

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS  
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES**

---

**DISCURSO INAUGURAL**

**DEL AÑO ACADÉMICO 1999-2000**

**LEÍDO EN LA SESIÓN CELEBRADA EL DÍA 27 DE OCTUBRE DE 1999**

**POR EL ACADÉMICO NUMERARIO**

**EXCMO. SR. D. ANTONIO GARCÍA-BELLIDO**

**SOBRE EL TEMA**

**LOS GENES DEL CÁMBRICO**



MADRID  
DOMICILIO DE LA ACADEMIA  
VALVERDE, 22 - TELÉFONO 917 014 230  
1999

Depósito Legal: M. 37.070-1999

---

REALIGRAF, S. A. - Pedro Tezano, 26. Tel.: 91 311 14 92 - 28039 Madrid

# LOS GENES DEL CÁMBRICO

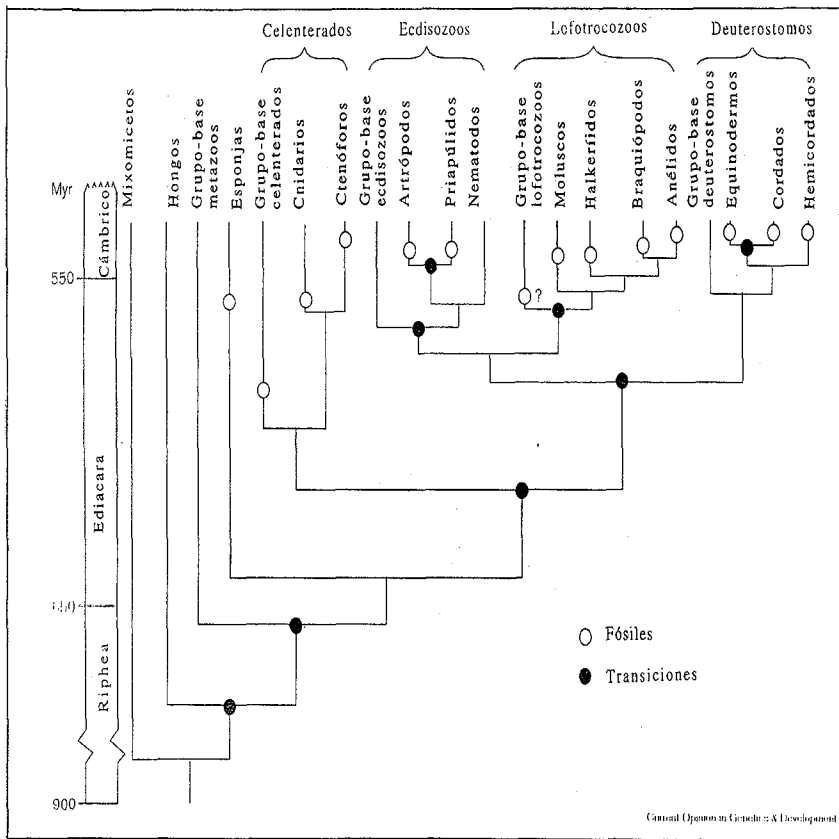
Antonio García-Bellido

La morfogénesis es, en principio, un problema de análisis sincrónico; consiste en entender las reglas de transformación de información entre los niveles de moléculas, genes, células y formas orgánicas, durante el desarrollo desde un cigoto. Pero la morfogénesis, sin embargo, no empieza ahí: los huevos difieren en su contenido de información (productos génicos maternos y una organización espacial) que cambia, con los genes, a lo largo de la evolución. Así, entender morfogénesis se convierte en un problema diacrónico. La constatación reciente de la conservación génica a lo largo de la evolución permite análisis comparativos en busca de operaciones invariantes que den cuenta de las diferentes morfologías. El problema es más patente al tratar de explicar que los planes anatómicos y de desarrollo fundamentales de los metazoos triploblásticos están ya presentes en los organismos del Cámbrico, derivados en pocos millones de años, de metazoos diploblásticos de la fauna Ediacara del Véndico. Una gran variedad de filums de organismos triploblásticos (Protostomia, como anélidos, moluscos y artrópodos, y los Deuterostomia, equinodermos y cordados) han surgido en un «Big-Bang» (entre 530 y 520 millones de años, M.a) en la base del Cámbrico (550-500 M.a) con una impresionante expansión de la diversidad y disparidad morfológicas (Erwin, 1991, 1993, Erwin *et al*, 1997, Valentine *et al*, 1996, 1999). El registro fósil del Cámbrico, incluye miembros de más de treinta filums (planes corporales) correspondientes a unos hábitat bentónicos marinos de costa comparables a los actuales; unos habitats aparentemente constantes y sencillos. Más aún, en la fauna Cámbrica los organismos triploblásticos tempranos están representados por muy pocas especies, morfológicamente muy dispares, con una organización y morfología del adulto tan complejas como en las especies derivadas actuales. En el Cámbrico medio la fauna fósil corresponde a 30 filums, 50 clases y 80 órdenes (Ver revisiones en Conway Morris, 1994, 1998, Raff, 1996, Gerhart y Kirschner, 1997, Erwin *et al*, 1997). Para una taxonomía y filogenia reciente basada en datos moleculares, ver Fig. 1.

La discusión que sigue contempla el problema de como estas diversas morfologías del Cámbrico pudieron haberse generado haciendo uso de operaciones genéticas conservadas durante el desarrollo de sus descendientes actuales y en ellos, accesibles a análisis genético. Estos estudios muestran que la evolución morfológica es el resultado de combinaciones de pocos módulos; moléculas, genes, grupos de genes, actuando en solo unas pocas operaciones de desarrollo.

## 1. MODULARIDAD DE LOS ELEMENTOS GENÉTICOS

Los datos de la filogenia molecular nos permite inferir la organización genómica de los metazoos del Cámbrico. Estos organismos habían heredado el código genético y todos los mecanismos de transacción de energía (fotosíntesis, biosíntesis y metabolismo oxidativo), refinados a una eficacia óptima, desde sus ancestros (bacterias procarióticas desde 3.000 M.a., protistas eucariotes desde 2.000 M.a. y metazoos multicelulares desde antes de 700 M.a. (Doolittle, 1995, Knoll, 1992; Sogin, 1994). La mayoría de los genes de estos metazoos eran ya tripartitos; consistiendo de una parte reguladora no transcribible (la región promotora con di-



**Figura 1.** Representación esquemática de la filogenia en los metazoos y su agrupamiento en superfilums (p.ej. Ecdisozoos). Están omitidos por simplicidad varios filums. Círculos vanos corresponden a grupos con fósiles conocidos en la edad correspondiente. Círculos negros corresponden a nodos de divergencia. Filogenia basada en muchas fuentes, recogidas por Conway Morris, 1998.

ferentes secuencias reguladoras, «enhancers») y dos partes transcribibles, una, los intrones, que no se traducen (y que pueden contener enhancers interspersos), alternando con otras, exones, traducibles, que generalmente codifican para dominios enteros de proteínas. Diploidia sexual, recombinación, saltos de secuencias DNA y conversión génica, permitían ya las combinaciones de exones y, de ahí, la de dominios de proteínas, y la de regiones *cis*-reguladoras y de ahí la posibilidad de exponer estos genes al control de diferentes genes reguladores. Duplicación génica y la subsiguiente diversificación de secuencias, venían generando familias de genes con modulaciones sutiles de una función génica básica. Mayor diversidad y modulación génica se obtuvo por combinaciones de exones en el mismo gen, generando proteínas con diferentes multidominios. La especificidad de la configuración terciaria de los dominios de proteínas es «reconocida» por los de otras proteínas, permitiendo la formación de aglomerados estables (como ribosomas, complejos transcripcionales y de corte-empalme, membranas celulares, etc) o interacciones transitorias como entre ligandos y receptores, proteínas de adhesión en reconocimiento celular y en transducción de señales inter- e intracelulares. Las interacciones transitorias entre proteínas de genes reguladores y los enhancers de los genes regulados permitían la coordinación de la expresión de conjuntos de genes en «sintagmas», para llevar a cabo operaciones genéticas específicas en desarrollo (García-Bellido, 1985). Combinaciones de «sintagmas» en células de diferentes linajes celulares debían, en el Proterozoico, definir el comportamiento específico celular y de aquí las diversas operaciones de desarrollo que encontramos en los organismos actuales, sus descendientes. En lo que sigue desarrollaremos estos asertos.

La conservación durante la evolución de las secuencias génicas codificantes, es atribuible a la inercia impuesta por el «reconocimiento molecular», que da especificidad a las funciones (interacciones) génicas. La especificidad proteica esta basada en estructuras tridimensionales diferentes que permiten la interacción con secuencias reguladoras del DNA, con sustratos en procesos enzimáticos o con otras proteínas. El número estimado de estos dominios en proteínas actuales, basado en la secuencia de aminoácidos y comparaciones cristalográficas, es sólo del orden de 1000 a 2000 (entre varias decenas de miles estéricamente posibles) (Chothia, 1992). Genes compuestos, por recombinación entre dominios, permiten diversidad donde varios dominios de la misma proteína lleven a cabo diferentes funciones simultáneamente. En bacterias o levaduras, enzimas fisiológicamente relacionadas en una operación están codificadas por genes distintos, que pueden aparecer dentro de la misma unidad transcripcional en organismos más avanzados. El reconocimiento molecular puede haber limitado el número de dominios funcionales distintos de una proteína para su función en combinaciones homo- o heteroméricas. Duplicaciones génicas, seguidas de divergencia de secuencias, permitieron la aparición de familias de genes realizando funciones diferentes pero relacionadas. A pesar del teóricamente infinito aumento en el número de genes de un genoma, éste es del orden de 4000 a 5000 genes en bacterias, 6-10.000 en levaduras, de 10 a 20.000 en nemátodos e insectos. El abrupto aumento en el número de genes en vertebrados, del orden de unos 60 a 100.000, viene asociado a una octoploidía cromosómica, que ocurrió en dos etapas en el origen de los cordados (Miklos y Campbell, 1992, Holland, 1992). El 50% de los genes de *E.coli* tienen secuencias homologas a las de eucariontes (Konnin *et al*, 1995). Así, el límite a la diversidad genética, que resulta de las limitaciones impuestas por el reconocimiento molecular, se convierte en inercia evolucionista y nos permite descubrir como veremos invarianzas de función hasta niveles de complejidad interactiva muy altos.

Las extrapolaciones del análisis molecular comparativo de genomas de metazoos actuales hacia sus ancestros comunes revela una primera paradoja de la evolución morfológica. La gran diversidad en formas y planes de construcción de los animales del Cámbrico, está asociada a un repertorio muy limitado de genes (Wray *et al*, 1996). A partir de comparaciones genómicas podemos inferir, con seguridad, que estos organismos se construían con no más de 15.000 genes. Más aún, comparaciones de secuencias de DNA, entre genes de especies actuales extrapoladas a sus ancestros del Cámbrico, revelan que la diversidad de secuencia de genes entre miembros de diferentes Ordenes del Cámbrico son de la misma magnitud que las que encontramos hoy día entre miembros del mismo Género (Patterson *et al.*, 1993). Así, la complejidad morfológica aparente de estos organismos está pobremente correlacionada con diversidad en el contenido informacional del genoma; resulta, en realidad, de variaciones combinatorias. Asociado a la aparente complejidad orgánica ha habido un aumento en la extensión de las zonas reguladoras de los genes, debidas posiblemente a un aumento en el número de interacciones génicas de regulación. En general, se puede afirmar que el aumento en diversidad morfogenética resulta, en gran medida, de asociaciones combinatoriales de módulos génicos, esto es, de dominios de genes, de genes y de sus redes de interacción molecular en «sintagmas» conservadas por las limitaciones impuestas por el reconocimiento molecular. Se puede expresar que a lo largo de la evolución lo que ha aumentado asociado a complejidad, son las regiones reguladoras de los genes. Esto conlleva a un aumento proporcional de genes reguladores sobre genes con funciones celulares básicas. Estos últimos son más del 90% en bacterias y menos del 40% del total en *Drosophila* o en el ratón.

Análisis moleculares comparativos entre genes de filums muy separados revela que muchos de ellos conservan secuencias de DNA y sus funciones (interacciones) asociadas,

en operaciones de desarrollo. Esto significa que tienen que haber sido operativas, aunque sea de manera incipiente en los metazoos del Cámbrico (Shenk y Steele, 1993, Erwin, 1993). No podemos saber cuál era la función primitiva de los genes morfogenéticos primigenios en comportamiento celular, pero podemos suponer, a partir de las morfologías de fósiles y la filogenia molecular, que algunas familias de genes pueden haber mantenido determinadas operaciones celulares. Así por ejemplo nos encontramos con la capacidad de acoplar ligandos y sus receptores (derivados de la sensibilidad química de bacterias) en señalización celular, en reconocimiento celular y adhesión celular de metazoos diploblásticos precámbricos, y en trasducción de señales de la superficie celular a genes de función nuclear. En la misma dirección podríamos hablar de la división celular y proliferación celular controladas por genes que se han conservado desde protistas ancestros de metafitas y de metazoa; de polaridad y forma celular, basados en anisotropías del citoesqueleto y especializaciones de membrana (en conexiones intercelulares y asociaciones de receptores), que han tenido que ser operativas en migración celular, reconocimiento de otras células y de sustratos. Citodiferenciación, en programas alternativos definiendo histotipos, se puede encontrar en animales diploblásticos (cnidarios y ctenóforos). Ciertamente, tejidos tan distintos como epidermis, músculo, y neuronas estaban presentes en metazoos triploblásticos primitivos. En suma, todas las operaciones genéticas fundamentales a nivel celular ya estaban establecidas para asegurar la organización de territorios multicelulares que dan lugar a la fantástica variedad de las morfologías triploblásticas. En lo que sigue, analizaremos esta proposición en algún detalle.

## 2. MECANISMOS EN COMPORTAMIENTO CELULAR

La complejidad y diversidad morfológica de los metazoos del Cámbrico sugiere que, durante su desarrollo, eran capaces de llevar a cabo una compleja serie de operaciones genéticas. Vamos a considerar algunas. La división celular en células eucariontes requiere la función de un conjunto de ciclinas y de sus fosfatasa y quinasas asociadas, que operan en una cascada de operaciones en diferentes fases del ciclo celular (Nurse, 1993). Los miembros de este sintagma están conservados desde levaduras a insectos y al hombre (Levine y Broach, 1995). El inicio del ciclo celular a partir de estados de reposo ocurre por señales extracelulares, nutrientes y señales de apareamiento en levadura que activan receptores específicos en la membrana celular. En metazoos la proliferación celular requiere cierto grado de coordinación, que da lugar a sistemas multicelulares con forma y tamaño especie-específicos. Insectos y vertebrados comparten los mismos factores de crecimiento, actuando como ligandos (Egf, Fgf, etc), y los mismos receptores específicos celulares involucrados en activación mitogénica. Algunos de estos factores pueden operar como morfógenos difusibles, (como *dpp* en moscas y la familia *BMP* en ratón) y en la señalización entre células, (*wg* en moscas (*Wnt*- en ratón) o *hh*, (*Shh* en ratón)) (Hogan, *et al.* 1994; Fietz *et al.*, 1994).

La proliferación celular asociada a morfogénesis puede ocurrir en dos modalidades distintas. La proliferación puede resultar de gemación de células troncales (por anamorfosis), en un borde o zona cambial de un esbozo dejando las células posmitóticas detrás o delante de las troncales. Estas divisiones son asimétricas, en cuanto que la célula troncal y su hija siguen distintos regímenes de proliferación y/o diferenciación. Alternativamente, todas las células de un esbozo pueden dividirse intercaladamente (diamorfosis) entre bordes completando un territorio. Ambos modos de proliferación pueden tener lugar en cualquier metazoo y en el desarrollo del mismo animal. Estos modos de proliferación de-

rivan posiblemente de un mecanismo común a plantas y animales (separados más de 600 M.a.). En ellos, las células hijas computan cantidades de señales mitogénicas que inducen división celular. Fallos en esta computación (por ejemplo por escasez local de señales de factores de crecimiento) pueden conducir a mortalidad celular (apoptosis), proceso que depende de genes que también están conservados desde los ancestros de insectos y vertebrados. La división celular cesa cuando aparecen los procesos de diferenciación celular terminal. La proliferación y diferenciación celulares son normalmente operaciones complementarias, en muchos casos controladas por estados de fosforilación de proteínas codificadas por genes como *c-Myc*, *fos* y *jun* que aparecen también conservados desde células eucarióticas primigenias.

La orientación del huso acromático en mitosis tiene consecuencias anatómicas. Esta orientación del huso (tubulinas) depende, a su vez, de anisometrías del citoesqueleto (microtúbulos, actina, miosina) y éstas a su vez, de la recepción localizada de señales intercelulares, como ocurre en la división de las células eucarióticas, desde las levaduras. Las células epidérmicas de metazoos muestran diferencias en, al menos, tres ejes celulares: uno apico-basal histológicamente discernible desde esponjas, y otros dos anterior-posterior y medio-lateral, que son inferibles, por ejemplo, en experimentos de disociación/ reagregación celular en *Drosophila*. Las células de los metazoos, aún los más primitivos, requieren las dos últimas especificaciones axiales porque son necesarias para definir correctamente el tamaño y la forma de los órganos, como veremos después. Las anisometrías axiales en la membrana celular resultan, posiblemente, de la localización de moléculas adhesivas o receptores, moléculas que están conservadas desde los ancestros comunes a insectos y vertebrados. De hecho, las mismas moléculas, o moléculas relacionadas, pueden haber operado ya en las invaginaciones o delaminaciones (en gastrulación, formación de neuronas y guía de axones) porque familias de genes CAM y SAM, de adhesión celular, aparecen en todos los metazoos triploblásticos (y posiblemente en diploblásticos). Comportamientos celulares más complejos, como migración celular e inhibición lateral, inducción planar y vertical, característicos de muchos procesos en metazoos triploblásticos, están basados en reconocimiento celular o señalización celular, y a su vez en interacciones ligando/ receptor que hacen uso también de genes conservados.

Así, el mecanismo de inhibición lateral que juega un papel crítico en singularizar células de una capa continua de precursores (por ejemplo en la formación de células neurales en el neuroectodermo y musculares en el mesodermo) está implementado por los genes de la ruta de señalización de N (*Drosophila*) y sus homólogos, desde nemátodos a vertebrados (Maine *et al.*, 1995, Simpson, 1998). Igualmente conservados están los «cassettes» de transducción de señales (cascadas de fosforilación en señalización intercelular) del tipo EGF, MAPK, PI3 y WNT y otros. Incluso genes involucrados en los procesos fisiológicos que controlan los ritmos circadianos identificados en organismos tan dispares como *Drosophila* y ratón (como el gen *per*) están altamente conservados (Plautz *et al.*, 1997)

Todos los animales triploblásticos presentan una gran diversidad en tipos de diferenciación celular. Los histotipos en células terminalmente diferenciadas caen en clases tales como epitelios (incluyendo ductos y glándulas) mesenquimas (músculos, nefridios, condrocitos) y células nerviosas. Estos diferentes histotipos surgen como derivados de las tres capas blastodérmicas de los triploblastos (aunque pobremente relacionados a linajes celulares embrionarios), y su diferenciación específica resulta de interacciones celulares locales que movilizan grupos particulares de genes característicos de los histotipos correspondientes. En animales diploblásticos las células discretas pueden tener histotipos qui-

méricos, como del mesectodermo epitelial y muscular y neuroectodermo epitelial y nervioso, que aparecen separados en tipos celulares distintos, en animales triploblásticos. Apunta a la antigüedad del proceso de diferenciación histotípica, el hecho que los conjuntos de proteínas específicos de tipo celular están controlados por genes reguladores transcripcionales conservados. Así, el gen de *Drosophila sna* que reprime el camino neuroectodérmico e inicia el mesodérmico es homólogo al gen *sna* de mamíferos (Nieto *et al.*, 1992). Los genes de *Drosophila ac-sc* (AS-C) y *emc* involucrados en la especificación de células preneurales a partir del ectodermo (neuroectodermo) tienen homólogos en vertebrados (MASH e ID respectivamente), en nemátodos (HES) (Zhao y Emmons, 1995) y aún en diploblastos, como hidra (Cnidarios) (Grens *et al.*, 1995). Estos genes codifican proteínas con dominios HLH, muy relacionadas con otras proteínas implicadas en la determinación celular de la diferenciación de músculo (familia de genes *MyoD*) (Cabrera *et al.*, 1987, Skeath y Carroll, 1994). Las células con un destino nervioso divergen en dos linajes; neurona o célula glia, bajo el control del gen *gcm* que está conservado en ratones y humano (Akiyama *et al.*, 1996). Estos genes «maestros» o selectores de tipos celulares, determinan propiedades de comportamiento celular (como *sna* en delaminación celular, migración y reconocimiento celular durante la gastrulación) con genes asociados en las mismas operaciones de desarrollo, que también están conservados (Abmayr *et al.*, 1995).

Esta conservación de genes histotípicos se extiende a genes involucrados en la especificación de territorios con identidad de órganos (Manak y Scott, 1994). Así, el tubo sanguíneo contractil de insectos nematodos y el corazón de vertebrados están determinados por genes maestros homólogos; *tin* en *Drosophila* (CEH-22 en *Caenorhabditis* y *NKX 2* en el ratón) (Park *et al.*, 1998, Haun *et al.*, 1998). Genes del metabolismo del hígado en mamíferos y en órganos análogos (cuerpos grasos) en moscas, están en ambos casos controlados por genes reguladores de transcripción homólogos (Abel *et al.*, 1992). El desarrollo del tubo digestivo, y en particular la faringe y recto, está bajo el control de otro tipo de genes asociados en *Drosophila* (*fkh*), ratón (HNF-3) y en nematodos (*pha-4*), así como sus genes reguladores (Kalb *et al.*, 1998). La iniciación de un primordio de ojo (fundamentalmente la especificación de una célula fotorreceptora y una pigmentaria asociada) que encontramos en muchos organismos triploblásticos depende de genes homólogos de *ey* de *Drosophila* o PAX-6 de ratón y de otros genes comunes (ver, Capítulo. 3C).

Genes reguladores de rutas de desarrollo, sean de identidad, de comportamiento celular o de diferenciación terminal, comparten secuencias DNA codificantes de dominios específicos de la proteína reguladora (por ejemplo HOM, ZnF, PAX, LIM, POU, y HLH). Estos genes están conservados en todos los animales (y aún en plantas) y retienen funciones similares; son proteínas que reconocen secuencias reguladoras canónicas de genes subsidiarios del sintagma. Muchos de estos genes -y sus sintagmas- actúan independientemente y pueden hacerlo simultáneamente en la misma célula dando lugar a comportamientos celulares que son combinación o sumatoria de sus señales específicas.

### **3. ITERACIÓN MODULAR DE TERRITORIOS CELULARES Y TIPOS CELULARES**

#### **A. Ejes embrionarios**

Las divisiones del huevo, como regla, dan lugar a blastómeros que tienen una relación topológica precisa con partes y ejes del futuro embrión. Las primeras divisiones zi-



góticas pueden ser radiales o espirales; caracteres en parte asociados a Deuterostomia y Protostomia, los dos superfilums entre los triploblastos (o Bilateria). Sin embargo, estos modos de división no parecen tener consecuencias morfogénicas determinantes, porque ambas modalidades pueden dar lugar, durante el desarrollo, a órganos bilateralmente simétricos o asimétricos. La determinación axial puede derivar tanto de una distribución anisotrópica de algunos productos de genes maternos, como resultar de reordenamientos de componentes citoplásmicos después de la fertilización, o de la fijación del huevo a una superficie. No podemos inferir cuáles eran los mecanismos de determinación axial en los metazoos del Cámbrico porque estos mecanismos cambian fácilmente en formas derivadas. Por lo general, las anisotropías del huevo conducen a la definición de un eje que es pronto seguido de la definición de otro, ortogonal a él, generando los planos anterior-posterior (AP) y dorso-ventral (DV) (cualquiera puede aparecer primero) de simetría. En los bilateria la intersección de los ejes AP y DV define el plano dorsoventral y de aquí los lados, derecha e izquierda, del animal.

En todos los organismos bilaterales triploblásticos, Deuterostomia o Protostomia, el eje AP se establece por un grupo de genes conservados que definen de la misma manera secuencial las regiones cefálica, troncal y caudal (ver más abajo). Durante la gastrulación (por invaginación o delaminación) el digestivo y los precursores mesodérmicos entran en la cavidad del blastocele. En Deuterostomia, una salida secundaria del endodermo da lugar a la boca presuntiva (estomodeo), y el cierre de la gástrula a presuntivos proctodeo (ano) y estodomeo en Protostomia. Derivados mesodérmicos se diferencian entre el ectodermo externo y el endodermo interno por una variedad de mecanismos, todos posiblemente resultantes de migración celular o delaminación durante la gastrulación. Algo similar ocurre en la formación del tubo neural en cordados y en artrópodos.

Anatómicamente, el sistema nervioso central deriva de territorios ectodérmicos que permanecerán mediodorsales en los Deuterostomia (cordados), o laterales y, después de una fusión ventral, medioventrales en Protostomia (anélidos y artrópodos). El origen de la aorta es siempre mesodérmico pero cambia a posiciones medioventrales en cordados y a mediodorsales en protostomia. Las posiciones anatómicas del sistema nervioso, aorta y digestivo están así invertidos con respecto al eje dorsoventral entre Deuterostomia y Protostomia. Sorprendentemente, los genes que especifican, a través de un antagonismo recíproco, territorios dorsales y ventrales en el blastodermo (dorsal: *dpp* y *chd* ; ventral: *sog* y *Bmp.4* en moscas y ratón respectivamente) están conservados desde ancestros comunes. Es así interesante que las homologías moleculares son las recíprocas a sus patrones de expresión, *dpp* es homólogo a *Bmp.4* y *sog* a *chd*. Este descubrimiento apunta a la existencia de un «Urbilateria» primitivo, anterior a una inversión secundaria dorsoventral (De Robertis y Sasai, 1996). En ancestros triploblásticos las mismas operaciones de desarrollo, invaginación y delaminación, dieron lugar a las dos entradas de gastrulación (Deuterostomia vs. Protostomia), llevando a las posiciones anatómicamente distintas de boca y ano, del sistema nervioso central y la aorta (Arendt y Nübler-Jung, 1997, Nielsen, 1999) Estas diferencias se amplificaron por evolución subsiguiente para definir los caracteres sinapomórficos de ambos taxones. Recientemente se ha visto por datos de filogenia molecular que el grupo actual de los Acelos, antes incluido entre los plathelminths, es un taxón distinto, en la base de los Bilateria y así podría corresponder a representantes de los triploblastos primitivos (Ruiz-Trillo *et al*, 1999). Sería interesante estudiar la genética del desarrollo de estos organismos para entender los procesos morfogénicos incipientes que sugieren las homologías observables en sus descendientes.

La gastrulación resulta de diferencias graduales a lo largo de ambos ejes del cuerpo AP y DV. El eje A/P se construye en algunos Protostomia y algunos Deuterostomia (cordados) mediante reiteración de territorios. Esta iteración da lugar al metamerismo de los segmentos para todos los derivados de las capas blastodérmicas (incluyendo parcialmente el digestivo). El eje D/V, por otro lado, se subdivide en franjas (ectodermo, neuroectodermo, mesodermo) y más tarde en histotipos y órganos en la misma seriación topográfica en todos los metámeros. Así, estas relaciones anatómicas y órganos distintos entre taxa son generativamente homólogas, aunque aparentemente sólo análogos por su topología (ver más adelante).

Las dos salidas del digestivo, estomodeo y proctodeo, delimitan regiones pregnatales (cefálicas), mediales (tronco) y postanales. Como regla, la segmentación afecta a los derivados de sólo dos capas blastodérmicas (ectodermo y mesodermo, pero no endodermo) en histotipos de epidermis, neurómeros, músculos, nefridios y mesénquima. Ni el mesodermo ni el ectodermo dan lugar a histotipos exclusivos; cada capa blastodérmica puede tener derivados con características que corresponden a tipos celulares típicos de mesodermo o ectodermo. Así pues, los histotipos no resultan de dicotomías de linajes celulares exclusivos. Aperturas nefríticas y gonadales ectodérmicas pueden aparecer en segmentos del cuerpo variables, repetidos o únicos. Igualmente ocurre con apéndices y branquias, que también son derivados ectodérmicos. Escamas, espinas y órganos sensoriales son también especializaciones epidérmicas que pueden aparecer o no iteradas en todos los metámeros, aunque en diferentes patrones en cada uno.

## **B. Segmentos y metámeros**

Como ya se ha visto anteriormente, en muchos taxones de los Bilateria el eje antero-posterior del cuerpo está subdividido en unidades iterativas, metámeros o segmentos. Los segmentos de anélidos, artrópodos y cordados no son estrictamente homólogos, desde un punto de vista anatómico, sin embargo la especificación de estas unidades iteradas a lo largo del eje céfalo-caudal depende de genes homólogos ya presentes en los Bilateria primitivos.

Es común a anélidos, artrópodos y cordados que la expansión de la parte media del cuerpo ocurra por anamorfosis: gemación o condensación secuencial de los segmentos en sentido caudal desde la región bucal hasta el ano; los segmentos cefálicos aparecen en la secuencia y el sentido opuesto hasta el acrón. Los segmentos postanales caudalmente hasta el telson. En organismos con un número constante de segmentos, algunos anélidos (ver después en la sanguijuela) y artrópodos, estos se intercalan en secuencia temporal desde la región oral al telson. En vertebrados, los somites resultan de migración celular y condensación local de regiones del blastodermo incluyendo los somites caudales.

Un avance mayor en la genética del desarrollo comparada es la constatación de que son los mismos grupos de genes los que especifican las regiones segmentadas en todos los Bilateria (Carroll, 1995, Averof, 1997, Finnerty y Martíndale, 1998). Así, genes reguladores de transcripción de la llamada familia llamada HOX especifican distintamente regiones de cabeza, tronco (y abdomen) y caudal. Sorprendentemente, ya en cnidaria (Diploblastos) hay 2/3 genes de esta familia expresándose distintamente en cabeza y pie. En Bilateria primitivos y en ambos Proto- y Deuterostomia aparecen ya 6-8 genes HOX. Estos han derivado por duplicación génica de 3 primitivos y se denominan «parálogos». Los genes parálogos aparecen asociados en un grupo contiguo en el cromosoma, en todos los

Bilateria. Igualmente se conserva la colinearidad entre el orden de los genes parálogos en el grupo y su patrón de expresión a lo largo del eje rostro caudal del cuerpo. El número de genes parálogos HOX varía entre taxa, por duplicaciones de algunos de sus miembros. Así, en *Drosophila* (insectos) hay 8 genes parálogos y 12 en céfalocordados (anfioxo). Pero este grupo parálogo entero se duplica, por dos pasos de ploidía en cordados, (después del anfioxo y antes de peces mandibulados) para dar cuatro grupos parálogos (ABC y D en ratón) cada uno en un cromosoma (esta poliploidía afecta naturalmente, también a otros muchos genes del genoma). Su derivación por ploidía y su orden en el cromosoma permite reconocer ortólogos. Más difícil, es reconocer ortólogos entre vertebrados y artrópodos, por su diversificación desde el Precámbrico. Sin embargo, la posición en el grupo y su patrón axial de expresión se conservan. Los genes ortólogos se expresan en todos los derivados de las hojas blastodérmicas en artrópodos, sólo en el sistema nervioso central en anfioxos, pero en SNC y mesodermo (somitos, vértebras y músculos) en vertebrados (Holland y García Fernández, 1996). Mutaciones que causan falta de función en estos genes dan lugar a transformaciones homeóticas hacia segmentos más anteriores (en insectos y ratones) y condiciones genéticas de ganancia de función las transformaciones recíprocas, hacia segmentos posteriores (en insectos, la falta total del grupo causa transformaciones a apéndices antenales en todas las patas del cuerpo). Estas transformaciones sistémicas ocurren en los órganos y ciertos histotipos del segmento (epidermis en *Drosophila*, vértebras y nervios en ratón). Cambios homeóticos ocurren aún en mosaicos genéticos de pocas células en *Drosophila* (Morata y García Bellido, 1976), esto es, sus genes definen la identidad segmental en todas y cada una de las células.

Los genes HOX son miembros de un sintagma canónico donde ellos son los «selectores» que controlan la expresión de otros genes subsidiarios, «realizadores» o genes diana, por el reconocimiento entre el dominio HOM de la proteína reguladora y las regiones promotoras de estos genes. Los genes selectores, a su vez, tienen su expresión espacial restringida por ser *cis*-regulados por genes «activadores» (García Bellido 1995). Estas relaciones jerárquicas definen un sintagma que opera transformando información posicional en el embrión (señales de activadores) en morfogénesis específicas (realizadores). Las limitaciones del reconocimiento molecular explican que miembros de estos sintagmas estén también conservados. Así, moscas mutantes para genes HOX transformadas (transgónicas) con DNA de zonas codificantes de genes HOX ortólogos de ratón tienen corregidos sus fenotipos mutantes. Más aún, zonas *cis*-reguladoras de genes HOX de ratón son reconocidas por productos de los mismos genes activadores de la mosca (Mallicki *et al.*, 1992). Como veremos más adelante, no solo genes selectores de segmentación sino en un número creciente de casos, sintagmas casi completos, están conservados en evolución (Botas, 1993, Biggin and McGinnis, 1997, Graba *et al* 1997).

Esta extraordinaria conservación de genes y sintagmas en la organización axial de los Bilateria lleva a preguntarse cuál fue la función primordial de estos genes. El hecho de que estén conservados desde el origen de metazoos, Triploblastos (y aún Diploblastos) parece indicar que estarían relacionados con la generación de diferencias (identidad) a lo largo de un eje del embrión, convirtiendo homogeneidad en heterogeneidad y, en el caso de segmentos, homonomía en heteronomía. Los cambios en regiones *cis*-reguladoras de selectores y realizadores, así como una paulatina diversificación génica (por duplicación, o ploidía), han permitido un aumento de diversidad de morfologías a lo largo del cuerpo. Estas van desde segmentos a tipos de apéndices y a patrones de diferenciación celular en posiciones típicas. La función de estos genes es crear alternativas a arquetipos iterativos homonómicos (Kenyon, 1994, Akam, 1995, Burke *et al*, 1995, Gellon y McGuinness, 1998).

Iteración y heteronomía abren muchas preguntas: ¿cómo se generan los metámeros?; si su número es constante ¿cómo se computa?, ¿cómo se especifican las diferencias en posiciones anatómicas fijas?, ¿cómo las unidades de iteraciones alcanzan los diversos tamaños y formas características?. Estas son preguntas clásicas de la morfogénesis que todavía no podemos responder en detalle, mecanísticamente. Sin embargo, el estudio de linajes celulares y de genes reguladores apuntan algunas explicaciones parciales. El mecanismo de especificación a lo largo del eje céfalo-caudal es inseparable de las diferencias iterativas de histotipos a lo largo del eje D/V. Diferencias en los dos ejes en cada metámero crean los patrones de diferenciación celular característicos. Estas diferenciaciones aparecen ya en fósiles, con exoesqueleto mineralizado o de cuerpo blando, de anélidos y artrópodos del Cámbrico. Estos fósiles muestran apéndices, espículas y quetas sensoriales diferentes entre regiones dorsales, media y ventrales y entre segmentos bucales (gnatales) de tronco y caudales, indistinguibles de los de sus descendientes actuales. Pero ¿cómo se generaban sus patrones morfológicos?.

Veamos a manera de ejemplo como tiene lugar la segmentación en la sanguijuela, un hirudíneo posible representante de anélidos primitivos, (aunque pueda tener caracteres derivados) (Weisblat *et al*, 1984). El análisis de linajes celulares que dan sus metámeros muestra los dos tipos de proliferación mencionados arriba. Los segmentos cefálicos o pregnatales se originan a partir de micromeros de las primeras divisiones del huevo mientras que los segmentos del tronco se generan por anamorfismo. Cinco grandes blastómeros, los teloblastos, bilateralmente simétricos son células troncales que dan lugar a otras tantas cintas de células denominadas de dorsal a ventral M, N, O, P, Q. Las divisiones cambiales de los teloblastos tienen lugar con un ritmo (longitud de onda temporal) distinto (1 o 1/2) y característico entre teloblastos, de tal manera que las 5-10 hijas resultantes (llamadas células blasto-primitivas) están pues en registro en cada metámero temprano. Los teloblastos dan lugar a precursores de ectodermo, neuroectodermo y mesodermo (el digestivo proviene de un teloblasto distinto) en una seriación dorsoventral como en artrópodos. Las células blasto-primitivas proliferan ahora por diamorfosis en la expansión de cada metámero (segmento) con diferenciación de células en epidérmicas, sensoras, neuronas motoras, nefridios y músculos, en diferentes linajes y posiciones fijas en cada segmento. Hay cierta heteronomía de segmentos en regiones anales y de salida de gónadas, también en posición fija con respecto a la secuencia de segmentos.

El orden de aparición de identidades segmentales es de anterior a posterior, así los teloblastos funcionan como extremo caudal intercalando por gemación segmentos más y más posteriores. Los segmentos anteriores están fusionados con los segmentos cefálicos manteniendo la continuidad anatómica de la sanguijuela. El número final de segmentos que es constante (32), y su manera de generarse, sugieren un mecanismo autónomo de pulsos en los teloblastos dando múltiplos de periodicidad 8, 4 y 2, quizá relacionados con la heteronomía de segmentos. El desarrollo de cada teloblasto en experimentos de ablación, es autónomo o independiente, esto es, no hay regulación por comunicación colateral entre linajes de teloblastos. Podemos pensar que la sanguijuela representa una condición primitiva.

De forma similar, anamerismo y expansión subsiguiente de segmentos operan similarmente en el desarrollo de artrópodos (Averof y Akam, 1995). En estos filums el desarrollo es también por anamerismo, por gemación, aquí no de teloblastos, sino de segmentos enteros por asociación en paralelo de muchas células precursoras de los histotipos antes mencionados. En artrópodos y entre ellos en insectos primitivos, el anamerismo resulta de intercalación entre un telson terminal y la zona cefálica por singularización visi-

ble de segmentos en secuencia anterior a posterior. En *Drosophila*, un insecto avanzado, los segmentos aparecen demarcados ya en el blastodermo (después de la celularización de un huevo sincitial) y surgen todos a la vez. La periodicidad de segmentos resulta, en este caso, como de puesta en registro de señales topográficas del huevo de varias «longitudes de onda». El huevo recibe productos génicos maternos (mRNA de *bcd* y *nos*) que definen dos gradientes (desde el polo anterior al posterior) que se cruzan y neutralizan en la región central del huevo. Diferentes concentraciones de proteínas de estos genes activan una serie de genes «gap» (reguladores-transcripcionales con dominios ZnF) que definen cuatro regiones centrales, una terminal anterior y otra posterior. Interacciones entre estos genes crean bordes de expresión sobre los que se expresan genes en espacios más cortos (menor longitud de onda), los genes de la clase «pair rule» que a su vez definen, en la región (torácica y abdominal), territorios aún más cortos correspondientes a dos segmentos definitivos (Nüsslein-Volhardt y Wieschaus, 1980). Sus patrones de expresión definen, de nuevo, los bordes de expresión de genes «segment polarity» (genes HOX y otros) y con ello la periodicidad de segmentos y hemisegmentos («compartimentos») A y P. Así, los límites de expresión de genes de la clase «gap», «pair rule» y «segment polarity» definen los límites de expresión de los genes selectores, los genes HOX, (esto es operan como los activadores de los sintagmas) correspondientes.

Es interesante constatar aquí que las regiones y/o segmentos cefálicos, más anteriores y los más posteriores del cuerpo están especificados por otros genes con dominio HOM que forman un grupo Para-HOX muy relacionados filogenéticamente con los HOX. Estos genes están también conservados en anélidos, artrópodos y cordados, son homólogos de *bms*, *otd* (anteriores) y *cad* (posteriores) de *Drosophila* (Bruce *et al*, 1998; Brooke *et al*, 1998, Finkelstein y Boncinelli, 1994). Los segmentos en artrópodos están a su vez subdivididos en dos compartimentos anterior (A) y posterior (P), especificados por la expresión en P del gen *en* (un gen con el dominio HOMO de la familia HOX). En la sanguijuela el gen homólogo (*ht-en*) se expresa metaméricamente, en derivados del teloblasto N que darán neuronas. Igualmente EN aunque en peces, aves y ratón se expresa en células nerviosas (Ekker, 1997) en el anfioxo se expresa en la parte posterior de los primeros somites (Holland *et al*, 1997). Más aún, el gen «pair rule» *h* de *Drosophila* y su homólogo *hev.1* del pez zebra se expresa en segmentos o somites alternos. Así pues, la segmentación puede haber surgido en ancestros de Bilateria (De Robertis, 1997).

### C. Apéndices y órganos

La homología de genes y sus sintagmas entre artrópodos y vertebrados en segmentación se extiende a la especificación de apéndices, aunque tampoco son considerados como órganos homólogos entre ambos grupos.

Variaciones en el número, tipo y forma de los apéndices caracterizan la gran diversidad de grupos de artrópodos y vertebrados. Los apéndices, derivados del ectodermo ventral en artrópodos, incluyen antenas, aparatos bucales, branquias, patas de diferentes tipos para andar y para la deposición de huevos, placas anales y extracrecimientos asociados al vuelo (alas de insectos). En vertebrados, los apéndices derivan del crecimiento de la epidermis y del mesodermo, en aletas de peces y en patas en tetrápodos. Los apéndices pueden estar no segmentados como en primitivos lobopodos y onicoforos, ser pies ambulacrales en equinodermos y branquias en branquiopodos. Como regla general, los apéndices retienen las simetrías de los ejes AP y DV del cuerpo del que emergen, creando un nue-

vo eje, el próximo-distal (Pr-Ds). De manera parecida a la segmentación que ocurre en sentido céfalo caudal, pero como resultado de intercalación entre unas zonas de crecimiento y un término, los apéndices crecen aparentemente desde la base pero resultan de intercalación entre el extremo distal y la base. Los apéndices de vertebrados y artrópodos no son estrictamente órganos homólogos pero veremos que, en su morfogénesis, hacen uso de genes y sintagmas conservados. (Ghysen *et al*, 1987, Carroll, 1995).

En los insectos, los apéndices se forman por proliferación en la dirección ortogonal al cuerpo de células de las regiones A y P (compartimentos separados por una restricción clonal) del ectodermo embrionario (Cohen, 1993). De un esbozo ventral, que dará lugar a las patas, migra dorsalmente un esbozo que dará las alas. En ambos esbozos las poblaciones de células (compartimentos) A y P crecen estimulados por señales de productos génicos (ligandos y receptores) que surgen del borde A/P, a consecuencia de la expresión del gen selector *en* en células del compartimento posterior. Con el crecimiento del ala, una nueva subdivisión compartimental separa una población dorsal de una ventral, la primera asociada a la expresión del gen selector *ap* (miembro de la familia de genes reguladores con dominios LIM). En este borde D/V hay igualmente un intercambio de señales de ligandos y receptores que estimula la proliferación celular, hecho que ocurre perpendicularmente al eje DV. Los ligandos y receptores del sintagma *en* en el borde A/P son *hh*, *dpp* y otros; los del sintagma *ap* en el borde D/V son *wg*, *Ser* y *N* y *fr* (que codifica para una proteína secretable). La falta de función de *en* causa una transformación del compartimento posterior en anterior. Similarmente, la falta de *ap* causa la ventralización del compartimento dorsal (y con ello la falta de borde para crecer). La intersección de los bordes D/V y A/P define el extremo del apéndice, la referencia desde la cual sus células proliferan por diamorfosis, intercaladamente. En las patas, a lo largo del eje Pr-Ds, se expresa el gen *Dll* (un regulador transcripcional) movilizado por la expresión de *wg* y *dpp*. *Dll* estimula crecimiento próximo distal (en su falta no hay distalización al apéndice) contrarrestando la función de otro gen, *exd*, que define regiones basales de apéndices. Es interesante que *Dll* se expresa en todos los esbozos de patas en insectos y en branquias y patas en crustáceos. *ap* también se expresa en los lóbulos proximales dorsales de las patas birramias de crustáceos y en las branquias, lóbulos dorsales en la base de las patas de insectos primitivos de donde se derivaron las alas en insectos pterigota (Shubin *et al*, 1997) En artrópodos, como los trilobites del Cámbrico, las diferentes partes del cuerpo (tagmas) poseían ya diferentes tipos de apéndices, posiblemente especificados, como hoy día, por la expresión de diferentes parálogos HOX.

En la formación de las patas de los tetrápodos aparecen elementos genéticos de los mismos sintagmas que en los artrópodos. Las patas en vertebrados surgen de esbozos de mesodermo y ectodermo en posiciones variables a lo largo del eje céfalo-caudal, pero ambas bajo la especificación de los mismos genes HOX 9-13 que definirán más tarde las condensaciones óseas de los segmentos: stilopodio (basal), zeugopodio (medio) y autopodio (dígitos) del miembro quiridio. En el esbozo embrionario de las patas intervienen los genes *Shh* (homólogo de *hh*) y *BMP2* (homólogo de *dpp*) en células posteriores (ZPA). Por otro lado en la cresta ectodérmica apical (AER) del borde DV, se moviliza la expresión del gen *Limx* (homólogo de *ap*) en las células dorsales, lo que inicia la cascada de ligandos/receptores, entre ellos *Wnt-7* (homólogo de *wg*), *Ser-2* (homólogo de *Ser*) y *Radical-fringe* (homólogo de *fr*). En el eje PrDs, el homólogo de ratón del gen *Dll* (*dlx*) aparece en el comienzo de la formación del esbozo de patas impidiendo la función del gen *Pbx* (homólogo de *exd* en *Drosophila*) y generando así una distinción entre regiones proximales y distales del esbozo (González- Crespo *et al*, 1998). (Kengaku *et al*, 1998)

Las patas delanteras y traseras de tetrápodos son posiblemente derivados de las aletas anales de los peces ya que ambas expresan de la misma manera genes HOX caudales ( los parálogos del grupo CD, 9-13) (Tabin y Laufer, 1993). Sin embargo, las aletas caudales o pectorales de por ej. el pez zebra no expresan genes HOX. Así las patas de tetrápodos resultaron (en el Devónico inferior) del reclutamiento de parálogos del grupo D terminal de los HOX . Ambos pares de patas tienen la misma base morfogénica en los más finos detalles (los dígitos expresan sólo D10-13) y son por lo tanto derivados homólogos (Zakany *et al*, 1997). Sin embargo, la relación topológica de las patas con el nivel del eje axial varía entre taxones: los somites, vértebras y nervios con los que están conectadas corresponden a niveles de expresión de parálogos HOX diferentes y más anteriores. Esta independencia de las patas del nivel HOX axial ha permitido grandes variaciones en el número de las vértebras que median entre la base de la conexión muscular y nerviosa de las patas. Naturalmente, la expresión de los genes HOX d 9-13 se mantiene en las patas anteriores modificadas en ala en aves y con toda seguridad en las de quirópteros.

Contrariamente a los apéndices flotantes de vertebrados, los de artrópodos derivan sólo de la epidermis y están asignados a segmentos axiales constantes especificados por diferentes parálogos HOX. Sin embargo, estos mismos genes HOX determinan también el tipo de apéndice, maxilar, maxilopodial, patas torácicas y abdominales, al desplazarse su nivel de expresión en el eje céfalo-caudal con el tipo de apéndice. Más aún, genes HOX pueden expresarse en diferentes regiones del mismo apéndice, y aún en diferentes mudas larvarias, correlacionado con la morfología del apéndice. Así, el gen *Ubx* (HOX) que en Diptera determina la reducción de las alas metatorácicas a halterios se expresa también en las alas metatorácicas de insectos que son de apariencia iguales a las mesotorácicas en Odonatos y sólo ligeramente distintas en Lepidópteros. Más aún, en las alas de mariposas el gen HOX, *Ubx*, puede dejar de expresarse en ciertos lugares para que surjan elementos de patrón de pigmentación (por ejemplo «ojos») que están controlados por genes normalmente reprimidos por *Ubx* (Carroll 1998).

Estos casos de heterotopía en vertebrados y en artrópodos en la expresión de genes HOX reflejan una versatilidad evolutiva en: 1, la activación posicional de los selectores a lo largo del cuerpo y 2, los genes realizadores que están operativamente debajo de ellos. Estos cambios van asociados a variaciones en las regiones *cis*-reguladoras de genes selectores y en las de realizadores de un sintagma más o menos invariante, desde ancestros muy alejados. Así, la homología generativa de los apéndices de vertebrados y de artrópodos, que es difícilmente explicable como un fenómeno de convergencia adaptativa, probablemente indica que los apéndices resultan de operaciones morfogénicas conservadas de los ancestros de Deuterostomia y Protostomia, quizás relacionadas con la creación de un nuevo eje Pr-Ds perpendicular al cuerpo. De hecho estos apéndices incipientes están representados en los abultamientos con setas («parapodia») de los anélidos reptantes o perforantes del cieno que han dejado las huellas fósiles en la base del Cámbrico.

Entre los órganos, el ojo o en una forma más básica, un fotoreceptor y una célula nerviosa está presente en animales de todos los filums. Los ojos son tan distintos anatómicamente que son considerados órganos análogos, esto es resultado de convergencia evolutiva, no derivados de un ancestro común. Sin embargo, estudios recientes en organismos tan dispares como los de vertebrados, equinodermos, insectos, nematodos, moluscos y aún protozoos están mostrando que en su construcción intervienen genes comunes. En humanos, la mutación *Aniridia* y en ratón *small eye* en el gen PAX-6 afecta al desarrollo de la retina, la lente y la cornea. Este gen es homólogo, en el 90% de los aminoácidos del do-

minio PRD, al gen *ey* de *Drosophila* que se expresa en los primordios ópticos (aunque ambos genes se expresan también en otros esbozos embrionarios). Más aún, el gen PAX-6 transferido a *Drosophila* («transgénicos») salva el fenotipo mutante de *ey* (Halder *et al.*, 1995) y si se expresa ectópicamente causa la aparición de ojos en cualquier lugar de la epidermis (Loosli *et al.*, 1996). La homología de secuencia se extiende a los grupos animales mencionados. Pero, no sólo este gen está conservado, sino también otros de la misma cascada morfogenética que lleva desde la definición de el territorio hasta la iniciación del desarrollo del ojo son otros genes, de sintagmas distintos, los que terminan por dar la morfología especie-específica del ojo en cada tipo animal.

En esencia, el ojo es un órgano que contiene elementos ectodermicos, transmisores de la luz, y fotoreceptores nerviosos, anatómicamente combinados de manera diversa. Todos los fotoreceptores usan como moléculas excitables por la luz derivados de opsinas (rhodopsinas entre otras) que están presentes desde arqueobacterias fotosintéticas. Cabe especular que el gen *ey* originario estaba involucrado en la inducción de una célula nerviosa receptora a una epidérmica pigmentada. La subsiguiente evolución ha llevado al reclutamiento de varias unidades elementales en el ojo de vertebrados y en el compuesto de artrópodos. De hecho, la morfogénesis del ojo de insectos tiene lugar por una ola de reclutamiento de células epidérmicas, al avance de la ola de diferenciación de células fotoreceptoras, para formar las ommatidias.

#### **D. Patrones bidimensionales, tamaño y forma**

El crecimiento durante el desarrollo tiene lugar por expansión -proliferación celular- de territorios embrionarios entre bordes de expresión de genes (selectores). Como hemos visto, así ocurre en la formación de segmentos en el embrión de *Drosophila*, y se repite en la creación de nuevas subdivisiones de territorios embrionarios en apéndices (compartimentos, García Bellido *et al.*, 1973). La especificación de identidades afecta a grupos/territorios de pocas células que subsiguientemente se expanden por proliferación celular. Esta especificación de territorios viene seguida de la aparición de singularidades (diferenciación de células o grupos de ellas en determinadas posiciones), dentro de territorios aparentemente homogéneos. ¿De qué forma ocurren estos procesos, que como los fósiles indican, han debido operar ya en el Cámbrico? ¿Cómo el genoma especifica no sólo la aparición de heterogeneidad en el espacio sino las dimensiones, en número de células, asignadas a cada territorio?

La base genética de estos procesos está bien estudiada en el desarrollo del ala de *Drosophila*. Como hemos visto antes, el esbozo de ala es morfogenéticamente un derivado de la parte dorsal de un apéndice ventral; surge de una excisión y subsiguiente migración dorsal del esbozo en todas las patas en insectos primitivos. En *Drosophila*, un díptero, el esbozo contiene unas 30 células separadas en 2 compartimentos A y P, el posterior expresando el gen selector *en*. La expresión de *en* conlleva la aparición de *hh*, un ligando que activa los receptores *smo* y *ptc* de células anteriores, las cuales responden expresando *dpp*, otro ligando que difunde en ambos compartimentos A y P. La falta, por mutación, del gen *en* o *hh* causa transformaciones homeóticas en imagen especular de ala o pata posteriores en anteriores. La falta de *dpp* impide el crecimiento a ambos lados del borde AP. El borde A/P es pues un borde de expresión de genes selectores que funciona de referencia («organizador» de campos embrionarios secundarios) para el crecimiento. Es, además, un borde de simetría morfológica. Conforme el esbozo crece por prolifera-



ción celular la concentración de *dpp* disminuye con la distancia al borde A/P y esto permite la expresión de *wg* un ligando que moviliza la expresión de *ap*, otro gen selector del compartimiento dorsal. De esta expresión resulta la activación de otro gen, *fr*, que define una interfase dorsal/ventral y con ello el futuro margen del ala. En esta interfase los ligandos *Ser*, de expresión dorsal, y *Dl* en ventrales activan un receptor N y de ahí una cascada de señales de crecimiento desde el margen del ala. Mutaciones en *ap* causan transformaciones de identidad de dorsal a ventral (como gen selector) pero el ala no crece al faltar las señales de borde. El borde D/V es así otro organizador de crecimiento y otro eje de simetría morfológica. El crecimiento próximo-distal en el ala resulta de la integración de señales de las referencias de ambos bordes, pero está especificado por otros genes: entre ellos *nub* (un regulador transcripcional) que es más requerido en las células distales del ala. La insuficiente función de este gen impide el crecimiento intercalar en el eje próximo-distal, dando lugar a alas completas pero minúsculas.

El crecimiento subsiguiente del ala reduce la fracción de células con expresión de *dpp* a una franja de pocas células en el borde A/P, dejando activados en su retirada los genes *omb* y *sal* cuyos bordes de expresión están relacionados con las futuras venas. Las venas son también restricciones clonales que generan una simetría a sus lados (Gonzalez Gaitan *et al.*, 1996). Las futuras venas expresan el gen *ve* (un cofactor del receptor EgF) y las intervenas el gen *bs* (un factor de transcripción). De sus interacciones surge la limitación de las venas, en las que operan de nuevo *N* y *Dl* para definir su anchura final y un engrosamiento de la cutícula dejando un vano por el que corre hemolinfa y axones de elementos sensoriales del ala al SNC (De Celis, 1998).

El ala pues, se desarrolla creciendo entre bordes de restricción clonal, en compartimentos y regiones más y más pequeñas (sectores entre venas) usando los bordes como referencia. La proliferación de las células del ala es del tipo diamórfico, esto es intercalar, entre restricciones y en todo el ala, no solo en la proximidad de los bordes. Las anafases mitóticas están orientadas planarmente al azar, pero las células hijas se colocan entre vecinas preferentemente a lo largo del eje AP o PrDs. Así, pues, la manera de proliferar y colocarse las células hijas determina la forma del ala, sin mediar movimientos morfogénicos (Milan *et al.*, 1997). El número final de células del ala es 30.000. Diferentes condiciones mutantes, por ejemplo, alelos de *ve* o de *bs*, en mosaicos genéticos (clones de células mutantes) llevan a que las células hijas se posicionen más y más cerca del borde de restricción de venas o se alejen de él. Esto indica que las células difieren espacialmente en «valores posicionales» y al proliferar crean espacio correspondiendo a valores escalares entre máximos y mínimos, según el grado local de actividad génica. Estos valores están expresados en la superficie celular (moléculas adhesoras, receptores activados) de manera polarizada, como se observa en la reconstrucción de patrones morfológicos en disociados celulares, (García Bellido, 1996). Un modelo de la generación de espacio morfogenético (de «Entelechia»), propone que las células computan valores posicionales entre vecinas y se dividen si éstos son mayores que los propios. Los valores máximos están en los bordes. Después de dividirse, las células hijas se colocan entre vecinas de valores más similares, a lo largo de los ejes AP y PrDs (ejes X, Y de coordenadas). Una subida de valores en bordes de restricción, por señales entre células a ambos lados, desencadena así una ola de divisiones desde los bordes a regiones intermedias (crestas y valles en un paisaje de valores escalares). Las divisiones celulares cesan (y se alcanza la situación de Entelechia) cuando estos valores son máximos en los bordes y mínimas las diferencias entre células vecinas. Este modelo intenta explicar el tamaño (y forma) de órganos constante y característico de la especie (García-Bellido y García-Bellido, 1998). En lugares singula-

res de este paisaje, en máximos de expresión génica, se diferencian luego elementos de patrón, como venas y quetas.

No sabemos hasta qué punto esta lógica de construcción se puede generalizar a los apéndices de los artrópodos, porque no se han estudiado suficientemente, a nivel celular, sus procesos de proliferación. Tampoco sabemos como está genéticamente controlado el tamaño y la forma de órganos y apéndices en vertebrados. En estos organismos se conocen muchos factores de crecimiento difusibles (como *Shh* y *BMP.4* y *Wnt.2*), que podrían funcionar como morfógenos en la formación de los huesos y en la distribución de patrones constantes como los dígitos del miembro quiridio de tetrápodos. Los esbozos de estos se definen en pocas células y posiblemente entre ellas se intercambian señales escalares para definir el patrón incipiente. Sabemos que las hormonas contribuyen a la expansión o reducción de estos esbozos ya organizados, dando lugar a crecimientos alométricos y así a variaciones en tamaños finales especie específicos.

En todos los metazoa los patrones morfológicos llegan a niveles de detalle que incluyen células aisladas o pequeños grupos de células (orgánulos multicelulares) a distancias constantes dentro de un territorio homogéneo. Este es el caso de los elementos sensoriales llamados quetas en muchos artrópodos o de escamas epidérmicas (como en alas de lepidoptera) o escamas y pelos en vertebrados. En estos procesos de formación de patrones de alta resolución hay dos etapas, una que crea heterogeneidades en el territorio aparentemente homogéneo y otra que opera seleccionando una célula, entre varias, para entrar en la diferenciación terminal. Los elementos sensoriales de la epidermis de *Drosophila*, quetas y sensilas son pequeños órganos que derivan de una célula madre (CMQ) que por sucesivas divisiones celulares da dos linajes, uno un componente epidérmico quemo- o mecanosensor y otro nervioso. La especificidad de las células madres está definida por genes del complejo C-AS (con cuatro genes parálogos). Estas células se singularizan en grupos llamados «proneurales». Estos grupos a su vez aparecen en una posición definida por la expresión de genes reguladores o de bordes de expresión entre éstos (por ej. en el borde del ala). Así pues, la aparición de elementos de patrón como orgánulos sensoriales resulta de la reducción en el espacio de regiones a subregiones y finalmente a células discretas (Modolell y Campuzano, 1998).

En el último paso, el de especificación celular, intervienen también genes HOX de especificidad de segmento actuando sobre regiones *cis*- reguladoras de los genes del complejo AS. (Carroll, 1998, Weatherbee *et al*, 1998, 1999). Intercambios de señales laterales entre células del grupo proneural (con genes que codifican para el ligando *Dl* y el receptor *N*) refuerzan o extinguen la actividad de los genes C-AS por retroalimentación hasta singularizar una CMO en un lugar apropiado. En este proceso intervienen genes de la conservada cascada de transducción de *N* hasta llegar a modular la expresión del C-AS en células discretas. Las divisiones subsiguientes también requieren nuevos genes para definir más exactamente el tipo de células del orgánulo. La formación de patrones de escamas (no enervadas) en las alas de lepidópteros usa también homólogos de AS (ASH) en las divisiones terminales (Galant *et al* 1998).

Como indicado arriba, las venas conforman un patrón epidérmico lineal, aparecen sobre restricciones clonales, asociadas a bordes de expresión de genes territoriales y que se resuelven por mecanismos de inhibición o señalización lateral haciendo uso de genes como *N*, *Ser* y *Dl* comunes la ruta de señalización *N*. El propio *N* y los genes de su casette se usan en muchos procesos del desarrollo, tales como definir tipos celulares, su-

bregiones en la singularización de neuroblastos y en la separación de territorios como los artejos de las patas y el margen del ala (Bray, 1998). Genes del sistagma N tienen homólogos en vertebrados y en todo el reino animal, donde llevan a cabo operaciones parecidas de singularización de células y de separación de territorios y tejidos (revisión en Simpson, 1998)

Hemos visto que especificaciones territoriales, de segmentos embrionarios, de articulaciones en apéndices y de patrones de diferenciación celular en territorios de pocas células se llevan a cabo por mecanismos similares. En estos, los bordes de expresión de genes permiten interacciones de sus productos génicos entre células a ambos lados, estos a su vez llevan a la ordenación espacial de diferenciaciones celulares a determinadas distancias y con señales intercelulares de naturaleza escalar. Estas especificaciones territoriales resultan normalmente de la coordinación de células de diferentes orígenes clonales (patrones policlonales) (por ej. en insectos) o de la expansión clonal de una sola célula (monoclonales) (por ej. en nemátodos).

En *Drosophila* los procesos de regeneración en apéndices parecen seguir las mismas reglas del desarrollo normal, usando bordes de expresión génica como referencia para crecimiento intercalar (diamorfosis) hasta llegar a condiciones de Entelechia. Si ocurre de igual manera en artrópodos y en cordados estos mecanismos de control de crecimiento para alcanzar tamaños y formas específicas tienen que haber sido operativos en los ancestros metazoos del Cámbrico. Posiblemente los grandes artrópodos de la fauna del Cámbrico (*Anomalocaris* con tamaños de 1m) han usado estas operaciones morfogenéticas en su crecimiento, comparado con miembros del grupo más pequeños.

No son sólo los apéndices (patas y branquias) de identidad segmental, sino también las neuronas (motoras y sensoras), los precursores de condrocitos y músculos y tubos nefríticos, de venas y traqueas. Así están especificados por combinaciones de genes selectores actuando en una misma célula o un mismo territorio de células. Genes selectores de territorio, como los HOX de *Drosophila* especifican también tipos celulares como quetas sensoriales directamente sobre las regiones *cis*-reguladoras de genes como se ha visto anteriormente en los del C-AS o tipo de coloración de escamas en alas de mariposa. (Weatherbee *et al*, 1999). Combinaciones de genes selectores (HOX, PAX, LIM) operan dando identidad a territorios y células en diferenciación usando diferentes «enhancers» a diferentes combinaciones de genes realizadores (Castelli-Gair *et al*, 1992, Botas, 1993, Pradel y White, 1998).

La actividad combinatoria en la misma célula de genes correspondientes a especificaciones tan diversas como segmento, territorio, órganos, orgánulos multicelulares y células plantea el problema de sus relaciones evolutivas y su ordenación jerárquica (epistática). La conservación de los genes responsables, desde los ancestros de los metazoos del Cámbrico, sugiere que estos genes han sido reclutados para coordinarse en sintagmas y operaciones de desarrollo. Así pues, la evolución de formas ha resultado de la integración de operaciones independientes en procesos morfogenéticos discretos, unitarios, como la formación de los ejes embrionarios o la especificación de tipos celulares en patrones morfológicos. La diversidad morfológica que aparece a lo largo del desarrollo individual no es el resultado de una cascada de genes actuando pronto y movilizándolo otros de actividad más tardía, sino de reclutamiento, en cualquier punto de la diversificación clonal, de genes que especifican operaciones genéticas específicas. Las mismas operaciones genéticas se reusan pleiotrópicamente en procesos superficialmente tan dispares como formación de

ejes, gastrulación, formación de apéndices y especificación de tipos celulares. La diversidad morfológica en evolución ha resultado de combinaciones de procesos, en paralelo, a todos los niveles de complejidad orgánica.

#### **4. Las bases genéticas de la variación evolutiva**

La constatación de la conservación de los genes y de sus interacciones específicas mantenidas por las limitaciones de reconocimiento molecular ha abierto el camino para la comprensión de los mecanismos evolutivos. No sólo los genes, sino la lógica genética de sus interacciones y su versatilidad, han tenido que estar también conservados desde los metazoos más primitivos. La búsqueda de una lógica del desarrollo requiere comparaciones entre organismos actuales y fósiles. Pero para ser biológicamente significativa, la comparación ha de hacerse no en términos de anatomías sino en términos de operaciones genéticas, que dan a la morfogénesis una perspectiva ortogonal a la anatómica. Para evaluar el rango de variación evolutiva de los fenotipos adultos se requiere una estimación de los grados de libertad que tienen las operaciones genéticas celulares para combinarse entre ellas, en la descripción interna del desarrollo y una estimación del papel de determinantes externos limitando la variación adaptativa.

La explosiva diversificación morfológica de la fauna en la base del Cámbrico ha ocurrido en animales viviendo en condiciones bióticas muy homogéneas, lo que indica que los determinantes externos han debido jugar un papel mínimo en esa disparidad (Valentine *et al*, 1999). El registro fósil de la fauna de Ediacara y del Cámbrico corresponde a animales bentónicos costeros viviendo en un océano continuo rodeando a unos continentes que empezaban a separarse de uno único (Rodinia) en latitudes ecuatoriales. Esta separación de continentes y de climas permitió la aparición de formas endémicas o provincialismos; pero la diversidad fósil de estos endemismos, sin embargo, es muy pequeña. A pesar de las limitaciones de la tafonomía puede afirmarse que en la fauna del Cámbrico los organismos triploblásticos corresponden a todos los filum actuales pero están representados en pocas clases y órdenes, muy pocas especies y éstas muy dispares en morfología. Más aún, las mismas especies o muy cercanas permanecen desde la base del Cámbrico (Chengjiang) y en el Cámbrico medio (Burgess Shale), por un periodo de unos 15 M.a., indicando una estabilidad de formas, que tuvo que ser compatible con la aparición de otras nuevas a alto ritmo (Conway Morris, 1998).

Esta gran disparidad de formas plantea el problema genético de los cambios rápidos de morfologías entre especies derivadas. La estabilidad de estas formas plantea a su vez el problema de su adaptación en contraposición a las proposiciones morfogenéticas del genoma en su evolución. Estos problemas, que se visualizan hoy día al comparar las morfologías muy diferentes, por ejemplo de formas larvarias: trocófora, pluteo, nauplio, veliger y tantos otros, característicos de taxa distintos, a pesar de convivir en los mismos habitats pelágicos (Conway Morris, 1998). Los datos comparativos moleculares indican que desde el Precámbrico la variación morfológica depende poco de exigencias mecánicas y físicas y mucho de la precisión en las interacciones moleculares de operaciones genéticas de especificación.

No sabemos hasta que punto los taxones representados en los fósiles del Cámbrico temprano corresponden a faunas derivadas de la fauna Ediacara o surgen de organismos pequeños y larvas no representadas en los fósiles del Proterozoico. Las filogenias mole-

culares sugieren que los ancestros de Proto- Deuterostomia (los Urbilateria) pueden haber vivido desde 100 a 200 Ma antes del Cámbrico (Ayala *et al* , 1997; discusión de Conway Morris, 1998). Sin embargo, está claro que la diversidad creciente de los fósiles del Cámbrico corresponde a una explosión morfológica genuina dentro de un periodo de 10 a 20 Ma (fig.1) (Valentine *et al*, 1999). Estas faunas incluyen animales que pueden fácilmente reconocerse como pertenecientes a taxones mayores actuales y otros que representan transiciones entre ellos. Así, esta fauna «problemática» del Cámbrico Medio incluye los halkieriidos, posibles ancestros de anelidos poliquetos y de brachiopodos y moluscos en la base de los Protostomia (Conway Morris y Peel, 1995, ver Conway Morris 1998). Igualmente, se puede imaginar la transición de priapulidos a onicóforos y a lobopodos (*Micrordictyon*, *Hallucigenia* , el onicóforo *Aysheaia*) y a artrópodos (*Opabinia*, *Anomalocaris*, trilobites y otros). En general, los fósiles del Cámbrico representan formas palingenéticas o arquetípicas junto con formas cenogenéticas de adaptación, pero con anatomías complejas y funcionales como las de sus descendientes actuales.

Las afirmaciones precedentes llevan a preguntarse sobre las bases generativas internas de esa diversidad y de su evolución subsiguiente. La aparición de sintagmas en el desarrollo deriva de la regulación génica de los operones de bacterias. Grupos de genes cooptados para llevar a cabo operaciones genéticas específicas pueden haber sido seleccionados independientemente de sus efectos morfogenéticos en combinaciones. Así, genes involucrados en el ciclo celular, en la formación de citoesqueleto, ligandos y receptores en cassettes de transducción de señales y selectores de territorios y de histotipos han tenido que funcionar en formas primitivas anteriores a los organismos multicelulares. Es prematuro, con nuestro conocimiento actual de la filogenia de los grupos del Cámbrico, especular cómo los sintagmas se acoplaron para definir comportamiento de células en operaciones de desarrollo o cómo estas operaciones se integraron para dar las morfologías discontinuas que observamos en los fósiles. Probablemente estos procesos se consolidaron para hacer simplemente formas mecánicamente estables (por ej. con celoma o acelomados, forma sésil o móvil, y radial o bilateral) o fisiológicamente estables (por ej. por inducción asimilativa entre territorios, control de la proliferación), descartando así proposiciones no funcionales. En el medio externo el aumento de la concentración de oxígeno en disolución, y con ello la posibilidad de formación de colágeno, queratina y condroitina y biomineralización con carbonatos para formación de esqueletos, debió permitir la aparición de locomoción, activa predación y sofisticadas defensas. Así se inició una competición morfológica y de comportamiento entre organismos, elaboraciones que han continuado y diversificado desde entonces.

Dada la inercia genética, debido a las limitaciones del reconocimiento molecular, la complejidad morfológica que encontramos en estos organismos sólo puede generarse por iteración y asociación combinatorial de funciones genéticas preexistentes. En este paso debieron aparecer una gran variedad de las secuencias de DNA involucradas en la regulación *cis* de los genes, posiblemente asociados a una remodelación del genoma (conversión génica) muy alta. Así, un aumento en número de las regiones «enhancer» de genes reguladores y de sus regulados dependientes permiten variaciones combinatoriales. Por otro lado, la duplicación génica, lleva a variaciones moduladoras de miembros de las familias de genes. La regulación independiente de genes permite la expresión del mismo gen en diferentes sintagmas, de los mismos sintagmas en células distintas y con ello la diversidad combinatorial en operaciones y en procesos de desarrollo. Las mutaciones clásicas en la regiones que codifican para proteína deben haber sido de escasa relevancia inmediata para la evolución morfológica, excepto al provocar una coevolución molecular de genes interactivos, para asegurar la interacción molecular y de ahí mantener la supervi-

vencia. Variantes genéticas nuevas que resultan de cambios de secuencias reguladoras debieron y deben de estar sujetas a una selección negativa mínima, porque se mantiene la función primaria del gen que asegura una morfogénesis normal (Averof *et al*, 1996). Posiblemente éstas son las bases que dan posibilidad de reajuste a la variación mutacional, esto es «la tolerancia» evolutiva (ver Kirschner y Gerhart, 1998).

La tolerancia evolutiva es a su vez la base de la diversificación o, mejor, disparidad morfológica. Desde un punto de vista generativo la explosión de formas del Cámbrico representa una expansión en disparidad combinatorial más que un aumento en complejidad lineal (como los cambios en patrones de un caleidoscopio en rotación). Una conectividad molecular baja, entre miembros de diferentes sintagmas, permite la utilización de estos en diferentes linajes celulares, en diferentes nodos de ramificación (heterotopismos) o en tiempos de desarrollo (heterocronías). Así hemos visto miembros de la familia HOX o PAX especificando territorios embrionarios, histotipos, orgánulos y células discretas. De hecho genes HOX que parecían definir identidades de territorios en metazoos tempranos, como en cnidaria, especifican más adelante segmentos o regiones de tejidos en animales segmentados. Así, algunos miembros de la misma familia génica han cambiado completamente la especialidad de territorio como se ve en formas derivadas (nematodos y equinodermos comparados con artrópodos y vertebrados). Las mismas anatomías, las patas de diferentes tagmas del cuerpo en artrópodos y las alas en los insectos pueden estar bajo el control de diferentes genes HOX y viceversa, las mismas patas (en tetrápodos) pueden aparecer en diferentes regiones del cuerpo. Nuevos usos o funciones de genes selectores pueden mantener los mismos genes realizadores o cambiar algunos. Esto se debe posiblemente a la transposición de secuencias *cis* reguladoras de unos genes a otros, lo que da lugar a nuevas combinaciones de miembros de sintagmas que operan en células homólogas en diferentes organismos. Esta es la base, posiblemente, de la generación de segmentos distintos (heteronomía) a partir de homonomía y de diferencias morfológicas en órganos sexualmente dimórficos. La misma lógica subyacente puede explicar heteromorfismos en desarrollo directo o indirecto, con uno o varios estados larvarios entre embriones y adultos, o heterocronías en formas parasíticas y neoténicas. Estas variantes pueden resultar simplemente de pocos cambios en la regulación de un relativamente número pequeño de sintagmas.

El heteromorfismo es ya aparente en organismos del Cámbrico, por ej. en mudas de trilobites (Walossek, 1995) y posiblemente en Cnidaria entre formas polipo y medusa. Las formas sésiles (bentónicas) de equinodermos, con desarrollo directo, posiblemente preceden a las formas larvarias plantónicas con desarrollo indirecto, aunque todavía es motivo de debate (Raff, 1992, Conway Morris, 1998, Ruiz-Trillo *et al*, 1999). De hecho, genes HOX conservados se expresan poco en formas larvarias pero sí después de metamorfosis en el desarrollo de adultos (Lowe y Wray, 1997). Puede que esto también haya ocurrido en larvas y adultos de moluscos. En *Drosophila*, un insecto holometabolo, sabemos que la mayoría de los genes y sintagmas operan tanto en embriogénesis, como en periodos larvarios y en órganos imaginales.

Esta versatilidad combinatorial de sintagmas hace posible, aunque difícil, la distinción entre órganos homólogos y análogos, pero ¿a qué nivel es un órgano homólogo?, ¿lo es por su posición anatómica, por el tipo de órgano, por su patrón morfológico o por sus mecanismos generativos y la secuencia jerárquica de genes que operan en él?. Al nivel genético molecular la seriación topológica de tejidos en Proto- y Deuterostomia sugiere que estos son homólogos, y que los ojos en diferentes metazoos también lo son, aun-

que difieren en muchos detalles de su desarrollo. En la seriación de segmentación en artrópodos y vertebrados o en la formación de apéndices pueden considerarse procesos homólogos porque en ellos operan los mismos genes. Los datos moleculares han corroborado proposiciones de los anatomistas del último siglo: en la homología de las patas de los tetrápodos o los apéndices de los artrópodos. Pero ¿cuántas más homologías genéticas hay o llegaremos a encontrar?. Dada la versatilidad de las combinaciones de sintagmas en diferentes linajes celulares el término homólogo *versus* análogo en anatomía puede haber perdido su valor heurístico (ver Wray y Abouheif, 1998). Quizás el único criterio es el de la demostrable derivación de los mecanismos genéticos.

Estas incertidumbres vienen asociadas a entender cuál ha sido la función morfogenética de genes reguladores en los ancestros de los metazoos, radialia y bilateria. Que expresión morfológica tenía la heteronomía genética que precede a la morfológica, observable en organismos derivados. Si en los apéndices de tetrápodos y los de artrópodos se usan genes y aún sintagmas homólogos, ¿cuál era su expresión morfológica en los organismos precámbricos que no tenían apéndices visibles?, ¿cómo eran los órganos incipientes receptores de luz de los ojos que se generan con genes homólogos en todas las formas derivadas?, ¿han precedido los sintagmas específicos a las formas a las que dan lugar?. Si es así, ¿sobre qué formas ha operado la selección para dar lugar a la explosión evolutiva observable?

Entre las variaciones adaptativas de órganos dentro de taxones, ¿cuántas operaciones sintagmáticas se mantienen a pesar de la sustitución de parte de sus miembros?. Las sustituciones de aminoácidos uno a uno, en la evolución de enzimas modifican su secuencia lineal pero la misma enzima retiene su función, relacionada con su estructura tridimensional. Interacciones entre las regiones promotoras de los cistrones rDNA cambian entre especies en secuencia de reconocimiento y con ello las regiones de reconocimiento de los factores de transcripciones entre especies (coevolucionan) pero se mantiene la misma función, transcripción a RNA ribosomal. Así, puede no ser sorprendente que ciertos procesos se lleven a cabo por sintagmas con genes diferentes en formas relacionadas, al retenerse las mismas operaciones genéticas de desarrollo. Este proceso de «metavariación» puede dar cuenta de la retención de ciertos arquetipos (como tipos celulares, tejidos y órganos, segmentos, apéndices, miembros digitales del quírido y patrones morfológicos) por sustitución paulatina de los componentes del sintagma pero manteniendo la misma operación global. En niveles morfogenéticos complejos es dudoso que las formas se mantengan evolutivamente por el valor adaptativo del resultado final, puede que sea más bien por inercia de los mecanismos generativos. Podría ser que las limitaciones generativas de la morfogénesis determinen conservación más eficientemente que una supuesta selección adaptativa de las morfologías resultantes.

Comparativamente con las diversificaciones morfológicas más recientes en el tiempo, la rapidez y versatilidad de los cambios del Cámbrico, pueden parecer sorprendentes. Pero cambios radicales han ocurrido después de otras extinciones masivas, de manera similar, con un periodo de rápida evolución (taquitelia) seguido de una más lenta, (horotelia). Esto ha ocurrido en varios casos en las transiciones del Precámbrico al Cámbrico, del Ordovícico al Silúrico, del Pérmico al Triásico. En todos los casos asociados a una dramática reducción en el número de especies seguido de una rápida radiación morfológica (ver Erwin, 1996). Así, dentro de la clase de mamíferos, han surgido, de formas terrestres, formas marinas como las ballenas y las focas y formas voladoras, como los

murciélagos dentro de un intervalo de muy pocos millones de años. No podemos comprobar experimentalmente hipótesis que expliquen estos cambios rápidos, pero parece claro que la selección diferencial lenta al menos no da fácilmente cuenta de estas explosiones morfológicas al principio del proceso. Macromutaciones en el sentido clásico, han dejado de ser una explicación en términos morfogenéticos. Así, tenemos que contemplar la posibilidad de que la tolerancia al cambio genético, compatible con adaptabilidad especialmente en taquitelia, debe de ser mayor de lo que se viene creyendo. Los organismos parecen ser mas dependientes de un desarrollo generativamente consistente y homeostático, con suficiente descendencia fértil, que de adaptaciones de formas a exigencias externas.

## 5. CONCLUSIONES

¿Hay principios o reglas generativas invariantes en morfogénesis?. ¿Podemos encontrar en las descripciones precedentes principios invariantes, de una lógica en morfogénesis?. Las siguientes proposiciones pueden servir como una recapitulación de los dicho hasta ahora. Análogamente a la asociación de grupos de genes en sintagmas, la multicelularidad aparece asociada con territorios discontinuos de expresión génica. Posiblemente en los ancestros de metafitas y metazoos grupos de células debieron expresar diferencialmente genes selectores que daban identidad a unos territorios como distintos de otros. Estos genes selectores son coordinadores espaciales que operan, en sintagmas, definiendo combinaciones de genes realizadores que definen patrones de comportamiento celular diferentes. A pesar de la metavariación de sus componentes estos sintagmas han permanecido en los organismos, definiendo territorios, órganos y tipos celulares. Estos selectores como coordinadores espaciales, especifican territorios de diferente extensión, que se subdividen en otros con la proliferación celular, pero siempre empezando en grupos de pocas células fundadoras y asociado a expresión de nuevos genes selectores dando identidad a sus células. Así, la forma final resulta de un mosaico de territorios especificados combinatorialmente. Esto es el fundamento de la iteración de segmentos embrionarios, de segmentos en apéndices, dando lugar a organismos de más tamaño y más complejos. Los territorios están definidos por bordes, esto es, por discontinuidades en expresión génica a sus lados y por restricciones clonales en la progenie celular. No sabemos qué apareció primero, si las restricciones clonales, es decir, las limitaciones proliferativas o la especificación de ese territorio o histotipo, por genes selectores.

Los bordes territoriales de expresión de selectores se convierten en referencias para una subsiguiente diversificación y para proliferación intercalar que termina por dar formas y tamaños especie-específicos. La formación de patrones de diferenciación celular dentro de territorios es operacionalmente similar a la de aparición de territorios, dando lugar a la singularización espacial de diferenciaciones celulares específicas en grupos inicialmente homogéneos. En esta singularización celular operan heterogeneidades, en cantidad de expresión génica o diferentes concentraciones de ligandos difusibles e inhibición lateral (extinción y refuerzo) resultando en expresión génica diferencial en células discretas. Asociado a la especificación celular aparecen nuevos comportamientos celulares como migración celular, delaminación, condensación de células, cambios en modos de proliferación, reconocimiento celular y guía de axones. El reconocimiento entre células y comunicación celular aseguran un crecimiento ordenado y patrones fijos, por inducción en la misma superficie (planar o vertical) entre territorios confrontados espacialmente. En ambos casos la comunicación celular lleva a refuerzo/extinción de expresión génica de aquí



a la activación e inhibición de genes y con ello a nuevas rutas de desarrollo. En todos estos procesos morfogenéticos el control es local, entre células vecinas, en contraposición a global. Estos procesos han tenido que ser operativos, en diversa medida, ya desde meta-zoos tempranos. Los coordinadores temporales, como las hormonas, para llevar a cabo procesos fisiológicos en el organismo han tenido que aparecer también pronto en evolución para permitir heteromorfosis y fases de ciclos vitales.

Hemos visto en lo que precede que la secuencia de sucesos de desarrollo puede cambiar por activación de diferencias de regiones reguladoras de genes selectores y por su expresión sobre las de genes realizadores, en diferentes linajes o celulares y en momentos de desarrollo distintos. Pero estas no son secuencias lineales sino que ocurren combinatorialmente y en paralelo. Los diferentes niveles de complejidad morfológica (ejes, apéndices, órganos, patrones de diferenciación celular) han aparecido desde el origen y han evolucionado independientemente, también operando en paralelo durante el desarrollo.

La evolución morfológica resulta de cambios en la regulación de genes reteniendo constante la región codificante, o cambiando por mutación solo a formas compatibles con reconocimiento molecular. El reconocimiento molecular da al sistema inercia al cambio y es el que ha mantenido el edificio de la evolución morfológica. Esta inercia ha podido solaparse por ampliación y subsiguiente modulación de familias de genes. Genética y morfogenéticamente no ha debido aparecer en evolución nada nuevo, sino modificaciones, reclutamiento y combinaciones de procesos anteriores. La expansión posterior de los órganos o los procesos incipientes dan la impresión de novedad o de adaptaciones morfogenéticas más complejas. Pero si los organismos del Cámbrico habían resuelto todos los problemas morfogenéticos como los encontramos en las formas derivadas, ¿por qué cambiaron esas formas?. De hecho y para empezar, ¿por qué tuvo lugar la explosión del Cámbrico?. Si el estudio de la evolución del desarrollo es el estudio de los cambios en redes reguladoras de acción génica, la evolución morfológica resulta un problema histórico, en el que son difíciles de distinguir la contingencia de la causalidad, la mera amplificación de formas de la adaptabilidad, y la tendencia a proponer morfologías, con un rico repertorio de mecanismos, de la adaptación a un mundo estructurado externo.

## REFERENCIAS

- Abel, T., Bhatt, R., y Maniatis, T. (1992). A Drosophila CREB/ATF transcriptional activator binds to both fat-body and liver-specific regulatory elements. *Genes and Development* **6**, 466-480.
- Abmayr, S.M., Erickson, M.S. y Bour, B.A. (1995). Embryonic development of the larval body wall musculature of *Drosophila melanogaster*. *Trends Genet.* **11** No.4, 153-159.
- Abouheif, E. , Akam, M., Dickinson, W. J., Holland, P. W. H., Meyer, A., Patel, N. H., Raff, R. A., Roth, V. L., y Wray, G. A. (1997). Homology and developmental genes. *Trends Genet.* **13**, 432-433.
- Akam, M. (1995). Hox genes and the evolution of diverse body plans. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **349**, 313-319.
- Akiyama, Y., Hosoya, T., Poole, A. M. y Hotta, Y. (1996). The gcm-motif: A novel DNA-binding motif conserved in Drosophila and mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 14912-14916.
- Arendt, D. y Nübler-Jung, K. (1997). Dorsal or ventral: similarities in fate maps and gastrulation patterns in annelids, arthropods and chordates. *Mech. Dev.* **61**, 7-21.
- Averof, M. (1997). Same Hox genes, different body plans. *Curr Biol.* **7**, 634-636.
- Averof, M. y Akam, M. (1995). Insect-crustacean relationships: insights from comparative developmental and molecular studies. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **347**, 293-303.
- Averof, M., Dawes, R. y Ferrier, D. (1996). Diversification of arthropod Hox genes as a paradigm for the evolution of gene functions. *Semin. Cell. Dev.* **7**, 539-551.
- Ayala, F. J., Rzhetsky, A. y Ayala, F. J. (1997). Origin of the metazoan phyla: Molecular clocks confirm paleontological estimates. *Evolution.* **95**, 606-611.
- Biggin, M. D. y McGinnis, W. (1997). Regulation of segmentation and segmental identity by Drosophila homeoproteins: the role of DNA binding in functional activity and specificity. *Development.* **124**, 4425-4433.
- Botas, J. (1993). Control of morphogenesis and differentiation by HOM/Hox genes. *Curr. Opin. Cell.* **5**, 1015-1022.
- Bray, S. (1998). Notch signalling in Drosophila: three ways to use a pathway. *Cell and Dev. Biol.* **9**, 591-597
- Brooke, N. M., García-Fernández y Holland, P. W. H. (1998). The ParaHox gene cluster is an evolutionary sister of the Hox gene cluster. *Nature.* **392**, 920-922.
- Bruce, A. E. E. y Shankland. (1998). Expression of the head gene Lox22-Otx in the leech *Helobdella* and the origin of the bilaterian body plan. *Dev. Biol.* **201**, 101-112.
- Burke, A. C., Nelson, C. E., Morgan, B. A. y Tabin, C. (1995). Hox genes and the evolution of vertebrate axial morphology. *Development.* **121**, 333-346.
- Cabrera, C. V., Martínez-Arias, A. y Bate, M. (1987). The expression of the three members of the ache-scute gene complex chordates with neuroblast segregation in Drosophila. *Cell* **50**, 425-433.

- Carroll, S. B. (1995). Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates. *Nature*. **376**, 479-485.
- Carroll, S. B. (1998). From pattern to gene, from gene to pattern. *Int. J. Dev. Biol.* **42**, 305-309.
- Castelli-Gair, J., Müller, J. y Bienz, M. (1992). Function of an Ultrabithorax minigene in imaginal cells. *Development* **114**, 877-886.
- Cohen, S.M. (1993). Imaginal disc development of *Drosophila*. (Ed. by A. Martínez-Arias and M. Bate). Cold. Spring Harbor Press. Vol **II**, 747-842.
- Conway Morris, S. (1993). The fossil record and the early evolution of the Metazoa. *Nature* **361**, 219-225.
- Conway Morris, S. (1998). Metazoan phylogenies: falling into place or falling to pieces? A palaeontological perspective. *C. O. in Genetics & Development*. **8**, 662-667.
- Conway Morris, S. (1998). Eggs and embryos from the Cambrian. *BioEssays* **20**, 676-682.
- Conway Morris, S. (Early metazoan evolution: First steps to an integration of molecular and morphological data. Bengtson, S. (Ed.) 1994). In: *Early Life on Earth*. Nobel Symposium No. 84. Columbia University Press New York.
- Conway Morris, S. y Pell (1995). Articulated halkieriids from the Lower Cambrian of North Greenland and their role in early protostome evolution. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **347**, 305-358.
- Chothia, C. (1992). One thousand families for the molecular biologist. *Nature* **357**, 543-544.
- Darnell, J.E. y Doolittle, W.F. (1986). Speculation on the early course of evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 1271-1275.
- De Celis, J. F. (1998). Positioning and differentiation of veins in the *Drosophila* wing. *Int. J. Dev. Biol.* **42**, 335-343
- De Robertis, E. M. (1997). The ancestry of segmentation. *Nature*. **387**, 25-26
- De Robertis, E.M. y Sasai, Y. (1996). A Common Plan for dorsoventral patterning in Bilateria. *Nature* **380**, 37-40.
- Doolittle R. F. (1995). The origins and evolution of eukaryotic proteins. *Phil. Trans. Royal Soc. Series B.* **349** (1329), 235-240.
- Ekker. (1997) Coordinate embryonic expression of three zebrafish engrailed genes. *Development* **116**, 1001-1010.
- Erwin, D.H. (1991). Metazoan phylogeny and the Cambrian explosion. *Trends Ecol. Evol.* **6**, 131-134.
- Erwin, D.H. (1993). The origin of metazoan development: a palaeobiological perspective. *Biol. J. Linnean Society* **50**, 255-274.
- Erwin, D. H. (1996). The Mother of Mass Extinctions. *Scientific American*. **275**, 72-78.
- Erwin, D., Valentine, J. y Jablonski, D. (1997). The Origin of Animal Body Plans. *American Scientist*. **85**, 126-137.
- Fietz, M.J., Concordet, J-P., Barbosa, R., Johnson, R., Krauss, S., McMahon, A.P., Tabin, C. y Ingham, P.W. (1994). The hedgehog gene family in *Drosophila* and vertebrate development. *Development Supplement*, 43-51.

- Finkelstein, R. y Boncinelli, E. (1994). From fly head to mammalian forebrain: the story of *otd* and *Otx*. *Trends in Genetic* **10**, No. 9., 310-315.
- Finnerty, J. R. y Martindale, M. Q. (1998). The evolution of the Hox cluster: insights from out groups. *Curr Biol.* **8**, 681-687.
- Galant, R., Skeath, J. B., Paddock, S., Lewis, D. L. y Carroll, S. B. (1998). Expression pattern of a butterfly achaete-scute homolog reveals the homology of butterfly wing scales and insect sensory bristles. *Curr Biol.* **8**, 807-813.
- García-Bellido, A. (1966). Pattern reconstruction by dissociated Imaginal Disk cell of *Drosophila melanogaster*. *Develop. Biol.* **14**, 278-306.
- García-Bellido, A. (1975). Genetic control of wing disc development in *Drosophila*. In: «Cell Patterning». Ciba Foundation Symposium 29, pp. 161-182. Elsevier, Amsterdam.
- García-Bellido, A. (1985). Cell lineages and genes. *Phil. Trans. R. Soc. London. B.* **312**, 101-128.
- García-Bellido y De Celis, J.F. (1992). Developmental Genetics of the venation pattern of *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet* **26**, 275-302.
- García-Bellido, A. y García-Bellido. (1998). Cell proliferation in the attainment of constant sizes and shapes: The Entelechia Model. *Int. J. Dev. Biol.* **42**, 353-362.
- García-Bellido, A., Ripoll, R. y Morata, G. (1973). Developmental compartmentalization of the wing disk of *Drosophila*. *Nature New Biology* **245**, 251-253.
- Gellon y McGuinnis (1998). Shaping animal body plans in development and evolution by modulation of Hox expression patterns. *BioEssays* **20**, 116-125
- Gerhart, J. y Kirschner, M. (1997). Cells, embryos and evolution. Blackwell, Oxford.
- Ghysen, A. y Dambly-Chandiere, C. (1987). From DNA to form: The achaete-scute complex. *Genes Devel.* **2**, 495-501.
- González-Crespo, S., Abu-Shaar, M., Torres, M., Martínez-A, C., Mann, R. S. y Morata, G. (1998). Antagonism between extradenticle function and Hedhog signalling in the developing limb. *Nature.* **394**, 196-200.
- González-Gaitán, M. Capdevila, M.P. y García-Bellido, A. Cell proliferation patterns in the wing imaginal disc of *Drosophila*. *Mechanisms of Development* **40**, 183-200.
- Graba, Y., Aragnol, D. y Pradel, J. (1997). *Drosophila* Hox complex downstream targets and the function of homeotic genes. *BioEssays.* **19**, 379-388.
- Grens, A., Mason, E., Marsh, J.L. y Bode, H.R. (1995). Evolutionary conservation of a cell fate specification gene: the Hydra achaete-scute homolog has proneural activity in *Drosophila*. *Development* **121**, 4027-4035.
- Halder, G., Callaerts, P. y Gehring, W.J. (1995). Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *Science* **267**, 1788-1792.
- Haun, C., Alexander, J., Stainier, D. y Okkema, P. G. (1998). Rescue of *Caenorhabditis elegans* pharyngeal development by a vertebrate heart specification gene. *Dev. Biol.* **95**, 5072-5075.
- Hogan, B.L.M., Blessing, M., Winnier, G.E., Suzuki, N. y Jones, C.M. (1994). Growth factors in development: the role of TGF- $\beta$  related polypeptide signalling molecules in embryogenesis. *Development Supplement* , 53-60.

- Holland, P. W. H. (1992). Homeobox Genes in chordate evolution. *BioEssays* **14**, 267-273.
- Holland, P. y García Fernández, J. (1996). Hox Genes and Chordate Evolution. *Dev. Biol.* **173**, 382-395.
- Holland, L. Z., Kene, M., Williams, N. A. y Holland, N. D. (1997). Sequence and embryonic expression of the amphioxus engrailed gene (AmphiEn): the metameric pattern of transcription resembles that of its segment-polarity homolog in *Drosophila*. *Development*. **124**, 1723-1732
- Kalb, J. M., Lau, K. K., Goszczynski, B., Fukushige, T., Moons, D., Okkema, P. G. y McGhee, J. D. (1998). pha-4 is Ce-fkh-1, a fork head/NHF-3a, b, g homolog that functions in organogenesis of the *C. elegans* pharynx. *Development*. **125**, 2171-2180.
- Kengaku, M., Capdevila, J., Rodriguez-Esteban, C., De La Peña, J., Johnson, R. L., Izpisua-Belmonte, J.C. y Tabin, C. J. (1998). Distinct WNT pathways regulating AER formation and dorsoventral polarity in the chick limb bud. *Science* **280**, 1274-1277.
- Kenyon, C. (1994). If Birds Can Fly, Why Can not We? Homeotic Genes and Evolution. *Cell*. **78**, 175-180.
- Kirschner, M. y Gerhart, J. (1998). Evolvability. *Proc. Natl. Sci. USA*. **95**, 8420-8427.
- Konnin, E. V., Tatusov, R. L. y Rudd, K. E. (1995). Sequence similarity analysis of Escherichia coli proteins: functional and evolutionary implications. *Prod. Natl. Ac. Sci.* **92** (25),11921-11925
- Knoll, A.H. (1992). The Early Evolution of Eukaryotes: A Geological Perspective. *Science* **256**, 622-627.
- Levine, A.J. y Broach, J.R. (1995). Oncogenes and cell proliferation. *Current Opinion in Genetic and Development* **5**, 1-4.
- Loosli, F., Kmita-Cunisse, M. y Gehring, W.J. (1996). Isolation of a Pax-6 homolog from the ribbon-worm lineus sanguineus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 2658-2663.
- Lowe, C. J. y Wray, G. A. (1997). Radical alterations in the roles of homeobox genes during echinoderm evolution. *Nature*. **389**, 718-721.
- Maine, E.M., Lissemore, J.L. y Starmer, W.T. (1995). A phylogenetic Analysis of Vertebrate and Invertebrate Notch-Related Genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **4**, No.2, 139-149.
- Malicki, J., Cianetti, L. C., Peschle, C. y McGinnis W. (1992). A human HOX4B regulatory element provides head-specific expression in *Drosophila* embryos. *Nature*. **358**, 345-347.
- Manak, J.R. y Scott, M.P. (1994). A class act: conservation of homeodomain protein functions. *Development*, *Supplement*, 61-71.
- Miklos, G.L.G. y Campbell, H.D. (1992). The evolution of protein domains and the organizational complexities of metazoans. *Current Opinion in Genetics and Development* **2**, 902-906.
- Milan, M., Campuzano, S. y García-Bellido, A. (1993). Cell cycling and patterned cell proliferation in the *Drosophila* wing during metamorphosis. *Proc. Natl. Acad. Sci* 11687-11692.
- Modolell, J. y Campuzano, S. (1998). The acheate-scute complex as an integrating device. *Int. J. Dev. Biol.* **42**, 275-282.
- Morata, G., y García-Bellido, A. (1976). Developmental Analysis of some mutants of the bithorax system of *Drosophila*. *W. Roux's Arch.*, **179**, 125-143

- Nieto, M.A., Bennet, M.F., Sargent, M.G. y Wilkinson, D.G. (1992). Cloning and developmental expression of *Sna*, a murine homologue of the *Drosophila* *snail* gene. *Development* **116**, 227-237.
- Nielsen, C. (1999). Origin of the chordate central nervous system and the origin of chordates. *Dev. Genes Evol.* **209**, 198-205.
- Nurse, P. (1993). Cell cycle control. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **341**, 449-454.
- Nüsslein-Volhard, C. y Wieschaus, E. (1980). Mutation affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* **287**, 795-801.
- Park, M., Lewis, C., Turbay, D., Chung, A., Chen, J., Evans, S., Breitbart, R. E., Fishman, M. C., Izumo, S. y Bodmer, R. (1998). Differential rescue of visceral and cardiac defects in *Drosophila* by vertebrate *tinman*-related genes. *Dev. Biol.* **95**, 9366-9371.
- Patterson, C., Williams, D.M. y Humphries, C.J. (1993). Congruence between molecular and morphological phylogenies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **24**, 153-188.
- Plautz, J. D., Kaneko, M., Hall, J. C. y Kay, S. A. (1997). Independent photoreceptive circadian clocks throughout *Drosophila*. *Science*. **278**, 1632-1635
- Pollock, R. y Treisman, R. (1991). Human SRF-related proteins: DNA-binding properties and potential regulatory targets. *Genes Dev.* **5**, 2327-2341.
- Pradel, J. y White, R. A. H. (1998). From selectors to realizators. *Int. J. Dev. Biol.* **42**, 417-421.
- Raff, R.A. (1992). Direct-Developing Sea Urchins and the Evolutionary.... reorganization of early development. *BioEssays* **14**, 211-218.
- Raff, R. A. (1996). *The shape of life*. Univ. Chicago Press.
- Ruiz-Trillo, I., Riutort, M., Littlewood, D. T. J., Herniou, E. A. y Baguná, J. (1999). Acoen Flatworms: Earliest Extant Bilaterian Metazoans, Not Members of Platyhelminthes. *Science*. **283**, 919-923.
- Shenk, M.A. y Steele, R.E. (1993). A molecular snapshot of the metazoan «Eve». *Trends Biol. Sc.* **18**, 459-463.
- Shubin, N., Tabin, C. y Carroll, S. (1997). Fossils, genes and the evolution of animal limbs. *Nature*. **388**, 639-648.
- Simpson, P. (1998). Functions of Notch in the animal Kingdom. (Ed.) *Sem. Cell and Dev. Biol.* Vol. 9. (Acad. Press).
- Skeath, J.B. y Carroll, S.B. (1992). Regulation of proneural gene expression and cell fate during neuroblast segregation in the *Drosophila* embryo. *Development* **114**, 939-946.
- Sogin, M. L. (1994). The origin of Eukaryotes and evolution into major Kingdoms. In: *Each life on Earth*. S. Bengtson (Ed.) *Columbia Univ. Press* 181-192.
- Tabin, C. J. y Laufer, E. (1993). Hox genes and clonal homology. *Nature* **375**, 678-681.
- Valentine, J. W., Erwin, D. H. y Jablonski, D. (1996). Developmental Evolution of Metazoan Bodyplans: The Fossil Evidence. *Dev. Biol.* **173**, 373-381.
- Valentine, J. W., Erwin, D. H. y Jablonski, D. (1999). Fossils, molecules and embryos: new perspectives on the Cambrian explosion. *Development*. **126**, 851-859.

- Walossek, D. (1995). The Upper Cambrian *Rehbachella*, its larval development, morphology and significance for the phylogeny of Branchiopoda and Crustacea. *Hydrobiologia* **298**, 1-13.
- Weatherbee, S. D., Halder, G., Kim, J., Hudson, A. y Carroll, S. (1998). Ultrabithorax regulates genes at several levels of the wing-patterning hierarchy to shape the development of the *Drosophila* haltere. *Genes & Dev.* **12**, 1474-1482.
- Weatherbee, S. D., Nijhout, H. F., Grunert, L. W., Halder, G., Galant, R., Selegue, J. y Carroll, S. (1999). Ultrabithorax function in butterfly wings and the evolution of insect wing patterns. *Curr Biol.* **9**, 109-115.
- Weisblat, D. A., Kim, S. Y. y Stent, G. S. (1984). Embryonic origin of cells in the leech *Helobdella triserialis*. *Devel. Biol.* **104**, 65-85.
- Wray, G. A. y Abouheif, E. (1998). When is homology not homology? *Curr. Biol.* **8**, 675-680.
- Wray, G. A., Levinton, J. S. y Shapiro, L. H. (1996). Molecular evidence for deep Precambrian divergences among metazoan phyla. *Science.* **274**, 568-573.
- Zákány, J., Fromental-Ramain, C., Warot, X. y Duboule, D. (1997). Regulation of number and size of digits by posterior Hox genes: A dose-dependent mechanism with potential evolutionary implications. *Dev. Biol.* **94**, 13695-13700.
- Zhao, C. y Emmons, S.W. (1995). A transcription factor controlling development of peripheral sense organs in *C. elegans*. *Nature* **373**, 74-78.