multicellular life cycles. *Curr Biol*. 2023; 33:R356-R358.
42. Srivastava M, Simakov O, Chapman J, Fahey B, Gauthier ME, Mitros T, Richards GS, Conaco C, Dacre M, Hellsten U, et al. The Amphimedon

- queenslandica genome and the evolution of animal complexity. *Nature*. 2010; 466:720-6.
43. Larroux C, Luke GN, Koopman P, Rokhsar DS, Shimeld SM, Degnan BM. Genesis and expansion of metazoan transcription factor gene classes. *Mol. Biol. Evol.* 2008; 25:980-96.
  44. Shinnick TM, Lerner RA. The *cbpA* gene: role of the 26,000-dalton carbohydrate-binding protein in intercellular cohesion of developing *Dictyostelium discoideum* cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1980; 77:4788-92.
  45. Hanschen ER, Marriage TN, Ferris PJ, Hamaji T, Toyoda A, Fujiyama A, Neme R, Noguchi H, Minakuchi Y, Suzuki M, Kawai-Toyooka H, Smith DR, Sparks H, Anderson J, Bakarić R, Luria V, Karger A, Kirschner MW, Durand PM, Michod RE, Nozaki H, Olson BJSC. The *Gonium pectorale* genome demonstrates co-option of cell cycle regulation during the evolution of multicellularity". *Nat Commun*. 2016; 7:11370.
  46. Naumann B, Burkhardt P. Spatial Cell Disparity in the Colonial Choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *Front. Cell Dev. Biol.* 2019; 7:231.
  47. Niklas KJ, Wayne R, Benítez M, Newman SA. Polarity, planes of cell division, and the evolution of plant multicellularity. *Protoplasma*. 2019; 256:585-99.
  48. Cheng Q, Fowler R, Tam LW, Edwards L, Miller SM. The role of *GlsA* in the evolution of asymmetric cell division in the green alga *Volvox carteri*. *Dev Genes Evol*. 2003; 213:328-35.
  49. Wavreil FDM, Yajima M. Diversity of activator of G-protein signaling (AGS)-family proteins and their impact on asymmetric cell division across taxa. *Dev Biol*. 2020; 465:89-99.
  50. Yañez-Guerra LA, Thiel D, Jékely G. Premetazoan Origin of Neuropeptide Signaling. *Mol Biol Evol*. 2022; 39:msac051.
  51. Junqueira Alves C, Silva Ladeira J, Hannah T, Pedroso Días RJ, Zabala Capriles PV, Yotoko K, Zou H, Friedel RH. Evolution and Diversity of Semaphorins and Plexins in Choanoflagellates. *Genome Biol Evol*. 2021; 13:evab035.
  52. Pen I, Flatt T. Asymmetry, division of labour and the evolution of ageing in multicellular organisms. *Phil. Trans. R. Soc.* 2021; 376:20190729.
  53. Yanni D, Jacobeen S, Márquez-Zacarías P, Weitz JS, Ratcliff WC, Yunker PJ. Topological constraints in early multicellularity favor reproductive division of labor. *eLife*. 2020; 9:e54348.
  54. Richter DJ, Fozouni P, Eisen MB, King N. Gene family innovation, conservation and loss on the animal stem lineage. *Elife*. 2018; 7:e34226.
  55. Sebé-Pedrós A, de Mendoza A, Lang BF, Degnan BM, Ruiz-Trillo I. Unexpected repertoire of metazoan transcription factors in the unicellular holozoan *Capsaspora owczarzaki*. *Mol Biol Evol*. 2011; 28:1241-54.
  56. King N, Carroll SB. A receptor tyrosine kinase from choanoflagellates: molecular insights into early animal evolution. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2001; 98:15032-7.
  57. Richards GS, Degnan BM. The dawn of developmental signaling in the metazoa. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2009; 74:81-90.
  58. Rennert J, Coffman JA, Mushegian AR, Robertson AJ. The evolution of *Runx* genes I. A comparative study of sequences from phylogenetically diverse model organisms. *BMC Evol Biol*. 2003; 3:4.
  59. Newton AH, Pask AJ. Evolution and expansion of the *RUNX2* QA repeat corresponds with the emergence of vertebrate complexity. *Commun Biol*. 2020; 3:771.
  60. King N, Westbrook M, Young S, et al. The genome of the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans. *Nature* 2008; 451:783-8.