

Homeótica: el juego de lo inesperado y lo inevitable en la historia de la morfogénesis multicelular

Francisco Vergara Silva y Elena Alvarez-Buylla Roces

Arbor CLVIII, 623-624 (Noviembre-Diciembre), 341-372 pp.

The number of «hopeful monsters» that would have to arise in order that viable new types (of organisms) could be found is astronomical. There is no evidence of any such hordes of monstrosities, living or fossil, nor is any mechanism known that would produce them in appropriate quantities.

Dobzhansky, Ayala, Stebbins, Valentine (1978), pág. 242, comentando sobre la idea de Richard Goldschmidt acerca de un posible mecanismo general que explicaría la macroevolución.

A. La esperanza del monstruo

Aún en pleno uso de los beneficios que proporciona el tiempo transcurrido —especialmente de la posibilidad de hacer una retrospectiva histórica del desarrollo de la biología evolutiva como ciencia— es difícil explicar el rechazo rotundo de las ideas saltacionistas y mutacionistas de toda índole, durante la construcción de la Síntesis Evolutiva o neodarwinismo. La síntesis se generó a partir del interés de un grupo de genetistas jóvenes por estudiar la diversidad de las especies y la dinámica de las poblaciones naturales, por un lado, y por otro lado, de la asimilación conceptual por parte de los naturalistas, de los me-

canismos genéticos que operan en los individuos y que proporcionan la variación sobre la que actúa la selección natural (Mayr, 1982). Pero una cosa es segura: para desterrar el conjunto de ideas representadas por la célebre metáfora de Goldschmidt (1940) que citamos arriba, los arquitectos de la Síntesis no se basaron en las opiniones de terceros o en viejos experimentos; para tales efectos, contaron con información de primera mano. Y si bien no se nos escapa que, a veces, la historia misma de la ciencia puede ser una caja de sorpresas, no deja de ser inesperado el giro tan radical que, al cabo de tan pocos años, han dado las interpretaciones de cierto conjunto de evidencias experimentales en genética del desarrollo, algunas de ellas incluso generadas por distinguidos científicos neodarwinistas. En efecto, uno no puede dejar de preguntarse cómo es que el conjunto de fenómenos que alguna vez fueron calificados como aberraciones de la naturaleza, son ahora vistos como una de las claves más importantes con que contamos para entender el origen del amplísimo espectro de formas, tamaños, colores, texturas y otras cualidades de los organismos multicelulares, a lo largo de los tiempos de la vida planetaria, presentes y pasados.

B. Los secretos del cuarto de las moscas

Theodosius Dobzhansky (1900-1975) ha sido reconocido por propios y extraños como el personaje más influyente en la constitución del paradigma neodarwiniano (Ayala y Fitch, 1997 y referencias incluidas). Sin duda, el impacto inmediato y los efectos posteriores de su obra, *Genetics and the Origin of Species*, publicada en 1937, en un sinnúmero de líneas de investigación en biología evolutiva, constituyen una confirmación contundente. Dobzhansky vivió sus etapas de formación inicial como científico en la Unión Soviética, pero siendo muy joven aún emigró a los Estados Unidos para trabajar con quien unos años antes había sido prácticamente el único responsable directo del establecimiento de *Drosophila melanogaster* como sistema modelo en genética: Thomas Hunt Morgan. Cuando éste cambió su residencia de Nueva York a Pasadena, Dobzhansky, quien entonces tenía 28 años, lo siguió para continuar algunos estudios de importancia fundamental en el campo; entre los que destaca su demostración del ordenamiento lineal de genes en los cromosomas, simultánea pero independientemente de Muller y Painter en Texas (Dobzhansky, 1980).

El grupo de genetistas que se mudó de la Universidad de Columbia (Nueva York) al Instituto Tecnológico de California (California) estaba

constituido fundamentalmente por Morgan, Sturtevant, el mismo Dobzhansky y Bridges. La brillantez de su trabajo sentó las bases para una fina tradición de quehacer en genética que se mantiene hasta la actualidad en dicho instituto, y que además se ha diseminado por el mundo entero produciendo un número nada despreciable de premios Nobel (Winchester, 1996). Pero es menos conocido el hecho de que, además de contribuciones colectivas tales como el descubrimiento del ligamiento, el crossing-over y la relación entre los porcentajes de recombinación y la distancia entre los genes sobre un cromosoma (Kohler, 1994), la investigación en el famoso «cuarto de las moscas» también produjo algunos interesantes mutantes fenotípicos, uno de los cuales fue descrito en detalle en 1933. Se trata de *proboscipedia*, un extraño y «monstruoso» tipo morfológico en el cual la estructura de las partes bucales resulta drásticamente modificada, convirtiéndose los lóbulos orales en apéndices parecidos a un tarso o una antena.

Reconociendo el trabajo de quienes en ese entonces representaban el polo antagonista a la escuela de Morgan, Bridges y Dobzhansky identificaron sin titubeos a este mutante como un caso particular de una clase de fenómenos ya identificados antes por el genetista inglés William Bateson¹. Este investigador había dedicado en 1894 un libro entero a la descripción de la repetición serial en la naturaleza y al análisis de la organización y posible evolución de las estructuras complejas de las plantas y los animales sobre la base de lo que él llamaba «unidades (de variación) merísticas (discontinuas)». Efectivamente, Bateson había observado que las instancias *naturales* en las cuales «la antena de un insecto es sustituida por una pata (...) o un pétalo por un estambre» (pág. 84) necesitaban de un nuevo vocablo para describirse, pues, a diferencia de los casos de «aberración anatómica» observados por otros autores en el pasado (ejemplo de lo cual son las metamorfias de Masters) en ellas

(...) the essential phenomenon is not that there has merely been a change, but that something has changed into the likeness of something else (pág. 85).

Homeosis fue la palabra que Bateson acuñó para describir estas «anormalidades» y, como decíamos, como tal fue identificado el fenotipo mutante *proboscipedia*.

Si bien sería justo resumir el detallado trabajo descriptivo de las modificaciones anatómicas de estas moscas con respecto al tipo silvestre, lo más interesante que encontramos en él, de acuerdo con nuestros

propósitos en este ensayo, es la *interpretación* de los resultados. En primer término, los autores reconocían que, en general, «los caracteres de las partes bucales de *proboscipedia* se asemejan a aquellos de los órdenes inferiores de insectos», para más adelante afirmar que, tal como sucede en otro par de mutantes homeóticos, *bithorax* y *tetraptera*, «una mutación en un gene único es capaz de modificar caracteres del tipo de aquellos que son considerados altamente significativos por los taxónomos» (Bridges y Dobzhansky, 1933, págs. 558-589). Sin embargo, al final expresarían categóricamente que «es obvio que (estas mutaciones) no representan la aparición de nuevas especies, y aún menos de nuevas familias u órdenes» porque, finalmente, «(...) se sabe con suficiente certeza que distintas especies y géneros difieren entre sí en muchos genes» (las cursivas son nuestras). El indudable carácter gradualista —típico de los escritos de los sintéticos— de esta contextualización taxonómica y evolutiva de la homeosis sugiere fuertemente la autoría casi exclusiva de Dobzhansky en la interpretación. Esto es aún más probable si confiamos en la certeza de su propia observación acerca del poco interés que Calvin Bridges tenía en el estudio de la evolución por sí misma (Dobzhansky, 1980).

En resumen, no es aventurado afirmar que el consenso neodarwiniano acerca del papel —considerado como nulo— de este tipo de variación discontinua como un elemento causal de la «evolución por arriba del nivel de especie» se conservó durante décadas. El epígrafe con el que iniciamos el presente ensayo es sólo una pequeña muestra que lo atestigua, y como puede observarse, ya en los 30's las ideas neodarwinianas habían tomado plena forma. El papel de la variación genética discontinua no fue considerado ni siquiera en los esfuerzos interdisciplinarios más influyentes que, dentro del contexto de la Síntesis, trataban de encontrar la mejor manera de establecer el lugar correcto de esa caja negra que hasta entonces seguía siendo, para los estudios evolutivos, la biología del desarrollo (p. ej. Maynard Smith *et al.*, 1985). Pero nosotros contendemos que aún antes del descubrimiento de la base molecular de la homeosis (Gehring, 1984; ver Sección G), o antes de la primera formalización global de un mecanismo que postulase la intervención de sustancias regulatorias que controlarían la identidad de los caracteres anatómicos de un animal, y que pudiese ser susceptible de experimentación genética (Lewis, 1978; ver Sección E), el dilema planteado en 1933 pudo haberse resuelto. Pues no siempre son los datos empíricos los imprescindibles para resolver un problema en biología evolutiva. En ocasiones, es más importante una clarificación de los conceptos y los marcos de referencia. Pero ¿qué mejor que ambas cosas juntas?

C. Una terrible trampa taxonómica

Although the mode and mechanism of speciation remains a perplexing problem, (...) knowledge of phylogenetic relationships is the central issue in evolutionary biology. Without knowledge of species relationships, it is impossible to discern patterns in geographical distributions (...). If phylogeny is the central issue in evolutionary biology, and if assessment of homology and homoplasy are central to phylogeny, then the deciphering of the first is of pivotal importance to biology.

DeSalle y Grimaldi (1991), pág. 448, comentando sobre las relaciones entre la evolución morfológica y molecular de *Drosophilidae*.

Una sistemática razonada, correctamente relacionada con la taxonomía, es aquello de lo que la Síntesis Evolutiva careció siempre. Lo anterior no tiene razón de parecer esotérico, pues es un hecho que el sistema de nomenclatura binomial aristotélico-linneano que usamos hasta nuestros días no guarda relación directa, en términos lógicos, con las relaciones filogenéticas verdaderas existentes entre las entidades vivientes (Rieppel, 1988, De Queiroz y Gauthier, 1992). *Al mismo tiempo, queda claro que dicho marco nomenclatural era la base para los argumentos de Dobzhansky y Bridges que descartaban la posibilidad del origen de un nuevo taxón mediante la homeosis.* Por falta de espacio, sería imposible justificar aquí las bases lógicas de la sustitución del «paradigma» de la sistemática evolucionista por el de la cladística en sentido genérico. Es decir, sería difícil evaluar en su justa medida el curso según el cual las ideas pioneras de Willi Hennig (p. ej. Hennig, 1965 y 1966) se han desarrollado y convertido finalmente en parte del bagaje intelectual de prácticamente todos los biólogos evolutivos contemporáneos (para lo cual recomendamos especialmente la lectura del trabajo de David Hull). Sin embargo, es importante al menos considerar cuál es la solución que ha proporcionado este marco conceptual —el de la sistemática filogenética— al problema de la definición de las especies, cuestión esencial para la discusión de la problemática introducida en el presente ensayo. La resolución de dicha cuestión no es de ninguna manera trivial. Por ejemplo, Ernst Mayr escribió alguna vez que «el origen de nuevas especies, entendido como el origen de discontinuidades esencialmente irreversibles con potencialidades completamente nuevas, es el evento individual más importante en la evolución» (Mayr, 1970), y no es una coincidencia que la obra fundamental de Darwin llevase un título alusivo precisamente a ello. Así pues, hacer este ejercicio será la manera correcta de contestar, retrospecti-

vamente, la pregunta de si, tal como pensaban Bridges, Dobzhansky y los sintéticos en general, los mutantes homeóticos como *proboscipedia* o sus posibles equivalentes en cualquier población natural plantas o animales, realmente no pueden proporcionar el «material bruto» de variación discontinua que explique la aparición de novedades morfológicas —incluso, de los distintos planes corporales como tales— que presenciamos en los registros paleontológicos y neontológicos.

Gracias en gran parte al elegante trabajo de Michael Ghiselin y Olivier Rieppel, un número creciente de biólogos se ha convencido ya de que *las especies, consideradas operacionalmente como unidades de evolución, son unidades históricas que equivalen a individuos y no a clases, tal como lo supone implícitamente la práctica taxonómica de siglos* (Ghiselin, 1974, 1981; Hull, 1976, 1994; Rieppel, 1988, 1994). Al mismo tiempo, ha quedado de manifiesto que la dificultad para la solución del conflicto entre nominalismo y esencialismo —brevemente, la confusión existente entre el carácter ontológico de un conjunto de poblaciones con interrelaciones reproductivas libres y su *status* en una clasificación taxonómica— en el contexto neodarwiniano, se debe en gran medida a la incapacidad de reconocer que, *antes que nada, el concepto de especie es una herramienta abstracta que usamos en nuestro intento de aprehender la diversidad biológica* (Rieppel, 1994).

El escenario que se deriva de los principios anteriores resulta entonces fácil de comprender: *una especie, digamos la misma D. melanogaster, se identifica por relaciones de invarianza relativa. Por ejemplo, la posesión de una serie de caracteres fenotípicos interpretables como homologías. Entonces, realmente no evoluciona hacia otra especie, sino cierta población, identificada como representativa de una especie particular, evoluciona hacia una población diferente, que es perfectamente definible en términos tradicionales, como un conjunto de individuos cuya composición alélica varía a lo largo del tiempo gracias a la participación de distintas fuerzas evolutivas. Dentro de esta población diferente siguen en actividad los mismos mecanismos de generación de la forma revelados por la genética del desarrollo; por ejemplo, aquellos que se encuentran detrás del fenómeno de homeosis.* Así pues, y en virtud de la existencia de una continuidad de información, que según el trabajo clásico de Van Valen (1982), es justamente la propiedad fundamental de la homología biológica (la posesión en común de un gran número de genes y vías de regulación del desarrollo embrionario), ante la aparición de un mutante homeótico en una determinada población, sólo existe un obstáculo real a la generación de una nueva población que más tarde se pueda asignar a una categoría transes-

pecífica con base en procedimientos taxonómicos convencionales, e incluso en condiciones de simpatria. Este obstáculo es, por supuesto, el hecho de que tal mutación hiciera descender la adecuación del individuo hasta valores muy bajos (p. ej., Dobzhansky *et al.*, 1977 e incluso Stanley, 1979). Aunque hay que tener en mente que la fijación de un mutante en una población natural puede deberse también a otras fuerzas evolutivas además de la selección natural. Por ejemplo, la deriva génica.

Regresando al asunto de la trampa taxonómica y para concluir: *aún en el contexto de la práctica de asignar una población a una categoría transespecífica con base en procedimientos taxonómicos convencionales, que implica por supuesto la continuación del uso del sistema de nomenclatura binomial y tipológico de Linneo, la asignación del carácter de especie, género, familia, orden, etc. a una población de D. melanogaster donde un carácter homeótico se hubiese propagado (incluso por deriva o por «molecular drive», por ejemplo) es una cuestión que de ninguna manera está impuesta a priori sobre ella. Esta es la trampa taxonómica en que cayeron Bridges y Dobzhansky: no diferenciar correctamente entre representación y referente, es decir, entre el nombre de la entidad biológica con la cual experimentaban y su carácter material, además de suponer, dentro de las líneas de argumentación tradicionales del neodarwinismo, la absoluta necesidad de la acumulación de mutaciones de pequeño efecto para dar cuenta de la evolución morfológica.* Como hemos tratado de demostrar, el uso de un marco de referencia diferente del tradicional para el entendimiento de las relaciones genealógicas entre los organismos, en el cual puedan interpretarse eventualmente los descubrimientos pertinentes acerca de la naturaleza molecular de las entidades mecanísticamente reponsables de la ontogenia, constituye la única manera lógicamente consistente de salir de lo que hemos llamado «trampa taxonómica».

D. El origen de las novedades evolutivas I: la evolución morfológica en Drosophilidae

En un trabajo posterior a la etapa morganiana, Dobzhansky afirmaba que las «especies» (y aquí pedimos al lector que no se olvide de la discusión anterior sobre el punto) más relacionadas con *D. melanogaster* exhibían una notable conservación de los caracteres morfológicos (Dobzhansky, 1956). Pero nuevamente, este punto de vista debe ser tomado con un grano de sal: por aquel entonces, las clasi-

ficaciones del género *Drosophila* (p. ej. Sturtevant, 1921 y 1942), entre otros, se aceptaban sin ningún cuestionamiento y muy probablemente no podrían traducirse en una filogenia realista, de acuerdo con los métodos contemporáneos que empleamos para dicha tarea (Hillis *et al.*, 1996). Pero ahora contamos ya con una estimación de las relaciones filogenéticas de las Drosophilidae basada en caracteres moleculares. Sobre esta filogenia es posible mapear otros caracteres independientes como algunos morfológicos (DeSalle y Grimaldi, 1991). Pues bien, a pesar de que se sigue reconociendo que el «plan corporal drosophiliano» está altamente conservado, se ha notado también que existen grandes modificaciones morfológicas en las patas anteriores, los genitales y las partes bucales (ni más ni menos) en algunos subgrupos como los constituídos por las drosófilas de Hawaii. Además, se ha observado que mutantes de *D. melanogaster* con alteraciones en los patrones temporales de expresión de un gene o complejo de genes regulatorios, son similares a fenotipos silvestres de otras especies de la misma familia. Esto ha llevado a sugerir que probablemente el cambio morfológico en las aproximadamente 2000 especies que componen a la familia Drosophilidae esté relacionado con la variación en la regulación de la expresión de unos cuantos loci homeóticos (DeSalle y Carew, 1992). El conocimiento de los detalles moleculares de la generación del plan corporal en *D. melanogaster* es tal vez el más completo que se tiene para un organismo multicelular. Por lo tanto, las hipótesis de «fenocopia filética» que pudieran proponerse para Drosophilidae serían especialmente fáciles de refutar experimentalmente, al menos mucho más que aquellas derivadas de los modelos alternativos de modificación fenotípica, por ejemplo, los modelos aditivos ortodoxos de la genética cuantitativa.

A manera de resumen: hasta el momento hemos argumentado que la homeosis es el fenómeno crítico que hubiera permitido —a partir del trabajo de Bateson y si *hubiera sido comprendido de manera diferente*— oponer una explicación alternativa al modelo panselccionista de la Síntesis. Esta explicación es útil para explicar la diversidad morfológica dentro de los reinos animal y vegetal, la que alguna vez Stephen Jay Gould prefirió llamar *disparidad* (Gould, 1989, pág. 49). Ya hemos hablado también sobre la ilusoria imposibilidad, desde el punto de vista de la sistemática, de que un taxón supraespecífico pudiera ser constituido mediante un proceso no gradual de evolución. Esto se debió, al menos en parte, al hecho de que hasta hace algunos años no existía aún un marco teórico sólido para el estudio de las relaciones ancestro-descendiente en biología y su reflejo correcto en una taxonomía.

Tampoco había una visión clara de los detalles, de la naturaleza fina de aquello que, dentro de las células en diferenciación, permite la existencia de las transformaciones homeóticas. Sin embargo, la situación actual es completamente distinta. Tanto es así, que la reunión de la genética molecular, la biología del desarrollo y la sistemática forman ahora una nueva disciplina que se ha dado en llamar *biología evolutiva del desarrollo* (Hall, 1992; Marx, 1992; Penissi y Roush, 1997). Es en el contexto de esta nueva área interdisciplinaria que se considera altamente plausible que un gran número de las características diagnósticas de la mayor parte de los animales y plantas que habitaron y habitan el planeta hayan surgido, tal como los conocemos, debido a las restricciones creadas por la naturaleza discontinua de la variación genética que se traduce en un fenotipo en cada generación y en cada ciclo de vida particular de las especies. Sobre los descubrimientos experimentales más importantes relativos a esta variación hablaremos en las siguientes secciones.

E. Lewis y García-Bellido: las posibilidades de la especulación...

El genetista norteamericano Edward Lewis fue uno de los investigadores que, dentro de la tradición internalista inaugurada por William Bateson y continuada por otros investigadores como Richard Goldschmidt y Conrad Waddington, construyó hipótesis sobre los mecanismos embriológicos en *Drosophila* con base en los fenotipos homeóticos que se habían ido descubriendo en distintos países del mundo a lo largo de los años². Sin embargo, a diferencia de muchos de ellos, Lewis aprendió bien las implicaciones de los modelos teóricos sobre la morfogénesis —por ejemplo, las propuestas sobre los morfógenos de información posicional del embriólogo inglés Lewis Wolpert— y a esto sumó un profundo conocimiento sobre *la localización cromosómica de los loci de los genes homeóticos de Drosophila*. Esto último sin duda fue importante en su trabajo estrictamente genético, pero tal vez la verdadera clave del éxito de su agenda de investigación está en haber relacionado de manera formal (es decir, también bajo la forma de un modelo) la filogenia de los organismos con la ontogenia de un sistema experimental. En otras palabras, Lewis fue la primera persona que se atrevió, organizando los datos de la genética del desarrollo de su tiempo en un marco predictivo, a especular explícitamente

sobre la existencia de cambios en la expresión de los genes homeóticos en los artrópodos en general, a lo largo de la evolución.

El trabajo de Lewis se concentraba en la región del cromosoma 3 de *Drosophila* que conocemos desde entonces como el *complejo bithorax* (BX-C). El nombre de la región proviene de uno de los fenotipos homeóticos clásicos, generado mediante la mutación de uno de los tres genes que actualmente sabemos que lo componen: *Ultrabithorax*. En estas moscas, el parasegmento 4 -P4; la región correspondiente a la parte posterior del primer segmento torácico (abreviado como T1) y la anterior del segundo segmento torácico (T2), donde crecen las alas se duplica en el lugar que correspondería normalmente a P5, donde normalmente crecen los halterios o balanceadores, dando como resultado una mosca con cuatro alas. Lewis había notado además que la delección entera del complejo producía una transformación homeótica masiva, en la que todos los segmentos a partir de T3 se parecían a T2. Con estas evidencias, Lewis propuso en 1978 el modelo más citado en la historia de la genética del desarrollo en *Drosophila* que, además, le valdría la obtención del Premio Nobel de Medicina en 1995 junto con Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschaus³.

En su modelo, Lewis postulaba que BX-C debería contener al menos un gene para cada parte corporal por debajo de T2. En otras palabras, el desarrollo del siguiente segmento, T3, involucraría la activación de todos los genes característicos de T2 —«el nivel basal»— además de la participación de uno a más genes responsables de las peculiaridades de T3. De manera similar, el desarrollo del primer segmento abdominal (A1) requeriría a su vez la expresión de los genes de T3 más aquellos específicos de A1, y así sucesivamente hasta llegar a A8. En correspondencia con los fenotipos mutantes, y con base en las relaciones filogenéticas que tradicionalmente se establecían entre los diferentes tipos de insectos, Lewis pensaba que algunos de los genes adicionales que se iban activando durante la ontogenia para suprimir las patas de los segmentos abdominales y formar halterios en posición posterior a las alas, eran los mismos que durante la filogenia habían aparecido para crear el plan corporal de un díptero a partir, primero, de artrópodos ancestrales milípedos y, posteriormente, de insectos voladores con cuatro alas (Lewis, 1978). La característica inédita de este modelo —es decir, su conexión directa entre la función de los genes y la generación de estructuras morfológicas distribuidas de modo diferencial en las especies— es de fundamental importancia. Animó a otros investigadores a pensar que *tal vez el fenómeno homeótico era universal no sólo como lo había documentado Bateson —es decir, en términos puramente mor-*

fológicos— sino también en términos moleculares⁴. A partir de entonces, una búsqueda constante habría de empezar en diversos laboratorios del mundo con objeto de averiguar de manera definitiva hasta qué punto este modelo era correcto.

Lewis no es, sin embargo, el único investigador cuyas contribuciones al entendimiento de las causas de la homeosis pueden relacionarse directamente con las ideas heterodoxas de Goldschmidt y Waddington. En efecto, el genetista español Antonio García-Bellido, habría de llegar de manera prácticamente independiente a conclusiones muy similares —e incluso más precisas en algunos casos— acerca de los elementos intrínsecos que determinan la diferenciación de los campos de células durante la ontogenia (García-Bellido, 1975, 1977).

García-Bellido trabajaba con el mutante de *Drosophila* conocido como *engrailed*. Actualmente sabemos que la expresión de este gene es muy importante para la división, dentro de cada segmento, de las porciones anterior y posterior, que son las verdaderas fronteras de los parasegmentos. A principios de los 70's, él y sus colaboradores (García-Bellido *et al.*, 1973) observaron que, en respuesta a una señalización posicional de naturaleza aún desconocida, grupos enteros y clonales de células formaban una región cohesiva que no se mezclaba con regiones adyacentes ni permitía la entrada de células extrañas. Estas regiones, que bautizó como *compartimentos*, comenzaban con una sola célula que se dividía hasta formar la región entera; además —y tal vez estos experimentos fueron la clave de su modelo— las mutaciones homeóticas obtenidas por otros investigadores transformaban dominios de células que eran *exactamente iguales en composición* a los compartimentos definidos en el fenotipo silvestre de sus moscas. A partir de estas evidencias, propuso entonces que *cada célula fundadora y sus descendientes expresaban una combinación única y particular* (no necesariamente progresiva con respecto a un estado basal, como decía Lewis) de «genes (homeóticos) selectores» (García-Bellido, 1975, 1977), que se mantiene fija a lo largo del proceso de generación del campo, y que puede interpretarse como un «domicilio genético» escrito en un código binario, es decir, consistente en activaciones o inactivaciones de los genes como únicas alternativas, suficientes y necesarias. Este proceso de decisión binaria podría repetirse más tarde en el desarrollo, cuando de acuerdo con la ontogenia natural de los organismos, fuera necesario subdividir aún más un campo para formar una subestructura morfológicamente diferente de sus vecinas. La elegante concepción de García-Bellido prácticamente ha perdurado sin modificaciones hasta la fecha (ver, por ejemplo, Lawrence y Struhl, 1996) como la mejor

manera abstracta de representar la actividad conjunta de los genes homeóticos de los animales. Tal vez algunos de sus principios generales puedan aplicarse intactos al desarrollo de las plantas. Pero el estudio de estas últimas, con mecanismos de desarrollo tan contrastantes, seguro dará sorpresas que nos ayudarán a comprender mejor la base molecular y la evolución de los mecanismos de desarrollo en los eucariontes multicelulares, en general.

F. ... y los límites de la imaginación

La investigación sobre la función de los genes de polaridad del huevo y los genes de segmentación —conocidos de modo genérico como genes de formación de patrones (Akam, 1987, Ingham, 1988)— realizada de manera simultánea a la búsqueda del sustrato molecular de la homeosis, eventualmente habría de demostrar que la expresión del segundo grupo de secuencias es necesaria y suficiente para determinar, ya con independencia de la influencia materna, *las fronteras de las regiones naturales de transcripción de los genes homeóticos selectores en sentido estricto*. Así pues, estos últimos pudieron definirse inequívocamente a partir de entonces —con base en la evidencia genética— como aquellos que están principalmente involucrados en establecer la *identidad definitiva* de las diferentes regiones previamente individualizadas en el embrión de *Drosophila* y posteriormente en el cuerpo del futuro adulto (García-Bellido, 1975, García-Bellido *et al.*, 1979). El mapeo genético de los homeóticos empezó en la época de Lewis, como hemos visto, y su resultado final ha reafirmado que estos genes están organizados en dos complejos contiguos sobre el cromosoma 3, el ya mencionado BX-C y un segundo complejo conocido como *Antennapedia* (ANT-C; Kaufman *et al.*, 1990). *Ultrabithorax* (*Ubx*), *abdominal A* (*abdA*) y *Abdominal B* (*AbdB*) son los genes que componen el primer complejo, mientras que ANT-C consiste de cinco unidades de transcripción —*labial* (*lab*), *proboscipedia* (*pbd*), *Deformed* (*Dfd*), *Sex combs reduced* (*Scr*) y *Antennapedia* (*Antp*; McGinnis y Krumlauf, 1992). Las propiedades funcionales básicas de estos grupos de genes, estudiadas durante décadas con metodologías puramente genéticas, se han ratificado: BX-C controla las diferencias entre los segmentos abdominales y torácicos, mientras que ANT-C determina las que existen entre las regiones cefálica y torácica. Se ha confirmado además que cada gene homeótico selector tiene un dominio característico de acción, que se define como la región del cuerpo que se transforma homeóticamente

como resultado de la mutación en ese gene. También se sabe ya que las fronteras espaciales de estas regiones coinciden perfectamente con los límites de los parasegmentos, establecidos a su vez por la actividad de dos subclases de genes de segmentación: los genes pair-rule y los genes de polaridad de segmentos (Small y Levine, 1991, Nüsslein-Volhard, 1991).

Tal como hicimos en el caso de la Teoría Sintética, una mirada retrospectiva de la historia de la genética del desarrollo, nos permite comprender con facilidad que la jerarquía genética establecida entre todos los tipos distintos de genes de formación de patrones debería basarse en alguna característica funcional básica y común a todas, o al menos a la mayoría de las proteínas codificadas. En otras palabras, los productos de los genes de formación de patrones, y de los homeóticos en particular, *deberían tener la capacidad de regular de algún modo a un número potencialmente gigantesco de genes*, muchos de los cuales cumplirían las funciones bioquímicas básicas en las células. Algunos investigadores llegaron a sospechar esto: el mismo García-Bellido les llamó «genes realizadores» (García-Bellido, 1975 y 1977) y aún antes fueron considerados por Britten y Davidson (1969) bajo el nombre de «genes expresores». *A pesar de la exactitud de los modelos genéticos de estos autores, sin embargo, el descubrimiento final de la base molecular de la función de los genes homeóticos —es decir, la identidad de sus secuencias— resultó completamente inesperado. Si bien Lewis acertó al decir que los ancestros de los dípteros debían tener sus propios genes homeóticos, tal vez nunca imaginó que: a) su distribución en el reino animal sería universal; b) que todas estas secuencias provendrían del mismo gene ancestral, c) que su función bioquímica sería la misma.*

G. El descubrimiento de la caja homeótica

En la primera mitad de los años 80's, dos grupos independientes de investigación en sistemas modelos animales (los laboratorios de Walter Gehring, en Suiza y de Thomas Kauffman, en EUA), basados en las técnicas de «caminata sobre cromosomas» desarrolladas por el grupo norteamericano de David Hogness y en la hibridización de ácidos nucleicos, en especial la técnica de Southern blotting, aislaron, secuenciaron e identificaron definitivamente a los primeros representantes de los loci responsables del fenómeno homeótico. La experiencia de estos investigadores en el campo de la homeosis era vasta: tanto Gehring como Kauffman habían empezado a clonar tiempo atrás las regiones

de mayor importancia en los cromosomas politénicos de acuerdo con el mapeo genético de ANT-C. De hecho, unos años antes, Gehring había descubierto un fenotipo homeótico espontáneo consistente en la transformación de antenas en patas (bautizado como *Nasobemia*; Gehring, 1966), cuya correspondiente mutación habría de resultar luego mapeada físicamente a *Antp*. En los primeros trabajos de secuenciación definitivos (McGinnis *et al.*, 1984; Scott y Weiner, 1984), los genes caracterizados provenían de *Drosophila*, pero en un tercer trabajo (realizado en la rana *Xenopus laevis* y basado explícitamente en la idea original publicada por Lewis en 1978; Carrasco *et al.*, 1984) se evidenciaba por primera vez que los genes involucrados en los procesos embriológicos mediante los cuales se establecen las identidades de las partes corporales características de un insecto son miembros de la misma familia de genes que realizan una tarea similar en un anfibio. Regresando a *Drosophila*, y después de hacer una comparación de las secuencias de ciertos fragmentos cuidadosamente mapeados de *Antp*, *Ubx* y *ftz*, Gehring y sus colaboradores notaron que todas ellas compartían una secuencia muy similar de aproximadamente 180 pares de bases de longitud, bautizada primero por este investigador como «H» y posteriormente con el nombre con que se le conoce universalmente: *homeobox* (caja homeótica). En sólo unos cuantos años a partir de la caracterización de esas primeras secuencias, se han encontrado ya un número superior a 350 secuencias con fases de lectura abiertas que presentan una región *homeobox* homóloga por descendencia común, y si bien las funciones embriológicas específicas de estos genes divergen en distintos aspectos conforme se muestrea en la filogenia de los eucariontes multicelulares, se ha demostrado que su distribución abarca no sólo al reino animal entero sino también a las plantas, los hongos y muy probablemente algunas especies de bacterias (Duboule, 1994, Burglin, 1997, World Wide Web). También se ha demostrado que la función celular esencial de estos genes con *homeobox* es casi siempre la misma: la activación de la transcripción de otros genes.

La caja homeótica codifica para un segmento polipeptídico de 60 aminoácidos, al cual consecuentemente se le conoce como homeodominio. Una vez identificados los primeros homeodominios en términos puramente estructurales, rápidamente se postuló una hipótesis de trabajo según la cual los productos de los genes homeóticos serían justamente proteínas regulatorias, cuya actividad normal en las células sería la de comportarse como factores de transcripción que se asociarían a secuencias *cis*-regulatorias específicas de sus genes blanco (Gehring, 1994). La evidencia fundamental para construir esta hipótesis consistió

en la notable similitud encontrada entre los homeodominios conocidos a la fecha y algunos motivos característicos de proteínas regulatorias de unicelulares, en especial, el motivo hélice-vuelta-hélice de las proteínas MAT al y alfa2, que determinan el tipo de apareamiento en la levadura (Laughon y Scott, 1984, Shepherd *et al.*, 1984, Gehring, 1994). En virtud de que este motivo es precisamente una región de asociación al DNA, Gehring apostó a que el homeodominio también lo sería. Hasta la fecha, una cantidad inmensa de datos ha confirmado la certeza de esta hipótesis (McGinnis y Krumlauf, 1992, Pabo y Sauer, 1992, Gehring *et al.*, 1994) para el caso de los productos de los genes homeóticos, e incluso la ha extendido a los morfógenos que organizan la polaridad del huevo y los eventos iniciales de la segmentación.

Las secuencias con homeodominios se agrupan en más de 20 clases diferentes definidas en base a varios criterios, entre los que se cuentan los tipos de región que flanquean a la caja, la posición de los intrones, la asociación con otros dominios y la organización en agrupaciones de genes (Gehring *et al.*, 1994). Así pues, se incluyen en dicha clasificación algunos conjuntos de genes —como los Pax y los Pou— que, además de contener una caja homeótica reconocible como tal, incluyen regiones adicionales de asociación a DNA, así como aquellos grupos que representan a los genes homeobox que no están organizados en complejos cromosómicos ordenados (De Robertis, 1994). Los componentes principales del homeodominio son tres hélices alfa plegadas alrededor de un centro hidrofóbico y un brazo N-terminal flexible (Otting *et al.*, 1990). En el caso del homeodominio de la proteína Antp, también se puede reconocer una cuarta hélice flexible (Qian *et al.*, 1993). Las hélices 2 y 3 forman el motivo hélice-vuelta-hélice, ya mencionado (Qian *et al.*, 1989, Gehring *et al.*, 1994), y se ha visto que las tres hélices se ordenan únicamente cuando la proteína se une al DNA (Wolberger, 1996).

La información anterior proviene de estudios estructurales realizados con Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y cristalografía de rayos X de los complejos formados por el DNA y homeoproteínas escogidas, complementados en algunos casos con mutaciones puntuales en la secuencia de la caja homeótica (revisados en Laughon, 1991, Gehring *et al.*, 1994 y Sharkey *et al.*, 1997). Estos trabajos han establecido además que los residuos de aminoácidos que participan en la formación del complejo —en particular, en el reconocimiento específico de las bases en ambas cadenas del DNA— están ubicados en la hélice 3 (Gehring, 1992). La secuencia de consenso obtenida por Burglin (1994) de la comparación de 346 homeodominios contiene siete posiciones que

son invariantes en más del 95% de los casos; se trata de L16, F20, W48 y F49, correspondientes al centro hidrofóbico, y R5, N51 y R53, que se asocian directamente al DNA. En el homeodominio de Antp, es claro que estos sitios están distribuidos en las cuatro hélices; la primera abarca los residuos 10 a 21, la segunda va del 28 al 38 y la tercera de los residuos 42 al 52. Como ya se indicó, esta proteína contiene una cuarta hélice (residuos 53 a 59), más desordenada y flexible, que es inexistente en otros factores de transcripción, como fushi tarazu (producto de uno de los genes de segmentación más importantes y mejor estudiados; Qian *et al.*, 1994), o bien que es continua con la tercera, como sucede en MAT alfa2 (Wolberger *et al.*, 1991). A pesar de estas diferencias, los estudios llevados a cabo con estas técnicas han indicado que éstas tres, más el producto de *engrailed* (Kissinger *et al.*, 1990) se unen al DNA de manera muy similar.

Los homeodominios mencionados arriba y otros (p. ej. Klemm *et al.*, 1994) se unen al DNA como monómeros y lo hacen de manera especialmente favorable a secuencias de DNA que contienen el tetranucleótido ATTA, llamado también motivo central. La interacción requiere de la inserción de la tercera hélice en el surco mayor, el brazo N-terminal en el menor y de contactos entre el asa que une a las hélices 2 y 3 con el esqueleto del DNA. En opinión de algunos autores, las regiones de DNA que unen homeodominios se pueden considerar de alta, media y baja afinidad, pues en algunos casos, en ausencia del sitio que contiene el tetranucleótido en el enhancer disminuye la especificidad en la asociación de la proteína, aunque la función de este elemento activador no se vea afectada de manera detectable (Gehring *et al.*, 1994). Junto con estas evidencias que involucran la asociación de subunidades únicas, recientemente se ha establecido que las interacciones proteína-proteína juegan un papel importante en la modulación de la actividad de los homeodominios en condiciones fisiológicas (Wolberger, 1996). De hecho, los monómeros sólo tienen 100 veces más afinidad por sitios específicos del DNA (de alta afinidad) en relación a sitios no específicos (de media y baja afinidad; Laughon, 1991). Algunas homeoproteínas se unen al DNA como dímeros formados por subunidades iguales o diferentes en una asociación cooperativa, pues la afinidad aparente de cualquiera de ellas al DNA es mayor si se forma el dímero (Wilson y Desplan, 1995). Las estructuras cristalinas del homodímero del homeodominio codificado por *paired* (Wilson *et al.*, 1995) y las del heterodímero de MAT a1/alfa2 (Li *et al.*, 1995) han sido importantes evidencias en favor de lo anterior. En el caso de esta última estructura se ha visto que cada subunidad se une a secuencias operadoras de

DNA distintas —los nucleótidos TGT están conservados en el sitio de alfa2, y la secuencia CATC lo esta en el sitio de a1. Finalmente, otros estudios de NMR y simulación de dinámicas moleculares, también en Antp, indican que el agua solvente yace en una cavidad que forma la interfase entre la hélice de reconocimiento del homeodominio y las bases del surco mayor del DNA de doble cadena (Billeter *et al.*, 1993). Uno de los últimos homeodominios en estudiarse como cristal ha demostrado la participación conjunta del solvente y las interacciones entre homeodominios en la dinámica molecular de los mismos: la asociación de la proteína even skipped —también codificada por un gene de segmentación— al DNA es en realidad la unión de dos homeodominios sobre caras opuestas de una sola vuelta de B-DNA, con puentes de hidrógeno mediados por moléculas de agua en la interfase entre las bases y la hélice de reconocimiento (Hirsch y Aggarwal, 1995).

H. Homeobox no es sinónimo de homeótico: los genes MADS-box

El breve resumen que hemos hecho de la historia del descubrimiento de los genes homeóticos en los animales y la descripción de algunos de los aspectos moleculares más relevantes sobre ellos bien pueden crear la impresión de que, finalmente, los términos «homeótico» y «homeobox» son sinónimos, y que la reunión de la genética, la embriología y la biología evolutiva sólo pueden ayudar a resolver preguntas acerca del origen y diversificación de los metazoarios. Lo anterior está lejos de ser cierto: la aplicación de la metodología genético-molecular a algunas especies modelo de dicotiledóneas —principalmente *Arabidopsis thaliana* (en adelante *Arabidopsis*) y *Antirrhinum majus*— ha permitido el hallazgo de una segunda familia multigénica, cuyas funciones conjuntas bien pueden considerarse análogas a las de los genes homeóticos en los animales. Estos genes en vegetales parecen funcionar también como organizadoras del desarrollo de estructuras fenotípicas complejas y, por supuesto, como el sustrato molecular de la homeosis vegetal, fenómeno que como hemos visto era ya reconocido en la época de Bateson. Nos referimos a la familia de genes MADS-box. Al igual que los genes homeobox, los genes MADS-box tienen una amplia distribución taxonómica, e incluso, además de su papel fundamental en la morfogénesis de las estructuras reproductivas de las angiospermas (ver Sección I), algunas de las proteínas codificadas por estos genes participan en la respuesta a feromonas y en el metabolismo de arginina en levadura

(Herskowitz, 1989; Dubois y Messenguy, 1991), así como en el desarrollo de los tejidos musculares en animales (Buckingham, 1994).

La familia de genes MADS-box deriva su nombre de las iniciales de sus cuatro miembros fundadores -MCMI (proveniente de *Saccharomyces*; Jarvis *et al.*, 1989), AGAMOUS (gene de *Arabidopsis*; Yanofsky *et al.*, 1990), DEFICIENS (que se encuentra en *A. majus*; Sommer *et al.*, 1990) y SRF (del humano, Norman *et al.*, 1988), y agrupa a las secuencias codificadoras de factores de transcripción que presentan un dominio formado por 60 aminoácidos denominado MADS (Schwarz-Sommer *et al.*, 1990). En un principio, se consideraba que la unidad mínima de unión específica al DNA estaba formada por este dominio —el más conservado de toda la proteína— y de 30 a 40 aminoácidos en la región carboxilo terminal (Mueller y Nordheim, 1991). Gracias al trabajo cristalográfico realizado con la proteína codificada por SRF, se sabe ahora que el dominio MADS se pliega en un motivo estructural nuevo para la interacción con el DNA y para la dimerización que consiste en un rizo enrollado antiparalelo de dos hélices alfa anfipáticas, cada una proveniente de una subunidad diferente (Pellegrini *et al.*, 1995). Al igual que los homeodominios, el dominio MADS presenta una serie de sitios muy conservados dentro de su secuencia; el recuento reciente de 107 proteínas pertenecientes a plantas, hongos y animales (Theissen *et al.*, 1996) ha permitido identificar que I11, K23, R24, K30, K31, E34 y L38 son residuos absolutamente invariantes, así como 9 residuos más, donde los cambios de aminoácido han sido muy raros y conservativos, y finalmente 16 sitios de cambios no conservativos en menos del 5% de los casos.

Las proteínas con dominios MADS de plantas son de naturaleza altamente modular. Además de este dominio, existe en ellas una región parcialmente conservada, de aproximadamente 70 residuos, denominada K (por su similitud con el dominio de rizo enrollado presente en la queratina), que se localiza en la dirección 3' con respecto al dominio MADS y se separa de esta última por una región de secuencia muy variable denominada I («intermediary») o L («linker»). Aunque la secuencia de aminoácidos de esta región K no está muy conservada, la estructura secundaria sí lo está (Ma *et al.*, 1991; Purugganan *et al.*, 1995). Por último, las regiones más variables en términos de tamaño como en secuencia —tanto en animales como en plantas y hongos— corresponden a la región amino y carboxilo terminal. De éstas, la primera región sólo se halla en un pequeño grupo de proteínas MADS, pues en la mayoría de ellas el codón de metionina inicial coincide exactamente con el principio de la región del mismo

nombre, mientras que el extremo carboxilo se encuentra en todas ellas (Theissen *et al.*, 1996).

Como se apuntó arriba, es muy común que las proteínas MADS sean activas como pares, tanto homodímeros como heterodímeros. Se ha establecido, por ejemplo, que los productos de los genes APETALA3 y PISTILLATA, caracterizados en *Arabidopsis* (Jack *et al.*, 1992; Goto y Meyerowitz, 1994) pueden formar heterodímeros, así como sus contrapartes en *A. majus* (las proteínas *deficiens* y *globosa*) que requieren específicamente del dominio K, además del MADS, para interactuar (Davies *et al.*, 1996). Todas estas proteínas son fundamentales para la determinación de la identidad de algunos de los órganos florales característicos de las especies correspondientes, como revisaremos más adelante. Trabajos recientes han demostrado, sin embargo, que no sólo los dominios MADS y K juegan un papel en la función celular normal de los factores de transcripción florales. La construcción de genes híbridos acoplada con algunos experimentos de expresión ectópica en plantas transgénicas de *Arabidopsis* ha demostrado que el único dominio que siempre participa en la determinación de la especificidad funcional de las proteínas es la región I (Krizek y Meyerowitz, 1996). Probablemente, esto se deba a que dicho dominio se requiere para la interacción con otras proteínas accesorias que formarían entonces un complejo múltiple de proteínas DNA que activa la transcripción (Riechmann y Meyerowitz, 1997a).

Tal como ha sucedido con las proteínas con homeodominios, diversas estrategias experimentales han permitido demostrar que existe una secuencia conservada en los promotores y otras regiones activadoras de los genes blanco de las proteínas homeóticas MADS-box, a la cual éstas se asocian con diferentes grados de afinidad. Dicha secuencia de nucleótidos es un motivo palindrómico denominado caja CArG, que consiste en la secuencia consenso CC(A/T)₆ GG (Shore y Sharrocks, 1995). Si bien es común que se piense que la especificidad funcional de los factores de transcripción reside básicamente en su especificidad de asociación al DNA, se ha observado que muchas proteínas MADS-box reconocen prácticamente los mismos sitios CArG en el DNA (Nurrish y Treisman, 1995; Huang *et al.*, 1995), a pesar de que su papel en el desarrollo sea muy diferente (Riechmann y Meyerowitz, 1997b). Curiosamente, esta paradójica situación se ha venido descubriendo también para las proteínas homeóticas homeobox de los animales (ver Gross y McGinnis, 1996 para una revisión reciente). La importancia de determinar las causas de la especificidad de los factores de transcripción homeobox y MADS-box en estos términos es enorme: en principio, ésta

es la única manera de acceder al siguiente nivel de las interacciones regulatorias en el desarrollo, es decir, el de los genes realizadores (García-Bellido, 1977; ver Sección F). Por esta razón, una gran parte de los proyectos de investigación sobre la base molecular de la homeosis —tanto en animales como en plantas— ahora se enfocan en la caracterización de procesos que, junto con la regulación de la transcripción *per se*, controlen de manera fina la actividad de las proteínas homeóticas. Entre estos, ya empiezan a sobresalir mecanismos como la degradación selectiva de las proteínas mismas, el transporte del citoplasma al núcleo, el movimiento de célula a célula y otras modificaciones postraduccionales como la fosforilación. Asimismo, la participación de proteínas accesorias y cofactores en los complejos activadores de la transcripción, ya mencionada arriba, se perfila como la regla (Graba *et al.*, 1997, Riechmann y Meyerowitz, 1997b).

I. El origen de las novedades evolutivas II: la evolución de las estructuras reproductivas de las angiospermas

A diferencia de lo que sucedía en las épocas iniciales de la genética del desarrollo, en las cuales la brecha de conocimiento entre los sistemas modelo animales y vegetales era enorme, el rápido avance en la caracterización molecular de los genes MADS-box de las plantas, sus productos y sus actividades, hace ahora perfectamente posible compararlos con las demás familias de factores de transcripción, sin importar su procedencia. Por supuesto, con ello también se ha creado la posibilidad de analizar los eventos evolutivos más importantes en la historia de los linajes de plantas en términos de sus patrones de evolución molecular y sus patrones de expresión durante el desarrollo, tal como se ha realizado para el reino animal y sus genes homeóticos (ver p. ej. García-Fernández y Holland, 1994; Valentine *et al.*, 1996; Erwin *et al.*, 1997 y Shubin *et al.*, 1997). Al igual que en aquel caso, y con ayuda de la metodología cladística —algunas de cuyas potencialidades ya exploramos al inicio del ensayo— este marco alternativo multidisciplinario para entender el cambio morfológico de las plantas, sí permite concebir que el *tempo* evolutivo puede desviarse de un estricto gradualismo. Esto nos permite sustentar las antiguas sospechas de algunos legendarios genetistas y embriólogos, quienes pensaban que la variación misma es un elemento que restringe de manera extraordinaria el curso de la evolución (esto es, aquello que se selecciona o llega a ser adaptativo), manifestándose como un grupo de genes de efecto mayúsculo

sobre el desarrollo. Como hemos indicado antes, un gran número de revisiones en el área han tratado lo concerniente a la macroevolución animal. Para concluir este ensayo, quisiéramos retomar la discusión sobre el origen de las novedades evolutivas enfocándonos a la que tal vez sea la más bella de todas: la flor. Característica diagnóstica del clado de las angiospermas.

Dilucidar las razones del origen de la flor como novedad evolutiva es uno de los problemas clásicos de la biología desde tiempos de Darwin, quien le llamaba «el abominable misterio», y como ya hemos indicado, *Arabidopsis* y *A. majus* son las especies que han proporcionado la mayoría de las claves moleculares para entender cómo apareció. *Arabidopsis* es una planta con una serie de características biológicas que la han convertido en un modelo experimental excelente, comparable con *Drosophila*. Tiene un ciclo de vida corto, se puede cultivar en un espacio relativamente pequeño por su reducido tamaño, produce una gran cantidad de semillas generalmente por autofertilización —lo que facilita la realización de cruces controlados—, tiene un genoma pequeño con una proporción baja de DNA repetitivo y no codificante, y en ella se han montado ya todas las técnicas básicas de genética molecular que permiten evaluar el papel funcional de los genes (Meyerowitz, 1987). Por su parte, *A. majus* es otra especie con grandes ventajas desde el punto de vista experimental: posee transposones bien caracterizados que permiten interrumpir genes de interés particular y obtener plantas quiméricas, flores de tamaño conveniente que facilitan su manipulación y posibilidades de realizar cruces experimentales con relativa facilidad, además de una alta capacidad de propagación vegetativa (Schwarz-Sommer *et al.*, 1992).

Las flores silvestres de ambas especies son hermafroditas —es decir, presentan simultáneamente órganos masculinos y femeninos— y se componen de cuatro verticilos concéntricos, dispuestos en la siguiente secuencia desde la periferia hasta el centro: sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Como se anticipó en la Sección anterior, un número considerable de mutaciones en genes que codifican para factores de transcripción de la familia MADS-box cambian el arreglo de los órganos florales de manera homeótica, y se ha encontrado que sus correspondientes genes se requieren para una o más de tres diferentes funciones: el control directo de la identidad de los órganos, probablemente mediado por la activación de los genes realizadores característicos de las células de cada órgano; la regulación espacial de la expresión de los genes que controlan el órgano, que puede entenderse como la regulación de la posición; y la inducción inicial de los genes que especifican la identidad

de los órganos. Los genes del primer tipo (genes de identidad de los órganos) son equivalentes a los genes homeóticos selectores de los animales, y el producto de sus mutaciones es una drástica modificación de la fórmula floral. Por su parte, los genes con la segunda actividad se llaman catastrales, porque establecen límites espaciales para los genes anteriores, impidiendo su expresión ectópica. Por último, los genes que inducen positivamente a los del primer tipo se llaman genes de identidad meristemática, porque la ausencia de su actividad causa una conversión parcial o completa de las flores hacia vástagos (Weigel y Meyerowitz, 1994).

Las mutaciones en los genes de identidad de los órganos son especialmente interesantes. Estas caen en tres clases diferentes, cada una de las cuales altera la identidad de los órganos en dos verticilos adyacentes, de acuerdo con el modelo combinatorio conocido universalmente como ABC (Coen y Meyerowitz, 1991), propuesto específicamente como un resumen de la evidencia genética y molecular en *A. thaliana* y *A. majus*. Según el modelo, a cada una de las tres funciones de identidad de órganos, A, B y C, le corresponde una clase de genes particular. La inactivación de los genes de la clase A, es decir, la pérdida de la función marcada con la misma letra, causa la transformación de los sépalos en carpelos, y de los pétalos en estambres. En los mutantes de pérdida de la función B, los pétalos son reemplazados por más sépalos, y los estambres por más carpelos. Finalmente, la pérdida de la actividad C transforma a los estambres (tercer verticilo) en pétalos, y a los carpelos (cuarto verticilo) en sépalos. En el contexto del mismo modelo, el estudio de los dobles mutantes posibles ha revelado que la actividad B es independiente de A y C, y que cuando desaparece la función C de las células que formarán los verticilos 3 y 4, A se expresa ectópicamente en esas mismas células y viceversa —es decir, las actividades A y C se inhiben mutuamente—. Finalmente, el modelo dice también que los efectos de las diferentes actividades son independientes de su posición relativa dentro de la flor, y se ha convertido en la mejor herramienta predictiva de los patrones de expresión de los genes MADS-box en prácticamente todas las flores de las angiospermas conocidas en el planeta. *En principio, el modelo es también el mejor sustento con el que podríamos contar para postular que la flor es una estructura que apareció de novo, sin una gradación a partir de otra estructura ancestral, homóloga transformacional. En otras palabras, la evidencia genético-molecular en un contexto sistemático permite afirmar que la flor es una novedad evolutiva en el sentido estricto de la palabra (Muller y Wagner, 1991), y en su aparición se pueden aplicar*

las mismas consideraciones que hicimos al status taxonómico de la población imaginaria del mutante de proboscipedia.

La caracterización de los genes controladores de la morfogénesis floral ha permitido establecer, a grandes rasgos, cuales son las relaciones de regulación genética entre los diversos grupos de genes florales en *Arabidopsis*. Se conoce que diversas señales ambientales activan a los genes de floración tardía —que no son homeóticos— como CONSTANS (CO), GIGANTEA (GI) y varios otros (Weigel y Meyerowitz, 1993). Estos genes a su vez regulan la actividad transcripcional de los genes de identidad de meristemo, LEAFY (LFY), APETALA1 (AP1), CAULIFLOWER (CAL) y TERMINAL FLOWER 1 (TFL1; Coupland, 1995; Weigel y Meyerowitz, 1993; Ma, 1994). Estos últimos son los que regulan la actividad de los genes catastrales CLAVATA1 (CLV1), LEUNIG (LUG) y UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO; Clark *et al.*, 1995; Levin y Meyerowitz, 1995; Liu y Meyerowitz, 1995). Por último, tanto los genes de identidad de meristemo como los catastrales regulan la expresión de los genes de identidad de órgano, APETALA2 (AP2), APETALA 3 (AP3), PISTILLATA (PI), y AGAMOUS (AG; Weigel y Meyerowitz, 1994). Este esquema temporal de expresión tiene sus particularidades, sin embargo, y aún queda mucho trabajo por hacer para entender en detalle las relaciones transcripcionales gene a gene. Por ejemplo, el gene SUPERMAN (SUP) se activa después que los genes de identidad de órgano, a pesar de ser considerado formalmente como un gene catastral (Sakai *et al.*, 1995), y AP1 es un gene que también realiza funciones como determinante de la identidad de sépalos y pétalos (Weigel, 1995). No obstante, fuera de esta última excepción se han podido asignar genes específicos a las tres actividades del modelo ABC, siendo todos ellos, menos AP2, genes MADS-box: los genes Ap1 y AP2 constituyen la función A, los genes AP3 y PI constituyen a la actividad B, en tanto que AG corresponde a la actividad C (Meyerowitz, 1994a).

Además de los estudios conducidos en *Arabidopsis* y *A. majus* —especie en la cual ya se han identificado genes ortólogos para casi todos los mencionados para la primera (Theissen *et al.*, 1996)— el trabajo en otras especies ha permitido la caracterización de decenas de genes MADS-box involucrados en la morfogénesis floral. Entre estas especies podemos contar al arroz (*Oryza sativa*, Chung *et al.*, 1994), la coliflor (*Brassica napus*, Mandel *et al.*, 1992), el maíz (*Zea mays*, Schmidt, 1993), una orquídea (*Aranda Deborah*, Lu *et al.*, 1993), la patata (*Solanum tuberosum*, Kang *et al.*, 1995), la petunia (*Petunia hybrida*, Angenent *et al.*, 1992), *Rumex acetosa* (Ainsworth *et al.*, 1995), el tabaco (*Nicotiana tabacum*, Mandel *et al.*, 1994) y el tomate (*Lycopersicon*

persicon esculentum, Pnueli *et al.*, 1994). En una conífera, *Picea abies* (Tandre *et al.*, 1995), se han caracterizado también tres genes MADS y estudios en proceso están caracterizando este tipo de genes en *Pinus radiata* (eg., Izquierdo *et al.*, 1996). Estos estudios en coníferas están mostrando que la conservación de aspectos importantes de la regulación génica de la morfogénesis de órganos reproductivos se extiende más allá de las angiospermas y que los estudios comparativos de genética molecular del desarrollo muy probablemente también permitan resolver antiquísimas preguntas acerca del origen y diversificación de las traqueofitas (Bowman, 1997). Apenas este año se ha publicado el primer reporte de la presencia de genes MADS-box en helechos (Münster *et al.*, 1997), lo que indica que probablemente, tal como se indicaba en los primeros trabajos de reconstrucción filogenética de esta familia multigénica (Doyle, 1994; Puruggannan *et al.*, 1994), los tiempos de aparición de la misma sean muy antiguos y sea posible encontrar representantes en algunos grupos de algas cercanamente relacionados a las primeras plantas terrestres —en particular, las carofitas— empresa en la cual nuestro laboratorio está participando activamente.

J. Conjeturas, refutaciones y conclusiones: el fenotipo floral homeótico de *Lacandonia schismatica*

Como hemos visto ejemplificado en el trabajo con *proboscipedia*, el neodarwinismo eliminaba la posibilidad de participación de mecanismos saltacionistas de especiación mediados por grandes discontinuidades en el reflejo fenotípico de la información hereditaria. Un buen número de los defensores de la Teoría Sintética no sólo anteponían el argumento de la adecuación, sino que además afirmaban que los caracteres totalmente nuevos —las novedades evolutivas— tenderían a desaparecer de las poblaciones en tiempos muy cortos (mediante selección natural) en ausencia de un nicho ecológico o zona adaptativa que hiciera permisible su preservación. En otras palabras, los sintéticos llegaban a ser a veces sumamente esencialistas —en contra de lo defendido por Mayr (1994)— pues de modo explícito suponían la existencia, independiente de las características reales de los organismos, de espacios vacíos y recursos disponibles que serían llenados por una serie finita de plantas y animales, poseedores de las estructuras anatómicas adecuadas, mediante un proceso de adaptación gradual.

En la parte sur de México, dentro de la Selva Lacandona, existe una monocotiledónea micoheterotrófica que representa, en nuestra opi-

nión, una excelente contraparte vegetal del interesante caso de *proboscipedia*. Pero en este caso nos hallamos ante una homeosis natural. En efecto, la flor de *L. schismatica* es un rarísimo caso de homeosis natural, en el cual la fuerte restricción morfológica que detallamos en secciones anteriores para las angiospermas —aquella según la cual toda flor hermafrodita tiene un gineceo central y un androceo periférico— se ha roto (Martínez y Ramos, 1987). En vez de esta localización espacial de los verticilos, la flor de esta extraña especie presenta tres estambres centrales y un gran número de carpelos periféricos. Poco se sabe de la genética molecular de esta especie —imposible de crecer bajo condiciones controladas debido a sus interacciones con su hongo simbiote—, pero en nuestro laboratorio hemos ya comenzado un estudio comparativo, ubicado en el contexto del modelo ABC de determinación de la identidad de los órganos florales (ver Sección I), con el objetivo de determinar si las secuencias y/o los patrones de expresión de los genes MADS-box ABC —los genes homeóticos de las plantas— son causalmente responsables de este fenotipo homeótico. Nuestra conjetura al respecto es que sí lo son. Afortunadamente, como hemos tratado de argumentar en este trabajo que ahora concluye, actualmente contamos con todas las herramientas, conceptuales y tecnológicas, para tratar de investigar la base molecular de la rarísima inversión de los verticilos reproductivos en esta especie. Ella nos brindará posiblemente la oportunidad de contribuir al enriquecimiento de la teoría evolutiva.

Lacandonia schismatica ha sido ubicada por los expertos taxónomos del Orden al cual pertenece, las Triuridales, como una especie nueva de una nueva familia vegetal, Lacandoniaceae. Por lo tanto, en caso de que cambios regulatorios o estructurales de uno o pocos genes de las funciones ABC hayan sido los responsables del fenotipo homeótico de *Lacandonia*, tendremos ante nosotros un caso en el que cambios discretos en pocos genes han sido responsables del origen evolutivo de una nueva especie y una nueva familia. Además, la fijación en las poblaciones naturales de la o las mutaciones que subyacen este novedoso fenotipo, no parece haber sido por selección natural. Es difícil pensar en la historia adaptativa que pudo haber dado lugar a la fijación de esta inversión. Por ejemplo, es difícil imaginarse que ésta pudiese favorecer algún tipo de polinización pues la especie es cleistógama obligada, o que pudiese aumentar la eficiencia de fertilización. Entonces, posiblemente, y siguiendo con estas últimas especulaciones que ligan el final de este ensayo a su inicio, el fenotipo de *Lacandonia schismatica* se pudo haberse fijado por deriva génica y no por selección natural.

Notas

¹ A pesar de las grandes diferencias en el estilo de hacer ciencia experimental que existían entre Bateson y Morgan, es importante recordar que ambos fueron críticos muy fuertes de los conceptos adaptacionistas y seleccionistas ingenuos de los biólogos de la Síntesis. Sin embargo, Bateson fue durante muchos años, al igual que Goldschmidt, un científico que se movía en la periferia de lo permitido en los círculos académicos, mientras que Morgan nunca perdió su prestigio y peso específico dentro de la comunidad de genetistas a nivel intencional. Afortunadamente, el tiempo ha puesto en su justo lugar las contribuciones de todos ellos (Raff y Kauffman, 1987; Bowler, 1992; Webster, 1992; Kohler 1994).

² Como podrá imaginar el lector, esta tradición se desarrollaba paralelamente y en antagonismo a la construcción de la Síntesis Moderna, como lo confirma el hecho de que las obras generales de biología evolutiva escritas por Dobzhansky en épocas posteriores a las aludidas antes (p. ej. *Genetics of the Evolutionary Process*, de 1970) ni siquiera cita su trabajo con Bridges.

³ A partir de la realización exhaustiva de experimentos de mutagénesis, estos autores habían demostrado independientemente la existencia de una serie de genes de origen materno cuyos productos funcionan justo como los morfógenos de los modelos teóricos de Wolpert se comportarían. Los mRNAs aportados por esta vía al embrión en desarrollo, correspondientes a dichos genes, resultaron ser especialmente importantes en este sistema biológico de información posicional, pues su actividad establece una serie de interacciones jerárquicas con los genes propios del cigoto, subdividiendo al embrión en unidades metaméricas cada vez más pequeñas a lo largo del eje antero-posterior, hasta llegar al número y forma características del adulto. A los genes responsables de esta fase del desarrollo se les conocería a partir de entonces como *genes de polaridad del huevo*, y su individualidad con respecto a los homeóticos quedaría corroborada de manera definitiva (Nüsslein-Volhard y Wieschaus, 1980).

⁴ Es importante hacer notar que en esta época, la influencia de las metodologías cladísticas aún se limitaba a algunos círculos reducidos de especialistas; sin embargo, el tiempo ha confirmado el gran acierto de Lewis al haber tomado como base de su modelo especulativo un patrón de relaciones filogenéticas de las especies cuyo desarrollo estaba interesado en relacionar, por más preliminar que ésta pudiera haber sido.

Bibliografía

- AKAM, M. (1987): The molecular basis for metameric pattern in the *Drosophila* embryo. *Development* **101**(1): pp. 1-22.
- AKAM, M. (1995): Hox genes and the evolution of diverse body plans. *Phi T Roy B* **349**(9): pp. 313-319.
- AYALA, F. J. y Fitch, W. M. (1997): Genetics and the origin of species: an introduction. *PNAS USA* **94**: pp. 7.691-7.697.
- BATESON, W. (1894, reimp. 1992): *Materials for the Study of Variation*. Johns Hopkins University Press. EUA.

- BILLETER, M.; QUIAN, Y. Q.; OTTIN, G., MULLER, M. y GEHRING, W., *et al.* (1993): Determination of the nuclear magnetic resonance solution structure of an Antennapedia homeodomain-DNA complex. *J Mol Biol* **234**(4): pp. 1.084-1.094.
- BRIDGES, C. B. y Dobzhansky, T. (1933): The mutant «proboscipedia» in *Drosophila melanogaster* a case of hereditary homoösis. *W Roux' Arch Entw Mech Org* **127**: pp. 575-590.
- BUCKINGHAM, M. (1994): Molecular biology of muscle development. *Cell* **78**: pp. 15-21.
- BÜRGLIN, T. R. (1994): A comprehensive classification of homeobox genes. En Duboule D (ed.) *Guide to the Homeobox Genes*. Oxford University Press, Inglaterra.
- CARPENTER, R. L.; COPSEY, C.; VINCENT, S.; DOYLE, R., MAGRATH y COEN, E. (1995): Control of flower development and phyllotaxy by meristem identity genes in *Antirrhinum*. *Plant Cell*, pp. 2.001-2.011.
- CARRASCO, A. E.; MCGINNIS, V.; GEHRING, W. J. y DE ROBERTIS, E. M. (1984): Cloning of an X-laevus gene expressed during early embryogenesis coding for a peptide region homologous to *Drosophila* homeotic genes. *Cell* **37**(2): pp. 409-414.
- COEN, E. S. y MEYEROWITZ, E. M. (1991): The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* **353**: pp. 31-37.
- DAVIES, B., EGEE-CORTINES, M.; de ANDRADE SILVA, E.; SAEDLER, H. y SOMMER, H. (1996): Multiple interactions amongst floral homeotic MADS-box proteins. *EMBO J* **15**: pp. 4.330-4.343.
- DE QUEIROZ, K. y GAUTHIER, J. (1992): Phylogenetic taxonomy. *Ann Rev Ecol Syst* **23**: pp. 449-480.
- DESALLE, R. y GRIMALDI, D. A. (1991): Morphological and molecular systematics of the Drosophilidae. *Annu Rev Ecol Syst* **22**: pp. 447-475.
- DESALLE, R. y CAREW, E. (1992): Phyletic phenocopy and the role of developmental genes in morphological evolution in the Drosophilidae. *J Evol Biol* **5**: pp. 363-374.
- DE ROBERTIS, E. M. (1994): *The homeobox in cell differentiation and evolution*. En Duboule D (ed.) *Guide to the Homeobox Genes*. Oxford University Press, Inglaterra.
- DOBZHANSKY, T. (1937): *Genetics and the Origin of Species*. Columbia University Press, EUA.
- (1956): What is an adaptive trait? *Amer Nat* **90**: pp. 337-347.
- (1970): *Genetics of the Evolutionary Process*. Columbia University Press, EUA.
- DOBZHANSKY, T.; AYALA, F. J.; STEBBINS, G. L. y VALENTINE, J. W. (1977): *Evolution*. Freeman, EUA.
- DOBZHANSKY, T. (1980): Morgan and his school in the 1930s. En Mayr, E. y Provine, W. B. (eds.): *The Evolutionary Synthesis*. Harvard University Press, EUA.
- DUBOIS, E. y Messenguy, F. (1991): In vitro studies of the binding of the ARGR proteins to the ARG5,6 promoter. *Mol Cell Biol* **11**: pp. 2.162-2.168.
- DUBOULE, D. (ed., 1994): *Guide to the Homeobox Genes*. Oxford University Press, Inglaterra.
- ERWIN, D.; VALENTINE, J. y Jablonsky, D. (1997): The origin of animal body plans. *Amer Sci* **85**: pp. 126-137.
- GARCÍA-BELLIDO, A. (1975): Genetic control of wing disc development in *Drosophila*. En Porter, F. y Rivers, D. (eds.): *Cell Patterning*. Elsevier, Holanda.
- (1977): Homeotic and atavic mutations in insects. *Amer Zool* **17**: pp. 613-629.
- GARCÍA-BELLIDO, A.; MORATA, G. y RIPOLL, P. (1973): Developmental compartmentalization of the wing disk of *Drosophila*. *Nature New Biol* **245**: pp. 251-253.

- GARCÍA-BELLIDO, A.; LAWRENCE, P. A. y MORATA, G. (1973): Compartments in animal development. *Sci Amer* **241**: pp. 102-110.
- GEHRING, W. (1985): The homeobox: a key to the understanding of development? *Cell* **40**: pp. 3-5.
- (1992): The homeobox in perspective. *Trends Bioch Sci* **17**: pp. 277-280.
- (1994): A history of the homeobox. En Duboule, D. (ed.): *Guide to the Homeobox Genes*. Oxford University Press, Inglaterra.
- GEHRING, W. J.; Affolter, M. y Burglin, T. (1994): Homeodomain proteins. *Ann Rev Biochem* **63**: pp. 487-526.
- GHISELIN, M. (1974): A radical solution to the species problem. *Syst Zool* **23**: pp. 536-554.
- (1981): Categories, life and thinking. *Behav Brain Sci* **4**: pp. 269-283.
- GOLDSCHMIDT, R. (1940): *The Material Basis of Evolution*. Yale University Press, EUA.
- GOTO, K. y Meverowitz, E. M. (1994): Function and regulation of the Arabidopsis floral homeotic gene PISTILLATA. *Genes Dev* **8**: pp. 1.548-1.560.
- GOULD, S. J. (1989): *Wonderful Life*. Norton, EUA.
- GRABA, Y.; ARAGNOL, D. y PRADEL, J. (1997): Drosophila hox complex downstream targets and the function of the homeotic genes. *Bio Essays* **19**: pp. 379-388.
- GROSS, C. T. y MCGINNIS, W. J. (1996): The function of homeodomain proteins in Drosophila development. En Goodbourn, S. (ed.): *Eukaryotic Gene Transcription*. Oxford University Press, Inglaterra.
- HALL, B. K. (1992): *Evolutionary Developmental Biology*. Chapman & Hall, EUA.
- HENNING, W. (1965): Phylogenetic systematics. *Annu Rev Entomol* **10**: pp. 97-116.
- (1966): *Phylogenetic systematics*. Illinois University Press, EUA.
- HERSKOWITZ, I. (1989): A regulatory hierarchy for cell specialization in yeast. *Nature* **342**: pp. 749-757.
- HILLIS, D. M.; MORITZ, C. y MABLE, K. (eds, 1996): *Molecular systematics*, 2.a Ed. Sinauer, EUA.
- HIRSCH, J. A. y AGGARWAL, A. K. (1995): Structure of even-skipped homeodomain complexed to AT rich DNA: new perspectives on homeodomain specificity. *EMBO J* **14**: pp. 6.280-6.291.
- HOLLAND, P. W. H. y GARCÍA-FERNÁNDEZ, J. (1996): Hox genes and chordate evolution. *Develop Bio* **173**(2): pp. 382-395.
- HUANG, H.; TUDOR, M.; WEISS, C. A.; HU, Y. y Ma, H. (1995): The Arabidopsis MADS-box gene AGL3 is widely expressed and encodes a sequence-specific DNA-binding protein. *Plant Mol Biol* **28**: pp. 549-567.
- HULL, D. (1976): Are species really individuals? *Syst Zool* **25**: pp. 174-191.
- (1994): A matter of individuality. En Sober, E. (ed.): *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*, 2.ª Ed. MIT Press, EUA.
- INGHAM, P. W. (1988): The molecular genetics of embryonic pattern formation in *Drosophila*. *Nature* **335**(6.185): pp. 25-34.
- JACK, T.; BROCKMAN, L. L. y MEYEROWITZ, E. M. (1992): The homeotic gene APETALA3 of *Arabidopsis thaliana* encodes a MADS-box and is expressed in petals and stamens. *Cell* **68**: pp. 683-697.
- JACK, T.; FOX, G. L. y MEYEROWITZ, E. M. (1994): Arabidopsis homeotic gene APETALA3 ectopic expression; transcriptional and posttranscriptional regulation determine floral organ identity. *Cell* **76**: pp. 703-716.

- JARVIS, E. E.; CLARK, K. L. y SPRAGUE, G. F. (1989): The yeast transcription activator PRTF, a homolog of the mammalian serum response factor, is encoded by the MCM1 gene. *Genes Dev* **3**: pp. 936-945.
- KISSINGER, C. R.; LIU, B. S.; MARTINBLANCO, E.; KORNBERG, T. B. y PABO, C. O. (1990): Crystal-structure of an engrailed homeodomain-DNA complex at 2.8 a resolution a framework for understanding homeodomain-DNA interactions. *Cell* **63**(3): pp. 579-590.
- KOHLER, R. E. (1994): *Lords of the Fly*. Chicago University Press, EUA.
- KRIZEK, B. A. y MEYEROWITZ, E. M. (1996): Mapping the protein regions responsible for the functional specificities of the *Arabidopsis* MADS domain organ-identity proteins. *PNAS USA* **93**: pp. 4.063-4.070.
- LAUGHON, A. (1991): DNA binding specificity of homeodomains. *Biochem* **30**: pp. 11.357-11.367.
- LAUGHON, A. y SCOTT, M. P. (1984): Sequence of a *Drosophila* segmentation gene: protein structure homology with DNA-binding proteins. *Nature* **310**: pp. 25-31.
- LAWRENCE, P. A. y STRUHL, G. (1996): Morphogens, compartments and pattern: lessons from *Drosophila*? *Cell* **85**: pp. 951-961.
- LEVIN, J. Z. y MEYEROWITZ, E. M. (1995): UFO: An *Arabidopsis* gene involved in both floral meristem and floral organ development. *Plant Cell* **7**: pp. 529-548.
- LEWIS, E. B. (1978): A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* **276**: pp. 565-570.
- LI, T.; STARK, M. R.; JOHNSON, A. D. y WOLBERGER, C. (1995): Crystal structure of the Mat-a1/mat alpha-2 homeodomain heterodimer bound to DNA. *Science* **270**(5.234): pp. 262-269.
- MANDEL, T.; LUTZIGER, I. y KUHLEMEIER, C. (1994): A ubiquitously expressed MADS-box gene from *Nicotiana tabacum*. *Plant Mol B* **25**(2): pp. 319-321.
- MARX, J. (1992): Homeobox genes go evolutionary (Research News). *Science* **225**: pp. 399-401.
- MAYNARD SMITH, J.; BURIAN, R.; KAUFFMAN, S.; ALBERCH, P.; CAMPBELL, J.; GOODWIN, B.; LANDE, R.; RAUP, D. y WOLPERT, L. (1985): Developmental constraints and evolution. *Q Rev Biol* **60**: pp. 265-287.
- MAYR, E. (1970): *Populations, Species and Evolution*. Harvard University Press, EUA.
- (1982): *The Growth of Biological Thought*. Belknap (Harvard University Press), EUA.
- (1994): Typological versus populational thinking. En Sober, E. (ed.) *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*, 2.^a Ed. MIT Press, EUA.
- MCGINIS, W.; GARBER, R. L.; WIRZ, J.; KUROIWA, A. y GEHRING, W. J. (1984): A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* **37**(2): pp. 403-408.
- MCGINNIS, W. y KRUMLAUF, R. (1992): Homeobox genes and axial patterning. *Cell* **68**(2): pp. 283-302.
- MEYEROWITZ, E. M. (1994a): The genetics of flower development. *Sci Am* **271**: pp. 40-47.
- (1994b): Flower development and evolution: New answers and new questions. *PNAS USA* **91**: pp. 5.735-5.737.
- MUELLER, C. G. F. y NORDHEIM, A. (1991): A protein domain conserved between yeast MCM1 and human SRF directs ternary complex formation. *EMBO J* **11**: pp. 3.011-3.019.

- NORMAN, C.; RUSWICK, M.; POLLOCK, R. y TREISMAN, R. (1988): Isolation and properties of cDNA clones encoding SRF, a transcription factor that binds to the *c-fos* serum response element. *Cell* **55**: pp. 989-1003.
- NURRISH, S. J. y TREISMAN, R. (1995): DNA binding specificity determinants in MADS-box transcription factors. *Mol Cell Biol* **15**: pp. 4.076-4.085.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C. (1991): Determination of the embryonic axes of *Drosophila*. *Development (S1)*: pp. 1-10.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C. y WIESCHAUS, E. (1980): Mutations affecting segments number and polarity in *Drosophila*. *Nature* **287**: pp. 795-801.
- NÜSSLEIN-VOLHARD, C.; FROHNHOFER, H. G. y LEHMANN, R. (1987): Determination of anteroposterior polarity in *Drosophila*. *Science* **238**(4.834): pp. 1.675-1.681.
- OLSON, E. N.; PERRY, M. y SCHULZ, R. A. (1995): Regulation of muscle differentiation by the *mef2* family of MADS box transcription factors. *Develop Biol* **172**: pp. 2-14.
- OTTING, G.; QIAN, Y. Q.; BILLETER, M.; MÜLLER, M. y AFFOLTER, M. et al. (1990): Protein DNA contacts in the structure of a homeodomain DNA complex determine by nuclear magnetic resonance spectroscopy in solution. *EMBO J* **9**(10): pp. 3.085-3.092.
- PABO, C. O. y SAUER, R. T. (1992): Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition. *Annu Rev Biochem* **61**: pp. 1.053-1095.
- PELLEGRINI, L.; TAN, S. y RICHMOND, T. J. (1995): Structure of serum response factor core bound to DNA. *Nature* **376**: pp. 490-498.
- PENNISI, E. y ROUSH, W. (1997): Developing a new view of evolution (Special News Report). *Science* **277**: pp. 34-37.
- PURUGGANAN, M. D.; ROUNSLEY, S. D.; SCHMIDT, R. J. y YANOFKY, M. F. (1995): Molecular evolution of flower development: diversification of the plant MADS-box regulatory gene family. *Genetics* **140**: pp. 345-356.
- QIAN, Y. Q.; BILLETER, M.; OTTING, G.; MUELLER, M.; GEHRING, W. J. y WÜTRICH, K. (1989): The structure of the Antennapedia homeodomain determined by NMR spectroscopy in solution: comparison with prokaryotic repressors. *Cell* **59**: pp. 573-580.
- QIAN, Y. Q.; OTTING, G.; BILLETER, M.; MÜLLER, M.; GEHRING, W. y WÜTRICH, K. (1993): Nuclear magnetic resonance spectroscopy of a DNA complex with the uniformly ¹³C-labeled Antennapedia homeodomain and structure determination of the DNA-bound homeodomain. *J Mol Biol* **234**: pp. 1.070-1.083.
- QIAN, Y. Q.; FURUKUBO-TOKUNAGA, K.; RESÉNDEZ-PÉREZ, D.; MÜLLER, M.; GEHRING, W. J. y WÜTRICH, K. (1994): Nuclear magnetic resonance solution structure of the fushi tarazu homeodomain from *Drosophila* and comparison with the Antennapedia homeodomain. *J Mol Biol* **283**: pp. 333-345.
- RIECHMANN, J. L. y MEYEROWITZ, E. M. (1997a): Determination of floral organ identity by *Arabidopsis* MADS domain homeotic proteins AP1, AP3, PI and AG is independent of their DNA-binding specificities. *Mol Biol Cell* (en prensa).
- (1997b): MADS domain proteins in plant development. *Biol Chem* (en prensa).
- RIEPEL, O. C. (1988): *Fundamentals of Comparative Biology*. Birkhäuser, Alemania.
- RIEPEL, O. C. (1994): Species and history. En Scotland R. W.; Siebert, D. J. y Williams, D. M. (eds.): *Models in Phylogeny Reconstruction*. Clarendon Press, Inglaterra.
- SAKAI, H.; MEDRANO, L. J. y MEYEROWITZ, E. M. (1995): Role of SUPERMAN in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries. *Nature* **378**: pp. 199-203.

- SALSER, S. J. y KENYON, C. (1994): Patterning *C. elegans* homeotic cluster genes, cell fates and cell migrations. *Trends Gen* **10**(5): pp. 159-164.
- SCHWARZ-SOMMER, Z.; HUIJSER, P.; NACKEN, W.; SAEDLER, H. y SOMMER, H. (1990): Genetic control of flower development: homeotic genes in *Antirrhinum majus*. *Science* **250**: pp. 931-936.
- SCHWARZ-SOMMER, Z.; HUE, Y.; HUIJSER, P.; FLOR, P. J.; HANSEN, R.; TETENS, F.; LÖNNIG, W.; SAEDLER, H. y SOMMER, H. (1992b): Characterization of the *Antirrhinum* floral homeotic MADS-box gene *deficiens*: evidence for DNA binding and autoregulation of its persistent expression throughout flower development. *EMBO J* **11**: pp. 251-263.
- SCHWARZ-SOMMER, Z.; SAEDLER, H. y SOMMER, H. (1992a): Homeotic genes in the genetic control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*. In: Russo, V. E. A.; Brody, S.; Cove, D. and Ottolenghi, S. (eds.): *Development*. The molecular genetic approach. Springer Verlag.
- SCOTT, M. P. y WEINER, A. J. (1984): Structural relationships among genes that control development sequence homology between the Antennapedia, Ultrabithorax, and Fushi tarazu loci of *Drosophila*. *PNAS* **81**(13): pp. 4.115-4.119.
- SHARKEY, M.; GRABA Y. y SCOTT, M. P. (1997): Hox genes in evolution protein surfaces and paralog groups. *TIG* **13**: pp. 145-151.
- SHORE, P. y SHARROCKS, A. D. (1995): The MADS-box family of transcription factors. *Eur J Biochem* **229**: pp. 1-13.
- SHUBIN, N.; TABIN, C. y CARROLL, S. (1997): Fossil, genes and the evolution of animal limbs. *Nature* **388**: pp. 639-648.
- SMALL, S. y LEVINE, M. (1991): The initiation of pair-rule stripes in the *Drosophila* blastoderm. *Curr Opin Genet Dev* **1**: pp. 255-260.
- SOMMER, H.; BELTRÁN, J.-P.; HUIJSER, P.; PAPE, H.; LÖNNIG, W.-P.; SAEDLER, H. y SCHWARZ-SOMMER, Z. (1990): *Deficiens*, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. *EMBO J* **9**: pp. 605-613.
- STANLEY, S. (1979): *Macroevolution*. Freeman, EUA.
- ST JOHNSTON, D. y NÜSSLEIN-VOLHARD, C. (1992): The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* **68**(2): pp. 201-219.
- STURTEVANT, A. H. (1921): *The North American species of Drosophila*. Carnegie Institution, EUA.
- (1942): The classification of the genus *Drosophila*, with descriptions of nine new species. *Univ Texas Publ* **6.615**: pp. 315-333.
- THEISSEN, G.; KIM, J. T. y SAEDLER, H. (1996): Classification and phylogeny of the MADS-box multigene family suggest defined roles of MADS-box genes subfamilies in the morphological evolution of eukaryotes. *J Mol Evol* **43**: pp. 484-516.
- VALENTINE, J. W.; ERWIN, D. H. y JABLONSKY, D. (1996): Developmental evolution of metazoan bodyplans: the fossil evidence. *Dev Biol* **173**: pp. 373-381.
- WÄGNER, A. (1996): Genetic redundancy caused by gene duplication and its evolution in networks of transcriptional regulators. *Biol. Cybern* **74**: pp. 557-567.
- WEIGEL, D. (1995): The genetics of flower development: from floral induction to ovule morphogenesis. *Annu Rev Genetics* **29**: pp. 19-39.
- WEIGEL, D.; ÁLVAREZ, J.; SMYTH, D.; YANOFSKY, M. F. y MEYEROWITZ, E. M. (1992): LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Cell* **69**: pp. 843-859.

- WEIGEL, D. MEYEROWITZ, E. M. (1993): Genetic hierarchy controlling flower development. In *Molecular basis of morphogenesis*, pp. 93-107. Wiley-Liss, Inc.
- WEIGEL, D. MEYEROWITZ, E. M. (1994): The ABCs of floral homeotic genes. *Cell* **78**: 203-209.
- WINCHESTER, G. (1996): The Morgan lineage. *Curr Biol* **6**: 100-100.
- WOLBERGER, C. (1996): Homeodomain interactions *Curr Op Str* **6** (1): 62-68.
- WOLBERGER, C.; VERSHON, A. K.; LIU, B. S.; JOHNSON, A. D. y PABO, C. O. (1991): Crystal structure of a mat alpha-2 homeodomain operator complex suggest a general model for homeodomain-DNA interaction. *Cell* **67** (3): 517-528.
- YANOFSKY, M. F. (1995): Floral meristems to floral organs: genes controlling early events in *Arabidopsis* flower development. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **46**: 167-188.
- YANOFSKY, M. F.; MA, H.; BOWMAN, J. L.; DREWS, G. N.; FELDMAN, K. A. y MEYEROWITZ, E. M. (1990): The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene AGAMOUS resembles transcription factors. *Nature* **346**: 35-40.