

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

HACIA UNA GRAMATICA GENETICA

DISCURSO

LEIDO EN EL ACTO DE SU RECEPCION

EL DIA 15 DE FEBRERO DE 1984

POR EL

Excmo. Sr. D. ANTONIO GARCIA-BELLIDO Y GARCIA DE DIEGO

Y

CONTESTACION

DEL

Excmo. Sr. D. ENRIQUE SANCHEZ-MONGE Y PARELLADA



Domicilio de la Academia
VALVERDE, 22 - TELEFONO 221 25 29
MADRID - 1984

MALQUISA. - Rosario Romero, 6 - Tel. 215 44 33. - MADRID

D. L. M. 2195 - 1984

DISCURSO DE INGRESO EN LA
REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS
Y NATURALES
DEL
EXCMO. SR. D. ANTONIO GARCIA - BELLIDO
Y GARCIA DE DIEGO

Excmo. Sr. Presidente
Excmos. Sres. Académicos
Señoras y Señores:

El ser miembro de esta Academia representa formar parte de la asociación científica de más alto nivel en el ámbito nacional. Por ello es un gran honor. Es también un premio a una labor; algo a lo que no se aspira porque no está en la voluntad el conseguirlo. Por esto cuando fui nombrado sentí un ramalazo de sano orgullo. Esta alegría duró, desgraciadamente, poco. Primero porque lo consideré inmerecido, por comparación con tantos colegas de fuera y de dentro de esta Academia. Después, porque el nombramiento es para llevar a cabo un servicio de gran responsabilidad. Esta Academia de Ciencias española, como sus homónimas en otros países, representa el Senado de la comunidad científica; un órgano que por razones fundacionales y por el prestigio de sus miembros debe servir de referencia y consulta a toda la sociedad. Compréndase que esté inseguro de que sólo mi esfuerzo me permita llegar a la altura de esta responsabilidad. El temor a ser incapaz de conseguirlo se acrecenta al entender que mi función específica en esta Academia es la de sustituir a D. Salustio Alvarado como fuente de conocimiento y de consejo. Obviamente mi competencia depende en una mínima parte de mi voluntad. Lo único que puedo ofrecer, con certeza de su valía, es mi entusiasmo. Desde ahora lo pongo todo en este servicio.

Quedará ahora claro por qué la tarea de sustituir a D. Salustio es ardua. D. Salustio —y esta manera que teníamos de referirnos

a él era muestra de cariño y de respeto— ha sido el mentor de muchas generaciones de futuros biólogos, a lo largo y a lo ancho de España. Yo, como muchos otros, crucé mi vida con la suya a los trece o catorce años, en el primer contacto con sus libros. Tanto los de bachillerato —de Ciencias Naturales— como los más avanzados de Biología General tenían, además de un contenido enjundioso, una manera ordenada, intelectualmente elegante y seria de presentar un mundo complejo a cabezas jóvenes ansiosas de informarse. Siempre había en ellos un exceso de contenido sobre el que materialmente podía explicarse en un curso y así invitaban a la lectura privada, al encuentro personal entre el estudiante y la Ciencia. Sus libros de Biología General, puestos al día frecuentemente en nuevas ediciones, además de transmitir en detalle lo conocido, destacaban el experimento como fuente y como limitación de nuestro entender. Enseñaban a razonar e invitaban íntimamente, del autor al lector, a participar entrando en el mundo del laboratorio. Esta manera de enseñar, excepcional entonces, sigue siendo excepcional hoy día. Yo he conocido después personalmente a D. Salustio como profesor en la Universidad, pero no he tenido la fortuna de trabajar con él. Le he visto, eso sí, asistir asiduamente a su laboratorio, ubicado en el Museo de Ciencias Naturales, frente por frente del laboratorio de D. Antonio Zulueta. Pero claramente estaba presenciando las sombras de un ambiente que había tenido momentos mejores.

D. Salustio es un ejemplo de un científico entusiasta, trabajador e inteligente que supo aprovechar al máximo lo que el mundo académico y las condiciones sociales ofrecían en España para ser un buen profesional. Parece deber su vocación de naturalista a don Celso Arévalo, al que tuvo como profesor de bachillerato en Valencia. Durante sus estudios de Licenciatura en Madrid entró en el mundo del laboratorio en el Museo de Ciencias Naturales y en el laboratorio de Anatomía Microscópica, guiado primero por Achúcarro y después por Río-Hortega. En 1917, a sus veinte años de edad, publica su primer trabajo de investigación en el que aplica las técnicas de impregnación argéntica a invertebrados. Explora después las posibilidades de estas técnicas en varios grupos de animales y plantas. Muestra su gran poder de resolución en la histología de Medusas —casi intratable hasta entonces— y que sería su trabajo de Tesis doctoral (1922). Y simultáneamente explora en plantas la

evolución de los plastos y apunta su posible derivación del condrioma (1923). Nada más terminada su tesis marcha, en la mejor tradición de la época, a Alemania, donde trabaja en los laboratorios de Haberlandt y de Goebel, entre otros, en 1922-23. En 1920 había ganado la cátedra de Historia Natural del Instituto de Gerona. En su preparación y en su ejercicio estaba gestándose una visión más amplia, una mayor perspectiva hacia los fenómenos biológicos, que le haría destacar entre sus colegas. Su formación previa y su capacidad de asimilar con rapidez y claridad temas nuevos le permite preparar la Cátedra de Organografía y Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Madrid, que obtiene en 1932. En estos años el ambiente científico en Zoología y Botánica, en Fisiología e Histología había llegado a sus máximos niveles en la historia de la Biología en España.

Después de la guerra civil, que ha dispersado los grupos de trabajo, y de una postguerra que ha desalentado a los que quedaron, don Salustio vuelve al laboratorio para encerrarse en él, dedicado a su trabajo y a sus estudiantes. En el Centro de Investigaciones Biológicas, más tarde el Instituto «José de Acosta», D. Emilio Fernández Galiano, D. Antonio de Zulueta y D. Salustio tratan de volver a empezar. D. Salustio dirige entonces (1940-1955) varias tesis doctorales y trabaja en la histología y organografía de anélidos e insectos. Contribuye a la revitalización de la Sociedad de Historia Natural, de la que fué presidente, y a la celebración de reuniones científicas para conmemorar el centenario de la obra de Mendel y de Darwin, reflejos de reuniones similares en otros países en los que se estaba planteando un neo-Darwinismo llamado la «Nueva Síntesis». Esas actividades científicas iban a ser de referencia a una juventud que quería poder participar algún día en el progreso de la Ciencia. En las sesiones de la R. Sociedad de Historia Natural nos permitían a los alevines de investigador presentar nuestros primeros resultados y D. Salustio era el primero en corregirnos y animarnos.

En 1960 D. Salustio es nombrado Académico de Ciencias, pero no lee su discurso de ingreso hasta 1972. Este versa sobre «El mundo sensorial del hombre y de los animales», un estudio ambicioso y erudito, pero incisivo y claro, del cuerpo de conocimientos de una parte de su asignatura de cátedra, la que más le gustaba explicar. En su recepción le respondió D. Florencio Bustiza, al que conside-

ro en muchos aspectos una personalidad paralela a la de D. Salustio y con el cual me ligan muchas lazos de afecto de discípulo agradecido que aprovecho la oportunidad de constatar. En su discurso de recepción puede encontrarse una exhaustiva bibliografía de la labor científica de D. Salustio.

D. Salustio ha dejado discípulos destacados en la comunidad científica española; unos aprendieron de él en el laboratorio, algunos, sus hijos, en su propia casa, otros en sus clases y en sus libros. Don Salustio ha dejado colegas que le recuerdan con admiración y cariño, entre otros los de esta Academia. A partir de hoy yo me uno a todos ellos como discípulo y como inmerecido colega. Deseo que su memoria y ejemplo me sirvan de guía.

HACIA UNA GRAMATICA GENETICA

INTRODUCCION

Las Biologías del Desarrollo y de la Evolución consideran un ámbito de fenómenos que aparecen estructurados a diferentes niveles de complejidad. Ambas comparten con otras Ciencias como Física y Química, a más bajos niveles, y con Etología y Lingüística, a más altos, problemas epistemológicos similares.

Podemos describir los fenómenos observados en términos de elementos de un nivel inferior (enfoque reduccionista) o tratar de encontrar las reglas de interacción de los elementos que participan a cada nivel de complejidad (enfoque estructuralista). El primer enfoque aparece justificado en un sistema concebido *a priori* como organizado por la adición o superposición de elementos, como directa consecuencia de sus propiedades en un nivel inferior; es decir, es válido en sistemas inducibles o predecibles. Es interesante encontrar que en el nivel más atomista de la Física, en Física Nuclear, el enfoque es estructuralista; sus elementos están definidos precisamente por sus interacciones. A niveles de complejidad superiores, como en Lingüística, el enfoque es también estructuralista: la Lingüística actual trata de deducir reglas generativas más bien que describir propiedades morfológicas, para explicar la estabilidad y la evolución de las lenguas. Por contraste, la Biología actual está dominada todavía por un enfoque reduccionista: está más interesada en definir categorías morfológicas (en fenómenos y en formas) que en encontrar reglas generativas y descubrir restricciones. Su objetivo es explicar fenómenos y formas como una consecuencia de las propiedades de los componentes tal y como son definidos al nivel químico y morfológico.

En Biología, la Genética es una ciencia de interacciones entre elementos definidos fenomenológicamente, los genes. Sin embargo, la esperanza puesta en la Genética —como ciencia de la herencia— para explicar especificidad en Desarrollo y en Evolución ha sido fallida. Este fallo se ha debido, en mi opinión, al énfasis en un enfoque analítico reduccionista. Si evolución y desarrollo no se pueden explicar por la adición de funciones génicas, tendremos que explorar las posibles reglas y restricciones que operan al nivel de interacciones génicas. Para explicar cómo el lenguaje genómico se expresa en Morfogénesis necesitamos algo análogo a una gramática sintáctica en Lingüística —un nivel de análisis intermedio entre Fonología y Semántica.

Paralelismos entre Lingüística y Genética

Las Lingüísticas estructural y generativa tratan de descubrir las reglas invariantes que determinan la «correcta» asociación de sonidos en sílabas, de sílabas en palabras, de éstas en frases, en oraciones, en textos, etc., que permiten que una estructura pueda ser comunicada (generada, emitida y recibida) entre individuos del mismo habla¹. A diferencia de una gramática morfológica que sólo categoriza palabras por sus propiedades formales de nombre, verbo, etc., la gramática generativa estudia, además, sus interacciones y dependencias, esto es, las operaciones que determinan su estructura profunda. El paralelismo entre los objetivos de la Gramática generativa y los de la genética de expresión es claro. En lo que sigue vamos a tratar de utilizar conceptos y métodos de esta Gramática en su análisis del lenguaje, como paradigma en la búsqueda de reglas y restricciones operando en procesos de expresión génica en Morfogénesis. A efectos dialécticos vamos a equiparar lenguaje a genoma, oraciones a procesos gen-dependientes y palabras a genes o productos de acción génica.

En el análisis de la oración (0):

Entender Evolución y Desarrollo requiere una Gramática Genética

1 2 3 4 5 6 7 8

se reconoce su aspecto semántico. Esta oración forma parte de un contexto, tiene referencias a, Evolución, Biología del Desarrollo,

Lingüística y Epistemología, debido al valor léxico, nocional, de las palabras (p) 2, 4, 7, 8 y 1.

En el proceso normal de comunicación esta oración es estable, resistente a perturbaciones que puedan dar lugar a falsas interpretaciones. Sin embargo, el análisis de perturbación —análogo a mutación génica— nos permite descubrir el papel de los diferentes elementos en la transmisión de la idea contenida en la oración. Muchas sustituciones (o adiciones/deleciones) de fonemas llevan a una ambigüedad permisible; esto es, retienen suficientes características de reconocimiento: por ejemplo, la sustitución de *1* por *untender* o de *4* por *detarrollo*. Otras perturbaciones afectan el valor nocional de palabras individuales: *Desarrollo* en *4*, o *Gonética* en *8*, o la estructura sintáctica de la frase: *Entende()* en *1* o *refiere* en *5*. Estos cambios no son permisibles y el que recibe la oración modificada trata de corregirla con sustituciones secundarias para obtener una nueva estabilidad, sea nocional o semántica (0: *Entiende evolución y desarrollo luego* requiere una Gramática Genética) o una nueva oración sintácticamente correcta aunque semánticamente sin sentido (0: *Para entender evolución (y) desarrollo se* requiere una Gramática Gonética). En Biología otros reajustes secundarios a la aparición de mutación resultan de la selección de nuevas mutaciones para ganar una estabilidad interna (gramatical o apogenómica) o externa (semántica o epigenética).

Del análisis de las posibles perturbaciones en nuestra oración se descubre que las palabras largas son más resistentes a falsa interpretación que las cortas: la estabilidad aumenta con el número de caracteres interdependientes. Además, encontramos en las palabras la existencia de diferentes dominios (morfemas o morfos) que son diferencialmente sensibles a perturbación. Estos segmentos son en castellano de tres tipos. El análisis comparativo descubre la existencia de prefijos intercambiables que modifican el valor nocional de la palabra: *en-tender*, *re-tener*, *dis-tender*, etc., y de sufijos que afectan el valor combinatorial o sintáctico: *entend-er*, *-ió*, *-imiento*, etcétera. Morfemas del último tipo afectan el valor inflexivo de las palabras en género, número, caso, modo verbal, etc. (restricciones sintácticas). La segmentabilidad de las palabras dificulta una definición morfológica de la palabra; iguales dificultades las encontramos en la definición morfológica de gen.

Otro procedimiento de análisis de la estructura interactiva de las oraciones es el de permutar el orden de las palabras. Así el cambio de orden de Evolución y Desarrollo retiene el mismo significado $(E + D) = (D + E)$. No ocurre así con las palabras Gramática y Genética: $G.G'$ es diferente de $G'.G$. Diferentes transposiciones llevan a nuevas oraciones que son sólo gramaticalmente o sólo semánticamente correctas. El análisis de permutación así descubre asociaciones entre palabras en grupos, cada uno definiendo una función independiente.

Nuestra oración puede así representarse en un algoritmo $[1 \cdot (2 + 4)] \cdot [5 \cdot (7 \cdot 8)]$ en el que los paréntesis indican entidades (funciones: enunciados o frases) con elementos intercambiables en orden (símbolo aditivo $+$) o secuencias dependientes (cooperativo, símbolo \cdot). El mismo análisis descubre que 5 determina $(7 \cdot 8)$ y $[1 \cdot (2 + 4)]$ determina $[5 \cdot (7 \cdot 8)]$, el primer paréntesis corresponde al sujeto y el segundo al predicado de la oración, específicamente cualificado por el valor sintáctico de 5 (verbo). La dependencia operacional está determinada por el orden de sus elementos más bien que por el valor morfológico o léxico de las palabras porque ambos, *entender* y *requiere*, son diferentes formas alomórficas de verbos.

El valor sintáctico de los elementos de una oración se descubre también haciendo sustituciones de palabras por sinónimos, cambiando el modo del verbo y añadiendo nuevos elementos. Estas operaciones generan nuevas frases que son gramaticalmente y semánticamente isomórficas, ejemplos: 0: 6 7 8 se 5 para 1 2 3 4; 0: la lógica de 2 3 4 puede sólo ser entendida por una aproximación 7 8. La introducción de ciertos elementos léxicos llamados «deícticos» (direccionales, temporales o posicionales como *aquí*, *después*, *en lugar de*, *ahora*) aumenta la precisión del contenido semántico (p. e., *ahora* se 6 7 8 para poder *después* 1 2 3 4). Todas estas oraciones son homólogas y representan soluciones discretas de la misma idea semántica. Son homólogas porque las transformaciones retienen la misma estructura sintáctica, «la substancia» o «estructura profunda», pero generan nuevas versiones con «formas» o «estructuras superficiales» distintas². Estas, además, son discontinuas porque están limitadas por restricciones sintácticas.

Las restricciones descubiertas en un análisis de perturbación y de transformación en oraciones se multiplican en el lenguaje bio-

lógico. En este lenguaje la perturbación no sólo afecta el proceso particular en estudio, sino todos aquellos procesos u operaciones en los que participan los mismos genes. La sustitución de un gen por sus alomorfos (alelos) es un cambio de léxico con efectos pleiotrópicos en todos los procesos en que éste opera. Por ello las presiones seleccionales son aquí más restringentes, limitando el número de modificaciones léxicas y sintácticas posibles.

Hasta ahora hemos visto lo que los lingüistas denominan un análisis sincrónico de una oración en sus relaciones a la lengua en la que se expresa. El análisis de las modificaciones históricas de palabras, estructura gramatical y evolución del lenguaje, el análisis diacrónico, también tiene su paralelo biológico. Es posible detectar las relaciones filogenéticas (en léxico y gramática) entre diferentes lenguas y probar por análisis comparativo sus homologías, analogías y reglas de derivación. Los procesos que llevan a la morfogénesis del ojo son similares entre diferentes vertebrados, pero distintos entre vertebrados y moluscos. Sus diferencias y similitudes pueden estar a diferentes niveles jerárquicos: pigmentos y proteínas estructurales (palabras), componentes sensoriales (estructuras sintácticas), morfogénesis y orientación de elementos (relaciones semánticas).

El análisis de sustitución puede descubrir estas relaciones de homología o analogía en el lenguaje. Así las palabras *developpement*, *development* son homólogas en francés e inglés en forma y por derivación histórica, pero éstas a su vez son sólo análogas a sus equivalentes semánticos *desarrollo* en castellano y *Entwicklung* en alemán, aunque los componentes morfémicos de todas, uno por uno, tienen las mismas referencias (son sinónimos) en las cuatro lenguas (*de-*, *de-*, *des-*, *ent-* y *-veloppement*, *-velopment*, *-arrollo* y *wicklung*). La posibilidad de sustituciones similares por transferencia de genes entre especies para analizar su valor sintáctico y semántico está ahora abierto en Biología.

Es concebible que en la Evolución biológica, como en el lenguaje, la misma idea semántica pueda retenerse con cambios en el valor léxico de las palabras y en las reglas gramaticales, y viceversa, aparecer nuevos significados usando alteraciones en las mismas palabras y reglas gramaticales. Después de perturbaciones heredables, la fuerza selectiva o las restricciones internas (gramaticales o apo-

genómicas) y externas (semánticas o epigenéticas) pueden dar lugar a nuevas oraciones (procesos de desarrollo) y a nuevas lenguas (genomas).

Fonología y Lexicología en Genética

En nuestro paralelo lingüístico nucleótidos y aminoácidos corresponden a los segmentos mínimos de las palabras que muestran asociación libre: los fonemas del lenguaje genético. Es la combinación lineal de los primeros en polinucleótidos lo que determina la especificidad del material hereditario, y la de aminoácidos en proteínas, la expresión transformacional de la información genética específica. La Genética ha mostrado que el material hereditario tiene que realizar dos operaciones distintas: autoreplicación y expresión. Estudios fisicoquímicos mostraron que estas operaciones resultan de las propiedades estructurales del ADN: la información contenida en la secuencia lineal de los nucleótidos se copia por complementariedad en la replicación del ADN o se copia por complementariedad en el ARN en la transcripción. Estas operaciones constituyen las «transformaciones isomórficas de primer orden». La traducción de estas secuencias del ARN en secuencias de aminoácidos constituye una «transformación isomórfica de segundo orden».

La especificidad genética reside en asociaciones lineales (permutaciones) de cuatro diferentes nucleótidos, que se perpetúa replicativamente y se expresa en la asociación lineal (permutaciones) de veinte y pico aminoácidos en proteínas. El análisis mutacional descubrió que la unidad de información no estaba en los nucleótidos individuales, sino en grupos de tres (tripletes). Estos tienen la especificidad combinatorial que determina los diferentes aminoácidos y las señales de puntuación del mensaje genético. La síntesis química y el análisis mutacional comparativo permitieron descifrar el código genético; esto es, descubrir la correspondencia unívoca entre tripletes y aminoácidos individuales. El análisis mutacional encontró después que hay dos tipos de mutaciones a nivel genómico (sustitución o adición/delección de nucleótidos) y tres tipos de efectos mutantes a nivel fenómico (sustitución de aminoácidos, interrupción de traducción por un codon «stop» y corrimientos de triplete después de inserción/delección de nucleótidos). El fenotipo del segundo tipo de mutaciones indica que el mensaje se lee secuencial-

mente y tiene puntuación separando palabras. El último tipo de fenotipos indica que el mensaje no tiene puntuación separando letras. El lenguaje genético es así alfabético o silábico, pero ciertamente no ideográfico.

Aunque al nivel del ADN la asociación libre de nucleótidos es estructuralmente posible, se empiezan a encontrar secuencias canónicas que determinan configuraciones terciarias características. Estas están asociadas con regiones de regulación génica y posiblemente son reconocidas estéricamente por proteínas reguladoras. Muchas más restricciones se imponen sobre la secuencia de nucleótidos en las diferentes moléculas de ARN. Siendo estas moléculas de una sola banda, adquieren su estabilidad por plegamientos sobre sí mismas en regiones complementarias (palíndromes) y su función biológica está basada en su conformación estérica, como acontece en los tARNs.

Igualmente la asociación libre de aminoácidos en las cadenas peptídicas está limitada estructuralmente por el diferente tamaño y carga de aquéllos, que hace ciertas secuencias altamente improbables —análogamente a lo que ocurre con ciertas combinaciones de fonemas que resultan difícilmente pronunciables.

El siguiente nivel de restricción, impuesto sobre la libre asociación lineal de aminoácidos, es contingente: resulta de la inaceptabilidad de ciertas modificaciones (sustitución de unos aminoácidos por otros) porque afectan el significado funcional de una proteína: el valor léxico y sintáctico de una palabra. Aquí es necesario hacer una distinción fundamental entre Genética y Lingüística. Mientras que en el lenguaje humano las palabras tienen un significado, un valor nocional, así como un valor sintáctico o combinacional, en el lenguaje molecular sólo el valor sintáctico tiene sentido biológico. La composición o estructura de una molécula sirve para clasificaciones morfológicas —o para explicar racionalmente su función. Pero ésta viene definida biológicamente por sus interacciones con otras moléculas, por sus capacidades de combinación y de reconocimiento. Las mutaciones afectan biológicamente sólo el valor sintáctico de las moléculas. Esta distinción corresponde a la de «estructura profunda», la sustancia, como opuesta a la «estructura superficial», la forma, en el paralelo lingüístico².

El análisis fisicoquímico ha permitido describir los rasgos morfológicos de las moléculas biológicas. Estas se pueden clasificar

de acuerdo con su composición atómica, su estructura primaria, secundaria, terciaria y sus propiedades fisicoquímicas en diferentes tipos (lípidos, azúcares, proteínas, ácidos nucleicos, etc.). Desde el punto de vista genético o informacional estas moléculas corresponden a dos tipos principales: «productos génicos primarios» (ARNs y proteínas) y «productos génicos secundarios». En estos últimos se incluyen aquellos que resultan de modificación enzimática de moléculas capturadas del mundo externo (metabolitos). Mientras que los primeros son específicos, los segundos son genéricos, estando presentes en todos los organismos.

Inflexión y concordancia

Análisis químicos y genéticos, han mostrado que la estructura estérica (configuración terciaria) de ARNs y proteínas resulta rígidamente de la secuencia lineal de sus componentes y, por lo tanto, de la secuencia lineal de los nucleótidos del ADN. Por lo tanto, la especificidad funcional de ARNs y proteínas resulta de «transformaciones isomórficas de tercer orden» de la información contenida en el ADN.

Mutaciones, consistentes en los diferentes tipos de perturbación descritos arriba, cambian la especificidad de los productos génicos primarios de diferentes maneras. Cuando éstos son proteínas aquellas perturbaciones pueden afectar su conformación en una forma sutil o aceptable, o de manera más disruptiva, según el tipo de aminoácido sustituido y su lugar en la proteína. Sin embargo, sintácticamente estas mutaciones determinan sólo cambios en la eficiencia de las interacciones moleculares.

Los metabolitos son utilizados biológicamente como fuentes de energía, elementos de construcción en complejos químicos y estructuras, o como elementos de señalización o modificadores de función, cuando están asociados a proteínas. Los tres tipos de elementos, ARNs, proteínas y metabolitos, interactúan en procesos biológicos. Estas interacciones son específicas porque están basadas en afinidad molecular o en «reconocimiento molecular». Las interacciones entre estos diferentes tipos de elementos (uno a uno, uno a dos, etc.) corresponden a las propiedades inflexivas básicas. Pasamos a revisarlas someramente.

Interacciones proteína: metabolito. Estas interacciones son características de la función enzimática. En esta función una parte de la molécula proteica reconoce y se une a una parte del metabolito(s) específico (substrato), realiza una reacción quimicofísica (analítica, sintética o configuracional) y libera el producto(s).

Generalmente las enzimas están unidas a otras estructuras, membranas, a otras enzimas en complejos enzimáticos, a metales pesados y a grupos prostéticos. Estas asociaciones requieren la existencia de aún más regiones de la proteína con lugares específicos de reconocimiento («dominios»). Así, grandes porciones de sus moléculas están expuestas a presión funcional y, por lo tanto, su libre variación en Evolución está fuertemente restringida. Las mutaciones, por sus efectos en la estructura del enzima pueden afectar en diferentes grados (dependiendo de la mutación particular) uno o varios de los parámetros de la reacción enzimática (afinidad, velocidad, liberación, etc.), y de su asociación en complejos.

Un tipo particular de interacción que ocurre en muchos enzimas determina su actividad de una manera discontinua. Se llama alosterismo. Un metabolito específico, que reconoce una región (alostérica) del enzima, puede unirse reversiblemente a ella y cambiar la configuración de la región enzimáticamente activa y de esta forma impedir la reacción enzimática. Este metabolito no está relacionado estructuralmente con el substrato y no se metaboliza; simplemente controla o regula la actividad enzimática de la proteína. Mutaciones en la región alostérica pueden afectar, obviamente, la capacidad regulatoria del enzima. En estas reacciones la actividad enzimática es facultativa: depende de la ausencia del metabolito controlador y de la presencia en el medio del substrato. En las reacciones enzimáticas solamente el substrato cambia irreversiblemente. Las reacciones enzimáticas son (fisiológicamente) polares ($P \rightarrow M$). En las interacciones alostéricas el enzima actúa cooperativamente ($M \cdot P$) con el metabolito regulador.

Las operaciones en las que las enzimas participan son múltiples: pueden modificar moléculas, quitando o añadiendo átomos o iones, unir moléculas acoplándolas de dos en dos, o varias en cadenas o en anillos, romper moléculas en sus extremos libres o internamente, doblar moléculas en una segunda configuración estética estable, transportar metabolitos a través de membranas, de-

fenderlos de digestiones enzimáticas, etc. Las enzimas pueden operar sobre metabolitos, proteínas, DNA y RNA.

Interacciones proteína: proteína. Las proteínas se asocian a otras para formar complejos proteicos. Estas asociaciones pueden ser homómeras o heterómeras y pueden incluir un número variable de estos elementos, pero en proporción y configuración espacial constantes (como en la hemoglobina). Estas asociaciones también dependen de reconocimiento molecular. Con un número creciente de elementos implicados en el complejo se requiere un número también creciente de regiones complementarias que pueden ser simétricas o asimétricas. Como han mostrado los análisis mutacional y de reconstitución química, la asociación de proteínas en complejos multiméricos —como en virus, ribosomas y membranas— es fundamentalmente una operación espontánea llamada «auto ensamblaje». De este modo, configuraciones cuaternarias pueden resultar de la información contenida en el genoma por una «transformación isomórfica de cuarto orden».

Las interacciones proteína: proteína pueden ser aditivas ($A + B + C$) o seguidas de cambios conformacionales (uniones) de los elementos implicados ($D \cdot F$). En el último caso la unión de los elementos puede seguir un orden fijo $((A + B) + C) + (D \cdot F)$.

Interacciones proteína: ácidos nucleicos. Ciertas proteínas son capaces de reconocer directamente secuencias específicas de nucleótidos tanto en ADN (o ARN) de banda simple como de doble banda. Este reconocimiento está, de hecho, basado en la configuración estérica de los polinucleótidos que a su vez depende de su secuencia.

Asociaciones proteína: ácido nucleico ocurren en la formación de cromosomas, ribosomas, complejos enzima-tARN, función de nucleasas y polimerasas de ácidos nucleicos, y en regulación génica. En estas operaciones el reconocimiento puede ser genérico (p. ej., ADN-polimerasas), específico de nucleótido (metilasas) o específicos de secuencia. Este último tipo es el que encontramos en el mecanismo de represión en el control de la transcripción génica. Moléculas represoras pueden reconocer particulares secuencias de nucleótidos, como en procariontes, o particulares plegamientos en el cromosoma que reflejan (supuestamente) secuencias particulares o combinaciones de secuencias, en eucariontes. En el mecanismo de represión, está implicado un tercer elemento (co-represor) que per-

mite una regulación reversible y opera por cambios alostéricos en el represor. El co-represor es, en procariontes, un metabolito que el represor reconoce específicamente.

Otras interacciones. Es importante resaltar que, aunque las interacciones metabolito-metabolito, ácido nucleico-ácido nucleico y metabolito-ADN (lípidolípido en ciertas estructuras, ADN-ARN en la replicación del ADN, splicing del ARN, etc.) son posibles, y de hecho ocurren, son raras e inespecíficas. Cuando tienen lugar están mediadas, generalmente, por proteínas. Esta limitación sintáctica es debida a su rigidez molecular y a falta de suficientes rasgos distintivos para permitir el reconocimiento molecular mutuo. Esta restricción gramatical es importante en la formación de oraciones moleculares.

Oraciones moleculares

Las trabas impuestas por el reconocimiento molecular actúan en la generación de procesos biológicos estables. Esto ocurre en las rutas metabólicas. Vamos a restringir nuestro análisis a rutas sintéticas (anabólicas), dejando a un lado procesos catabólicos que generan energía para ser usada en los anteriores.

La propiedad polar de la acción enzimática determina procesos unidireccionales. Así, en un proceso anabólico dado, las enzimas operan en secuencia, determinada por las modificaciones estructurales que sufre el metabolito. Por razones enzimáticas y estéricas las fusiones y modificaciones son realizadas por enzimas individuales funcionando una a una. Esto tiene implicaciones genéticas. Mutaciones de un determinado enzima llevan a la acumulación del metabolito sustrato y a la falta del metabolito producto y de todos los derivados subsecuentes. Así, ya al nivel molecular, las mutaciones son pleiotrópicas (polifénicas) en sus efectos.

El fenotipo de «acumulación» ocurre a menos que otro enzima catabolice el sustrato acumulado. El fenotipo de «depleción» ocurre a menos que haya un enzima sinónimo que rescate el fallo, una ruta alternativa que genere los metabolitos que faltan en los subsiguientes pasos del proceso, o análogos-estructurales sustituyan los metabolitos que faltan. El hecho de que la mutación se detecte

fenotípicamente indica obviamente que una o ambas alternativas no ocurre. Sin embargo, la pregunta teórica subsiste: ¿cuántas enzimas sinónimas existen? ¿Cuántas rutas alternativas pueden rescatar fallos en otros procesos? El análisis bioquímico indica que la redundancia operacional en rutas metabólicas es baja. El análisis genético muestra que, aunque determinados genes pueden aparecer en varias copias, sólo una es normalmente funcional. El análisis genético molecular ha descubierto familias de genes estructural e históricamente relacionados, pero con funciones divergentes y no intercambiables.

La participación específica de los enzimas en procesos particulares y en secuencia particular, probablemente, está relacionado con el hecho de que grupos de enzimas del mismo proceso metabólico pueden estar física y estructuralmente asociados en la célula. Tal es el caso de los enzimas mitocondriales implicados en fosforilación oxidativa y el de muchos complejos multienzimáticos conocidos. Otro tipo de asociación está relacionado con el control simultáneo de la síntesis de enzimas. En procariontes, en los que la síntesis proteica (traducción) está asociada a la transcripción, los genes que codifican los enzimas implicados en el mismo proceso están o físicamente adyacentes en el ADN, o controlados por el mismo represor, o ambas cosas. Se conocen varios casos en los que enzimas que están funcionalmente relacionados y genéticamente contiguos, pero transcritos independientes en microorganismos, son incorporados en un único ARN mensajero y resultan en un enzima multifuncional en organismos multicelulares (p. ej., enzimas de la ruta de las pirimidinas). Si ocurre una asociación física y estructural entre enzimas relacionados funcionalmente esto debe ser mediado por reconocimiento molecular —aumentando así el número de «dominios» proteicos que están expuestos a selección estructural. Esta situación descubre la existencia de restricciones de un orden superior entre los elementos implicados en el mismo proceso u operación —es decir, una fuerte limitación a la regla de la libre asociación característica de sistemas simplemente aditivos.

Los ejemplos clásicos de estructuras múltiplemente restringidas son los virus, los ribosomas y las membranas, consistentes en asociaciones de muchos tipos diferentes de proteínas (y otros elementos) en una estructura fija o flexible, pero invariable. El análisis mutacional en virus ha mostrado que los grados de libertad (can-

tividad de perturbación que pueden soportar) son mínimos. Cualquier pequeña perturbación mutacional, que cause un cambio en la formación de una de las proteínas impide el ensamblaje de una parte de la estructura entera. Del mismo modo, mutaciones en los genes ribosomales pueden perturbar algunas de las funciones (interacción con el ARN ribosomal, el enzima activador, el ARN mensajero, el paso de translocación, etc.) o todas ellas, por perturbar su construcción y estructura. De hecho, la interdependencia estructural de las partes es tal, que relacionar la localización física de la perturbación a una función particular se convierte en una cuestión escolástica. Las mutaciones en genes ribosomales tienen diferentes grados de un mismo fenotipo: insuficiente síntesis proteica. Este representa un ejemplo clásico de otra propiedad de las mutaciones, recíproca de la polifenia: los mismos fenotipos mutantes pueden ser causados por mutaciones «homofénicas» en diferentes genes.

Las reacciones metabólicas y la formación de estructuras complejas pueden ser moduladas cuantitativamente. Las reacciones químicas dependen de condiciones genéricas tales como fuerza iónica del medio, presencia de ciertos cationes, etc. La actividad enzimática depende de la concentración relativa del enzima y de ambos metabolitos, substrato y producto. La formación de estructuras complejas está limitada por la disponibilidad de cualquiera de sus componentes. Estas son modulaciones monotónicas. Otro tipo de modulación, diatónica, llamada reguladora «sensu stricto», depende la función de un elemento controlador que determina estados alternativos: «activo» frente a «inactivo». Ya hemos mencionado el control alostérico de la actividad enzimática por metabolitos que no son el substrato del enzima.

La regulación génica a nivel transcripcional es el ejemplo más importante de regulación diatónica. Descubierta genéticamente y analizado molecularmente en bacterias se supone que funciona de una manera similar en la regulación génica en todos los organismos³. La regulación transcripcional opera por medio de mecanismos alostéricos. La presencia de una proteína codificada por un gen regulador puede impedir o permitir la transcripción de otro gen, dependiendo de su estado alostérico: asociada a, o disociada de, un metabolito específico. El metabolito específico, un inductor o co-represor, presente en el medio externo o un metabolito interno producto de otro gen, determina la configuración del represor. Esta

última, a su vez, determina su capacidad de reconocer una secuencia del ADN, vecino al gen regulable (estructural) y, uniéndose a esa región, impide su transcripción por las ARN-polimerasas. Hay mecanismos de regulación de tipo negativo y de tipo positivo, por activación o represión, cada uno de los cuales es característico de un sistema regulado específico. Un «gen regulador» particular puede controlar un único gen estructural o varios, contiguos o dispersos en el genoma, que constituyen su «operón»³.

La existencia de operones descubre una organización del genoma operacionalmente discontinua. El genoma consiste en grupos discretos de genes controlados independientemente. En un momento particular del ciclo celular o en diferentes tipos celulares solamente una parte del genoma se expresa —la constitutiva y la regulada activa—. Puesto que la regulación génica depende de la presencia o ausencia de moléculas de inductor, el genoma debe ser considerado como un sistema abierto. Necesito introducir el término «apogenoma» para designar los grupos particulares de genes expresados en los diferentes estadios embrionales y tipos celulares, como diferente del inventario total de información genética, del «genoma», transmitido a todas las células por mitosis. Los procesos y operaciones que resultan de la interacción de productos génicos y metabolitos constituyen el «fenoma». Así, apogenomas particulares determinarán diferentes fenomas.

Las mutaciones en genes reguladores pueden tener diferentes fenotipos dependiendo del tipo de regulación, llevando a la ausencia de los productos génicos de todos los genes que constituyen el operón (control positivo) o a su continua expresión (en casos de control negativo). Recíprocamente, mutaciones en la región operador del ADN, a la cual se une el represor, pueden causar fenotipos de falta o exceso de función, dependiendo del tipo de regulación. Mutaciones en la región reguladora vecina a la secuencia codificadora puede tener también efectos cuantitativos, aumentando o disminuyendo el ritmo de transcripción del gen: parámetros cuantitativos que puedan tener importantes consecuencias evolutivas y en desarrollo. Cuando los operones contienen genes que no están involucrados en el mismo proceso metabólico, las mutaciones en los elementos reguladores causan efectos pleiotrópicos, de un tipo distinto de los que hemos considerado anteriormente. Mientras que los ya mencionados pueden ser considerados como «polifenia en

cascada» los últimos pueden ser llamados «polifenia combinatorial» (ver después).

La regulación génica como la encontrada en operones bacterianos constituye una nueva operación de generar oraciones moleculares. Contiene un elemento de opción, frente al estricto determinismo molecular encontrado en las operaciones de autoensamblaje. La selección está determinada por elementos «deícticos», inductores en sentido lato, que dan precisión espacial y temporal. Podemos inferir la existencia de operaciones similares, aunque en detalle ignoramos las bases genéticas y las moleculares de los mecanismos reales, en muchos sistemas, en procariontes y eucariontes y en organismos multicelulares. Ejemplos son: la esporulación en bacterias, los grupos de genes tempranos y tardíos en virus, patrones de puffs de cromosomas después de estimulación hormonal, inducción embrional, transdeterminación en discos imaginales de dípteros, genes homoeóticos, etc. Su fenomenología indica una organización funcional en la que la actividad génica es coordinada jerárquicamente y expresada en grupos de funciones finitos y discontinuos. Sin embargo, puesto que no conocemos todos los elementos moleculares implicados, estas interacciones de nivel superior podrían estar basadas en el uso de un léxico específico para llevarlas a cabo —genes específicos para determinar operaciones específicas— o las diferentes operaciones resultar del uso combinatorio diferente de un léxico relativamente pobre, es decir, de un número pequeño de funciones genéticas⁴. En términos gramaticales la cuestión es saber cuántas palabras hay en el léxico y cuántas restricciones sintácticas limitan su libre asociación.

Hemos visto que la libre asociación está limitada por reconocimiento molecular. Determinadas rutas metabólicas, caracterizadas por el metabolito terminal, o complejos multiméricos, caracterizados por su función específica, no permiten el libre intercambio de elementos. Consideremos ahora algunas implicaciones diacrónicas de estas limitaciones. Transposiciones génicas pueden fácilmente perturbar interacciones preexistentes, pero generarán, sólo raramente, nuevas combinaciones funcionales. La incorporación de nuevos genes a operones preexistentes requieren la casual inserción de la región codificadora de un gen en una nueva localización bajo el control de la correspondiente región operador. Por otro lado, transposiciones de genes (o fragmentos de genes) pueden

reunir dominios funcionales de distintos genes en uno nuevo o llevar genes enteros bajo el control de un gen regulador diferente⁵. La incorporación de genes reguladores de diferentes operones bajo el control de un gen regulador común puede ser otra fuente de variación fenomica, aumentando así la complejidad jerárquica y la variedad de fenomas discretos. La duplicación de genes y la subsiguiente evolución de una de las copias permite la aparición de nuevas funciones por diversificación mutacional, sin interferir con el fenoma original⁶. La inclusión de nuevos elementos deícticos en la modulación de la expresión génica puede aumentar también la diversidad fenomica. Mutaciones pueden retardar reacciones y, en procesos interrelacionados, llevar a desfases temporales e incluso a desconexión entre procesos y así generar diversidad fenomica. Por último, una fuente de variación fenomica —aún inexplorada— es la que modula la cantidad de transcripción de una región codificadora determinada. Las mutaciones que la cambien podrían ayudar a corregir efectos fenomicos de otras mutaciones y ser así un importante mecanismo en selección estabilizadora, sin cambiar la estructura molecular del producto final. Todos estos cambios deben respetar las limitaciones de reconocimiento molecular.

Los efectos pleiotrópicos y la interdependencia estructural de los elementos expone estas alteraciones genéticas a presión selectiva interna (gramatical). En una perspectiva diacrónica estas restricciones constituyen la inercia de los sistemas genéticos. Esta inercia genética hace difícil cambiar rutas metabólicas básicas (como las del metabolismo intermediario), pero hace posible la aparición de nuevos pasos terminales en rutas metabólicas y la modulación local y temporal de combinaciones de procesos. Así, mientras que operaciones genéticas fundamentales se mantendrán conservadas en evolución, su realización particular puede variar según contexto generando un número de soluciones fenomicas distintas. En términos más generales la diversidad puede resultar de la modificación local de la homogeneidad —y las soluciones particulares resultar de transformaciones de operaciones invariantes—. Pero la inercia genética predomina, limitando la aparición de «nuevas» funciones, es decir, de nuevos genes. Luego veremos que el léxico de los seres vivos es sorprendentemente pobre y ha aumentado poco a lo largo de la Evolución.

Análisis sintáctico de procesos morfogénéticos

El análisis genético intenta entender la lógica operacional de los procesos que llevan a la diferenciación celular y a la diversidad espacial, como aparecen durante el desarrollo y la evolución. En principio caben dos posiciones extremas para tratar este problema. Una, a la que me gustaría llamar la «actitud semántica», considera el genoma tan plástico y variable que cualquier forma puede resultar de presiones externas al genoma (epigenéticas), sea de factores ambientales determinando adaptación, sea de leyes morfogénéticas del sistema en desarrollo determinando soluciones morfológicas discontinuas⁸. En esta noción la estructura externa determina la interna. La otra, la «actitud sintáctica», postula que el número de soluciones morfológicas (formas) es finito y limitado por operaciones moleculares genéticamente determinadas. En esta noción los mecanismos condicionan las formas finales.

Conviene ahora precisar los conceptos de apogenoma y fenoma. El fenoma consiste en todos aquellos procesos y operaciones moleculares discretas que son consecuencia directa del genoma activo (apogenoma) en cada tipo celular y por extensión en distintos sistemas celulares, órganos, etc. El fenoma se manifiesta en metabolismos específicos, procesos morfogénéticos y patrones morfológicos. Aparece en contraposición al término clásico de fenotipo que sólo define la variación alomórfica causada por genotipos alternativos. El término clásico «epigenético»⁷ se refiere a todo lo que es externo al ADN, e incluye tanto los productos génicos como sus interacciones, como las condiciones de desarrollo y ambientales que las modifican. Pero por incluir todo lo externo al genoma el epigenotipo es un término tautológico y así el concepto de epigenoma carece de sentido. Esta distinción entre los dos enfoques semántico y sintáctico no intenta reavivar el inútil debate entre innatismo y constructivismo o entre endógeno y exógeno. La actitud sintáctica reconoce que la expresión génica tiene lugar en un contexto que es naturalmente externo al genoma, pero intenta explorar hasta qué punto la información genética contiene las reglas de interacción de sus productos (las instrucciones) que determinan morfologías diferenciales y discontinuas. Vamos en lo que sigue a explorar las consecuencias de esta postura.

Como hemos visto antes, el análisis molecular no ha alcanzado aún a describir los mecanismos implicados en interacciones de niveles superiores. Sin embargo, la correspondencia entre los análisis genético y molecular en microorganismos nos permite hacer ciertas inferencias sobre mecanismos genéticos operando en la realización de fenómenos complejos —tales como los implicados en morfogénesis—. Hay una limitación fundamental en el análisis de apogenomas. Puesto que éste consiste en descubrir interacciones es necesaria la identificación y manipulación de los elementos que intervienen. Desgraciadamente sólo en *Drosophila melanogaster*, entre los organismos multicelulares, tenemos suficiente conocimiento del léxico y versatilidad de manipulación génica para alcanzar conclusiones, aunque sean preliminares. Imagínese las generalizaciones lingüísticas que podrían hacerse del estudio de un pequeño texto escrito en castellano.

El análisis genético clásico está basado en la existencia de alternativas fenotípicas hereditarias. Estas corresponden a los estados alélicos particulares de genes —unidades de asociación libre en recombinación—. Debemos recordar la distinción clásica entre genotipo y genoma; el primero, que designa el locus (o loci) que difiere de la condición silvestre y el segundo designando el componente genético total. De manera análoga debemos distinguir entre el fenotipo determinado por los caracteres diferenciales causados por el genotipo particular (alotipo) y el fenoma, que es el resultado de la expresión del genoma en sus apogenomas. Esta distinción nos permite comprender que una mutación y su fenotipo resultante en una especie determine el fenoma normal de otra. Es importante esta distinción porque el objetivo del análisis genético del desarrollo es comprender la función del gen normal, entender sus interacciones al nivel fenomíco, independientemente del fenotipo de sus variantes alélicas. Dada la interdependencia de la estructura fenomíca, un fenotipo mutante puede ser causado por perturbaciones secundarias actuando sobre un apogenoma normal —como en el caso de las fenocopias—. Similarmente mutaciones en el mismo locus pueden tener diferentes fenotipos en distintos contextos, apogenomas del mismo organismo, o entre organismos de especies distintas.

Como las sustituciones fonémicas en palabras diferentes, los alelos pueden causar diferentes efectos; pueden cambiar parcial o

totalmente el valor léxico de la palabra y con él el de la oración, esto es, afectar todos los procesos donde este gen interviene en el lenguaje genómico. Las mutaciones tienen, por lo tanto, efectos pleiotrópicos combinatoriales tanto más variados cuantos más sean los procesos en los que el alelo normal intervenga. Y pueden causar pleiotropía en cascada por sus efectos secundarios sobre procesos dependientes del primero afectado. Puesto que el efecto fenotípico es el directamente observado, la inferencia del proceso primario afectado es tanto más difícil cuanto más pleiotrópico sea el fenotipo. Las dificultades de identificar la función normal perturbada se facilitan en *Drosophila* por la posibilidad de realizar dos tipos de operaciones experimentales. La primera consiste en producir y estudiar formas nulas del gen (delecciones génicas), evitando así la ambigüedad de fenotipos causados por la pérdida parcial de función⁹. De esta manera se maximalizan los efectos de interacción, combinatorial o secuencial, debido a la falta total de función. La segunda operación, producción de mosaicos genéticos, permite estudiar el fenotipo mutante en células individuales, aun cuando la constitución genética sea letal para el organismo como un todo¹⁰. Así se reducen componentes fenotípicos en cascada. Si estos análisis se pudiesen realizar en el hombre, en el ejemplo clásico de pleiotropía compleja de la anemia falciforme se habría localizado enseguida la causa primera del síndrome en las células eritropoiéticas y en las moléculas de hemoglobina.

Otro tipo de operación genética nos permite definir con más detalle el valor léxico del gen mutado. Está basado en el estudio de fenotipos causados por sobreproducción del alelo normal¹¹. Esto se puede conseguir en *Drosophila* generando múltiples copias del gen normal, o produciendo mutaciones de tipo operador-constitutivo, o mutaciones en genes reguladores en sistemas de control negativo. De esta manera si el fenotipo mutante resulta de una perturbación por falta de función, en individuos con sobreproducción del alelo normal ésta aparecería simplemente corregida. Pero si la función del gen normal es decidir una alternativa de desarrollo, un exceso de función daría lugar a fenotipos opuestos a los de su falta o a la aparición de fenotipos nuevos en lugares no afectados por los mutantes nulos¹². Este estudio puede ayudar a distinguir entre genes que codifican para enzimas metabólicos, de otros que

juegan un papel regulador en el desarrollo (homoeóticos, diferenciación sexual, genes de patrones morfológicos, etc.).

Dominancia y recesividad de los alelos mutantes nos puede servir de indicio del valor sintáctico del gen normal. La mayoría de las mutaciones en organismos diploides son recesivas, es decir, la insuficiencia de una de las dos copias del gen es salvada por la función del homólogo. En algunos casos los alelos nulos tienen un fenotipo dominante. Sabemos que este fenotipo es debido a insuficiencia porque extra copias del gen normal salvan el fenotipo. Sin embargo, otros fenotipos dominantes no pueden salvarse por extra copias de los genes normales, es decir, su fenotipo puede corresponder a un exceso de transcripción del gen (p. ej., mutaciones operador-constitutivas), a insuficiente degradación, a perturbaciones en componentes multiméricos, etc.

La viabilidad diferencial y el fenotipo de la misma mutación en diferentes tejidos ayuda a comprender la función normal del gen al estudiarlo en diferentes fenomas. Este análisis recibe su sentido del hecho demostrado por la fisiología química que sólo moléculas de bajo peso molecular difunden libremente entre células. Si la mayoría de los productos génicos primarios permanecen dentro de las células, el estudio de autonomía celular de la expresión mutante, los requerimientos genéticos de diferentes tejidos y los fenotipos de letales se pueden estudiar a nivel celular¹³. Mutaciones letales zigóticas pueden ser letales en todos los tipos celulares —sugiriendo perturbaciones en funciones metabólicas fundamentales, como síntesis de proteínas—; en algunos tipos celulares —asociados con sus propiedades anatómicas o su tipo de proliferación—; o viables —sugiriendo que la insuficiencia es salvable por sustancias difusibles como hormonas, metabolitos, cAMP, etc. El estudio de mutantes morfológicos en células en proliferación, durante el desarrollo, puede indicarnos los parámetros celulares afectados por la mutación (p. ej., ritmos de división, orientación del eje mitótico, cohesividad y reconocimiento celular) o identificar el efecto de mutaciones sistémicas en el organismo (homoeóticos, de diferenciación sexual, de patrones morfológicos) al nivel celular¹⁴. Finalmente el estudio de mosaicos genéticos de territorios mutantes y normales pueden apuntar a interacciones celulares espaciales de corto o medio rango. Y, por otro lado, el estudio de territorios mutantes iniciados en diferentes momentos del período proliferativo nos per-

mite distinguir estadios después de los cuales la función de un gen no se requiere porque su mutación no afecta el fenotipo y así identificar perfiles temporales de acción génica¹⁵.

El análisis genético se enriquece aún más por el estudio de combinaciones de mutantes. Mientras que el análisis de fenotipos de perturbación en un locus nos deja ambigüedades en la interpretación de la función afectada, mutaciones dobles pueden reducir esta ambigüedad y comprobar doblemente las funciones inferidas para cada locus. Este análisis puede descubrir interacciones epistáticas —sugiriendo la participación de estos genes en el mismo proceso—, sus relaciones sinérgicas o su aditividad (independencia). En este último caso nuevos fenotipos pueden aparecer (como los ojos blancos por mutación en los dos caminos metabólicos de pigmentos del ojo) o por efectos combinatoriales (efectos de dobles mutantes homoeóticos)¹⁵. Otro tipo de análisis genético, llamado de titulación de dosis génicas, estudia fenotipos que resultan, no de mutación, sino de confrontar diferentes dosis relativas de un par de genes¹⁷. De esta manera se pueden descubrir dependencias entre ellos que pueden ser de tipo regulador (gen regulador-gen dependiente) y servir para descubrir redes de regulación (como en el sintagma *bithorax*, ver después).

Si hemos seguido la analogía formal entre proceso (metabólico o de ensamblaje) y oración, es útil comparar la existencia de procesos integrados de orden superior, «operación» o «sintagma», con el de «texto» en lingüística. La existencia de interacciones moleculares específicas de orden superior al de «proceso» se infiere de observaciones fenomenológicas. Se incluirían aquí procesos integrados con soluciones discontinuas como son los diferentes tipos de diferenciación celular, los linajes celulares, operaciones morfogenéticas, etc. Los tipos de diferenciación celular aparecen en todos los organismos como clases discretas de células con características moleculares (procesos y productos) y estructuras distintas. En vertebrados puede haber entre 100 y 200 tipos celulares distintos. La independencia de los procesos de diferenciación uno de otro se reconoce fácilmente en la existencia de tejidos con múltiples diferenciaciones terminales (osteo-dentina y tejido condrioide-óseo en peces primitivos, neuronas epiteliales, fibrillas neuromusculares, etc.). Estos tipos celulares de diferenciación terminal normalmente aparecen en linajes celulares específicos (p. ej., las series de fibroblas-

tos, condrioblastos y eritropoieticas) que a su vez derivan de capas germinales distintas. La existencia de linajes celulares distintos y de tipos de diferenciación celular discontinuos sugieren la existencia de sistemas génicos discretos.

Es relativamente fácil imaginar la participación de genes específicos en procesos lineales como los metabólicos, de linaje celular y diferenciación terminal. Es mucho más difícil, hoy por hoy, inferir las bases genéticas que determinan operaciones morfogenéticas discretas, como reconocimiento celular y migración celular, la diferenciación celular en patrones bidimensionales y tridimensionales, la determinación de un número constante de segmentos o de la forma y el tamaño de órganos. Obviamente estas operaciones, así definidas, son categorizaciones fenomenológicas todavía no descompuestas en procesos y, por lo tanto, todavía incomprensibles en términos de funciones génicas específicas. La posibilidad de llevar el análisis genético en *Drosophila* al nivel celular permite conectar fenómenos de desarrollo con mecanismos moleculares. Este es el nivel obligatorio para entender las transformaciones entre la información genética y la morfogénesis. Pasaré ahora a considerar someramente algunos parámetros y operaciones que el análisis genético a este nivel ha descubierto en la morfogénesis de *Drosophila*.

Operaciones y sintagmas en Morfogénesis

Datos mutacionales, citogenéticos y moleculares indican que el diccionario de *Drosophila* contiene de cinco a diez mil genes distintos^{18, 19}. Las mismas dificultades que encuentra el lingüista en la definición de palabra las encuentra el genetista tratando de definir genes; no voy a entrar en ello. Tenemos que añadir a este número el de metabolitos que intervienen en los procesos morfogenéticos o en la estructura fenómica. Sin embargo, puesto que la mayoría de las moléculas simples resultan de la modificación por genes y aparecen en todos los organismos voy a considerarles al menos igual en número al de genes. Naturalmente, moléculas compuestas y heteropolímeros pueden generarse, en gran diversidad, por la acción de pocos genes (p. ej., mucopolisacáridos en membranas determinando propiedades de adhesividad y reconocimiento celular). Aún después de estas consideraciones resulta sorprendente que *Dro-*

sophila se pueda construir con un número de genes que no excede en un orden de magnitud del calculado para bacterias. La cifra calculada para el ratón, basada en datos moleculares, es de unos cuarenta mil genes²⁰. Obviamente la complejidad morfológica aparente de una *Drosophila* y de un ratón no puede resultar de la adición de nuevos genes a los encontrados en bacterias.

La mayoría de los genes en su forma nula son letales en *Drosophila*. La mayoría de los letales (70 %) son letales autónomos en células de la línea germinal hembra, el sistema de proliferación más exigente conocido en *Drosophila*²¹. Puesto que otros letales con efectos morfogenéticos (genes homoeóticos y otros) son viables en este sistema, pero manifiestan un fenotipo mutante en otros tipos de células se puede concluir que la mayoría de los mutantes son autónomos celulares²². Esto indica que la morfogénesis resulta de procesos autónomo-celulares que reflejan los particulares apogenomas activos en ellas. La morfogénesis aparece así como un proceso descentralizado.

Una fracción de los genes en su condición mutante afecta solamente un subgrupo de fenotipos. Así, por ejemplo, los mutantes de color de ojo (y son conocidos aproximadamente 60 loci) no tienen ningún efecto morfológico²³. Lo mismo ocurre con mutantes que causan la esterilidad en machos. Mutantes homoeóticos, aun sus alelos letales, tienen fenotipos restringidos a segmentos o compartimentos particulares. Mutantes de diferenciación sexual también tienen fenotipos limitados a los caracteres con dimorfismo sexual. Una mayoría de los letales que son viables celulares en ciertos tejidos no muestran fenotipo anómalo. En otros casos de mutantes que causan fenotipos morfológicos disruptivos y múltiples, sus efectos pueden retrotraerse a malfunciones celulares específicas (p. ej., adhesividad celular en mutantes que recortan el ala), y, por lo tanto, su fenotipo pleiotrópico puede explicarse por una perturbación de una función u operación celular en un fenoma combinatorial²⁴. Otros fenotipos pleiotrópicos pueden resultar de efectos en cascada de una malfunción primaria en sistemas con diferentes umbrales. Así unos 40 loci diferentes, llamados *Minute*, tienen alelos mutantes, letales en homocigosis en organismo y en células, y el mismo fenotipo haplo-insuficiente en heterocigosis. Este último consiste en un síndrome complejo (polifénico), debido con seguridad a una insuficiente eficiencia en la síntesis de proteínas, como esperado

de mutantes en cada uno de los loci que codifican para las proteínas ribosomales^{25, 26}.

De este análisis se deriva que la mayoría de los genes participan en pocos procesos y sus efectos quedan restringidos al proceso que afectan —como cabe esperar del hecho de que las moléculas que participan en diferentes procesos se ignoran entre sí por falta de reconocimiento molecular. Por ello, en células individuales, el pleiotropismo en cascada causado por mutación queda reducido a un mínimo y la mayoría del pleiotropismo observado puede ser combinatorial en origen. Así pues, la diversidad morfológica puede explicarse por superposición combinatoria de procesos independientes. Si esto es cierto el análisis genético debería ser capaz de poder descomponer los procesos particulares involucrados. (Discutiremos más adelante una concepción distinta del genoma que se deriva de experimentos en selección artificial para caracteres cuantitativos.)

Para inferir la función de un gen utilizamos el fenotipo de sus mutaciones y deducimos de él su función normal. Esta deducción es fácil cuando observamos directamente el fenotipo metabólico, como los mutantes nutricionales en bacterias o *Neurospora* o los mutantes de pigmentos de ojos en *Drosophila*, porque sabemos que intervienen en procesos lineales: rutas metabólicas. Esa deducción es más difícil en mutantes morfológicos porque no conocemos las rutas de desarrollo que llevan a la morfología normal.

Los estudios de linaje celular (análisis clonal) del desarrollo normal han permitido definir algunas rutas de desarrollo²². Así se mantiene, por lo menos para los derivados epidérmicos que darán lugar a la cutícula de la mosca, que poblaciones de células del blastodermo original se segregan en diferentes linajes que darán lugar a los segmentos. Estos, por subsecuentes subdivisiones dicotómicas, homólogas en todos los segmentos, darán lugar a los compartimentos en los cuales aparecerán específicos patrones cuticulares²². Es en este contexto en el que la función de los genes con fenotipos homoeóticos puede ser entendida ahora. Los mutantes homoeóticos transforman segmentos y compartimentos en sus rutas alternativas²⁸. De este modo alelos del complejo génico *Antennapedia* (ANT-C) transforman segmentos anteriores (cefálicos) en segmentos más posteriores, hasta los segmentos torácicos²⁹. De un modo similar los genes del complejo *bithorax* (BX-C) en su condición mutante,

transforman segmentos caudales (abdominales) en segmentos más anteriores, hasta los torácicos¹². Así, podremos interpretar la función normal de estos genes como determinando la especificación de segmentos cefálicos o abdominales como alternativa a un segmento torácico. Esta inferencia se confirma en el fenotipo de los mutantes de exceso de función de esos mismos genes. Estos causan las transformaciones opuestas hacia segmentos más anteriores en el ANT-C y más posteriores en el BX-C. Análogamente, mutaciones en el gen *engrailed* transforman los compartimentos posteriores en los correspondientes anteriores del mismo segmento³⁰. De ello inferimos que la función normal de este gen es especificar una propiedad «posterior» como alternativa a una propiedad «anterior» en cada segmento. La combinación doble mutante, por ejemplo, *bithorax* y *engrailed*, generan la doble transformación homoeótica: estructuras posteriores de un segmento son transformadas en anteriores de otro³⁰. Estos resultados indican que la especificación normal de cada compartimento viene dada por una función combinatoria, aditiva, de varios genes homoeóticos en sus dos posibles estados alternativos: activo o inactivo. Así, de las 2ⁿ soluciones posibles, la descripción genética («señas») de un determinado compartimento viene dada en un código binario (p. ej., 01001), en el cual cada dígito corresponde a una alternativa particular, definida por la actividad de un gen³¹. Tanto el análisis de desarrollo como el genético indican que esos genes son «específicos» de esa función. El análisis molecular está ahora mostrando que estos genes son a su vez genes complejos, que contienen varias unidades de transcripción y patrones complejos de transcripción³². Es posible que la especificidad de su función resulte de efectos combinatoriales de los diferentes mensajes de estas subunidades génicas.

Hay mutaciones homofénicas en otros loci que muestran los fenotipos, de falta o de exceso de función, de mutaciones en los complejos *ANT* y *BX*. Análisis genéticos y de desarrollo de tales mutaciones indican que están implicados en la regulación de estos complejos. Parece ser que la operación involucrada en la activación de los genes de estos complejos en el blastodermo está determinada por diferencias en la concentración, a lo largo del eje cefalo-caudal del embrión, de un represor, codificado por un locus en exceso sobre un producto inductor codificado por otro locus³³. Los genes *ANT* y *BX* obviamente no pueden informar directamente todos los

rasgos y caracteres de diferenciación que distinguen segmentos. Por lo tanto, se postula que ejercen su función controlando la actividad de otros genes, realizadores, que expresan sus señales segmentales en operaciones celulares que determinan los caracteres finales distintivos²⁸. Así el análisis genético sugiere que la especificación de compartimentos —linajes celulares— requiere operaciones genéticas escalonadas, organizadas de un modo jerárquico, que transforma señales posicionales en operaciones biológicas discontinuas y específicas. La serie jerárquica de genes implicados en un paso de especificación constituye lo que he llamado un «sintagma» —una unidad gramatical más compleja que el simple operon en bacterias³⁴.

Se conocen otros genes o complejos génicos específicamente implicados en la distribución ordenada de elementos inervados en los patrones cuticulares (el complejo *achaete-scute*) con relaciones sintagmáticas similares. En este sintagma, cantidad de acción génica del complejo se transforma en densidad de diferenciación de quetas y ésta en posición relativa en el patrón³⁵. Aún más complejo es el sintagma implicado en la transformación de la señal celular basada en la razón cromosomas sexuales/autosomas en la aparición de características de diferenciación sexual en las células donde hay dimorfismo sexual³⁶.

Como hemos mencionado, todas estas características sistémicas de segmento, compartimento, posición de elementos inervados, diferenciación sexual, etc., son autónomas celulares. Los mutantes expresan la correspondiente transformación fenotípica en mosaicos genéticos, es decir, en células mutantes rodeadas de células normales. Además, estos cambios fenotípicos pueden ocurrir en clones mutantes iniciados en cualquier momento del período de proliferación celular. Esto indica que esas propiedades sistémicas son reversibles, es decir, su especificidad no resulta de efectos en cascada de operaciones de desarrollo más tempranas².

La embriología experimental ha descubierto hace tiempo que los tejidos embrionales dependen unos de otros (inducciones embrionales: interacciones a corta distancia) o de la presencia de hormonas (interacciones a larga distancia) para la normal morfogénesis y diferenciación. Cuando se ha analizado en detalle esta fenomenología se ha distinguido, en la reacción, entre el estímulo y la especificidad del sistema que responde. En el caso de la acción

hormonal está claro que sus efectos vienen mediados por moléculas receptoras específicas que reconocen la estructura molecular de la hormona, se unen a ella y transportan el complejo a un grupo predefinido de genes que responde³⁷. Desde el punto de vista genético —informativo—, la especificidad de la reacción se encuentra, pues, en la especificidad del sistema que responde. Las hormonas aparecen, pues, como elementos deícticos que ayudan a coordinar en el tiempo o a modular en cantidad, funciones fisiológicas predefinidas (p. ej., mudas en Artrópodos o producción fisiológica de ovoalbúmina en Vertebrados). Es decir, las hormonas meramente desencadenan la realización de un programa genético preexistente.

La inducción embrional es un fenómeno más complejo, en el que posiblemente diferentes concentraciones de moléculas de inductor en el espacio y en el tiempo, activan grupos preestablecidos de acciones génicas en los tejidos que pueden responder, esto es, que son competentes. En los Vertebrados una gran diversidad de sucesos morfogénicos pueden resultar de series en cascada de pasos inductivos. La presencia o ausencia de las moléculas de inductor puede generar caminos alternativos de diferenciación celular³⁸. De nuevo, en este caso, los elementos deícticos inductores seleccionan programas alternativos preestablecidos.

Todavía más complejas parecen ser las operaciones que llevan a la formación de patrones integrados en el espacio o están involucradas en el control de tamaño y forma de órganos. Estudios embriológicos clásicos y recientes han mostrado que la distribución espacial constante de los elementos en patrones morfológicos depende de «referencias internas» del tejido en desarrollo³⁹. Estudios genéticos han permitido descomponer patrones complejos en subpatrones de diferentes tipos de elementos, cada subpatrón generado por distintas operaciones genéticas. Así, patrones morfológicos complejos parecen consistir en la superposición de patrones individuales. Pueden ser, por tanto, considerados como combinatorias espaciales de patrones determinados⁴⁰. En estos patrones complejos los diferentes tipos de elementos pueden usar la misma referencia, o los subpatrones individuales tomar como referencia los patrones formados con anterioridad (p. ej., la pigmentación en relación con la venación y ésta con la traqueación en las alas de mariposa)⁴¹. Sin embargo, en estas operaciones no conocemos los elementos deícticos coordinadores.

Como fué el caso en la paradoja de la adaptación enzimática a específicos substratos metabólicos y el de la respuesta inmune a multitud de antígenos, estamos más inclinados a interpretar estos fenómenos de desarrollo dependientes de posición y tiempo, en términos de interacciones permisivas más que instructivas. La especificidad de desarrollo y las estructuras morfológicas encontradas en los organismos parecen ser en gran medida una consecuencia de la gramática genética de la especie más que de condicionantes semánticos o epigenéticos. Más aún, puesto que estos factores epigenéticos tienen que ser reconocidos molecularmente por los productos genómicos, sus interacciones resultan constitutivas, formalmente, de los apogenomas de la especie.

Análisis transformacional en desarrollo y evolución

Lo que antecede puede corresponder a un análisis sincrónico de la morfogénesis. Vamos a considerar ahora sus aspectos diacrónicos.

El desarrollo y la anatomía típica de *Drosophila melanogaster* es un caso particular dentro del género *Drosophila*, el orden de los Dípteros, entre Insectos, Artrópodos, etc. ¿Hasta dónde en la jerarquía taxonómica son todavía aplicables las explicaciones causales de los diferentes procesos morfogenéticos y su control genético descubiertos en *D. melanogaster*?, ¿podemos identificar procesos y operaciones que sean invariantes en el desarrollo de cualquier especie animal? La respuesta deberá ser negativa para operaciones más específicas que vagas generalidades, si el genoma es tan plástico que las soluciones morfológicas que aparecen resultan de llenar todos los nichos adaptativos disponibles. La respuesta puede quizá ser más positiva si lo que consideramos son las reglas generativas que determinan estas operaciones morfogenéticas. Esto es, si las morfologías particulares resultan de transformaciones de reglas generativas definidas por las restricciones de las interacciones génicas. Voy a explorar aquí las consecuencias de este enfoque basadas en nuestro conocimiento de las operaciones genéticas estudiadas en *D. melanogaster*.

Hemos visto anteriormente que el desarrollo procede por diversificación de especificaciones genéticas. Posiblemente todas las cé-

lulas están genéticamente especificadas, de una manera u otra, durante todos los estadios del desarrollo. Especificaciones más detalladas consisten en un aumento en el número y la longitud de las «señas» genéticas que definen ramificaciones en linajes celulares o rutas de desarrollo. La complejidad en patrones espaciales, por otro lado, resulta de la superposición de patrones individuales. De esta manera, complejidad en Desarrollo se puede generar por combinatorias de funciones génicas y operaciones discretas. Esta concepción da cuenta, en términos genéticos, de la noción clásica del Desarrollo, derivada de la morfología descriptiva y experimental, que ve éste como un aumento en la pérdida de potencias prospectivas, o como un proceso que va de lo general a lo particular.

Encontramos reglas combinatoriales en la asociación de nucleótidos para especificar aminoácidos y de éstos para especificar proteínas; en la organización de genes complejos y en la generación de rutas de desarrollo y de patrones morfológicos. En todos los casos la realización de estas soluciones combinatoriales es morfológicamente discontinua.

El análisis genético sugiere que los mismos genes están funcionando en los estadios embrionarios, larvarios e imaginales de *Drosophila* y en una mayoría de sus tejidos, con pocas excepciones aplicables a algunas características de diferenciación terminal. Esto es consistente con datos bioquímicos que indican que una alta fracción de genoma está implicada en el metabolismo intermediario en todas las células, otra fracción en metabolismo terminal o periférico y una pequeña fracción implicada en la especificación de rutas del desarrollo y en diferenciación terminal. Así, la noción de la existencia de genes específicos para operaciones morfogenéticas tempranas como opuesto a tardías, o para procesos generales como opuesto a específicos, posiblemente no tiene o tienen escasa representación genética. Posiblemente las mismas operaciones morfogenéticas, como reconocimiento celular, migración celular, diferentes tipos de proliferación celular, etc., pueden participar en estadios tempranos o tardíos y en toda clase de tejidos y organismos. Más aún, sus bases genéticas posiblemente se han mantenido conservadas a través de la evolución.

La determinación genética de procesos y operaciones está restringida internamente por propiedades de reconocimiento molecu-

lar de tal manera que hay posibilidades limitadas para interacciones génicas múltiples o para intervenciones epigenéticas. Las últimas operan fundamentalmente modulando. Modulaciones dan lugar a variaciones monotónicas en cantidad, en velocidad (tiempo) o desencadenan respuestas discontinuas, como lo hacen las hormonas, inductores embrionarios, etc., de un programa genético preexistente. Así resulta antropomorfismo descriptivo el concebir homeostasis, regulación embrionaria y regeneración, como operaciones especializadas (con un algoritmo genómico particular) distintas de aquellas involucradas en los procesos normales de proliferación celular y de interacciones celulares. La explicación de aquellas propiedades vendrá dada cuando entendamos estas operaciones del desarrollo normal.

Desde el punto de vista genético o informacional el desarrollo aparece como una realización de grupos predefinidos de instrucciones génicas (apogenomas) que interactúan, por reconocimiento molecular específico, generando operaciones y fenomas que dan lugar a las formas que ve el anatomista. Los elementos epigenéticos (externos al programa genético) simplemente seleccionan apogenomas preexistentes. Esto es, las modulaciones en desarrollo resultan de operaciones permisivas más bien que instructivas.

La distinción entre algoritmos apogenómicos generando fenomas y fenotipos definiendo formas, es fundamental para comprender los cambios morfológicos que aparecen en Evolución. La evolución morfológica está considerada como el resultado de la selección de los genotipos que determinan las formas más adaptadas. Una pregunta surge inmediatamente, ¿a qué niveles de la generación de formas opera la selección natural? La evolución morfológica aparece asociada a un aumento en diversidad morfológica y en complejidad morfológica. Esta afirmación lleva a otra pregunta: el aumento en diversidad morfológica, ¿depende de la adición de nuevos genes y funciones o de sustituciones alélicas y nuevas interacciones combinatoriales de genes preexistentes?

Los mecanismos involucrados en la selección natural se han estudiado en sistemas modelos por genetistas de poblaciones o se han inferido por genetistas de caracteres cuantitativos en experimentos de selección artificial. Desafortunadamente los primeros han estudiado fundamentalmente la variabilidad de genotipos determinan-

tes de polimorfismos enzimáticos (¡además, para enzimas relacionados con el metabolismo intermediario!). No sabemos si sus conclusiones relativas al valor selectivo o neutro de variantes alozímicas son extrapolables al valor adaptativo de variantes con efectos morfológicos. Por otro lado, los genetistas de caracteres cuantitativos manipulan genomas integrados y por ello modelos más cercanos al mundo real. Sin embargo, los resultados de sus experimentos sugieren genomas extraordinariamente plásticos, en los cuales variaciones alélicas en todos o la mayoría de los genes están involucrados, en mayor o menor grado, en la realización de cualquier forma diferencial. Si extrapolamos estas nociones al proceso selectivo en evolución las especies movilizarían todo el poliformismo genético necesario para conseguir una adecuación morfológica máxima. Esta optimización se vería reflejada en la constancia morfológica de los individuos de una especie y en la variación discontinua entre individuos de distintas especies. Esta constancia sería la objetiva manifestación de su «adaptación». En estas concepciones el genoma es plástico, con variantes alélicas suficientes para cualquier requerimiento morfológico y la selección natural elegiría las formas finales más adaptadas.

En contraste con esta noción, la genética del desarrollo muestra un genoma limitado en sus posibles variaciones por interacciones moleculares y con un inventario finito de soluciones morfológicas discretas, consecuencia de la naturaleza discontinua de funciones combinatoriales. En esta noción la selección natural aparece fundamentalmente como estabilizante. En los procesos de especiación, el aislamiento genético de pequeñas poblaciones conlleva un muestreo aleatorio del polimorfismo genético preexistente en la población. La deriva genética, si es, además, reforzada por reordenaciones moleculares («molecular drive»), llevará a una «revolución genética»^{5, 42}. Tras ella las poblaciones resultantes o perecen o aumentan su adecuación (fitness) reproductiva y se establecen. Cabe pensar que la selección natural operando entonces sea primariamente más sensible a perturbaciones fisiológicas o fenómicas profundas que a las variantes morfológicas atrapadas en el aislamiento. La selección natural forzaría modulaciones correctoras (por ejemplo, en cantidad de transcripción o en fijación de alelos en sistemas coadaptados), aunque al hacerlo aparezcan nuevas formas causadas por los genotipos atrapados en el aislamiento y las fijará

con el primordial objeto de disminuir la varianza fenomica. El problema de la aparición de apogenomas distintos queda relegado al problema de modulaciones temporales o espaciales de los preexistentes antes de la especiación. La aparición de apogenomas nuevos, de interacciones moleculares cualitativamente distintas, es posiblemente un fenómeno raro en evolución. Debemos preguntarnos, entonces, si la constancia morfológica en individuos de la misma especie —el atributo objetivo de su valor adaptativo— se debe a selección estabilizante, independientemente de la adecuación de la forma observada particular. La cuestión de cuánto «ruido» o variación fenotípica puede permitirse un sistema, compatible con adecuación reproductiva, está por ser explorada ⁴⁴.

Si la selección percibe primariamente funciones (cambios fenomicos) más que formas, éstas se convierten en sus productos secundarios, desde el punto de vista evolutivo. Si la selección no es muy restrictiva para formas se explican mejor ciertas paradojas evolutivas. Así, la aparición de formas discontinuas puede resultar de soluciones combinatoriales de funciones cuyos componentes han sido probados previa e independientemente. Estas soluciones combinatoriales corresponderían a las clásicas macromutaciones en «genes especiales» ⁴³. La idea de que en las series evolutivas todos los intermediarios morfológicos tienen que ser «funcionales» se hace innecesaria. Es más fácil comprender así cómo ciertos caracteres morfológicos se exageran en ciertas series evolutivas (ortogénesis) sin tener que estar seleccionados en cada paso diferencial, como lo requiere la noción gradualista neodarwiniana. Variaciones alométricas y ortogénesis resultarían así consecuencia de reajustes funcionales que preceden y son independientes de su valor adaptativo ⁴⁴. Esto representa poner la idea clásica de «preadaptación» en otro contexto y darle otro sentido.

La explicación de una diversidad morfológica en términos de superposición combinatorial de procesos o rutas de desarrollo independientes, permite entender más fácilmente cómo la selección puede operar en subsistemas particulares (por ejemplo, en los distintos segmentos de insectos) sin efectos en cascada o generalizados en todo el organismo ⁴⁵. Esto significa que distintos genomas pueden ser puestos a prueba y generados nuevos apogenomas, independientemente, en partes diferentes del mismo organismo y en diferentes estadios de su desarrollo. Esto explica que el mismo genoma y po-

siblemente los mismos apogenomas generen formas tan distintas como las encontradas en especies con metamorfosis, metagénesis y polimorfismo de castas. Así las nociones clásicas derivadas de la morfología comparada de que el desarrollo (v. Baer) procede de lo general a lo particular y que estos pasos repiten el proceso evolutivo (Haeckel), aunque morfológicamente puede ser cierto, no es generativamente, causalmente, necesario. Modificaciones tempranas al plan general de la embriogénesis se conocen en muchas series evolucionarias en Vertebrados y Artrópodos. Mutaciones que afectan el plan general del organismo como las mutaciones homoeóticas son conocidas en Insectos y hay posibles paralelos en Vertebrados⁴⁶. Genéticamente tan controladas aparecen las operaciones tempranas del desarrollo como las tardías y la variación mutacional puede, por lo tanto, afectar unas u otras. La estabilidad asignada al desarrollo temprano como resultado de operaciones más básicas e indiferenciadas, es decir, que requieren menos información genética, debe actualmente revisarse conforme aumenta nuestro conocimiento de la complejidad de la información genética materna dejada en el oocito⁴⁷.

Esta idea de la evolución morfológica como resultado de cambios transformacionales de fenómenos similares permite reducir a una base común problemas que surgen en dos concepciones contrastadas en Taxonomía⁴⁸. Una, cladista, basada en datos de la anatomía comparada (Morfología racional, v. Baer), trata de identificar y seriar grupos naturales de organismos relacionados por compartir caracteres homólogos. Este enfoque se enfrenta con problemas de seriación en la búsqueda de «arquetipos»; por ejemplo, cuando hay organismos obviamente relacionados que muestran recíprocamente caracteres sobrelapantes dentro de otros no sobrelapantes. En la otra concepción taxonómica, basada en la idea de evolución, homología es el resultado de derivación genética (filogenética, Haeckel). Sin embargo, este enfoque encuentra dificultades similares cuando trata de identificar o describir «especies ancestrales» para poder seriar diversidad morfológica en un orden monofilético unívoco. Estas dificultades llevarían a la búsqueda de formas intermedias (fósiles) o estadios intermedios en desarrollo para confirmar la seriación cladista o la filogenética. El problema queda en muchos casos sin resolver porque si se mantienen las premisas de los dos enfoques, o las formas homólogas tienen que convertirse

en análogas —generadas por diferentes mecanismo genéticos—, o las series monofiléticas deben convertirse en polifiléticas, lo cual es genéticamente imposible o requiere la repetida aparición de las mismas mutaciones en series separadas.

Sin embargo, si la homología se deduce, no del aspecto morfológico adulto o embrionario, sino de sus reglas generativas, las diferentes formas pueden explicarse genéticamente como diferentes soluciones combinatoriales (transformaciones) de las mismas operaciones genéticas. Así pueden explicarse la aparición de los mismos patrones de quetas en diferentes ramas filogenéticas del mismo género *Drosophila*⁴⁹. Así se explican las mutaciones homoeóticas, que dan lugar a la sustitución de las características de una parte del organismo por las características de otra, al descubrir un camino alternativo —el arquetípico— bloqueado por el alelo normal del gen homoeótico⁴⁵. Igualmente pueden explicarse así variaciones incluidas en la denominación general de heterocronias⁵⁰. Este es el caso de la aparición de formas ancestrales, como resultado de mutación en algún elemento de una combinatoria, o atávicas por mutación en elementos reguladores de un camino de desarrollo no realizado (suprimido) en el desarrollo normal de la especie. En todos estos casos las nuevas formas resultan de las mismas operaciones que están en juego en otros momentos o partes del organismo. Igualmente puede explicarse así la aparición de formas abortivas o parasíticas y de formas neoténicas o paidomórficas. Ambas resultan del desplazamiento temporal relativo de procesos de desarrollo controlados independientes. Las formas neoténicas no son terminales filogenéticamente porque retienen todos o la mayoría de los apogenomas operacionales en estadios embrionarios. Es a partir de estos mismos apogenomas como surgen nuevas ramas evolutivas que rápidamente conducen a nuevas formas. Esta es en parte la explicación, como todos ustedes saben, de que yo esté hablando aquí y ahora en lugar de un simio.

El análisis precedente, basado en nuestro conocimiento, todavía muy preliminar y vago, de una gramática genética permite ciertas generalizaciones sobre desarrollo y evolución. Voy a atreverme a esbozarlas, con el fin de que sirvan de resumen de lo antes dicho. Mientras que la información que es transmitida entre generaciones de individuos o de células, es fundamentalmente lineal o monodimensional, el desarrollo y la evolución son cuatridimensionales. Las

transformaciones que ligan estas dimensiones son jerárquicas. La generación de estas jerarquías resulta de un aumento en los grados de libertad en la interacción entre moléculas. En procesos celulares básicos (metabolismo intermediario y energético, construcción de estructuras moleculares complejas) las restricciones impuestas por la necesidad de un reconocimiento molecular dejan pocos grados de libertad en las interacciones. Por las mismas razones estos procesos son altamente independientes unos de otros. Estos procesos celulares básicos se mantienen así durante el desarrollo y en la evolución. Los grados de libertad de estas interacciones aumentan en procesos celulares más periféricos (por ejemplo, en comportamiento celular: reconocimiento celular, migración celular, diferentes tipos de proliferación celular, etc.). La integración de procesos en operaciones, al principio laxa, puede haberse hecho más y más específica, a lo largo de la evolución, con la aparición de elementos de coordinación. Estos son elementos deícticos (hormonas, inductores, nucleótidos y metabolitos particulares, etc.) que modulan o coordinan programas preestablecidos de procesos genéticos. A estos niveles de complejidad determinación genética se convierte en restricción genética. Las operaciones que resultan de combinaciones de procesos están todavía limitadas por reconocimiento molecular, pero nuevas combinaciones permiten diversificación y con ello mayores grados de libertad. Las condiciones externas al organismo se hacen así cada vez menos restrictivas y los organismos pueden sacar partido a nichos ecológicos más extremos o exigentes, generando así una mayor diversidad —no necesariamente complejidad— de formas. A partir de cierta complejidad, en los grupos taxonómicos mayores, la diversificación de formas tiene lugar por sustituciones alélicas y modulación de actividad génica, más bien que por adición de nuevas funciones, reteniendo las mismas operaciones génicas. La complejidad adquirida, por otro lado, se convierte en un factor de inercia a innovaciones.

De esta manera complejidad morfológica puede entenderse por reglas de transformación de una serie finita de operaciones génicas básicas. Si el desarrollo y la evolución resultan de transformaciones de operaciones génicas discretas, para entenderlas necesitamos una gramática genética que nos descubra reglas generativas; esto es, necesitamos saber más sobre la estructura apogenómica del fenómeno. Así estaremos preparados para enfrentarnos con la cuestión de una

estructura de nivel semántico o epigenético que determine «especificidad morfológica» en desarrollo y evolución⁸. No sabemos si este nivel semántico está definido por algo más que contingencias epigenéticas necesarias para la realización de la información genética, es decir, si este nivel está «estructurado». Si lo estuviese, el problema sería entender cómo sus estructuras afectan y se proyectan en el genoma durante la evolución y en los fenomas durante el desarrollo. Es posible que las propiedades inferidas en este nivel semántico no sean sino categorizaciones humanas para explicar *ad hoc* el mundo morfológico concreto que observamos, pero que éste sea uno de muchos generativamente posibles.

REFERENCIAS

1. Harris, Z. S. (1961). «Structural Linguistics». Univ. Chicago Press, Chicago; Chomsky, N. (1957). *Syntactic Structures*. Mouton, The Hague; vid: Lyons, J. (1968). *Introduction to theoretical Linguistics*. Cambridge Univ. Press.
2. Chomsky, N. (1965). «Aspects of the theory of Syntax». M. I. T. Press, Cambridge, Mass.
3. Jacob, F., y Monod, J. (1963). En: «Cytodifferentiation and Macromolecular synthesis» (M. Locke, ed), pp. 30-64. Academic Press, N. York.
4. Jacob, F. (1977). *Science* 196, 1161-1166.
5. Dover, G. A. (1982). *Nature* 299, 111-117.
6. Ohno, S. (1970). «Evolution by gene duplication». Springer-Verlag, N. York.
7. Waddington, C. H. (1957). «The strategy of genes». Allen and Unwin, London.
8. Alberch, P. (1980). *Amer. Zool.* 20, 653-667.
9. García-Bellido, A. (1979). *Genetics* 91, 491-520.
10. Stern, C. (1954). *Amer. Sci.* 43, 213-247.
11. Muller, H. J. (1932). *Proc. Int. Congr. Genet.* 6th. Ithaca. N. York, 1, 213-255.
12. Lewis, E. B. (1978). *Nature* 276, 565-570.
13. Ripoll, P., y García-Bellido, A. (1972). *Nature, New Biology*, 241, 15-16.
14. Ferrús, A., y García-Bellido, A. (1976). *Nature* 260, 425-426.

15. García-Bellido, A., y Merriam, J. R. (1971). *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 2222-2226.
16. García-Bellido, A., y Santamaría, P. (1972). *Genetics* 72, 87-104.
17. Botas, J.; Moscoso del Prado, J., y García-Bellido, A. (1982). *The EMBO Journal*, 1, 307-310.
18. Lefevre, G. (1974). *Ann. Rev. Genet.* 8, 51-62.
19. García-Bellido, A., y Ripoll, P. (1978). *Nature* 273, 399-400.
20. Bishop, J. O.; Beckmann, J. S.; Campo, M. S.; Hastie, N. D.; Izquierdo, M., y Perlman, S. (1975). *Phil. Trans. Roy. Soc. London B* 272, 147-157.
21. García-Bellido, A., y Robbins, L. G. (1983). *Genetics* 103, 235-247.
22. García-Bellido, A., y Ripoll, P. (1978). En: «Results and problems in cell differentiation». (W. Gehring, ed) 9, 119-156. Springer-Vlg. Berlín.
23. Lindsley, D. L., y Grell, E. H. (1968). *Carnegie Inst. Wash. Publ.* n.º 627.
24. Santamaría, P., y García-Bellido, A. (1975). *Roux' Arch.* 178, 233-245.
25. Morata, G., y Ripoll, P. (1975). *Develop. Biol.* 42, 211-221.
26. Ferrús, A. (1975). *Genetics* 79, 589-599.
27. Huang, S. L., y Baker, B. S. (1980). *Mutation Research* 34, 407-414.
28. García-Bellido, A. (1975). En: 29 CIBA Symposium «Cell patterning», pp. 161-182. Elsevier, Amsterdam.
29. Wakimoto, B., y Kaufman, T. (1981). *Develop. Biol.* 81, 51-64.
30. García-Bellido, A., y Santamaría, P. (1972). *Genetics* 72, 87-104; Morata, G., y Lawrence, P. A. (1975). *Nature* 225, 211-221.
31. García-Bellido, A.; Lawrence, P. A., y Morata, G. (1979). *Sci. Amer.* 241, 102-110.
32. Akam, M. E. (1983). *The EMBO Journal*, 2, 2075-2084; Levine, M.; Hafen, E.; Garber, R. L., y Gehring, W. J. (1983). *The EMBO Journal* 2, 2038-2046.
33. García-Bellido, A., y Capdevila, M. P. (1978). En: «The clonal basis of development». (S. Subtelny y I. M. Sussex, eds), pp. 3-21. Academic Press, N. York; Capdevila, M. P., y García-Bellido, A. (1981). *Wilhelm Roux's Archiv.* 190, 339-350.
34. García-Bellido, A. (1981). En: «Advances in Genetics, Development, and Evolution of Drosophila». (S. Lakovaara, ed), pp. 135-148. Plenum Press, N. York.
35. García-Bellido, A. (1981). En: «Cellular controls in differentiation». (C. W. Lloyd y D. A. Rees, eds), pp. 257-304. Academic Press, N. York.

36. Baker, B. S., y Ridge, K. A. (1980). *Genetics* 94, 383-423.
37. Dworniczak, B.; Seidel, R., y Pongs, O. (1983). *The EMBO Journal* 2, 1323-1330.
38. Grobstein, C. (1962). *J. Cell Comp. Physiol.* 60, 35-48; Saxen, L., y Karinen-Jaaskelainen, M. (1981). En: «Morphogenesis and pattern formation». Raven Press., pp. 21-48. N. York.
39. Wolpert, L. (1978). *Sci. Amer.* October.
40. García-Bellido, A. (1977). *Wilhelm Roux's Archiv.* 182, 93-106.
41. Kühn, A. (1971). «Lectures on Developmental physiology». Springer-Vlg. Berlín.
42. Mayr, E. (1963). «Animal Species and Evolution». Harvard Univ. Press. Cambridge.
43. Goldschmidt, R. (1940). «The material basis of evolution». Yale Univ. Press. N. Haven.
44. Gould, S. J., y Lewontin, R. C. (1979). *Proc. Roy. Soc. London. B*, 205, 581-598.
45. García-Bellido, A. (1977). *Amer. Zool.* 17, 613-629.
46. Bateson, W. (1984). «Materials for the study of variation». Macmillan, London.
47. Davidson, E. H. (1976). «Gene activity in early development». Academic Press, N. York; García-Bellido, A., y Robbins, L. G. (1983). *Genetics* 103, 235-247.
48. Henning, W. (1966). «Phylogenetic systematics». Univ. Press Urbana.
49. García-Bellido, A. (1983). En: «Development and Evolution». (B. C. Goodwin, N. Holder y C. C. Wylie, eds), pp. 227-255. Cambridge Univ. Press.
50. Gould, S. J. (1977). «Ontogeny and phylogeny». Cambridge Mass. Belknap Press.

CONTESTACION

DEL

Excmo. Sr. D. ENRIQUE SANCHEZ - MONGE
Y PARELLADA

Excmo. Sr. Presidente
Excmos. Sres. Académicos
Señoras y Señores:

Va a tomar posesión Don Antonio García-Bellido de la medalla académica que ostentó Don Salustrio Alvarado, a quien con tanto cariño y respeto se recuerda en esta casa.

Permitidme una breve semblanza científica del nuevo académico.

Nacido en Madrid, el 30 de abril de 1936, estudió en la Universidad Complutense, alcanzando el grado de Licenciado en 1958 y el título de Doctor en Ciencias con Premio Extraordinario en 1962.

Becario del C.S.I.C. desde su licenciatura, alcanzó el grado de Colaborador del C.S.I.C. en 1965, el de Investigador en 1970 y el de Profesor de Investigación en 1974.

Entre los años 1959 y 1969 realiza diversas estancias en centros de gran prestigio internacional: el Departamento de Biología Experimental de la Universidad de Cambridge, con el Prof. Wigglesworth; el Instituto de Zoología de la Universidad de Zurich, con el Prof. Haldorn, y el Departamento de Biología del Instituto Tecnológico de California, con los Profs. Lewis y Sturtevant. Posteriormente ha sido profesor visitante en algunos de los centros mencionados (Cambridge 1972, Zurich 1973, California 1974-75) y en otros (Univ. Chicago 1977, División de Biología Molecular, Sydney, 1982-83). Ha disfrutado de numerosas becas y ayudas de investigación, dirigido tesis y tesinas y ha dado casi un centenar de Seminarios entre 1965 y 1983 en Universidades y Centros de Investigación de España, Suiza, Italia, Es-

tados Unidos, Gran Bretaña, Canadá, Alemania, Dinamarca, Francia, India, Australia, Holanda, Chile y Suecia.

Sus numerosos artículos científicos, unos 75 hasta la fecha, han visto la luz en revistas de gran prestigio que seleccionan cuidadosamente sus originales, tales como *Zeitschrift für Naturforschung*, *Developmental Biology*, *Experimental Cell Research*, *Proceedings of the National Academy of Sciences de Washington*, *Molecular and General Genetics*, *Genetics*, *Nature* y otras.

Es nuestro nuevo académico un especialista, de prestigio internacional, en una difícil rama de la Biología, la Genética del Desarrollo y la Diferenciación, y no hay texto moderno de Genética en que al llegar a este tema dejen de citarse los trabajos de García-Bellido.

Para los genéticos que trabajamos con organismos vivos adultos, como son, en mi caso, las plantas agrícolas, resultan fascinantes los trabajos, que, como los de García-Bellido, tratan de explicar lo que en términos muy simples planteamos como una paradoja: el hecho, de que a partir de un cigoto se originan células y tejidos que, teniendo en principio una misma información genética, llegan a diferir en forma y función.

La idea de que la diferenciación y el desarrollo son el resultado de la regulación en el tiempo de la expresión génica fue ya expresada por Haldane en 1932 y discutido posteriormente por genéticos tan ilustres como Goldschmidt (autor del primer y clásico texto de «Genética Fisiológica»), Morgan, Darlington y Sewall Wright. Mather (1948) apuntó el papel del citoplasma, considerando la diferenciación como el resultado de un diálogo, quizá una controversia, entre un genoma permanente y un citoplasma lábil.

El papel del citoplasma en la diferenciación se pone de manifiesto a partir del cigoto en el que se ha demostrado la existencia de una regionalización tal que un punto dado del citoplasma queda definido por coordenadas múltiples que son las proporciones relativas de las sustancias bioquímicas presentes. La diferenciación en núcleo vegetativo y núcleo generativo durante la microsporogénesis vegetal, según la orientación del huso en la primera división nuclear del grano de polen, es una prueba de la influencia del ambiente citoplásmico.

El control del desarrollo debe de estar ejercido en gran parte a nivel del propio gen, que se transcribe o no en el núcleo de la célula según las circunstancias de ésta. Prueba visible de la actividad génica diferencial son las hinchazones o puffs que se observan en los cromosomas politénicos de las glándulas salivales de *Drosophila*. El patrón de estas hinchazones varía durante el desarrollo del insecto y la relación entre este patrón y los productos de actividad génica se ha puesto de manifiesto en diferentes experimentos.

Las hormonas actúan también mediante su captación por moléculas proteicas receptoras y su canalización por el citoplasma hacia el núcleo donde interaccionan con la transcripción del ADN.

Los hechos que se deben analizar para llegar a la comprensión del desarrollo y diferenciación son, pues, el de la existencia de una actividad génica diferencial en tiempo y en espacio, el de la influencia del entorno citoplásmico y también el de la pérdida de la totipotencia de los núcleos en el curso del desarrollo.

La naturaleza del cambio diferenciador podría consistir en la eliminación, en el transcurso de las divisiones celulares, de aquellos genes no necesarios en el tejido que se diferencia, en el bloqueo irreversible de los mismos, en una regulación reversible semejante al sistema operón de los procariontes, o en una estimulación o inhibición por los propios productos de la actividad del mismo gen.

García-Bellido ha sabido elegir un original método de trabajo y un material adecuado para dar un paso importante en la explicación de lo que hemos llamado paradoja de la diferenciación. Los trabajos de García-Bellido conducen a pensar que las diferentes estructuras del animal adulto son el resultado de un desarrollo modular. Un animal estaría compuesto de unidades, diferentes morfológicamente, a modo de compartimentos, que serían en realidad como variaciones de un tema básico motivadas por la expresión diferencial de ciertos genes estructurales y reguladores especiales. Cada compartimento estaría formado por un grupo de células en las que se expresan los mismos genes, estando esta expresión programada en espacio y en tiempo. Desde el comienzo del desarrollo embrionario las células se determinan, adquieren ciertos compromisos hacia la formación de las estructuras del adulto. Las sucesivas divisiones de una determinada célula dan lugar a un linaje, un clon de células que crece como una mancha, paralelamente al cre-

cimiento de otros clones limítrofes, expresándose en cada linaje celular los genes específicos de cada estructura.

El individuo adulto sería un producto modular, constituido a base de compartimentos, formados por linajes o clones celulares derivados de un número reducido de células del embrión. Cada célula del adulto es el producto final de una serie de decisiones en las células ascendientes de su linaje, dependiendo cada decisión de un sistema genético y siendo binarias las decisiones a lo largo del desarrollo, por lo que con pocos genes se podrían especificar gran número de compartimentos.

Nuestro nuevo académico tuvo el acierto de estudiar los linajes celulares en las estructuras epidérmicas de *Drosophila* como material, y puso a punto un método de marcado genético aprovechando la aparición de mosaicos fenotípicos por sobrecruzamiento somático en heterocigotos para genes con buena expresión local. El inconveniente de la baja frecuencia del sobrecruzamiento somático espontáneo la soslayó utilizando la irradiación con rayos X como agente estimulador de tal tipo de sobrecruzamiento.

El discurso de ingreso del Dr. García-Bellido ha versado sobre un nuevo enfoque, elegante y ambicioso que él ha llamado «Hacia una gramática genética». Su exposición abre perspectivas no sólo hacia un lenguaje adecuado para entender mejor los procesos de diferenciación y desarrollo, sino que sugiere nuevos enfoques para la investigación en este aspecto de la genética.

Del bagaje científico, dedicación y originalidad del Doctor García-Bellido cabe esperar espléndidos resultados para la ciencia española y universal. Bienvenido sea a esta Academia.

BIBLIOGRAFIA

- Capdevila, M. P., y García-Bellido, A., *Nature*, 250, 500-502 (1974).
- Fristrom, J. W., *Ann. Rev. Genet.*, 4, 325-346 (1970).
- García-Bellido, A., y Merriam, J. R., *Develop. Biol.*, 24, 61-87 (1971).
- García-Bellido, A., y Santamaría, P., *Genetics*, 72: 87-104 (1972).
- García-Bellido, A.; Ripoll, P., y Morata, G., *Nature New Biol.*, 245, 251-253 (1973).
- García-Bellido, A., *Ciba Found. Symp.*, 29, 161-182 (1975).
- García-Bellido, A., y Santamaría, P., *Genetics*, 88: 469-486 (1978).
- García-Bellido, A.; Lawrence, P. A., y Morata, G., *Invest. y Ciencia*, 36, 66-75 (1979).
- Gehring, W. J., *Ann. Rev. Genet.*, 10, 209-252 (1976).
- Goldschmidt, R. B., *Physiological Genetics*, McGraw-Hill, Nueva York (1938).
- Hadorn, E., *Scient. Amer.*, 219, 110-120 (1968).
- Haldane, J. B. S., *Am. Naturalist*, 66, 5-24 (1932).
- Heslop-Harrison, J., *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 18, 325-348 (1967).
- Market, C. L., y Ursprung, H., *Developmental Genetics*, Prentice Hall, Londres (1971).
- Mather, K., *Nature*, 161, 872-873 (1948).
- Merriam, J. R., y García-Bellido, A., *Mol. Gen. Genet.*, 115, 302-313 (1972).
- Nesbitt, M. N., y Garther, S. M., *Ann. Rev. Genet.*, 5, 143-162 (1971).
- Ripoll, P., y García-Bellido, A., *Nature New Biol.*, 241, 15-16 (1973).
- Sager, R., y Kitchin, R., *Science*, 187, 426-433 (1975).
- Sánchez-Monge, E., y Jouve, N., *Genética*, Omega, Barcelona (1982).
- Santamaría, P., y García-Bellido, A., *W. Roux Arch.*, 178, 233-245 (1975).
- Ursprung, H., *Ann. Rev. Genet.*, 1, 139-162 (1967).

ARTICULOS CIENTIFICOS DEL PROFESOR GARCIA-BELLIDO, A.

- 1962 *García-Bellido, A.* Correlations between cytological stages of the spermatogenesis of *D.m.* and their sensitivity to X-rays. *Dros. Inf. Serv.* 36: 63-65.
- 1963 *García-Bellido, A.* Fenogenética del locus *fw*. I. Especificidad del Síndrome. *Genética Ibérica*, 15: 1-74.
- *García-Bellido, A.* Fenogenética del locus *fw*. II. Influjo del medio genotípico. *Genética Ibérica*, 15: 75-120.
- 1964 *García-Bellido, A.* Das Sekret der Paragonien als Stimulus der Fekundität bei Weibchen von *D. m.*; *Zeitsch. Naturforschung*, 14b: 491-496.
- *García-Bellido, A.* A toxic effect of yeast in *fw*. *Dros. Inf. Serv.* 39: 85.
- *García-Bellido, A.* Beziehungen zwischen Vermehrungswachstum und Differenzierung in Männliche-Keimzellen von *D. m.* *Roux's Arch. Entw. Mech. Organ.*, 155: 549-610.
- *García-Bellido, A.* Analyse der Physiologischen Bedingungen der Vermehrungswachstum Männlicher keimzellen *D. m.* *Roux's Archiv.* 155: 611-631.
- *Hadorn, E., und García-Bellido, A.* Zur proliferation *Drosophila* Zellkulturen in Adultmilieu. *Rev. Suisse Zool.* 71: 576-582.
- 1965 *García-Bellido, A.* Larvalentwicklung transplanterter Organe in Adultmilieu. *J. Insect. Physiol.* 11: 1071-1078.
- 1966 *García-Bellido, A.* Pattern reconstruction by dissociated imaginal disc cells of *D. m.* *Develop. Biol.* 14: 278-306.
- *García-Bellido, A.* Influencia del genotipo sobre las afinidades celulares en combinados de órganos imaginales de *D. m.* *Portugaliae Acta Biológica*, 94: 308-320.
- *García-Bellido, A.* Changes in selective affinity following transdetermination in imaginal disc cells of *D. m.* *Exptl. Cell Res.* 44: 362-392.
- *García-Bellido, A.* Progresos recientes en genética fisiológica. *Las Ciencias* 31: 115-121.
- 1967 *García-Bellido, A.* Histotypic reaggregation of dissociated cells of *D. m.* in vivo. *Roux's Arch. Entw. Mech. Organ.* 158: 212-217.
- 1968 *García-Bellido, A.* Cells affinities in antennal homoeotic mutants of *D. m.* *Genética*, 59: 487-499.
- *García-Bellido, A.* Cell lineage in the wing disc of *D. m.* *Genetics* 60: 181.
- *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* Bristles or Hairs: The cell heredity of a genetic decision in *D. m.* *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, 61: 1147.

- 1969 *García-Bellido, A.* Opt: Ophtalmoptera of Goldschmidt. *Dros. Inf. Serv.* 44: 52.
- *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* mwh: multiple wing hair: genetic ordewith *ru* and *ve*. *Dros. Inf. Serv.* 44: 52.
 - *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* A preliminary morphogenetic map of the wing disc of *D. m.* *Dros. Inf. Serv.* 44: 65.
 - *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* Cell lineage in Gynandromorphs of *D. m.* *J. Exp. Zool* 170: 61-75.
- 1971 *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* Parameters of the wing imaginal disc development of *D. m.* *Devel. Biol.* 24: 61-87.
- *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* Parameters of the tergite development of *D. m.* *Devel. Biol.* 36: 264-275.
 - *García-Bellido, A., and Merriam, J. R.* Genetic Analysis of Cell heredity in imaginal discs of *D. m.* *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.* 68: 2222-2226.
- 1972 *García-Bellido, A.* Some parameters of mitotic recombination in *D. m.* *Molec. Gen. Genet.* 115: 54-72.
- *Merriam, J. R.; Nöthiger, R., and García-Bellido, A.* Are dicentric anaphase bridges formed by somatic recombination in X chromosome inversion heterozygotes of *D. m.*? *Molec. Gen. Genet.* 115: 294-301.
 - *Merriam, J. R., and García-Bellido, A.* A model for somatic pairing derived from somatic crossing over with third chromosome rearrangements in *D. m.* *Molec. Gen. Genet.* 115: 302-313.
 - *Santamaría, P., and García-Bellido, A.* Localization and growth pattern of the tergite Anlage of *D. m.* *J. Embryol. Exptl. Morph.* 8: 397-417.
 - *García-Bellido, A., and Santamaría, P.* Developmental analysis of wing disk in the mutant engrailed of *D. m.* *Genetics* 72: 87-104.
 - *García-Bellido, A.* Pattern formation in imaginal discs. In: *Results and Probl. in cell differentiation*; vol. V, pp. 59-91 (H. Ursprung, R. Nöthiger, eds). Springer-Vlg. Berlin.
- 1973 *Ripoll, P., and García-Bellido, A.* Cell autonomous lethals in *D. m.* *Nature New Biology*, 241: 15-16.
- *Ashburner, M., and García-Bellido, A.* Ecdysone induction of puffing activity in salivary glands of *D. m.* grown in adult abdomes. *Roux's Arch. Ent. Metch*, 172: 166-170.
 - *Morata, G., and García-Bellido, A.* Behaviour in aggregates of irradiated imaginal disk cells of *D. m.* *Roux's Arch. Ent. Mech.* 172: 187-195.
 - *García-Bellido, A.; Ripoll, P., and Morata, G.* Developmental compartmentalization of the wing disk of *Drosophila*. *Nature, New Biology* 245: 251-253.
 - *García-Bellido, A., and Dapena, J.* Recovery of cell marker mutants in *Drosophila*. *Dros. Inf. Serv.* 50: 179.

- *García-Bellido, A.* The corrected number of adult epidermic cells of the tergites. *Dros. Inf. Serv.* 50: 99.
- *García-Bellido, A., and Ripoll, P.* A *mwh*⁺ duplication in the tip of the first chromosome. *Dros. Inf. Serv.* 50: 92.
- 1974 *García-Bellido, A., and Dapena, J.* Induction, detection and characterization of cell differentiation mutants in *Drosophila*. *Molec. Gen. Genetics* 128: 117-130.
- *Capdevila, M. P., and García-Bellido, A.* Development and genetic analysis of bithorax phenocopies in *Drosophila*. *Nature* 250: 500-502.
- 1975 *García-Bellido, A.* Genetic control of wing disc development in *Drosophila*. In: 29 CIBA Symposium «Cell patterning» pp. 161-182. Elsevier, Amsterdam.
- *García-Bellido, A.* Genetic control of imaginal disc morphogenesis in *Drosophila*. ICN-UCLA Symposia «Developmental Biology» (D. McMahon and C. Fred Box, eds.) vol. 2, pp. 40-59. Benjamin Press.
- *Santamaría, P., and García-Bellido, A.* Developmental analysis of two wing scalloping mutants *ct*⁶ and *Bx*^J of *Drosophila melanogaster*. *Roux's Arch.* 178: 233-245.
- *García-Bellido, A., and Ferrús, A.* Gynandromorph fate map of the wing-disk compartments in *Drosophila melanogaster*. *Roux's Arch.* 178: 337-340.
- 1976 *García-Bellido, A.; Ripoll, P., and Morata, G.* Developmental compartmentalization in the dorsal mesothoracic disc of *D.* *Develop. Biol.* 48: 132-147.
- *García-Bellido, A., and Lewis, E. B.* Autonomous cellular differentiation of homoeotic bithorax mutants of *D. m.* *Develop. Biol.* 48: 400-410.
- *Ferrús, A., and García-Bellido, A.* Morphogenetic mutants detected in mitotic recombination clones. *Nature*, 260: 425-426.
- *Morata, G., and García-Bellido, A.* Developmental analysis of some mutants of the bithorax system of *D.* *Roux Arch.* 179: 125-143.
- *García-Bellido, A., and Nöthiger, R.* Maintenance of determination by cells of imaginal discs of *Drosophila* after dissociation and culture *in vivo*. *Roux Arch.* 180: 189-206.
- 1977 *Ferrús, A., and García-Bellido, A.* Minute mosaics caused by early chromosome loss. *Wilhem Roux's Arch.* 183: 337-349.
- *García-Bellido, A.* Inductive mechanism in the process of wing vein formation in *Prosochila*. *Roux's Archiv.* 182: 93-106.
- *García-Bellido, A.* Homeotic and atavic mutations in insects. *Amer. Zool.* 17: 613-629.
- 1978 *García-Bellido, A.* Evolución de los conceptos biológicos. *Bol. Informativo. Fundación Juan March.* No. 67. Enero.
- *García-Bellido, A., and Ripoll, P.* The number of genes in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 273: 339-400.

- *García-Bellido, A., and Wandosell, F.* The effect of inversions on mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*. *Molec. gen. Genet.* 161: 317-321.
 - *García-Bellido, A., and Santamaría, P.* Developmental analysis of achaete-scute system of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 88: 460-486.
 - *Capdevila, M. P., and García-Bellido, A.* Phenocopies of bithorax mutants: Genetic and developmental analysis. *Roux's Arch.* 185: 105-126.
 - *Ripoll, P., and García-Bellido, A.* Mitotic recombination in the heterochromatin of the sex chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 50: 93-104.
 - *García-Bellido, A., and Capdevila, M. P.* The initiation and maintenance of Gene Activity in a Developmental Pathway of *Drosophila*. In: *The clonal basis of development.* (S. Subtelny and I. M. Sussex, eds.) vol. 7, pp. 3-21. Academic Press. New York.
 - *García-Bellido, A., and Ripoll, P.* Cell lineage and differentiation in *Drosophila*. In: *Results and problems in cell differentiation.* (W. Gehring, ed.) vol. 9, pp. 119-156. Springer Vlg. Berlin.
- 1979 *García-Bellido, A., and Moscoso del Prado, J.* Genetic analysis of maternal information in *Drosophila*. *Nature* 278: 346-348.
- *Ripoll, P., and García-Bellido, A.* Viability of homozygous deficiencies in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 91: 443-453.
 - *García-Bellido, A.* Genetic analysis of the achaete-scute system of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 91: 491-520.
 - *García-Bellido, A.; Lawrence, P. A., and Morata, G.* Compartments in Animal development. *Scientific American*, 241: 102-110.
- 1980 *García-Bellido, A.* «Opening Remarks». En: «Developmental and Neurobiology of *Drosophila*» (O. Siddiqui, P. Babu, J. Hall and L. Hall, eds.) Plenum Press, pp. 1-2.
- 1981 *García-Bellido, A.* From the gene to the pattern: chaeta differentiation. En: «Cellular controls in differentiation» (C. W. Lloyd and D. A. Rees, eds.) Academic Press, pp. 257-304.
- *García-Bellido, A.* «La especificación de segmentos en *Drosophila*». *Arch. Biol. Med. Expt. (Chile)* 14: 235-236.
 - *Capdevila, M. P., and García-Bellido, A.* Genes involved in the activation of the bithorax complex of *Drosophila*. *Roux's Archiv.* 190: 339-350.
 - *García-Bellido, A.* The bithorax syntagma. En: «Advances in Genetics, Development, and Evolution of *Drosophila*». VII European *Drosophila* Conference. (S. Lakovaara, ed.) Plenum Press, pp. 135-148.
- 1982 *Britten, R. J.; Davidson, E. H.; Dover, G. A.; Gallwitz, D. F.; García-Bellido, A.; Kafatos, F. C.; Kauffman, S. A.; Moritz, K.; Ohno, S.; Schmidtke, J., and Schütz, G.* Genomic change and morphological evolution. En: «Evolution and Development». (J. T. Bonner, ed.) Dahlem Konferenzen. Springer-Vlg. N. Y., pp. 19-39.
- *Gubb, D., and García-Bellido, A.* A genetic analysis of the determination

- of cuticular polarity during development in *Drosophila melanogaster*. *J. Embryol. and Exptl. Morphol.* 68: 37-57.
- *Botas, J.; Moscoso del Prado, J., and García-Bellido, A.* Gene-dose titration analysis in the search of trans-regulatory genes in *Drosophila*. *The EMBO Journal*, 1: 307-310.
 - *Miñana, F. J., and García-Bellido, A.* Preblastoderm Mosaics of Mutants of the Bithorax-Complex. *Roux's Archiv.* 191: 331-334.
- 1983 *García-Bellido, A., and Robbins, L. G.* Viability of female germ-line homozygous for zygotic lethals in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 103: 235-247.
- *García-Bellido, A.* Comparative anatomy of cuticular patterns in the genus *Drosophila*. In: «Development and evolution». pp. 227-255 (B. C. Goodwin, N. Holder and C. C. Wylie, eds.) Cambridge University Press.
 - *García-Bellido, A.; Moscoso del Prado, J., and Botas, J.* The Effect of Aneuploidy on Embryonic Development in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Gen. Genet.* 192: 253-263.