

00381

1ej. 1

"Mutación Genética: desarrollo de los conceptos y sus implicaciones evolutivas".

Tesis que para obtener el grado de Doctor en Ciencias (Biología) presenta ANA ROSA BARAHONA ECHEVERRIA

Facultad de Ciencias

Universidad Nacional Autónoma de México

1986

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

- 1.0. Resumen
- 2.0. Introducción
- 3.0. El concepto de mutación durante la introducción del mendelismo
 - 3.1. Especiación por mutación, hipótesis no-mendelianas.
 - 3.2. Mendelismo y evolución gradual.
 - 3.3. Herencia poligénica
 - 3.4. La mutación y la teoría cromosómica de la herencia.
 - 3.4.1. Mendelismo y selección natural
 - 3.4.2. Teoría del gene
 - 3.4.3. Recombinación
- 4.0. La Teoría de la Mutación
 - 4.1. El concepto de gene y la mutación
 - 4.2. El concepto de mutación fenotípica y su clasificación
 - 4.2.1. Clasificación inicial
 - 4.2.2. Dominancia y compensación de dosis
 - 4.2.3. El caso Barra
 - 4.2.4. Mutaciones Puntuales y Rearreglos cromosómicos

5.0. La estructura del gene y la mutación en la actualidad

5.1. El gene como unidad fisiológica

5.2. Estructura del gene

5.2.1. Pseudoalelismo

5.2.2. Complementación

5.2.3. Estructura fina

5.2.4. Explicación molecular de la mutación

5.2.5. Genes fragmentados

5.3. Transposición

5.3.1. Génes inestables y genes compuestos

5.3.2. Elementos móviles

6.0. Conclusiones

APENDICE

BIBLIOGRAFIA

1.0. Resumen.

El impacto de la genética en la teoría evolutiva ha sido de gran importancia. Entre los conceptos que la genética introdujo a la evolución cabe destacar el concepto de gene y, con éste el concepto de mutación.

Existe una interdependencia en el desarrollo histórico de ambos conceptos. La preocupación fundamental de la genética ha sido la naturaleza del gene, su duplicación y mutación. En el desarrollo de la genética podemos notar que el gene ha sido definido de distintas formas, tales que han generado conceptos de mutación distintos, y más aún, se ha redefinido el término de mutación a connotaciones características ya se hable de el gene como una unidad abstracta o como una secuencia de nucleótidos.

Este trabajo está dividido en tres secciones que corresponden a épocas bien delimitadas en la historia de la genética. Epocas que se distinguen no sólo por sus descubrimientos sino por las preguntas que se plantean, los tipos de experimentos que se diseñan y las hipótesis que se formulan.

La primera sección trata de la introducción del mendelismo en la Biología y de la inauguración del concepto de mutación como evento formador de especies. En contraposición con lo anterior y haciendo valer el continuismo darwiniano, surgen también hipótesis acerca de la herencia poligénica como explicación darwiniana de la evolución y nacen también las teorías del gene y la cromosómica de la herencia que marcan el establecimiento de la genética clásica. Estas teorías explican cómo pueden superarse las principales objeciones a la teoría de la selección natural:

la variación continua aparece a través de pequeños cambios en los genes (mutaciones) y sigue las leyes de Mendel.

La segunda sección trata del desarrollo de la teoría de la mutación. Aquí, la mutación es concebida como fuente de la diversidad orgánica y arma para atacar al gene y delimitar su tamaño, estructura y función. Es durante este periodo que surge la mutagénesis: se diseñan experimentos para probar la inducción de mutaciones por radiación. Este hecho ayudó al desarrollo de campos de radiación genética y proveyó, inmediatamente, oportunidades para el estudio de los genomas sin tener que esperar la aparición de mutaciones espontáneas poco frecuentes. La mayor contribución de esta época es la idea de que los genes reproducen sus variaciones y de que el proceso de mutación altera la función del gene pero no su capacidad replicativa.

La tercera sección trata de la estructura fina del gene y de la explicación molecular de la mutación. Se introducen el uso de mutágenos químicos y el de los microorganismos. Son importantes las hipótesis acerca de la fisiología del gene - en tanto que productor de proteínas. Al descubrirse que los genes están fragmentados se redefine la unidad funcional como aquella que codifica un dominio de una proteína. Se establece el modelo de la doble hélice que explica de una manera físico-química la replicación y la mutación. También se redefine al gene partiendo de su fisiología, su recombinación y mutación como cistrón, recón y mutón, y se establecen los límites mínimos para cada uno de ellos. El rápido desarrollo de la biología molecular, y la evidencia cada vez mayor de los elementos móviles (secuencias de inserción, plasmidios, transposones, bacteriófagos, etc.) han

hecho del gene y la mutación conceptos distintos de aquellos que maneja la genética clásica. La evidencia molecular, y antes de ésta la evidencia surgida del uso de la radiación, hacen de la mutación un evento cuya característica fundamental es su carencia de dirección adaptativa, es decir, la mutación es un evento fortuito en relación a la adaptación de los organismos.

2.0. INTRODUCCION

En la actualidad se entiende por mutación: un cambio en la clase, número o secuencia de nucleótidos en el material genético (Herskowitz, 1962), un cambio heredable en un cromosoma (Watson, 1977), o un cambio en el genotipo que no se deba a recombinación de genes (Dobzhansky, 1970). "Mutación" es un término usado en forma general para explicar la aparición de un carácter no heredado de los ancestros, pero heredable a su descendencia. Sin embargo, este concepto no siempre ha tenido tales significados. El término mutación fue utilizado por primera vez por el paleontólogo Waagen (1869) para designar a los cambios mínimos perceptibles en las series temporales de formas que observó en una especie de amonites. Posteriormente de Vries (1901) introdujo el término a la Biología para designar a aquel proceso formador de especies nuevas. Desde entonces el concepto de mutación ha tenido gran influencia en el desarrollo de la genética y la evolución.

La mutación es la fuente primaria de la diversidad orgánica (Dobzhansky, 1977). Sin embargo, en el desarrollo del concepto vemos que el problema no es ya el aceptar a la mutación como proceso generador de variación, sino el tratar de definir sus límites: cómo, cuándo y dónde ocurre, y en que sentido(s) se puede decir que una mutación es un evento aleatorio.

Decir que una mutación es aleatoria requiere, en primera instancia, definir lo que se entiende por 'aleatorio'. Un evento o hecho aleatorio es aquel que es azaroso, casual o fortuito, accidental. Las palabras 'aleatorio', 'fortuito', etc. aplicadas a la mutación se refieren algunas veces a la falta de

correspondencia entre un efecto fenotípico con un estímulo y con la dirección adaptativa de la evolución, otras veces significa que el proceso no tiene una dirección determinada, y otras tantas que la probabilidad de que exista una mutación para un gene dado es la misma que para todos los demás.

Existen tres significados de 'azar' cuando nos referimos a la mutación: 1) se puede hablar de mutaciones aleatorias si éstas describen una distribución uniforme; esto quiere decir que todos los genes tienen la misma probabilidad de mutar, 2) que el rango de variaciones para un carácter no es limitado, es decir, que todos los cambios teóricos posibles puedan ocurrir, y 3) una mutación es aleatoria porque carece de dirección adaptativa.

De estos tres puntos, nos referiremos al tercero como el más aceptado por los biólogos actuales: las mutaciones tienen un carácter no-adaptativo. En cuanto a los puntos uno y dos, se ha demostrado (Benzer, 1955) que existen 'puntos calientes' (genes cuya probabilidad de mutar es mayor que para otros genes) y que el rango de efectos fenotípicos no es infinito (Muller, 1927b), es decir, que se puede predecir la dirección fenotípica de una mutación (por ejemplo, son bien conocidos los efectos de los mutágenos, rayos X, etc. sobre el material tratado). A este respecto Ayala y Kiger (1980) han dicho que cuando se habla de mutaciones aleatorias éstas tienen tres significados posibles: 1) una mutación es accidental si involucra una irregularidad en el proceso de copiado del ADN, 2) las mutaciones son accidentales o aleatorias sólo porque es imposible saber qué gene mutará en una célula determinada y 3) las mutaciones son accidentales, no-

dirigidas, en tanto están desorientadas con respecto a la adaptación.

El concepto de mutación ha estado ligado históricamente al concepto de gene, y por lo tanto es necesario en un análisis del concepto de mutación, hacer un análisis del desarrollo del concepto de gene.

Una vez establecido que la mutación es la fuente primaria de la diversidad orgánica, hay que establecer cuáles han sido los distintos conceptos de gene en la historia de la genética y qué conceptos de 'mutación aleatoria' se han asociado con ellos.

Podemos dividir a la historia de la genética en cuatro períodos. El primero de ellos se caracteriza por los experimentos y resultados de Mendel, la escuela biométrica y el análisis cuantitativo de la variación, desde el darwinismo apoyando la variación continua y la teoría de la pangénesis, hasta el redescubrimiento de las leyes de Mendel, la proposición de la teoría de la mutación por Hugo de Vries y la teoría de la presencia-ausencia de W. Bateson la cual explica la dominancia de unos caracteres sobre otros. En este período el concepto de gene es aquel que supone una existencia real y se le confunde con el carácter mismo (carácter unitario). En este período el concepto de mutación se restringe a la 'discontinuidad' de la variación implicada en el proceso evolutivo.

El segundo período corresponde al desarrollo por la escuela de Morgan de la teoría cromosómica de la herencia. Los trabajos de Bridges sobre no-disjunción, de Sturtevant sobre mapeo genético y de Muller sobre recombinación e interferencia consolidaron la teoría cromosómica de la herencia (Morgan y col.,

1916). Muller estudiando al gene y a la naturaleza de la selección se convierte en el principal exponente de la teoría de la mutación. Introduce el tratamiento con rayos X para producir mutaciones, lo cual le dió la oportunidad de descubrir grandes eventos con respecto al gene y a la mutación. La mutagénesis dominó casi todas las ramas de la genética. Una de sus principales contribuciones fue la evidencia de la naturaleza del gene, dimensión y comportamiento, así como de la mutación misma. Es Muller quien clarifica el concepto de mutación (1923) restringiendo el término a su conotación más usual: cambio en el gene individual. La teoría de la mutación hace del gene y de su variación, la mutación, eventos inseparables.

El tercer periodo se caracteriza por la introducción de los mutágenos químicos y de los microorganismos. Este enfoque delimita al gene como unidad funcional asociado a una proteína particular. La búsqueda del material hereditario (Avery, McLeod y McCarty, 1944) hace del 'factor morganiano' una entidad real de naturaleza química capaz de alterarse y producir un cambio en una cadena de reacciones enzimáticas (Beadle y Tatum, 1941). El gene es entonces visto como un segmento de ADN que codifica para un péptido. En este periodo se incluye el desarrollo del gene como una entidad móvil dentro del genoma (McClintock, 1946) capaz de producir mutaciones frecuentes, concepción que puso en duda la dirección no adaptativa de las mutaciones. Sin embargo el caso de los 'elementos controladores' (McClintock, 1948) no sería entendido sino hasta el desarrollo de la biología molecular.

El cuarto período se refiere al establecimiento por Watson y Crick (1953) del modelo del gen como una secuencia de nucleótidos en el ADN y ARN. Este modelo explica la replicación y la mutación en tanto provee una base química del material hereditario. Benzer (1955), estudiando la región rII del bacteriófago T4 propone una nueva definición de gen, partiendo de su fisiología, su recombinación y mutación, como cistrón, recón, y mutón, estableciéndose los límites mínimos para cada uno de ellos. Este período culmina con la explicación molecular de la mutación puntual (Freese, 1959) y con el descubrimiento de los genes fragmentados. Es el exón la unidad funcional y evolutiva actual (Hunkapiller y col., 1982).

Estos distintos conceptos de gen (desde los caracteres unitarios, los factores, el gen individual, el gen-enzima, el gen móvil, el cistrón y el exón), han generado concepciones distintas de la mutación, muchas de las cuales se han resuelto experimentalmente. Este problema se ha analizado por Sober (1984): 1) el que una mutación sea aleatoria no quiere decir que todo gen tenga la misma probabilidad de cambio, 2) lo fortuito de la mutación no implica que las mutaciones son inherentemente impredecibles, y 3) las mutaciones no son igualmente deletéreas que ventajosas. La idea más aceptada es que una mutación es aleatoria sólo en el sentido de la adaptación, es decir, las mutaciones no ocurren porque sean beneficiosas (Sober, 1984). Es el carácter no-adaptativo de las mutaciones las que las hace eventos aleatorios.

El objetivo de este trabajo es mostrar cómo se ha desarrollado el concepto de mutación desde su introducción a la

biología (de Vries, 1901) hasta la proposición del exón como unidad evolutiva y funcional, tratando de analizar las ideas acerca de la mutación y precisar en qué sentido(s) es aleatoria.

3.0. EL CONCEPTO DE MUTACION DURANTE LA INTRODUCCION DEL MENDELISMO.

3.1. Especiación por mutación, hipótesis no-mendelianas.

A principios del siglo XX, un gran número de biólogos prominentes dudaban acerca de la validez de la teoría de la selección natural de Darwin. La literatura de la época incluía sin lugar a dudas la idea de la selección. Entre los críticos de esta época se encuentran biólogos experimentales como Hugo de Vries, Bateson, Morgan, Harrison, Cronklin, Castle, etc., quienes veían la teoría darwinina incompleta e incapaz de dar cuenta satisfactoriamente del origen de las especies. Parte de las causas de este escepticismo fueron la imposibilidad de resolver ciertos problemas que incluso Darwin había dejado de lado, y la aparición de evidencia nueva que hacía dudar sobre ciertos presupuestos de la teoría de la evolución.

La teoría de la selección natural de Darwin suponía que siempre que nacen mas organismos de los que el ambiente puede sostener, perecerán aquellos que en la lucha por la existencia tengan variaciones menos favorables. Luego entonces, la mas mínima diferencia de unos organismos con respecto a los otros les confería un valor de sobrevivencia mayor. Aquellos cuyas variaciones fueran desfavorables sobrevivirían menos que los otros; pero no solo eso, Darwin veía que no solo era necesario sobrevivir durante mas tiempo sino tener lo que se llamó 'fertilidad diferencial', es decir, la habilidad o característica de ciertos organismos a dejar mas descendencia que otros. Entonces, la selección preservaría a aquellos individuos con variaciones favorables permitiendo que los organismos que las posean la hereden a un numero mayor de individuos de la siguiente

generación.

Uno de los grandes problemas que Darwin dejó sin resolver fue el de como aparecen las variaciones y como éstas son heredadas a la siguiente generación. Darwin (1859) está convencido de la teoría lamarckiana, es decir, el hecho de que ciertas adaptaciones son el resultado del uso y desuso de las partes.

Sin evidencias de que las variaciones fueran heredables, y de que estas variaciones fueran seleccionadas, muchos biólogos experimentales dudaban de la teoría de Darwin. Las dudas ponían de manifiesto que faltaba una teoría de la herencia que hiciera valer, o sobre la que se fundamentara la teoría de la selección natural. A finales del siglo XIX tal teoría no existía. A partir de 1900 con el redescubrimiento de las leyes de Mendel por de Vries (1900), Tschermak (1900) y Correns (1900) parecería que finalmente habría una explicación acerca de como se heredaban las variaciones. Sin embargo, este no fue el caso. Aquellos que negaban la teoría de la selección antes de 1900 lo seguían haciendo aún con conocimiento de las leyes de Mendel (de Vries, Bateson, etc.). Por otra parte aquellos que eran fervientes admiradores de la teoría de la selección veían en el mendelismo poca aplicabilidad a la teoría de la selección.

Intentaremos dar una explicación de porqué tales teorías se mantuvieron en extremos opuestos por una década y qué factores determinaron finalmente su resolución.

Hugo de Vries propone en 1901 su teoría de la mutación. Por ésta debe entenderse que los atributos de los organismos

consisten de unidades distintas, separadas e independientes, lo cual implica que de Vries está pensando en términos mendelianos ya que estas unidades pueden asociarse en grupos, encontrándose los mismos grupos en especies similares.

Para sostener una posición antidarwinista, es decir, para sostener una posición discontinuista en la evolución, de Vries adopta los principios según los cuales la teoría de la descendencia implica que las especies han aparecido una de otra por un proceso discontinuo. Cada nueva unidad, un nuevo paso del proceso, está completamente separado del anterior. Las nuevas especies aparecen de pronto, se originan de las especies parentales sin preparación alguna y sin formas transicionales obvias (de Vries, 1901).

Para de Vries la teoría de la mutación no solo explica el origen de las especies sino que también los procesos de hibridación, ya que ambos procesos tienen que ver con los elementos que componen a las especies.

Contra Darwin, de Vries afirma que la teoría de la mutación se opone a la concepción de la teoría de la selección, según la cual el material para el origen de las especies está dado por las variaciones individuales; según la teoría de la mutación la variación individual no puede ser la base del origen de nuevos y constantes caracteres, ya que esta variación individual fluctúa alrededor de un punto y la creación de nuevas especies requeriría del establecimiento de nuevas formas. Para explicar la aparición de las especies de Vries acude a los cambios súbitos y no a la variación ordinaria. Entonces, de Vries define la mutabilidad como el proceso formador de especies nuevas, y propone el término

de Mutabilidad para este tipo de variación capaz de producir especies nuevas (de Vries, 1901). Equipara las mutaciones a los 'sports' de Darwin y recalca el desconocimiento del fenómeno. Este fenómeno de formación de especies, es aplicable a todos los organismos vivos. Todos los caracteres de plantas y animales aparecen por mutación (de Vries, 1901). También distingue, como Darwin, dos tipos de variación: la ordinaria (gradual o fluctuante) explicable en términos perfectamente definidos, y la mutación, la cual no está relacionada con la selección.

El término variación incluye dos fenómenos distintos: mutabilidad y variación ordinaria o individual. La primera es la variación súbita, generadora de nuevos caracteres y por lo tanto de especies nuevas, mientras que la última forma de variación es el objeto de la investigación estadística: Galton, Weldon, Pearson, etc. (de Vries, 1901).

Ahora de Vries trata de establecer la distintas formas en las cuales aparece la mutación. Distingue claramente entre mutación progresiva y retrogresiva. La primera resulta en la formación de un nuevo caracter, la segunda en la pérdida de uno ya existente. De acuerdo a esta teoría, la mutación progresiva es la causante de la evolución de animales y plantas; sin embargo, la gran mayoría de casos de origen de una especie de un tipo dentro de un grupo sistemático al que pertenece, se debe a mutación retrogresiva.

Así, una vez establecido para de Vries que es la mutabilidad y que tipo de mutaciones existen se dedica a escribir todas las

consideraciones que distinguen la mutación de la selección. La segunda parte de su libro (1901) analiza los experimentos con Denothera lamarckiana.

Según de Vries, (1901) aunque ya durante el siglo XIX la escuela francesa hablaba de la aparición de nuevas especies por mutación, éstos aplicaban tal concepto a especies lineanas, es decir, a agregados de especies y no a especies elementales y la pregunta por su origen es distinta que aquella por sus constituyentes. Es decir, no existía una problemática acerca del origen de la variación en tanto que las especies lineanas son entidades fijas y creaciones especiales. La pregunta acerca de los constituyentes tenía una respuesta taxonómica.

Ya en Darwin (1859) vemos que las variaciones individuales sujetas a selección continua pueden dar lugar a nuevas especies, siendo la única explicación al problema de la evolución. Aunque Darwin también acepta la aparición de mutaciones (sports) no las considera material importante para la evolución ya que, según descansa su teoría de la herencia en la mezcla de las simientes, esto, automáticamente implica que la aparición de una variación singular (o sport) se diluiría de generación en generación, mientras que, para resolver el problema mismo de las variaciones individuales Darwin recurre al argumento de la recurrencia de la aparición de tales variaciones impidiendo así su dilución.

Wallace (1859), por otra parte, niega que las especies puedan formarse por mutación y que, de acuerdo a él, las variaciones singulares o sports no tienen importancia en la teoría de la evolución.

El origen de una forma nueva a partir de otra se llamó 'mutación' (ya Lamarck, 1807, habla de 'races mutables ou variables'). Para Linneo y su escuela las especies eran creadas e inmutables. La escuela de Jordan declaraba que las formas elementales que se muestran inmutables en domesticación son creaciones reales independientes. Para ellos, la variabilidad y la mutabilidad eran cosas totalmente distintas. Cuando apareció el Origen de las Especies (1859), la controversia acerca de las especies y su mutabilidad era ya bastante conocida.

De Vries apunta el hecho de que los términos mutación, mutabilidad, inmutabilidad, etc., hayan sido excluidos de la teoría de la selección natural. Una de la preocupaciones de Darwin es luchar contra la idea de la inmutabilidad de las especies. Empieza diciendo que hasta ese momento la gran mayoría de los investigadores han creído que las especies son producciones inmutables. Darwin (1837, 1838) está convencido que las especies son mutables.

La opinión generalizada era que la variación individual y la mutabilidad son dos fenómenos distintos. La primera era bien conocida tanto en estado natural como bajo domesticación, limitada por la influencia del medio ambiente y relacionada a la adaptación directa.

Según de Vries (1901), Darwin nunca distinguió entre los dos tipos de variación. En sus trabajos iniciales Darwin apela a las variaciones espontáneas como material importante, mientras que en sus escritos posteriores le da prominencia al papel que juegan las variaciones individuales en la producción de nuevas especies.

Quando Darwin (1859) afirma que las variedades son especies incipientes y que las especies, como las variedades, descienden de otras especies, de Vries pregunta que si está garantizado que las variedades descienden de las especies, porqué no pensar que las especies descienden de otras especies de la misma manera? "Darwin dice una y otra vez que no hay que olvidar que bajo el término de variación se incluyen diferencias individuales. La variabilidad de Darwin debe tomarse en este doble sentido. Consiste, por una parte, en las diferencias individuales, y por otra, en variaciones singulares. Las primeras pertenecen a aquellos fenómenos que ahora llamamos variaciones individuales, las segundas son cambios esporádicos, espontáneos, que corresponden a nuestras mutaciones" (de Vries, 1901). Para de Vries el asunto está claro: en la formación de nuevas especies, la selección natural escoge variantes extremas de la variación individual o escoge mutaciones ocasionales. El punto de de Vries es que aunque en una comunidad haya variación suficiente para que actúe la selección natural, esta variación individual es limitada. Las mutaciones son fenómenos al azar de los cuales no se sabe casi nada (de Vries, 1901). Aparecen espontáneamente formando nuevas especies. Frecuentemente involucran un carácter y esto consiste en la pérdida o latencia del caracter anteriormente presente. Así, las mutaciones se dan en cualquier dirección y sin ningún limite. No pueden producirse según nuestros deseos, "debemos esperar a que aparezcan" (de Vries, 1901).

Quando Darwin (1859) dice que la selección natural actúa sobre variaciones casuales (chance variations) ya que sin ellas

la selección no puede hacer nada, de Vries interpreta que Darwin atribuye a las variaciones singulares un peso preponderante. Las variaciones casuales no son los extremos de la variabilidad ordinaria o fluctuante, son ocurrencias esporádicas. La selección natural actúa sobre ellas cada vez que aparezcan.

La influencia sobre Darwin en relación a este punto fue la de Fleming Jenkin quien trató de probar (1869) que la probabilidad de que las variaciones singulares se mantuvieran en la población es muy baja (ver Gould, 1985)

Para de Vries (1901) existen cuatro tipos de variabilidad: a) polimorfismo sistemático, que se refiere a las especies lineanas, incluyen grandes series de formas completamente distinguibles, así como subespecies y variedades. Este tipo de variabilidad es puramente comparativo, y sus leyes son morfológicas; b) polimorfismo inducido por hibridación que se debe a combinaciones de caracteres heredables y que incrementa la probabilidad de aparición de formas nuevas; c) variabilidad en el sentido estricto o variación individual, siendo este tipo de otra naturaleza que el resto de los demás fenómenos; se refiere al tipo de variación cuantitativa, agrupadas alrededor de una media, cuyos miembros que se desvían de la media son inversamente proporcionales a sus magnitudes, siendo su variación expresada en talla o número y sujeta a formulación matemática (fluctuante, gradual, continua, reversible, limitada, estadística o variación individual); este tipo de variación se refiere a las diferencias individuales y es el tipo de variación al que Darwin hace referencia como perpetuas y sobre las cuales actúa la selección

natural; d) cambios espontáneos, las cuales aparecen por mutación espontáneamente (sports); de acuerdo con la teoría de la mutación no puede atribuirseles causa que las haga reversibles a menos que sean pérdidas o latencias (mutación regresiva), siendo cada mutación una unidad circunscrita.

De acuerdo con la teoría de la mutación devresiana, este último tipo de variación da cuenta de la discontinuidad de las especies, o como diría Bateson, la discontinuidad de las especies resulta de la discontinuidad de la variación. También da cuenta de la aparición de formas nuevas, ya que para de Vries, la selección es un agente conservador. Fija caracteres nuevos pero no es capaz de producir formas nuevas. "De acuerdo a la teoría de la mutación, las especies no han aparecido de manera gradual como el resultado de la selección que opera durante miles o millones de años, sino discontinuamente por cambios súbitos... cuya periodicidad se debe probablemente a causas perfectamente definidas pero aún no descubiertas" (de Vries, 1901). Una vez establecidos los tipos de variaciones y las causas por las cuales la teoría de la descendencia por selección natural no puede dar una solución al problema de la evolución, de Vries tratará de desarrollar su teoría de la mutación estableciendo que si es capaz de estar en armonía con las concepciones teóricas de la sistemática y de la embriología, su justificación como teoría acerca de la naturaleza de la herencia, estará perfectamente fundada (de Vries, 1901).

Para de Vries existen dos tipos fundamentales de mutación que se sustentan en su visión particular de progreso. Para él ,

progreso implica aumento en la diferenciación, es decir que las particularidades del carácter individual de cada especie deviene mas numeroso, mas organizado, o inversamente, el grado de diferenciación estará determinado por el número de caracteres elementales. Cuando se añade una nueva unidad a las ya existentes, la diferenciación avanza, y si fuese posible contar tales unidades, tendríamos el grado de diferenciación de los organismos.

Ya que, entonces, las mutaciones constituyen un avance, éstas se llaman progresivas, cada una contribuyendo a un nuevo carácter. La mutación progresiva es un proceso doble: por una parte consiste en la producción de un factor interno, y su activación por la otra. La premutación sería el factor externo y la mutación sensu strictu su expresión visible externa. La premutación es hipotética, la mutación empírica.

Las mutaciones retrogresivas son aquellas en las cuales hay un retorno de una situación activa a un estado latente. En estos casos de Vries (1901) incluye caracteres como color, pelo, etc., así como aquellos que afectan la organización interna de la planta como el arreglo de las hojas, la simetría de los órganos, etc. Sin embargo, esta pérdida es aparente, externa, ya que la unidad o factor permanece en la estructura interna pero de forma latente.

Existen cuatro grados de manifestación de las mutaciones: latente, semi-latente, activo y semi-activo. Las transiciones de un estado a otro no son graduales, sino espontáneas y son distintas de las mutaciones progresivas y retrogresivas en tanto

que producen razas y se llaman mutaciones degresivas. Cada una de estas mutaciones degresivas consiste fundamentalmente en la transposición de un caracter interno, de latente a activo, de semi-latente a latente, etc.

Las principales objeciones de la escuela mutacionista a la teoría de la selección natural es que ésta pretende explicar el fenómeno de la adaptación basándose en que todos los caracteres varían en todas direcciones y que la más mínima desviación estará sujeta a la lucha por la existencia, acentuándose y fijándose finalmente. Primero, esta variación, según la selección natural es la variación individual, y, para de Vries, esta limitada ya que consiste solo en la oscilación alrededor de un punto de equilibrio y la formación de especies nuevas requiere de la creación de nuevos puntos de equilibrio. Segundo, la variación individual es lineal, oscila solo en direcciones de más y menos, mientras que las adaptaciones requieren de variación en todas direcciones. Tercero, la selección natural es una criba, no crea nada. Retiene solamente la variabilidad de la criba, y por lo tanto, para de Vries, la selección elimina a los inferiores, mientras que la selección de los mejores debiera llamarse 'elección'. Ahora, las diferencias individuales aparecen en dos sentidos alrededor de un punto de equilibrio y la selección no puede mas que eliminar aquellas variaciones menos adaptadas. Para de Vries, el hecho de las mutaciones aparezcan en todas direcciones satisfaría el origen de las especies. "Vemos, entonces, que la teoría de la selección no puede explicar el tipo de variabilidad que la teoría misma demanda, mientras que la doctrina de la mutación provee una explicación nacida de la

observación actual" (de Vries, 1901). En cuanto a la presencia de caracteres inútiles de Vries apunta que la selección explica la existencia de útiles, pero no explica la existencia de los inútiles o peligrosos. La doctrina de la mutación asume que la diferenciación específica no toma lugar en alguna dirección definida, sino que las mutaciones se producen independientemente de su valor adaptativo y que sobrevivirán en tanto no sean perjudiciales o anulen la fertilidad del individuo.

Cómo aparece la variabilidad? Darwin (1859) aseguraba que la selección natural dependía de la variación. Creía que ésta era de naturaleza fluctuante y que la selección escogía las formas más aptas entre el espectro de variación. Esta variación tenía que ser heredable, de otra forma no tendría sentido evolutivo. Desgraciadamente Darwin estudió caracteres complejos en lugar de alternativos (mendelianos). Tendían a mezclarse y formar una serie gradual que reforzó su visión según la cual las variaciones en la naturaleza eran casi imperceptibles. Como una hipótesis de trabajo Darwin propuso partículas microscópicas, gémulas, existentes en todas las células que respondían a las condiciones fisiológicas del tejido pudiendo variar por efecto del medio ambiente. El tejido del que provenían, su cantidad, el tiempo en el cual salían al sistema circulatorio rumbo a las gónadas con las variaciones que podía efectuar el medio ambiente resultaban en el tipo de gameto que habría de formarse, que no era más que un compuesto de gémulas, generando las diferencias en caracteres, las variaciones porpiamente dichas, sobre las que actuaría la selección natural. Esto conformaría lo que Darwin (1868) llamó la

teoría de la Pangénesis y consta de dos pasos fundamentales. Primero las células individuales y órganos del organismo están representados en cada célula germinal y en cada gema por partículas materiales definidas que se multiplican por división y en el momento de la división celular pasan de células madres a células hijas. Segundo, todas las células del cuerpo lanzan estas partículas durante su desarrollo hacia las células germinales (hipótesis del transporte). Es decir, las células individuales del organismo y sus elementos constituyentes tienen sus representantes en la sustancia hereditaria. Entonces, la base material de la herencia está compuesta de tantas unidades diferentes como órganos separados y tipos de células.

Es a partir de esta teoría de la pangénesis que de Vries deriva su teoría de la pangénesis intracelular (1889). Para de Vries, las unidades hereditarias no son elementos morfológicos, como son las partes del cuerpo o los tejidos, ni sus células u órganos visibles. Por el contrario, son caracteres elementales internos que determinan las características externas de los organismos. Estos caracteres elementales, los pangenes, constituyen el protoplasma, y éstos, los pangenes, son los elementos vivos, localizados en el núcleo y son transmitidos de una generación a otra durante la división celular. En el núcleo estos pangenes se multiplican, unos formarán los elementos hereditarios de la siguiente división celular y otros saldrán del núcleo y se activarán en el citoplasma y por división construirán los órganos constitutivos del organismo. Bajo esta hipótesis la variabilidad depende de dos causas distintas. Primera, la sobreproducción y el cambio de posición de las partículas sin que

estos se hayan transformado en el proceso (esto explicaría la variación individual, ya que ésta debe a la variación del número de pangenes, explicándose así su linealidad y porqué se manifiesta en solo dos sentidos; mutaciones regresivas y degresivas), segunda, cambios en las partículas mismas produciendo nuevos tipos que por multiplicación formarán nuevos caracteres (mutaciones progresivas).

La variación darwiniana era atribuida a gemulas sujetas a la modificación del medio ambiente. De Vries, rehuyendo este principio lamarckiano, negó que los pangenes fueran alterados por el medio, eliminando el proceso del transporte de Darwin. Para de Vries había una separación entre los pangenes germinales y los somáticos, ya que estas permanecen intracelulares.

Para de Vries los pangenes son los portadores del material hereditario. "Una pregunta importante es si estos factores son los hilos nucleares mismos, o están compuestos de grupos de unidades similares, sin embargo esto solo podrá decidirse con futuros experimentos" (de Vries, 1901). En suma, la teoría de la mutación sostiene que los pangenes o grupos de ellos, pueden existir en varias condiciones y posiciones. La condición normal activa es aquella en la cual se multiplican en un determinado período del desarrollo y pasan al citoplasma y ejercen ahí sus funciones. La condición latente en la cual la multiplicación, si existe, es limitada. Si la condición es semi-activa esto explicaría la gran variabilidad de las razas. Las mutaciones progresivas se deben a la formación de pangenes disímiles (pre-mutación). Estas son inactivas al principio por

ser pocas. Si los pangenes o grupos de ellos están en asociación fuerte a través de varias generaciones, la especie será inmutable en relación al carácter en cuestión. Si el equilibrio es inestable, el carácter mutable y la más mínima diferencia externa lo hace visible.

Finalmente, en cuanto al origen de las especies en el tiempo geológico, la teoría de la mutación propone que las especies aparecen en grupos y que se originan discontinuamente en el tiempo, habiendo alternancia de periodos mutables e inmutables.

La introducción de la teoría mutacionista a la Biología se debe sin lugar a dudas a Hugo de Vries. La detección de las mutaciones en sus experimentos y las pruebas con sus mutantes son los causantes, y no la prueba, de la discontinuidad en el origen de las especies. Su trabajo tiene que ver con la 'evolución experimental', la cual dió por primera vez la posibilidad de observar directamente y controlar los procesos evolutivos.

El concepto de mutación tuvo gran influencia en la genética, casi tan grande como la introducción del mendelismo. La publicación del primer tomo de de Vries (1901) tuvo gran impacto en la biología así como los trabajos de Mendel. Trajo gran oposición. La teoría de la mutación tenía que ver con un problema general, el mecanismo de la evolución, mientras que los principios mendelianos no tenían, aún, una aplicabilidad universal.

Fue precisamente la mutación aplicada como el modo por medio del cual se originan las especies, la que se opuso a la selección de variaciones pequeñas, darwinianas, de los seleccionistas y dió soporte a muchos experimentalistas a repetir y extender los

experimentos devresianos.

Los efectos de esta oposición en genética teórica y experimental son claros. Con el reconocimiento del gene (carácter unitario) una visión del origen de nuevas características por pasos únicos llamó la atención sobre la genética y la evolución, siendo posible que ambas cuestiones fuesen tratadas experimentalmente, y dando la posibilidad de la creación de un campo totalmente novedoso: el estudio de la mutación.

3.2. Mendelismo y evolución gradual.

En 1900 fue redescubierto el trabajo de Mendel. Ese mismo año William Bateson, quien ya había trabajado sobre problemas de variación y evolución, trataba de demostrar la ocurrencia de la herencia en animales a través de su lectura de Mendel.

Para Bateson el hecho de que las especies sean diferentes y estén adaptadas constituyen los hechos principales de la evolución. Ahora, para que sean diferentes, debe existir variación, es decir, debe haber descendencia con modificación. (diferencias entre los padres y su descendencia. (Bateson, 1898). Para Bateson, el estudio de las causas de la variación es lo más importante para aclarar el aspecto evolutivo. "La variación, cualquiera que sea su causa, y cualesquiera que sean sus límites, es un fenómeno esencial de la evolución. La variación, de hecho, es evolución. El modo de resolver el problema de la evolución es a través del estudio de la variación" (Bateson, 1898).

La evolución consiste en la progresión de las series, que representan un árbol genealógico. Esta visión de la historia de

los organismos constituye las series progresivas y debe tenerse en cuenta en todos los estudios evolutivos (Bateson, 1928).

El estudio de la variación tiene que tomar en cuenta la naturaleza de dichas series y cómo es introducida la diferenciación en ellas. El paso de la primera serie a la última se debe a cambios minúsculos e insensibles o a saltos o discontinuidades en las diferencias?

Si la transición es por pasos imperceptibles, la serie es continua, si encontramos huecos o lagunas, será discontinua. Según Bateson la evolución es una mezcla de ambos, y es necesario averiguar el grado de continuidad y discontinuidad. Sin embargo, siguiendo la teoría de la selección natural por medio de la cual pequeños cambios que representen una ventaja a su poseedor, serán perpetuados en la lucha por la existencia, siendo éste capaz de reproducirse y heredar a la descendencia tales características, Bateson replica que la selección natural no puede explicar estadios imperfectos, o la aparición de órganos incipientes (Mivart hace este tipo de objeciones al propio Darwin). Cómo se construyen o forman órganos nuevos, cómo se transforman y cómo se seleccionan y perpetúan las pequeñas variaciones?

Sin embargo, a pesar de que las diferencias tienen que ser marcadas, discontinuas, Bateson no cree que la evolución sea totalmente continua. Durante largos periodos de tiempo las diferencias entre los miembros y sus predecesores y sucesores inmediatos es impalpable, mientras que en otros momentos las series se interrumpen y dan lugar a ramificaciones. La aplicación del término discontinuidad a la variación no debe

malinterpretarse. No quiere decir que no haya formas intermedias entre la variedad y el tipo, sino que en los casos de discontinuidad la forma perfecta de la variedad puede (Bateson, 1928) aparecer en un paso integral, sin ocurrencia de intermediaciones o al menos sin intercalación de formas graduales.

La variación discontinua no debe ser sinónima de 'sport'. Aunque los sports son variaciones discontinuas, no debe restringirse su uso en este sentido. Para Bateson el término sport denota la variación conectada con organismos normales sin intermediarios. En algunos casos de variación discontinua, hay una series de individuos no necesariamente directos en descendencia, sino esparcidos a través de la población. La discontinuidad en la variación es un término de grado. Una variación es discontinua en proporción con intermediarios entre estas variedades y el tipo. Una variación es discontinua cuando todos los individuos de la población se cruzan libremente entre si, sin regresión a la norma, pero con una preponderancia sensible de la variedad sobre los intermediarios. Cuando tal población se clasifica con respecto al carácter variado para un estudio estadístico, la curva de variación no tiene un pico como en las especies monomórficas, sino al menos dos. La característica esencial de la discontinuidad es que no hay mezcla entre la variedad y el tipo por cruzamiento, es decir, hay aislamiento reproductivo.

William Bateson (1894) expone casos que indican variación discontinua, es decir, marcadas diferencias en variedades e

individuos. En 1899, casi un año antes de la publicación de los trabajos que redescubrirían a Mendel y darían a conocer sus trabajos al mundo, Bateson escribe: "Reconocer la existencia de la discontinuidad en la variación, y la posibilidad de su herencia completa o integral cuando una variedad es cruzada con su tipo, es simplificar el fenómeno de la evolución más allá de lo que ahora podemos ver... Necesitamos conocimiento particular acerca de la evolución de formas particulares. Requerimos saber, primero, que pasa cuando una variedad es cruzada con su aliado más cercano. Si el resultado es tener un valor científico, será necesario examinar a la descendencia estadísticamente. Es decir, cuántos de los descendientes se parecen a sus padres, y cuántos muestran caracteres intermedios" (Bateson, 1900a). Hacia mayo de ese mismo año, Bateson lee por primera vez la confirmación por Hugo de Vries de las leyes de Mendel, considerandólas importantes en futuras discusiones evolutivas (Bateson, 1900b). En estos trabajos se observó que Mendel encontró:

1) Ciertos caracteres que podían ser fácilmente distinguibles ("differentiating characters") muestran dominancia unos sobre otros en la progenie de la cruce de padres con caracteres diferenciados. Es decir, los dos caracteres son transmitidos como elementos diferentes (dominante y recesivo, llamados así por Mendel). "Aquellos caracteres que son transmitidos sin cambio en la hibridación, y que por lo tanto constituyen el carácter del híbrido, serán llamados dominantes, y aquellos que permanecen de forma latente en el proceso, recesivos. La expresión 'recesivo' se ha escogido ya que estos caracteres desaparecen en el híbrido, pero reaparecen en su progenie" (Mendel, 1865). Esta es la

característica más importante de los experimentos de Mendel según de Vries (1900).

2) Mendel reconoció que dichos pares actúan independientemente de otros pares de caracteres. "Todos los pares de elementos existentes participan de manera independiente y solo los diferenciadores se separan mutuamente. De este modo, las clases de huevos o granos de polen que se producirán serán tantas como combinaciones posibles de los elementos formativos" (Mendel, 1865). En esto Bateson veía el mecanismo que mantenía la variación discontinua.

3) de estos principios Mendel derivó algunas reglas aritméticas que rigen la herencia. Para progenes de híbridos con un par de caracteres diferenciadores, su proporción en la progenie será de 3 dominantes contra un recesivo. Cuando difieren en dos pares de caracteres la proporción será de 9:3:3:1 significando en orden, aquellos individuos con ambos caracteres dominantes, dos series con un carácter dominante e individuos con ambos recesivos.

Para Bateson esto significaba un arma cuantitativa para el naturalista y el criador, así como un procedimiento preciso para el análisis de la herencia y la variación. Según él, los principios mendelianos se pueden aplicar a caracteres discontinuos.

Bateson introduce (1902) cuatro términos en vista de la importancia de la pureza de los gametos y su inhabilidad para transmitir los caracteres antagónicos al mismo tiempo. "Tenemos entonces la concepción de caracteres unitarios existentes en pares antagónicos. Propongo llamar a estos caracteres

alelomorfos, y al cigoto formado por la unión de un par de gametos conteniendo alelomorfos opuestos, heterocigoto. De igual manera al cigoto formado por la unión de gametos que lleven alelomorfos similares, homocigoto" (Bateson, 1902). Sin embargo, lo que Bateson llama carácter unitario combina los 'caracteres diferenciadores' de Mendel con el elemento formativo de las células germinales, confundiendo el carácter con la base de su transmisión. De esta forma, para Bateson, la unidad del carácter daba la impresión de ser el elemento heredado y no el elemento formador. Las ideas de Bateson encontraron competencia en la escuela biométrica fundada por Francis Galton y desarrollada por Karl Pearson cuyos métodos eran matemáticos, desarrollando un análisis estadístico de las poblaciones. Apoyando la idea de la continuidad en la variación, Pearson y Weldon encontraron que los caracteres cuantitativos en las poblaciones describen una curva normal).

En 1901, Pearson, Galton y Weldon, forman su propia revista, Biométrika en donde exponen su análisis de las poblaciones como la fuente de las leyes de la herencia.

Respondiendo a Biométrika, Bateson escribió: "El anuncio de este descubrimiento (el de las leyes de Mendel) ratifica de una vez por todas la concepción de la discontinuidad de la variación, y define la herencia alternativa" (Bateson, 1902). En Bateson, las leyes de Mendel significan un principio fundamental para explicar la evolución, solo comparable a los trabajos de Darwin.

Si el mendelismo era universal, cuál era el papel del galtonismo? Para Bateson el hecho de que los principios

mendelianos pudiesen aplicarse a ciertos casos galtonianos, era esa otra cuestión, sin declarar que tal extensión fuera imposible. Para explicar ciertos casos de aparente continuidad en chícharos para el color de la semilla Bateson (1902) afirma que los casos que Mendel analiza se refieren a caracteres alternativos, con clara dominancia, lo cual no excluye que la esencia del descubrimiento de Mendel, la pureza de los gametos con respecto a ciertos caracteres, pueda aplicarse a casos de herencia mezclada.

El punto principal que ve Bateson en la escuela biométrica, es que sus estudios siendo de carácter estadístico no dicen nada de cómo se transmiten los caracteres de padres a hijos. Sin embargo, antes de la aparición de los trabajos de de Vries anunciando las leyes de Mendel, la ley de la herencia ancestral podía aplicarse tanto a herencia mezclada como alternativa. La ley de Galton dice: "Los padres contribuyen entre ellos con un promedio de un medio (0.5) del total de la herencia de la descendencia; los cuatro abuelos, un cuarto (0.5²), los ocho bisabuelos, un octavo (0.5³), etc. La suma de las contribuciones ancestrales se expresa en la siguiente serie (0.5) + (0.5²) + (0.5³), etc., que siendo igual a la unidad da cuenta de toda la herencia" (Galton, 1897).

En Mendel es la intensidad de los caracteres de los padres en cuyos cuerpos los gametos se han formado, los que cuentan. Galton extiende esta referencia más allá de los padres, a los ancestros y en los casos que él estudió, encontró que sabiendo la

intensidad que manifiesta el carácter en cada progenitor, aún pocas generaciones atrás, se puede predecir no el carácter de cada individuo sino el porcentaje que del carácter se manifestará en individuos ancestros comunes o similares. Para Galton, así, la herencia era mezclada, es decir, que el cigoto resultante de la unión de A con a será en proporción más parecido a a que si A se hubiera unido con A; inversamente, un cigoto Aa será más parecido a A que un aa.

A esto Bateson replica: "La ley es imperfecta y cada modificación de ella está incompleta en un sentido. La ley tiene que ver con los caracteres de los cigotos resultantes y no toma en cuenta a los gametos que los forman. Una buena predicción puede hacerse para un grupo dado de cigotos, pero de las posibles constituciones de los distintos gametos no se dice nada" (Bateson, 1902). La ley de la herencia ancestral de Galton, no da cuenta de la distribución de los caracteres entre los gametos de un individuo a través de la herencia (Bateson, 1902).

Para él, el mendelismo no tiene nada que ver con la cuestión de si la herencia es mezclada o alternativa.

Según Bateson, Mendel habla de la herencia de caracteres existentes, no de la variación. Para Bateson la cruce es una de las causas de la producción de gametos heterogéneos.

Bateson intenta aclarar el problema de la variación (Bateson, 1913). Distingue claramente dos tipos de variación, aquella en proceso de división y variaciones en la naturaleza de la sustancia dividida. Las primeras, o variaciones merísticas son aparentes en el cambio de las partes, y las variaciones sustantivas implican un cambio en la composición del material

genético.

Entre estos dos tipos de fenómenos, las variaciones merísticas se deben a un proceso físico o propiamente mecánico que se refiere a cómo se divide el material genético y por otra parte, las variaciones sustantivas se deben a un proceso químico que relaciona la constitución del material mismo. Por un lado, tenemos la división celular, por el otro, la diferenciación celular. El primer paso para clasificar las variaciones sustantivas es el de distinguir aquellas en las cuales se adicionan nuevos elementos o factores de aquellas que se producen por la omisión de éstos.

Haciendo diferencia entre caracteres dominantes y recesivos, siendo los recesivos pérdidas o ausencias y los dominantes factores añadidos, se pregunta de dónde vienen o cómo aparecen los caracteres dominantes en tanto que presencias. Sin embargo, no puede pensarse que aparezcan de novo ya que la diferencia entre la novedad es cuantitativa y puede deberse a un accidente en la división celular. Con respecto a los factores recesivos Bateson asegura que se deben a ausencias y se refiere a ellas como simples.

Tomando en cuenta esta explicación, Bateson supone que en general las especies cercanas y sus variedades representan las diversas consecuencias de la presencia/ausencia de los factores alomórficos en distintas combinaciones.

Si estas diferencias entre especies no se debe a adición o pérdida de factores de uno en uno, los cambios deben haber

ocurrido súbitamente. Así, fusionando su teoría de la presencia/ausencia con la teoría de la mutación de de Vries, asegura que las mutaciones son cambios merísticos y pérdidas de factores, así como de la adición de nuevos.

Sin embargo Bateson no cree que de Vries pudiera basar su teoría en el estudio único de Oenothera, no admitiéndola como justificación de la concepción de su teoría de la mutación, es decir, que hay períodos especiales de mutación, en los cuales las especies parentales tienen propiedades genéticas particulares. La mutación de un carácter, o el producto de la recombinación tiene pruebas abundantes, pero la variación simultánea de varios factores independientes a los cuales de Vries les atribuye el origen de especies nuevas, es bastante dudoso (ver Gates, 1909, 1911, Davis, 1909, 1911, 1912, Spillman, 1909).

Bateson y Punnett (1911) proponen su teoría de la presencia/ausencia como una explicación de la dominancia y la recesividad. Más tarde, para explicar la segregación no independiente de ciertos factores, proponen la teoría del 'acoplamiento y repulsión' la cual solo se aplica a caracteres dominantes. En el simbolismo de Bateson el factor dominante se denomina con la letra mayúscula que representa el gene mendeliano. El alelo recesivo al denominarse con la letra minúscula indica la pérdida o ausencia del alelo dominante. Para Bateson 'acoplamiento' significa que en la herencia de dos caracteres las dos formas dominantes aparecen juntas (es decir, cuando dos alelos dominantes aparecen en uno de los padres). Entonces un doble heterocigoto AaBb solo producirá dos tipos de

gametos AB y ab en lugar de los cuatro probables (AB, Ab, ab, aB) si hubiera apareamiento al azar. Las frecuencias fenotípicas de la descendencia de la cruce de dos heterocigotos con segregación independiente será 3 con dominancia completa de ambos alelos contra 1 con ambos recesivos. Sin embargo, Bateson observó que en ciertos casos la dominancia es más fuerte o más débil. Cuando el acoplamiento es completo los alelos A y B aparecen siempre juntos. Si es débil, los alelos dominantes puede aparecer recombinados con los recesivos. Aparecerán en el caso de acoplamiento parcial o débil, dos combinaciones fenotípicas más (Ab, aB) y la frecuencia de éstas indicará el grado de acoplamiento de los alelos.

También observó casos en los cuales los 2 alelos dominantes nunca aparecen juntos (alelomorfismo espurio, más tarde repulsión). Este fenómeno indica la repulsión de dos alelos dominantes R y S que nunca aparecerán juntos en la descendencia. Es decir, un heterocigoto con fórmula genotípica RrSs solo forma gametos Rs y rS. Las frecuencias fenotípicas de la cruce de dos heterocigotos con repulsión completa será de 2 con ambos dominantes, 1 con R y s y otro con r y S (esto se explica ya que R y S no aparecen en la misma célula germinal, pero nada impide que un gameto con R fecunde a otro con S). Así, acoplamiento y repulsión representan el contrario uno de otro. Más tarde, tratando de encontrar una hipótesis que diera cuenta de los fenómenos de acoplamiento y repulsión así como la regularidad en las frecuencias en las que ocurren acoplamientos y repulsiones parciales, Bateson asume que durante el desarrollo embrionario ciertas células germinales con cierta constitución se reproducen

más que otras. Esto es, hay divisiones mitóticas diferenciales del plasma germinal. Este proceso es geométrico, para cada par de caracteres que presentan acoplamiento y repulsión sólo habrá dos tipos de distribuciones de células en el tejido germinal. Cual de estas distribuciones en un individuo se desarrollará es cuestión de azar y como resultado de la proliferación desigual ciertos genotipos existirán en mayor proporción en el plasma germinal. Esta idea hace innecesaria la teoría del acoplamiento y repulsión y por tanto de la existencia de factores acoplados o asociados en las células. Sus resultados anteriores podían ser explicados por la proliferación de ciertas células en exceso en el plasma germinal alterando las tasas y proporciones. A esta idea se la llamó la hipótesis de la reduplicación (Bateson y Punnett, 1913). Con esta hipótesis, Bateson y Punnett negaban la teoría del acoplamiento y repulsión y proponían la hipótesis de la reduplicación diciendo que no se han encontrado casos de acoplamiento en animales (este acoplamiento es el ligamiento de la escuela de Morgan).

Sin embargo, cuando se enteran que el ligamiento es una expresión de la asociación parental de los caracteres (Morgan et al, 1914) y que la teoría cromosómica provee una explicación alternativa a este proceso, abandonan su teoría de la reduplicación (Bateson y Punnett, 1926).

Ya que la evolución sin variación era imposible, actuara la selección natural o no, Bateson creía que una sistematización crítica de todo el conocimiento sobre la variación era el campo más prometedor para entender los procesos evolutivos en su

conjunto.

Acerca de los dos problemas fundamentales que atravesaba la teoría de la evolución a principios de siglo, a saber, el origen de la variación y el papel que juega la selección natural en la aparición de especies nuevas, Bateson solo se interesa en el primero. El segundo problema resultaba extraño para Bateson, es decir, que la herencia mendeliana pudiese salvar una posición teórica del darwinismo, no era un problema obvio, y por tanto estaba fuera de la competencia de la genética.

El problema de la naturaleza de los factores mendelianos (genes) solo fue discutido por Bateson en términos de la presencia de algo caracterizado como dominante o su ausencia como recesivo. Su teoría de la presencia/ausencia finalmente fue desplazada por la teoría cromosómica de la herencia de la escuela de Morgan, ya que Bateson no sabía lo que los factores realmente eran, y por lo tanto no podía postular ninguna hipótesis que diera cuenta de cómo éstos podían variar (mutar).

3.3. Herencia poligénica.

Con el descubrimiento de Mendel de la segregación se pudo plantear una herencia particulada, es decir, que los 'elementos' germinales transmiten los 'caracteres diferenciadores'. Después de Mendel muchas teorías de la herencia fueron propuestas en el sentido de que existen unidades particuladas que sirven de determinadores hereditarios.

Ninguna de estas teorías se desarrolló a partir de descubrimientos experimentales (Carlson, 1981), sino más bien por

un lado de las teorías de Darwin (pangénesis) y por otro de los estudios citológicos del núcleo y los cromosomas. Estas crearon un ambiente filosófico que hizo posible el redescubrimiento de Mendel, ellas hicieron la diferencia en el horizonte teórico que permitió el entendimiento del mendelismo de 1866 a 1900.

Estas unidades (unidades fisiológicas de Spencer, gémulas de Darwin, grupos micelares de Nägeli, pangenes de de Vries, plasomas de Weisner, idioplasma de Hertwig, bioforos de Weismann) fueron propuestas como explicación a los procesos mas fundamentales como asimilación y crecimiento.

Johannsen (1903) con sus estudios con Phaseolus remplazó el concepto de 'carácter unitario' (unit-character) de Bateson y la teoría particulada de Spencer, Darwin, Nägeli, Weismann, Roux y de Vries. "Parece simple aislar las últimas sílabas 'gene' de la palabra de Darwin 'pangene', y así remplazar la menos deseable y ambigua palabra 'determinante'. Consecuentemente, hablaremos simplemente de 'el gene' y 'los genes' en lugar de 'el pangene' y 'los pangenes'. El término 'gene' está completamente libre de toda hipótesis, expresa un hecho evidente, es decir, que muchas características de los organismos son específicas ya sea por condiciones especiales o determinadores, los cuales son únicos, separables e independientes - en suma, son estos determinadores a los que queremos llamar genes" (Johannsen, 1909). Castle (1903) presenta el mendelismo ante la comunidad científica estadounidense. Expone los principales hallazgos de Mendel, de sus redescubridores y de Bateson. Para Castle la contribución principal es la ley de la segregación. Castle ya había demostrado

que el albinismo se comporta como un carácter recesivo en ratones y anticipa su posible similitud con el hombre. La doctrina mendeliana de la pureza de los caracteres está corroborada en experimentos con ratón, conejos, etc., con la importante contribución de que la cruce puede traer a la actividad caracteres latentes (Castle, 1903). La naturaleza de estos elementos latentes no fue obvia para Castle hasta 1905. Castle quería justificar la segregación mendeliana ya que él creía en las fluctuaciones darwinianas de los caracteres como la base de la selección. Para él, entonces, son los caracteres unitarios los que variarán y así no ve necesidad de explicar la creación de nuevas unidades. En la herencia alternativa los caracteres se comportan como unidades. Sin embargo, la unión de un carácter dominante con un recesivo no es como la simple adición de piezas ni su segregación completa. Mientras que cada uno mantiene su identidad, al mismo tiempo cada uno se modifica por su unión previa (Castle, 1905).

Entonces, los alelos se juntan y contaminan. "De la cruce de conejillos de indias albinos con negros, se incrementa la cantidad de pigmentación negra en los albinos ... Cuán lejos pueda llegar esta contaminación de los albinos, no estoy en condiciones, aún, de decirlo". (castle, 1905). Bateson utilizó la teoría de las líneas puras de Johannsen para tratar de explicar la herencia mezclada mendelianamente diciendo que había más caracteres unitarios. Sin embargo, Castle propone la contaminación o impureza de éstos.

Johannsen (1906) continuando sus experimentos explica que el estudio de la herencia de caracteres que solo son estimados como

diferencias en intensidad de cierta cualidad y que se mezclan en la cruce requiere métodos especiales. En sus experimentos con líneas puras trató de aislar cuantitativamente tipos diferentes de la población, y en ese sentido demostró la ley de Galton de la regresión (fluctuaciones heredables). En una población conteniendo sólo un tipo, la selección de las fluctuaciones no actúa.

Para Castle, la introducción del término 'factor' por Johanssen en su teoría de las líneas puras es una evasión ante la observación de que los caracteres varían. La idea de la impureza de los gametos no se opaca por la introducción de la concepción de factores ya que éstos son tan impuros como los gametos (Castle, 1906).

Para Castle, cuando el término de carácter unitario cambió a factor, no se disoció el agente transmisor de su efecto en el carácter. Sus experimentos fueron diseñados para obtener variación en el carácter, no para aislar factores que afecten la variación. Estos caracteres unitarios existen y son capaces de modificarse; la segregación ocurre en algunos casos (herencia mendeliana) pero no en otros (herencia mezclada).

Johanssen (1910) introduce tres conceptos básicos. Fenotipo para el carácter de un organismo, genotipo para su base factorial y a los factores mismos como genes. La base factorial fue demostrada independientemente por Nilsson-Ehle en Suecia usando trigo (1910) y por E.M. East (1910) con maíz. La hipótesis de los 'factores múltiples' atribuye a la herencia de los caracteres cuantitativos la presencia de 2 o más pares de factores. "En mi

propio trabajo, existen pruebas suficientes para mostrar que en ciertos casos el endospermo del maíz contiene dos colores amarillos indistinguibles e independientes, aunque en algunas razas solo un color se encuentra presente. También existen evidencias de que hay tres y posiblemente cuatro colores rojos independientes en el pericarpio, y dos en las células de la aleurona" (East, 1910).

Estos resultados podían interpretarse como herencia mezclada explicada desde un punto de vista factorial. Pero East puntualiza que en ciertos casos aparecen varios pares de alelos cada uno de los cuales es heredado independientemente, y cada uno de los cuales es capaz de formar el mismo carácter. Si están presentes en diferentes individuos, estas unidades forman diferencias cuantitativas. En una población pequeña aparecerán como la mezcla de dos padres con variabilidad fluctuante a cada lado de la curva. Para East el término mutación deberá aplicarse a la variación heredable por más pequeña que sea, y el término 'fluctuación' deberá restringirse a aquellas variaciones debidas al medio ambiente que no afectan las células germinales y que, por lo tanto, no son heredables.

East atribuye al uso de caracteres unitarios la mala interpretación de la hipótesis de factores múltiples, porque se describe a los caracteres unitarios como la expresión somática de un factor o unidad hereditaria. Si el factor y no el carácter es la unidad descriptiva, un factor (unit-factor) puede afectar el carácter pero el carácter no podrá expresarse excepto cuando varias unidades cooperan en la ontogenia. Sustituye así, el carácter unitario y usa al gene como concepto libre de realidad

física. "Como yo entiendo el mendelismo, es un concepto puro y simple. Se cruzan varios animales o plantas y se registran los resultados. Bajo condiciones ambientales constantes estos resultados justifican el uso de una notación en la cual los genes teóricos localizados en las células germinales remplazan a los caracteres somáticos observados en el experimento... El mendelismo es, entonces, esta notación conceptual... Nadie objeta la expresión de un círculo como $x^2 + y^2 = r^2$... Nadie deberá objetar la expresión $DR+RR=1DR+1RR+1RD$ " (East, 1910). Si esta notación fuera posible, entonces, un factor, sin ser la realidad biológica sino un término descriptivo, podrá fijarse.

Para Castle, la genética no son puras abstracciones inmutables. No puede sostenerse que los símbolos son, generación tras generación constantes. Los caracteres unitarios son modificables bajo selección (1912).

Trabajando con diferentes pares alélicos de caracteres en ratas, albinismo en conejos, textura de la piel, coloración plateada de la piel y polidactilia en conejillos de indias, llegó a la misma conclusión: los caracteres están sujetos a variación cuantitativa, su expresión en el cuerpo varía, y estas variaciones tienen bases germinales ya que son heredadas. La selección hacia mayor o menor a través de una serie de generaciones intensifica o disminuye la expresión de tal carácter, modificándolo. La base del mendelismo es la variación cuantitativa de generación en generación (Castle, 1912).

Sin embargo, es la escuela rival en genética, la escuela de Morgan, quienes trabajando con Drosophila expusieron la hipótesis

factorial. Para éstos, los factores de la herencia se encuentran alineados formando parte de los cromosomas. La hipótesis factorial se convirtió en la teoría cromosómica de la herencia (Morgan et al, 1914). El factor, concebido por ellos, es una partícula diminuta en el cromosoma cuya presencia en la célula influencia los procesos fisiológicos. Estos factores son solo uno de los elementos que producen los caracteres del cuerpo. También afectan a los caracteres el resto de la célula incluyendo la herencia citoplasmática. Así, los caracteres son el resultado conspicuo de la actividad de los cromosomas. Un factor puede afectar todas las partes de cuerpo, o influenciar principalmente una región limitada.

En contraposición con East, para quien la notación mendeliana era pura descripción conceptual, para Morgan había una interpretación material de los factores mendelianos. "Si se objeta la localización de estos factores en los cromosomas, y se prefiere tratar los problemas biológicos de manera matemática, las mismas predicciones resultarán del análisis de los datos, sin necesidad de estudiar el mecanismo de los cromosomas. Pero ya que encontramos en los cromosomas toda la maquinaria para llevar a cabo este proceso, suena razonable basar nuestras concepciones en este mecanismo... Y si se prueba que hemos encontrado el mecanismo que da cuenta de la segregación, unión y ligamiento de los factores hereditarios, habremos hecho un gran avance en nuestros estudios sobre la constitución del plasma germinal" (Morgan y col., 1914). Castle y Phillips publicaron el resultado de 6 años de experimentos con una línea de ratas. El carácter era un recesivo mendeliano (encapuchado). Siguió la selección en

dos direcciones, incrementando la pigmentación (serie 'más') y disminuyéndola (serie 'menos'). Después de 13 generaciones seleccionaron los extremos de cada serie. De la descendencia de cada serie se estableció una continua modificación del carácter. La serie 'más' se convirtió en más oscura y la otra serie más clara. El proceso era reversible con selección reversa y el cambio era tan lento como la modificación misma. Castle luego cruzó sus líneas homocigas de la serie 'menos' con ratas normales. La F2 mostró una regresión a la condición 'encapuchada' original, como si se hubiesen contaminado en la condición heterociga el alelo 'menos' con el alelo normal. Cuando Castle implementó la otra parte del experimento encontró resultados que no concordaban con la hipótesis de la contaminación de los alelos. Cruzó la serie 'más' con el tipo normal. Si ocurría contaminación era de esperarse que la F2 fuera más oscura que los homocigos para el carácter oscuro. Sin embargo, la F2 resultó más clara. No hubo contaminación. Castle y Phillips explicaron que el carácter unitario para la capucha era variable pero que podía asumirse la presencia de 'modificadores' que controlen su expresión. La selección de la serie 'más' acumuló más modificadores que la normal, y una cruce reduciría el número de modificadores en los individuos encapuchados (Castle y Phillips, 1914).

Muller (1914) criticó esta posición. Para él, más de un factor afecta el carácter de encapuchado. La producción de animales con cierto grado de pigmentación por selección se explica por la separación en diferentes líneas de descendencia de

las diferentes combinaciones de los diversos factores en un antepasado heterocigoto. Esto sirvió de base para una larga discusión entre Castle y Muller acerca de la existencia de los modificadores y de la contaminación de los factores. Castle (1914a, 1914b) defiende su posición de la contaminación de los alelos y replica que Muller no se basa en ninguna evidencia experimental. Para Castle, si los factores no son constantes y si los gametos no son puros, la selección adquiere más importancia de la que Darwin le atribuía en su esquema de la evolución.

Sin embargo en 1914 aparece The mechanism of mendelian heredity que representa 4 años de trabajo del grupo Drosophila, en donde se defiende la teoría cromosómica y se critica el carácter unitario sostenido por Castle. "El fracaso para darse cuenta de la importancia es estos dos puntos, a saber, que un factor puede tener diversos efectos, y que un simple carácter puede depender de muchos factores, ha dado como resultado el confundir entre factores y caracteres, y a veces, a abusar del término 'carácter unitario'. No sobra insistir en que la unidad real de la herencia es el factor, mientras que el carácter es el producto de los factores genéticos y de las condiciones ambientales. El carácter se comporta como unidad sólo cuando los individuos difieren con respecto a este simple factor genético, y sólo en este caso puede hablarse de caracteres unitarios. Mucha confusión ha surgido entre los genetistas mismos por el poco cuidado en el uso del término 'carácter unitario', término que requiere de especial atención" (Morgan y col., 1914). Finalmente Castle (1919) acepta la existencia de genes modificadores y la constancia del gene. Este, no está sujeto a

variabilidad fluctuante, es estable como un compuesto químico con composición definida y cambia solamente por pasos, es decir, por mutaciones, pero Castle hace notar que no en el sentido de mutaciones devresianas (macromutaciones) sino en el sentido morganiano (micromutaciones).

Vemos, así, que durante la introducción del concepto de gene se aclara la anterior confusión entre el carácter y la base de la transmisión, siendo el primero el producto de la actividad del segundo. De este modo, también, la mutación adquiere una conotación más precisa: cambios heredables en los genes sobre los cuales actúa la selección natural, quitándole importancia excesiva a la variación fluctuante (medio ambiental) como sujeto importante de la evolución y fuente última de ésta. Veremos más adelante cómo a través de la teoría cromosómica de la herencia y de la teoría del gene, se apunta a la mutación como la fuente de la variabilidad y se precisa su papel dentro del proceso evolutivo.

3.4. La mutación y la teoría cromosómica de la herencia.

3.4.1. Mendelismo y Selección Natural.

Una pregunta importante desde el descubrimiento de las leyes de Mendel en 1900 era si los 'factores' mendelianos tenían una base material en las células vivas. Sutton (1902), indicó la similitud entre la segregación mendeliana y la observación citológica de la separación de los cromosomas homólogos durante la mitosis y la meiosis, sugiriendo que los 'factores' debían ser los cromosomas o parte de ellos. Esta idea tenía una objeción

importante: se expresaban más caracteres en el adulto que pares de cromosomas existentes. La resolución de esta problemática se debió principalmente al trabajo de Morgan y sus estudiantes en la Universidad de Columbia durante la segunda década del siglo XX.

En un primer momento Morgan (1903) no acepta que los resultados de Mendel fueran aplicables a la evolución. Según Morgan, Mendel explica la herencia pero no la evolución, primero porque los factores de Mendel no son las diferencias individuales de las que habla Darwin, segundo, Morgan creía que las variaciones mendelianas, como el factor recesivo, estaban, también, sujetas a su dilución como las variaciones darwinianas, a menos que hubiera autofertilización o esta variación apareciera un considerable número de veces.

Morgan acepta la teoría mutacionista en un primer momento (1903) como explicación evolutiva. Sin embargo no cree que todas las adaptaciones aparezcan por mutación. Es más, él asegura que los saltos no son más grandes que el extremo de la variación individual. Para Morgan, la distinción entre variación continua y discontinua es muy rígida. Según él, la teoría mutacionista no excluye a la selección natural ni a la variación individual. Cada mutante representa un punto a partir del cual se da cierta fluctuación en la variación. Es decir cada nueva variante, en este caso cada nuevo mutante, establece su propia curva de fluctuación.

Su trabajo con Drosophila empezó con el propósito de demostrar las mutaciones devresianas en el reino animal (1908). Cuando sus resultados pudieron explicarse por genética mendeliana, Morgan cambió sus puntos de vista con respecto a esta

teoría y poco después, con respecto a la selección natural. Si la selección de variaciones individuales no producen nada nuevo en tanto que no transgreden los límites de las especies, aún la selección mas rigurosa no podrá explicar la evolución. Pero si hay variaciones dentro de los límites de las especies lineanas definitivas y heredables, son acumuladas en la misma dirección y capaces de establecerse más allá de los límites, se habrá salvado una de las criticas mas serias a la selección natural (Morgan, 1909).

Durante la década de 1910 Morgan sostenía que la selección natural actuaba sobre la variación discontinua. Para Morgan había dos razones por las cuales la variación continua no podía dar cuenta de la evolución. Primera, no era claro que la variación continua fuera heredable, y segunda, la variación continua no explica la aparición de especies nuevas. Para Morgan la variación continua se representa como una distribución normal y la selección solo da cuenta de la permanencia del tipo en su límite óptimo en cada generación, y por lo tanto, la selección de cualquier extremo no garantiza la producción de una nueva especie.

Sin embargo, Morgan ve las mismas objeciones a la evolución a través de variación discontinua. Al igual que F. Jenkins, pensaba que la aparición de un 'sport' se diluiría en la población en pocas generaciones. Morgan (1903) ve que sólo si la nueva variante se aislara reproductivamente de sus padres esta podría formar una nueva especie. La discontinuidad en si misma no puede ser la base de la evolución mas que la variación

individual, ya que en ambos casos el efecto de dilución en la cruce afecta las nuevas formas. Si las especies dan lugar a un número cada vez mayor de individuos del mismo tipo a través de variación discontinua, ésta podrá establecerse como una nueva especie al aislarse reproductivamente de la especie madre. Otra objeción es aquella según la cual, Morgan al igual que de Vries, piensan que la selección natural no explica el origen del más apto, ya que es un proceso mediante el cual el menos apto no se propaga. Es decir, la selección natural es un factor negativo en el origen de las adaptaciones, ya que solo elimina aquellas variantes que en la lucha por la existencia resulten tener un valor de supervivencia menor.

Una tercera objeción a la teoría darwiniana es que ésta no da cuenta de la aparición o presencia de órganos incipiente, o, incluso, desfavorables o inútiles (Mivart 1871, de Vries 1901, Bateson 1897, etc.). Si la selección actúa sobre pequeñas variaciones que aparecen al azar, las adaptaciones pequeñas no podrán fijarse ya que su estado incipiente no provee una situación favorable. El caso más famoso es el del ojo de los vertebrados al que Darwin le dedica unas páginas en su obra (1859) y en las cuales refuta el argumento diciendo que una pequeña ventaja en una estructura incipiente "si de algún modo ventajosa (1859 será definitivamente seleccionada.

Una cuarta objeción que encuentra Morgan a la teoría de la selección natural es el uso de la teoría lamarckista de la herencia de los caracteres adquiridos. "Con respecto a la herencia de los caracteres adquiridos, Darwin admite tácitamente la incompetencia de la selección natural para dar cuenta de la

evolución de ciertas estructuras" (Morgan, 1903). Morgan niega el lamarckismo por no aportar pruebas de que la herencia de caracteres adquiridos sea un hecho.

Otra noción importante que maneja Morgan es la de azar/propósito (chance or purpose). Según él, existen dos modos en los cuales puede operar el azar. Uno, el hecho de que ocurra un evento entre muchos, es decir, si aparece la variación A, B o C es solo por azar; dos, la ocurrencia de un evento en el tiempo y espacio. El hecho de que ocurra una variación y sea seleccionada dependerá de la concurrencia de ambos eventos, es decir, de la aparición de la variación en un tiempo específico y en un medio ambiente dado. La ocurrencia de la variación y el conjunto de condiciones que componen el medio son dos eventos independientes y ambos deben considerarse en la discusión acerca del azar en la evolución.

Para Morgan el concepto de azar no es misterioso ni metafísico, y no implica en modo alguno que el evento no tenga una causa, sino que se originó sin propósito o utilidad alguna. "El origen de una estructura adaptativa y su propósito, son sólo combinaciones al azar....No hay relación directa entre el origen de una variación útil y el final que esta última tiene" (Morgan, 1909).

Las objeciones de Morgan a la teoría darwinista entre 1900 y 1915 pueden ser resumidas de la siguiente manera. Primero la selección no actúa sobre variación continua, segundo la idea de variación discontinua es igualmente inadecuada, tercera, la selección natural es solo un factor negativo, cuarto, la

selección no da cuenta de los estados incipientes de estructuras altamente especializadas, quinta, la teoría de Darwin se basa en principios lamarckianos, sexta, la metodología darwiniana no es rigurosa, y séptima, Darwin confunde los problemas del azar y la necesidad en el desarrollo evolutivo.

Si bien Morgan sólo consideraba heredables a las mutaciones (1903), después (1909) también concebía que las variaciones individuales son el resultado de pequeñas diferencias heredables. Estas pequeñas diferencias del tipo silvestre las llamó mutaciones. Morgan no cree que las mutaciones de Drosophila sean cualitativamente distintas de las mutaciones de de Vries. Los 'sports' de Darwin son tipos extremos de mutación, pero también las variaciones pequeñas que abadan o sustraigan una parte aparecen por mutación. "Identificamos a estos cambios mutacionales pequeños como las variantes más probables que explican la teoría de la evolución ya que trascienden los tipos originales y son heredadas" (Morgan, 1909). Siendo más explícito Morgan dice que los tipos mutantes referidos como el material genético, son considerados frecuentemente aberraciones o modificaciones extremas, dando la impresión de que el cambio mutacional involucra una separación grande del tipo original (saltos de Darwin, los cuales siendo alteraciones grandes desharmonizan al individuo de su ambiente al cual está adaptado). Sin embargo, pequeños cambios son mutaciones características tanto como los cambios gruesos. De hecho, se ha demostrado que los cambios pequeños que hacen una parte más pequeña o más grande se deben a genes en el plasma germinal. Ya que solo las diferencias debidas a diferencias en los genes son heredables la

evolución se da a través de cambios en éstos (Morgan, 1926).

El hecho de que Morgan conservase el término mutación para referirse a las variaciones mendelianas pequeñas, confundió la variación de grandes pasos que según de Vries formará una nueva especie, con la variación pequeña que ocurre dentro de los límites de una especie (Allen, 1978). Morgan incluyó un gran rango de variaciones dentro del término mutación de distintos tamaños y grados que se heredan de manera mendeliana. Fue hacia 1912-1915 que Morgan cambia su actitud hacia la selección natural. En 1912 Morgan todavía era adepto a la teoría mutacionista de de Vries. Todavía creía que la variabilidad discontinua -mutaciones grandes o pequeñas- eran el material evolutivo.

En 1912 aparecen 3 trabajos de Davis sobre Oenothera demostrando que aquellas variaciones que de Vries tomó como mutaciones eran recombinaciones de caracteres híbridos de las formas parentales de acuerdo a las leyes mendelianas. Con esto la teoría mutacionista de de Vries cayó en descrédito y empezó a presentar serias dudas a sus defensores hasta que fue abandonada (Davis, 1912, 1913, 1914). También el concepto de balance de letales de Muller (genes letales que permanecen en una población porque su naturaleza letal solo es patente en condición homociga) se aplicaba a muchos casos de Oenothera (Muller, 1917). El concepto de balance de letales estaba en acuerdo con la teoría mendeliana y parecía, entonces, que las variaciones devresianas no eran tan grandes como de Vries pensaba, es decir, no eran a nivel de especie. El decaimiento de la teoría de la mutación fue

un factor importante en Morgan para tratar de explicar la selección natural en términos mendelianos.

3.4.2. Teoría del gene.

Las ideas de interacción génica, de genes modificadores y el concepto de efecto de posición podían dar cuenta de la aparente ocurrencia de un continuo de variaciones que se heredan discretamente. Así, la idea de Darwin de que la selección actúa sobre variación continua y heredable es explicada por la escuela de Morgan.

La fuerza en la expresión de un carácter depende de los factores modificadores presentes en la célula (estos modificadores son aquellos que pueden afectar el modo en el cual se expresa otro conjunto de genes, explicando la producción de pequeñas gradaciones en los caracteres mendelianos). La selección, entonces, puede producir cualquier forma intermedia reduciendo o incrementando los genes modificadores, puede, también, estabilizarlos o eliminarlos (Morgan, 1916).

Durante este mismo año aparece otra idea que será decisiva para la aceptación del mendelismo en la teoría cromosómica de Morgan. El fenómeno de ligamiento se hace evidente al estudiar los distintos fenómenos de mutantes en Drosophila. Este fenómeno se describió por primera vez por Correns (1900), luego por Bateson y Punnet (1905) llamado 'acoplamiento y repulsión'. Morgan observó que si estos grupos ligados se veían alterados por recombinación aparecerían nuevas combinaciones de ellos. Esto es muy importante para la evolución: la recombinación proveen un casi infinito número de combinaciones de caracteres. La idea

de interacción génica empezó a hacerse presente. Muller fue quien, argumentando que la selección acumula combinaciones de genes mutados, vió la importancia de ésta, haciendo mucho más clara la relación entre la genética y la evolución. El descubrimiento de los genes modificadores (Muller, 1914), es decir, la idea de que un conjunto de genes puede afectar el modo en el cual se expresa otro conjunto de genes fue importante para el desarrollo de la teoría cromosómica. Los genes modificadores explican la producción de pequeñas gradaciones entre los caracteres mendelianos (por ejemplo, el carácter recesivo 'enchapuchado' de ratas estudiado por Castle). La fuerza en la expresión de un carácter dependerá de los genes modificadores presentes. La selección aumentará o decrecerá el número de genes modificadores produciendo infinidad de formas intermedias. Puede fijar su número en una población, lo puede incrementar o reducir, o incluso, eliminarlos. Con esta idea Morgan y su grupo hacen a un lado la objeción más fuerte a la teoría de las líneas puras de Johanssen según la cual la selección solo puede separar las líneas puras en una población heterogénea. Es decir, en una población heterociga la selección natural solo producirá, como resultado, el establecimiento de subpoblaciones homocigas.

Morgan es más preciso acerca de sus investigaciones en Drosophila. Tratando de explicar la aparición de formas nuevas (mutantes) dice que los caracteres aparecen en su mayoría repentinamente y mantienen su constancia en la misma forma que los caracteres originales de los cuales se originaron, es decir, estos mutantes se comportarán exactamente igual que los genes

originales de los cuales descienden. Estos nuevos caracteres mendelizan, es decir, se comportan como elementos contrastantes de un par que se separa en el híbrido durante la maduración de las células germinales. Sin embargo, Morgan advierte que es importante observar que la teoría cromosómica no establece que el gene en si mismo produzca el caracter (1926). La teoría establece que un cambio en el material original, da lugar a un producto final distinto. De hecho el cambio no solo afecta ese caracter (vgr. el color de los ojos), sino otras partes del cuerpo. También observa del estudio de la ocurrencia de las mutaciones que, primero, éstas ocurren en un solo miembro del par de genes, no en ambos al mismo tiempo; segundo, la misma mutación es recurrente, lo cual indica que el proceso es específico y ordenado. "Cada cambio corresponde a una nueva posición estable (tal vez en el sentido químico) del gene. Tentadora como es la comparación, debemos recordar que, hasta ahora, no tenemos evidencia de la naturaleza real del proceso de la mutación" (Morgan, 1926). Tercero, existe la mutación reversa (atavismo).

Contra Bateson que propone la teoría de la presencia- ausencia, Morgan piensa que si un gene recesivo aparece como 'pérdida', no será posible producir el gene original, ya que esto significaría una producción de algo específico de la nada. Si para Bateson la ausencia representa la pérdida del locus es porque él no acepta la idea de que los factores están alineados en los cromosomas (Morgan, 1915). Por otra parte, si la mutación se debe a un cambio en la constitución del gene, será menos difícil imaginar que el gene mutado retorne a la condición

anterior. Esta aseveración se basa en la existencia de mutaciones reversas como en el caso de 'alas dobladas' (bent-wings) que se haya en el cuarto cromosoma. 'Scute' es otro caso, el cual se caracteriza por la ausencia de ciertas pelos en el tórax. Morgan encontró ciertas moscas donde estos pelos reaparecían; esto podría implicar que ha existido una reversión al tipo silvestre. Pero al cruzar a éstas con moscas normales, la condición 'scute' reapareció. Morgan interpreta este fenómeno como que el retorno a la condición normal se debía a la presencia o aparición de un factor recesivo que en condición homociga en una cepa 'scute' traía de nuevo la condición 'scute'.

Otro caso de reversion estudiada es ojos barra. Sturtevant y Morgan observaron que cuando 'ojos barra' (B) revierte a ojos redondos (+), hay recombinación en la vecindad del gene bar, y Sturtevant encontró que la recombinación ocurre cuando hay reversion.

$$\begin{array}{cccc}
 X & f & B & fu \\
 X & + & B & +
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{cccc}
 X & & & \\
 & f & B & fu
 \end{array}$$

A la izquierda de bar (B) está 'forked' (f) a una distancia de 1/5 unidades. A la derecha, a 2 1/2 unidades está otro gene, fused (fu). La hembra es heterociga para f y fu y homociga para B. Esta hembra se cruza con un macho fBfu. Los hijos pueden ser +B+ o fBfu. Sin embargo, si hay reversion aparecen hijos que tienen ojos normales indicando que hubo recombinación entre f y fu. Esta recombinación ocurrió en la hembra. Las hijas normales serán homocigas para B. Las hijas revertidas serán heterocigas para B, y f o fu. No habrá ffu ni ++ (para ffu).

Un descubrimiento importante con consecuencias evolutivas inmediatas fue que cuando hay recombinación, que produce la reversión a ojos normales, no solo un cromosoma X se queda sin el gene para B, sino que éste gene ha sido puesto en el otro cromosoma, es decir, ha habido recombinación desigual. La presencia de dos alelos (doble barra) en la misma línea fue explicada por Morgan como si los genes hubiesen sido movidos al momento de la recombinación.

En esta perspectiva cupieron varias preguntas para la escuela de Morgan. Aparecen todas las mutaciones por recombinación? Cuando B se recombina, qué queda en el locus? El B original apareció por mutación de un gene silvestre, o es un gene creado de novo?

La primera pregunta la contesta Morgan negativamente ya que hay evidencia de que hay mutaciones en machos de Drosophila y no hay recombinación. Las otras preguntas Morgan no podría contestarlas.

Así, la idea de que las mutaciones son cambios en el gene se derivó de la evidencia de la recurrencia y reversión de las mutaciones. Según la teoría del gene, el tipo silvestre son genes específicos en los cromosomas, relativamente estables durante largos periodos de tiempo. Para Morgan no hay evidencia de que los genes aparezcan mas que como cambios en la constitución de genes antiguos o ya presentes. El número total de genes de cada especie permanece constante. Este número podrá cambiar por poliploidia originándose así una nueva especie en tanto que la primera sea capaz de aislarse de la última. Estas alteraciones en

el número de cromosomas son consideradas mutaciones. Estas alteraciones, dice Morgan, no modifican básicamente la forma original ya que el individuo tiene sus genes y en la misma proporción. Mientras que la pérdida o ganancia de un cromosoma, ya que altera la proporción de genes, causa un efecto mucho mayor. Los reajustes en el cromosoma también son considerados como mutaciones. Estos cambios alteran los grupos de ligamiento y por lo tanto el modo en que se heredan ciertos caracteres.

Cambios en lo cromosomas incluyen unión de dos cromosomas para formar uno, y el rompimiento de un cromosoma para formar dos. "Es evidente que el proceso de la mutación involucra tanto cambios pequeños como grandes modificaciones" (Morgan, 1926). Estos últimos llamados sports o aberraciones se heredan y originan igual que las pequeñas variaciones individuales. Es decir, también son mutaciones. También está claro que una mutación no produce un solo y único cambio, sino que la evidencia apunta en el sentido de que una mutación afecta o tiene efectos laterales o subsidiarios que pueden ser modificaciones estructurales o efectos fisiológicos. El material de la evolución, queda claro, serán las mutaciones y las combinaciones nuevas de caracteres ya existentes.

Pero, qué son los genes? "Ya que los localizamos en los cromosomas, estamos justificados a verlos como unidades materiales (cuerpos químicos de un orden superior que las moléculas)? ... No existe consenso entre los genetistas acerca de lo que son los genes -ya sean reales o ficticios- porque en el nivel de los experimentos genéticos no hace la más mínima

diferencia considerarlos como partículas materiales. En todo caso la unidad está asociada con un cromosoma específico, y puede localizarse por análisis genéticos. Entonces, si un gene es una unidad material, es una pieza del cromosoma; si es una unidad ficticia, deberá referirse a un punto específico en el cromosoma, el mismo punto que en la otra hipótesis. Por lo tanto, no existe diferencia para el trabajo actual de los genetistas bajo que punto de vista se trabaje" (Morgan, 1932).

La estabilidad del gene implica que éste es un elemento que no cambia en la herencia, "sin embargo, si es estable en el sentido en que lo es una molécula química, o si es estable sólo porque fluctúa cuantitativamente alrededor de una norma, será esta una pregunta de importancia teórica fundamental" (Morgan, 1926).

Es por esto que hay que estudiar al gene por sus efectos ya que no se puede de manera química o física, cosa que será solo posible cuando Watson y Crick propongan su modelo del ADN (1953). Para Morgan el problema es la transmisión de la herencia, no su fisiología.

Para 1910, la teoría de la herencia que Morgan propone es la combinación de dos líneas: la teoría cromosómica, según la cual los cromosomas son los agentes transmisores hereditarios y la teoría mendeliana que postula factores hereditarios que segregan y reúnen en la producción de huevos y espermias. El descubrimiento en 1910 de dos factores mutantes con limitación al sexo (cuerpo amarillo opuesto al café normal, y alas miniatura opuestas a alas normales) sugerían su asociación con el cromosoma

X en Drosophila. Morgan siguió por varias generaciones el apareamiento de estos factores y observó que cuando las cruza eran entre heterocigotos, el apareamiento no era completo. Iguaes resultados obtuvieron Bateson y Punnet (1905) trabajando con chícharos y encontraron que el color de la flor y la forma del polen eran caracteres ligados y que ocasionalmente se separaban y recombinaban. Sin embargo, Bateson no admitía que los cromosomas tuviesen un papel en la herencia. Bateson y Punnet desarrollaron una teoría de acoplamiento y repulsión así como una de reduplicación para explicar sus resultados. Morgan (1911) encuentra una respuesta alternativa a la reduplicación. Si los materiales que representan a los factores están contenidos en los cromosomas, y si estos factores que se aparean están cerca en una serie lineal, cuando los pares parentales (en heterocigotos) se conjuguen durante la fase de strepsinema (llamada así por Janssen para indicar aquella fase de la miosis en donde hay apareamiento de cromosomas homólogos) los cromosomas homólogos se enredarán entre ellos, y cuando se separen lo harán en un solo plano. En consecuencia, los materiales originales para distancias cortas, tenderán a caer en el mismo lado del cromosoma, mientras que aquellos apartados considerablemente lo harán en cualquier lado. La diferencia la hará la distancia lineal de separación en el cromosoma de los factores, siendo resultado de un proceso mecánico relacionado con su localización en el cromosoma. En lugar de segregación al azar en el sentido mendeliano, encontraremos asociaciones de factores localizados en los cromosomas. Lejos de contradecir los principios mendelianos, esta explicación ofrece un mecanismo que da cuenta de las supuestas anomalías del sistema

mendeliano. La probabilidad de que este proceso de recombinación ocurra entre dos puntos será mayor a mayor distancia entre los puntos. La cantidad de recombinantes entre dos puntos dependerá de la distancia que los separe. Si dos puntos están muy cerca, la probabilidad del evento es baja y viceversa. Desde este punto de vista, el porcentaje de recombinación será una expresión de las distancias de los factores entre ellos (Morgan et al, 1915).

A partir de esta idea se construyeron esquemas con 3 factores, tomando en cuenta recombinaciones dobles. Más aún, se pudieron construir mapas genéticos (Sturtevant, 1914).

Una de las consecuencias del trabajo del grupo Drosophila fue poner en entredicho las concepciones, para entonces rígidas del mendelismo, según las cuales todos los caracteres hereditarios están representados por dos factores contrastantes en las células germinales. que todos los factores para los caracteres se segregan al azar, que todos los pares de factores funcionan independientemente de otros pares, y que unos factores no influyen a otros.

El trabajo con mutantes de Drosophila para el color de ojos plantearon una nueva problemática: los mutantes representan variaciones de un carácter. Con los trabajos de Sturtevant sobre mapeo, se descubrió que éstos aparecen en el mismo lugar en el mapa, proponiéndose en 1913 el concepto de alelos múltiples. Pueden existir muchos alelos para el mismo carácter, cada uno representando una forma de mutación del tipo original. Con este concepto Morgan y Sturtevant refutan la teoría de la presencia- ausencia de Bateson. Las mutaciones o variaciones representan más

que la presencia de un factor (dominancia) o su ausencia (recesividad). Bajo la idea de alelos múltiples, las mutaciones se convierten en cambios reales en la naturaleza de los genes, no solo la pérdida de función. El estudio de la reversión ayudó a desechar completamente la teoría de Bateson y a clarificar el concepto de mutación.

Los cambios mutacionales no producen un solo cambio en alguna parte particular del cuerpo. Por el contrario, la mutación afecta varias partes del cuerpo, aunque su efecto principal sea detectado en una región particular. Los cambios subsidiarios no solo involucran modificaciones estructurales, sino también efectos fisiológicos (actividad, fertilidad, tiempo de vida, etc.).

El caso contrario también se presenta: pequeños cambios debidos a un gene mutado que afecta procesos fisiológicos puede ser acompañado por alteraciones estructurales. Si estos cambios favorecen el ajuste del organismo al medio ambiente se espera que persistan y den como resultado la sobrevivencia de nuevos tipos. Una mutación puede ser macromutación o micromutación. Estos estudios ocuparían las publicaciones de genética durante esos años.

Con respecto a la mutación y evolución Morgan ataca la idea según la cual los tipos mutantes estudiados por los genetistas no tiene nada que ver con la teoría tradicional de la evolución (1926). Para él, el fenómeno de mutación es interesante en dos sentidos: o algunos o todos los cambios en los genes que aparecen como mutantes no son debidos a rompimientos en los genes mismos,

o a su reconstitución en otro elemento que produzca efectos distintos. Es decir, los cambios (mutaciones) se deben a la descomposición o al desarrollo de un gene más complejo. Sin embargo, para Morgan solo es importante para la teoría genética asumir que todo tipo de cambio es suficiente como base de la observación. Será para Muller una preocupación constante, investigar en que consiste el mecanismo de mutación y como está, por ende, constituido el gene.

La unidad esencial de las disciplinas derivadas de la diversificación de la genética (1910-1939) se retuvo gracias al reconocimiento del gene como elemento conceptual y físico por medio del cual la clave del proceso de herencia y mutación se percibe.

El tema central de la teoría del gene fue el análisis de la base material de la herencia en plantas superiores y animales por medio de análisis genéticos y observaciones citológicas, estudios experimentales de la mutación y de los cambios cromosómicos, ayudados de radiación de varias clases, y hacia el final por estudios químicos y físicos directos de los cromosomas y sus constituyentes, proteínas y ácidos nucleicos.

Este sustrato de la herencia y la variación física, contrasta con la concepción abstracta y estadística del gene introducido por Mendel y apoyado por Correns, Bateson y Johannsenn, ninguno de los cuales participó en la construcción de la teoría del gene.

El desarrollo de una visión corpuscular del gene tuvo gran

influencia de los estudios experimentales de la mutación y en especial de la prueba de que este proceso, que se había visto tener una tasa baja de ocurrencia espontánea, podía ser acelerada por radiación de varias formas. La idea de que el cambio en el gene puede ser causado por golpes de una partícula o por su ionización hace que se reafirme al gene como una partícula. Ya que éste retiene su identidad por generaciones, y siendo mutable, los problemas de la constancia y variabilidad de los organismos pueden verse a los niveles genético y molecular y estudiarse experimentalmente y por métodos físicos y químicos.

La genética clásica encontró su punto culminante en esta época con los estudios sobre el mecanismo de transmisión del gene, las causas de la mutación y de la evolución y la manera en la cual los genes controlan los procesos metabólicos.

Lo más lejos que llegó Morgan fue a profetizar una nueva época de la genética. "La evidencia nos ha dado al menos una pista del proceso tan ordenado y simple como para sugerir que se trata de cambios físicos; y el orden de magnitud del cambio del material es tan pequeño como para sugerir que sus partes caen en el rango de fenómenos moleculares. Si es así, estaremos en el camino de la tierra prometida en donde los resultados biológicos se tratarán como eventos físicos y químicos" (Morgan, 1922). La construcción del concepto de gene y el desarrollo de la teoría cromosómica se transfirió gradualmente a sus estudiantes, a medida que Morgan regresaba a la embriología. Los cromosomas, a través de la herencia asociativa adquirieron una interpretación factorial que necesitaba de una caracterización continua de los factores luego llamados genes.

3.4.3. Recombinación.

La caracterización de los genes es llevada a cabo principalmente por H. J. Muller, quien en 1916 pretende dar cuenta de cómo se separan los factores ligados (recombinación) y describe un experimento con un método nuevo de analizar la ocurrencia de tal separación. La cuestión de si la separación de factores ligados es debida a intercambio de piezas o partes de los cromosomas homólogos trae, en primera instancia la pregunta de si los factores están, efectivamente en los cromosomas. "La primera evidencia definitiva de que los factores mendelianos están contenidos en los cromosomas es la existencia de la segregación de los alelomorfos mendelianos exactamente paralela al apareamiento y separación de los cromosomas homólogos durante la formación de las células germinales" (Muller, 1916). Aún así, no había ninguna indicación de una conexión entre un cromosoma específico y un carácter en particular hasta que McClung, Stevens y Wilson comprobaron que en muchos animales el cromosoma X contiene, o al menos acompaña, factores sexuales, incluso que los huevos fertilizados que reciben dos X (XX) se desarrollan en hembras y los que sólo reciben una X, en machos.

La herencia ligada al sexo fue descubierta por Morgan. Este descubrió que el factor que determinaba el color de los ojos, así como otros factores en Drosophila, se localizaban en el cromosoma X o al menos lo acompañaban en la segregación. (Morgan, 1910).

Morgan y Lynch (1911) encontraron dos pares de factores en Drosophila (color del cuerpo gris/ cuerpo negro y alas normales/ vestigiales) ligados entre sí (uno a otro) pero no ligados al sexo, sino contenidos en el cromosoma II. Sturtevant encontró

otros pares de factores (ojos rojos/ojos rosas y cuerpo gris/cuerpo ebano) localizados en el cromosoma III. Estos casos resultaron ser de la misma naturaleza de los descubiertos por Bateson y Punnett (1906) en chicharos, llamados por ellos acoplamiento y repulsión. El concepto de acoplamiento en Bateson y Punnett corresponde al fenómeno de segregación no independiente de los factores, mientras que repulsión significa la segregación independiente de estos. La teoría cromosómica hizo claro porque los factores eran o estaban acoplados o repelidos, de acuerdo a la cual el híbrido los recibía del mismo padre o de padres opuestos según el caso. La única diferencia es que Morgan descubrió que el ligamiento era completo en machos, mientras que la recombinación solo ocurría en las hembras.

Muller (1916) encontro que los factores 'alas inclinadas' y 'alas derechas' estaban localizados en el cromosoma IV, completándose así los grupos de ligamiento de acuerdo al número de cromosoma en Drosophila. "El número de grupos de ligamiento corresponden al número de cromosomas, y no sólo eso, sino que los tamaños relativos de los grupos corresponden de manera general con las longitudes de los cromosomas. Si se admite que estos grupos están en los cromosomas, entonces la separación de los factores en un grupo indica intercambio cromosomal" (Muller, 1916).

De acuerdo a la teoría del quiasmatipo de Janssens basada en evidencia citológica de la espermatogenesis de Batrachoseps, se describe el proceso del intercambio entre cromosomas homologos relacionando la presencia de quiasmas con la ocurrencia de la

recombinación. Para Janssens los quiasmas representan sitios de intercambio físico entre los homólogos materno y paterno (Janssens, 1909). Morgan y otros, con Drosophila y basándose en la evidencia citológica antes mencionada, propusieron que durante la sinapsis los cromosomas homólogos se aparean y enrollan entre ellos, y al momento de la separación se rompen en ciertos puntos donde se cruzan y al separarse lo hacen en nuevas combinaciones.

Aunque Janssens sólo trataba de explicar el hecho de que había o debería haber más pares de factores capaces de recombinarse que pares de cromosomas, Morgan utilizó esta idea para ir más lejos y demostrar que había recombinación de factores ligados. Morgan sugirió, entonces, que las frecuencias de separación (valores de ligamiento) entre factores, dependía de la distancia entre ellos. Entonces, la frecuencia de separación de dos factores, A y C, sería predecible, dada la frecuencia de separación de cada uno con respecto a otro factor B. Esto demostró la relación lineal de los factores en los cromosomas.

Sturtevant encontró que hay una relación lineal en las frecuencias de separación. En el caso de porcentajes pequeños AC es igual a la suma o diferencia de los porcentajes AB y BC de tal modo que los porcentajes de separación de todas las combinaciones de estos factores se pueden representar en una línea.

Ahora, si los factores están alineados en los cromosomas, una pregunta inmediata de Muller, es: existe una correspondencia entre la frecuencia de separación y el largo de los cromosomas? Una primera conclusión es que, efectivamente los factores están alineados en los cromosomas y que el orden en que están determina la frecuencia con que se separan unos de otros. Esta evidencia

sirve también como demostración de la recombinación. "Si el diagrama representa al cromosoma y muestra a los factores en un orden real, entonces, el ligamiento demuestra que, durante la sinapsis, secciones enteras de los cromosomas cambian de lugar, es decir, recombinan" (Muller, 1916).

Entonces si el orden de los factores muestra su relación de ligamiento es posible obtener la frecuencia total de recombinación en los cromosomas sumando las frecuencias de separación entre todos los factores. Esta frecuencia total será la medida total del diagrama, ya que será el porcentaje de separaciones entre los mas cercanos lo que determine las unidades de cada región del diagrama. Esta suma total deberá coincidir con el largo total del cromosoma.

Cuando se hicieron los primeros mapas del cromosoma X se halló que el máximo porcentaje de entrecruzamientos obtenibles (50%) correspondía a 50 unidades en el mapa. Sin embargo, la longitud de los cromosomas II y III parecía ser mayor. Para dar cuenta de esto, Muller sugirió que la mayor distancia entre dos genes acoplados podía estar sujeta a dos entrecruzamientos de tal suerte que estos genes parecían estar acoplados. Estos entrecruzamientos dobles daban la apariencia de que no había habido recombinación si no se consideraba un tercer gene entre estos. Este gene sólo sería removido de su asociación con los otros dos probando que había habido una doble recombinación. Muller, suponiendo que las recombinaciones ocurrían como fenómenos independientes, calculó la probabilidad de ocurrencia de dobles entrecruzamientos para dos segmentos adyacentes como el

producto de las probabilidades de cada uno de ellos, y lo comparo con el porcentaje obtenido. Ambos fueron contradictorios. Para distancias pequeñas no hubo dobles entrecruzamientos, para distancias intermedias de 10 a 30 unidades fueron detectadas y sólo para distancias grandes el resultado calculado correspondía al obtenido. "La ocurrencia de un entrecruzamiento interfiere con la ocurrencia de otro entrecruzamiento en el mismo par de cromosomas, y he llamado a este fenómeno con el nombre de interferencia. La cantidad de interferencia está determinada por la comparación del porcentaje de dobles entrecruzamientos con el porcentaje esperado cuando la recombinación es independiente, es decir, si tienen una distribución al azar una con respecto a otra. Ahora, el porcentaje esperado bajo esta última suposición estará dada por el porcentaje de $AB \times BC$. Si, entonces, el porcentaje observado de dobles entrecruzamientos se divide entre el porcentaje de AB por el porcentaje BC , obtendremos una fracción mostrando qué proporción de las coincidencias son por puro azar... La relación se expresa mejor en porcentajes y puede llamarse relación de coincidencia, o simplemente, 'coincidencia'" (Muller, 1916).

Muller atribuyó la interferencia de los dobles entrecruzamientos a la tensión de los cromosomas cuando había recombinación. Si la tensión se presentaba, el efecto sería la inhibición de rompimientos adicionales cerca del entrecruzamiento original. Mientras más lejanos de la zona de quiasma menos afectaban la presencia u ocurrencia de otros quiasmas por los cambios de tensión y la probabilidad de la recombinación sería prácticamente inafectada.

Con estos trabajos sobre la recombinación se estableció definitivamente que los factores están alineados en los cromosomas y que la recombinación es el método de intercambio. Las preguntas que surgieron a partir de esta problemática fueron de naturaleza estadística: cuál es la frecuencia total de la recombinación?, se separan algunos factores más que otros?, qué tan frecuente es la recombinación en dos puntos simultáneamente?, existe una tendencia para dos puntos de recombinación de estar a una distancia definida o en posiciones indefinidas?, etc.

Puede decirse que la naturaleza de la recombinación invalidó la hipótesis de Castle (1906, 1914) de la contaminación de los factores por su alelo (la expresión fenotípica de AA debe ser distinta de la de Aa) ya que las cruces durante varias generaciones de moscas no mostraba ningún cambio en los factores. "La recombinación es una prueba extensiva y de verificación de la pureza de la segregación mendeliana" (Morgan y col., 1914). Con estos estudios quedaban atrás las polémica acerca de la validez de las leyes de Mendel y se apuntaba hacia la construcción de una teoría de la mutación que diera cuenta de cómo los genes, localizados en los cromosomas, variaban.

4.0. LA TEORIA DE LA MUTACION.

4.1. El concepto de gene y la mutación.

A partir de los estudios con radiación, Muller desarrolla una nueva arma para atacar al gene y caracterizarlo. Esta arma es la mutación. El tipo de preguntas que Muller pretende resolver son con respecto a la estructura y comportamiento del gene. Preocupación que tendrá a lo largo de muchos años de investigación. Cuán estable es un gene? En qué sentidos puede mutar? Los alelos múltiples forman una serie cuantitativa que aparenta pérdidas parciales? Es la mutación un espectro de cambios positivos y negativos alrededor de una norma para cada gene? Esta la mutación restringida a un momento especial del ciclo de vida? Cuales son las frecuencias de mutación para distintos organismos? Que defectos producen? Cualitativamente, son todas las mutaciones iguales?

"Existe suficiente trabajo para mostrar que las mutaciones reales son 'raras' -cualquiera que sea el significado del término; en lo que concierne a la determinación cuantitativa de la tasa de cambio, no es posible, aún, determinar su orden de magnitud general" (Muller, 1919).

Con Altenburg, Muller desarrollo una nueva forma de atacar el problema de la mutación (Muller y Altenburg, 1919). El tipo más común de mutación es aquella que da lugar a factores letales, y éstos, si estan en el cromosoma X de las hembras revelarán su presencia, ya que la progenie que reciba el cromosoma X mutado morirá. El problema hacia 1919 estaba en su forma más simple: encontrar las frecuencias de mutación de los genes. Apoyándose en la cantidad de mutantes del cromosoma X y suponiendo que la tasa

será igual en otros cromosomas, habrá una mosca de trece (ya que el cromosoma X es aproximadamente la cuarta parte del total y su tasa de mutación es de 1/53, - Muller y Altenburg, 1919), con una mutación letal en alguno de los cuatro cromosomas. Con esta tasa de mutación, y sin la selección natural que elimine a los menos aptos, estos organismos pronto estarían llenos de factores letales (Muller y Altenburg, 1919).

Si para 1915 se estimaban 200 factores en la mosca de la fruta, con estos estudios podían estimarse cerca de 500. Entonces si de estos 500 hay una mutación cada 4 años, cada factor individual cambiará en su composición sólo una vez cada 2,000 años (Muller y Altenburg, 1919).

Analizando los mutantes de ojos blancos, Muller (1920) observó que el número de alelos múltiples de la serie ojos blancos aumentó a 10 y propuso que su origen era diverso. Un nuevo blanco (indistinguible del de Morgan) aparece como mosaico (el macho posee un ojo rojo y el otro blanco) y en etapas tempranas de la embriogénesis, el alelo geru aparece en el macho como mutante solitario entre sus hermanas, su origen es tardío durante la oogénesis, el alelo ivory aparece en machos que descienden de una hembra cuyos cromosomas X son anormales y pudiendo aparecer en la oogénesis temprana, etc. A partir de estas observaciones Muller concluye que "no existen evidencias para mostrar que las mutaciones ocurren más frecuentemente en los gametos o células germinales cerca del período de la maduración que en células en cualquier estadio del ciclo de vida. Las peculiaridades de las células germinales, sin embargo, proveen

una mayor oportunidad para la aparición de mutaciones individuales simples que casos de mutaciones múltiples; ya que existen más células durante los períodos finales del ciclo germinal, existe una mayor oportunidad para la ocurrencia de mutaciones, aunque, como hemos dicho, la probabilidad de ocurrencia de tales mutaciones en cualquier estadio del ciclo celular es el mismo" (Muller, 1920). Esto sugiere que si la tasa de mutación es constante, el número de mutantes será mayor si hay más células.

El hecho de que los mutantes fueran machos dió a Muller la pista del proceso mismo de la mutación. Cuando un recesivo letal ligado al sexo está involucrado, la mosca mosaico es macho. Esto no indica que la mutación no ocurra en hembras. La explicación es que la mutación ocurre tanto en hembras como en machos, pero sólo en un cromosoma X, y por lo tanto los genes mutantes recesivos no pueden manifestarse en la hembra que tenga el alelo normal dominante en el cromosoma X homólogo. Esto también implica que si la mutación sólo ocurre en un cromosoma X, ésta se produce en sitios altamente localizados. "El hecho de que sólo un locus mute, y no los loci vecinos del mismo cromosoma, se puede explicar bajo el supuesto de que la influencia es altamente específica, y que afecta sólo a un gene con cierta composición; en este último caso, sin embargo, se esperaría que, al menos los dos genes en los cromosomas homólogos se vieran afectados. El hecho de que no lo sean, muestra que la causa inmediata de la mutación no es difusa... La mutación se debe a un hecho de proporciones minúsculas, tan circunscrita, que sólo afecta a un gene en el mismo núcleo" (Muller, 1921).

Para Muller una de las grandes contribuciones de la genética consiste en la demostración de la existencia de los genes. Estos son partículas ultramicroscópicas, cuyas influencias afectan a toda la célula, y tienen un papel muy importante en la determinación de las sustancias, estructuras y actividades celulares, afectando, así, a todo el organismo (Muller, 1921).

Sin embargo hay que distinguir entre gen y carácter. El carácter es el resultado de un sistema balanceado de reacciones altamente complicadas causadas por la interacción de los genes. La principal característica de los genes es su capacidad de autorreplicación. Esta acción de auto-propagación puede definirse químicamente como autocatálisis, o fisiológicamente crecimiento, y si pasa de una generación a otra, herencia. Esta propiedad autocatalítica se altera cuando el gene se modifica a través de una variación, de tal modo, que el gene alterado no pierde su capacidad de propagarse. "Es un fenómeno paradójico el que está implicado en la expresión 'variación debida al cambio en el gene individual', o, como suele llamarse, 'mutación'" (Mudller, 1921).

Pero, si la mutación es el cambio en el gene, qué tipo de estructura debe poseer el gene para mutar? Si a pesar de cambiar (mutar), la propiedad de replicación no se pierde, esta debe ser una característica general que tiene que ver con la construcción del gene mismo, y debe ser igual en todos ellos. Este principio general de estructura quiere decir la posesión por cada gene de una especie de radical o cadena que le permite entrar en combinación con materiales organizados fuera del protoplasma para formar más material a él mismo, es decir, replicarse. De esta

forma, el material hereditario tendrá una estructura básica similar en todos los organismos y el fenómeno por el cual esta estructura se ve afectada será, también en todos los casos, la mutación.

Si la mutación es una característica universal del material hereditario y provee variación heredable, cuál es la importancia de la variación genética? Este fenómeno es la raíz de la evolución orgánica y a su vez, ha sido el resultado de la evolución. Criticando a la genética anterior, que afirma que la evolución descansa sobre dos fundamentos, la herencia y la variación (e.g. Bateson, 1896), Muller ve en esto un error, ya que la herencia permite la constancia, mientras que la variación permite el cambio no permanente a menos que sea heredable. Así, señala: "Entonces, no es herencia y variación lo que hacen posible la evolución, sino herencia de la variación, lo cual, a su vez, se debe a un principio general en la construcción del gene que, a pesar de la alteración en su estructura, permite mantener su capacidad de autocatálisis" (Muller, 1921).

El gene, entonces, podrá ser estudiado desde diferentes puntos de vista, y no sólo a través de los estudios de recombinación. Será a través de la mutación que se investigue al gene individual y su estructura.

Una aproximación será a través del análisis de la estructura génica. Puede investigarse cómo está constituido y por lo tanto cómo es que esta estructura se altera por el proceso de la mutación.

Otra aproximación será a través de la frecuencia de mutación. "En el pasado, la mutación era considerada como un

golpe de suerte, y la expresión 'frecuencia de mutación' indicaba una contradicción en los términos... Debería de sentirse afortunado si usted encontraba una" (Muller, 1921).

Muller continua su análisis conceptual de la mutación. En "Mutation" (1923), ésta adquiere una definición específica. "El término mutación incluía originalmente fenómenos distintos, los cuales, desde el punto de vista genético, no tienen nada en común. Se clasificaron juntos porque todos ellos producían una apariencia repentina de nuevos tipos genéticos. Se ha visto que algunos son casos especiales de recombinación genética, otros son debidos a anormalidades en la distribución de bloques de cromosomas, y otros consisten de cambios en los genes individuales.... Es importante, entonces, limitar el uso del término 'mutación' a un sólo tipo de eventos genéticos. El uso más servicial para nuestros propósitos es limitar el significado del término a los casos del tercer tipo, es decir, a los cambios reales en los genes' (Muller, 1923).

Esta definición está de acuerdo con el espíritu original ya que la mutación era concebida como cambios fundamentales en la constitución hereditaria y nunca fueron intencionalmente incluidos casos de redistribución de las unidades hereditarias (de Vries, 1901). En este sentido 'mutación' será la alteración del gene, en donde alteración significa cambio transmisible. Para Muller la cuestión de si la evolución es, en última instancia, debida a la mutación, deberá contestarse afirmativamente, apoyándose en la misma definición de gene y de mutación, que designan al gene como la unidad hereditaria, y a la

mutación como al cambio transmisible que le ocurre al gene. En este sentido algunos aspectos del mecanismo de la evolución se pueden transformar en el problema del carácter, frecuencia y modo de ocurrencia de las mutaciones.

La nueva teoría de la mutación propuesta por Muller deberá descansar en dos tipos de evidencias, las directas, según las cuales la ocurrencia del cambio genético se puede demostrar, excluyendo explicaciones como la contaminación de los genes, no-disyunción, etc. y las indirectas obtenidas del examen de los factores mendelianos asumiendo que éstas han aparecido por mutación, por ejemplo, estudios filogenéticos que establezcan diferencias entre especies o géneros.

Con este concepto de mutación Muller postula 14 puntos acerca de la naturaleza del gene y de la mutación:

- 1) el gene es estable -mutantes y normales. El grado de estabilidad puede obtenerse de estudios cuantitativos de la mutación, pudiendo ser comparada esta estabilidad con la estabilidad de un átomo de radio (aproximadamente miles de años),
- 2) los genes tienen mutabilidad diferencial, algunos son más mutables que otros, por ejemplo, los genes que causan la variegación en maíz que tienen una vida media de pocos años, y ojos barra cuya vida media es de 65 años,
- 3) los agentes externos no incrementan de manera ordinaria la tasa de mutación como para causar un aumento en la producción de mutaciones,
- 4) los cambios no son sólo en el sentido de pérdida del carácter, algunos sufren mutación reversa a su forma original o en otras direcciones, por ejemplo, ojos barra y ojos blancos en Drosophila,
- 5) el cambio del gene no es siempre en la misma dirección y no involucra el

mismo carácter, es decir, algunas series de alelos múltiples (por ejemplo alas truncadas) tienen diferentes efectos cualitativos, 6) algunos genes tienen una dirección preferencial en el tipo de mutación, por ejemplo, ojos blancos y ojos barra en Drosophila, 7) la mutabilidad y dirección preferencial pueden, a su vez, alterarse por mutación, es decir, la frecuencia de mutación está genéticamente controlada y puede alterarse por mutación en otros loci, 8) sólo un gene específico en un momento dado puede mutar en una célula, 9) los alelos mutan independientemente unos de otros, es decir, mutan como genes independientes, 10) el gene puede mutar en cualquier estadio del ciclo de vida, 11) la dominancia del gene normal es más completa que la expresada por los mutantes; este caso se ilustra perfectamente bien en Drosophila en donde pocos mutantes son dominantes, e incluso muchos de ellos tienen dominancia incompleta, 12) muchas mutaciones tienen efectos deletéreos, no sólo para todo el organismo, sino también en el desarrollo de una parte específica del cuerpo, dando la apariencia de que muchas mutaciones son pérdidas aparentes o regresiones, más que cambios progresivos, 13) mutaciones con efectos pequeños son más frecuentes que las que producen efectos más marcados, si se comparan mutaciones en genes distintos; existen más de una docena de mutaciones en loci diferentes que reducen el tamaño del ala en Drosophila de una manera casi imperceptible, mientras que existen pocas que la reducen a menos de la mitad de su tamaño normal; se puede agregar que las mutaciones que producen cambios pequeños sean más importantes en la evolución ya que producen efectos menos

deletéreos, 14) existe un espectro de mutación de letales a visibles siendo las más comunes las letales recesivas.

Obteniendo datos sobre los efectos de diversas condiciones en la tasa de mutación, esta teoría de la mutación mostrará que la gran mayoría de los mutantes son letales recesivos con las características antes mencionadas.

Para Muller estos puntos deberán servir para constuir una nueva teoría de la mutación que guíe las investigaciones y que inevitablemente conduzca a la búsqueda de los agentes que inducen las mutaciones.

4.2. El concepto de mutación fenotípica y su clasificación.

4.2.1. Clasificación inicial.

Siguiendo el problema de si las mutaciones son cambios cuantitativos, en 1932 durante el VI Congreso Internacional de Genética Muller presenta un trabajo en donde divide a las mutaciones (espontaneas e inducidas) en hipomórficas, amorficas, antimórficas y neomórficas, dependiendo del efecto fenotípico que presenten con respecto al normal. Esta distinción esta basada en el cambio de dosis de un alelo para determinar que dosis adicionales del mutante alteran cuantitativamente el efecto fenotípico del gene (tal sería el caso de ojos barra (B) el cual, estando en una sola dosis produce un ojo en forma de barra, mientras que doble barra (BB) produce una barra aún más pronunciada). Para determinar esto se usaron deleciones y duplicaciones obtenidas por radiación (que rompe los cromosomas en determinados puntos).

El primer locus estudiado es 'ojos blancos'. Se tomaron moscas con el alelo mutante eosin, el cual es sexualmente dimórfico (eosin es rojo más brillante que el normal y es más brillante en el macho que en la hembra). Usando radiaciones se produjo una deleción en el cromosoma X conteniendo el gene para eosin. La adición (por recombinación) de este fragmento del cromosoma X a machos y hembras que llevasen el mutante eosin, se encontró que el color de los ojos era más oscuro, casi como el rojo normal. Esto se debe al número de dosis de eosin presentes. En el macho una dosis doble (por la presencia del mutante eosin en el cromosoma X normal -heredado de la madre- más la dosis presente en el fragmento añadido) produce el color de la hembra normal (que por supuesto tiene dosis doble, ya que tiene la constitución XX) mientras que en las hembras la dosis se triplica (es decir, tendría, entonces, dos cromosomas X, más el fragmento añadido) haciendo el color más oscuro. Esto demostró que el efecto del gene eosin no es el de inhibir el color, lo cual se había pensado en comparación con el rojo, sino producir color, ya que la adición de más dosis resulta en más color (Muller, 1932). También se prueba que el dimorfismo sexual se debe a la diferencia de dosis entre los sexos y no a la diferencia en la acción del gene en los individuos hembras y machos. Las mutaciones hipomórficas, entonces, son aquellas en las que el gene mutante produce un efecto similar y en la misma dirección que el normal (tiende al mismo resultado fenotípico) pero con un efecto menor. Así, las deficiencias producen el efecto menor de una dosis de un gene hipomorfo con respecto a la dosis doble normal.

Muchos genes son hipomorfos ya que producen una 'exageración' del carácter o al menos dan una forma cercana a la del mutante homocigoto.

Las mutaciones amórficas son aquellas en las cuales, como 'ojos blancos', el gene mutante ha alcanzado el nivel de efectividad y por lo tanto tiene el mismo efecto de la deficiencia (ausencia del carácter, en este caso, ausencia del color).

Sin embargo, aunque las mutaciones hipo y amórficas tienen un efecto menor, esto no quiere decir que sean pérdidas en el material genético (en el sentido en que las explicaría la teoría de la presencia-ausencia de Bateson). El hecho de que tengan un efecto menor que el alelo normal, no implica que sean pérdidas materiales de los genes. Deben consistir de inactivaciones parciales o producir procesos efectividad menor. Un alelo mutante puede ser hipomorfo o amorfo en relación a un cierto tipo de actividad normal, y puede ser normal o casi, en relación a otra actividad (por ejemplo, 'cerdas escutelares' (sc) actúa hipomórficamente con respecto a su propia combinación de cerdas y es normal en acción sobre otras cerdas).

Existe más variabilidad fenotípica en la expresión de mutantes hipomórficos que en los genes normales. Esta se conoce en las series 'cerdas escutelares' (sc), ojos blancos (w), cerdas bifurcadas (f) y cerdas cortas (bb). Esta misma variabilidad existe también en el efecto normal en dosis simple en aquellos raros casos en que una dosis simple es ligeramente distinta de la dosis doble: alas hendidas (N'), cerdas pequeñas (ss).

Otro tipo de mutaciones son las antimórficas (Muller, 1932),

en las cuales los genes mutantes son antagónicos, es decir, tienen un efecto contrario del gene del cual se derivaron. Tal caso lo presenta el mutante ebony del cromosoma III. Si tenemos un poliploide conteniendo dos mutantes 'ebony' y uno normal (derivado por translocación II-III26, Painter y Muller, 1929) la sustracción de un ebony hace el color más claro, mientras que la sustracción del normal lo hace oscuro. Estos genes antagónicos que tienen un efecto contrario al del gene del cual se derivaron por mutación, son considerados genes (o mutantes) antimórficos (Muller, 1932).

Otro tipo de mutaciones, las neomórficas (Muller, 1932), son aquellos cambios en la naturaleza del gene en el locus original que da un efecto no producido por el gene normal original. Este es el caso de ojos barra (B). "Según Sturtevant 'ojos barra' no tiene alelo normal, al menos en el mismo locus. Sin embargo, el descubrimiento reportado por Dobzhansky (1932) de una segunda mutación parecida a ojos barra ('baroid') inducida por rayos X en el mismo locus que el gene para ojos barra original, indica que este locus particular contiene un gene sujeto a este tipo de mutaciones, aunque Dobzhansky aún crea que el alelo normal fue transportado hacia otro locus durante el proceso de la mutación. La deficiencia para 'barra' original de Bridges (1915), que ahora podemos interpretar definitivamente como una pérdida muestra que la ausencia del locus 'barra' en el cromosoma homólogo de la hembra heterociga para barra tiene el mismo efecto en el ojo como la presencia del alelo normal, y el trabajo de Sturtevant sobre la recombinación desigual en el locus 'barra' apunta en la misma

dirección" (Muller, 1932). Ojos barra es, entonces, una mutación (duplicación in situ) del gene normal, que produce un efecto nuevo, ajeno al gene original y que no compite con éste. Sin embargo, este nuevo efecto obedece las reglas de los genes ligados al sexo, es decir, el macho (con una dosis por su condición XY) es más parecido a la hembra homociga (con dos dosis por su condición XX), que a la hembra heterociga.

Esta interpretación de las mutaciones genéticas como cambios estructurales cualitativos refleja la estructura real de los genes más que su comportamiento ya que, por ejemplo, muchas mutaciones son hipomórficas con respecto al gene normal, pero neomórficas con respecto a otros genes.

4.2.2. Compensación de Dosis y Dominancia.

Muller (1932) propone una clasificación de los genes en base a sus actividades en diferentes dosis. Curt Stern (1929), con 'cerdas cortas' (bb) y Muller con genes ligados al sexo encuentran que la adición de una tercera dosis restablece la normalización del efecto mutante. Muller, con la serie 'ojos blancos' estudia la adición de dosis para eosin (w^e), durazno (w^a) y blanco (w) (Muller, 1932). A partir de estos estudios Muller (1931, 1932) clasifica a las mutaciones como hipomórficas (usándose el término 'leaky mutants' actualmente), amórficas (non-leaky mutants), antimórficas y neomórficas. Ya que muchos genes se comportan de manera hipomórfica, puede pensarse (Wright, 1929) que las mutaciones genéticas representan, en su mayoría, casos de inactivación (mayor o menor) del proceso gobernado por el gene normal, y que estos genes 'menos activos'

actúan más a menudo como recesivos que como dominantes. Esto implica que una dosis del normal usualmente tiene el mismo efecto que dos dosis en relación con ninguna (Muller, 1932).

Si tres dosis de un gene hipomorfo tienen un efecto casi normal con respecto a dos dosis del mismo gene, porque, entonces, machos y hembras se parecen si el macho sólo cuenta con un cromosoma X? Muller (1930) y Stern y Ogura (1931) propusieron un mecanismo llamado 'compensación de dosis'. Bajo este mecanismo se igualan los efectos de los cromosomas sexuales en los dos sexos, debido probablemente a otros genes del mismo cromosoma, cuyos cambios en dosis afectan la reacción. "En algunos casos, al menos, es posible mostrar por medio de estudios sobre los efectos de diferentes piezas de cromosomas, a) que hay genes, y no los sexuales, actuando como 'modificadores', b) que los modificadores responsables de la compensación de dosis son diferentes unos de otros, y c) que más de un modificador está presente para un locus específico" (Muller, 1932).

Estos 'modificadores' son tan importantes como el gene 'primario' en el efecto fenotípico. Mientras que la cantidad del efecto producido depende de la dosis del gene 'primario', no depende sólo de su concentración en la célula, ni de la relación de su dosis con otros genes, menos aun de los genes autosómicos, sino de la proporción de su dosis con relación a otros genes específicos del mismo cromosoma X.

El sistema de modificadores actúa en el alelo normal para obtener el mismo efecto en ambos sexos a pesar de la diferencia de dosis. La dominancia del alelo normal sobre el mutante no es

perfecta fisiológicamente, y por selección el sistema de genes se establece de tal manera que la expresión de una dosis en tipos haplo X es similar es igual a la presencia de dos dosis en el tipo XX. La existencia de modificadores en el cromosoma X, cuyos cambios en dosis afectan el producto de otros genes ligados al sexo al nivel requerido para hacer a los machos y hembras parecidos, indica que los modificadores específicos de la acción génica y las mutaciones que causan tipos específicos favorables para la sobrevivencia están coadaptados, es decir, han sido seleccionados de manera conjunta (acoplados).

En contradicción con la teoría de Fisher (1930) del origen de la dominancia, Muller propone que las mutaciones que favorecen la dominancia -genes o condiciones genéticas que tienden a hacer parecidos al heterocigoto y al homocigoto- han sido seleccionadas y mantenidas no tanto por su protección contra la heterocigosis en un locus, sino para proveer un margen de seguridad y estabilidad ante una variabilidad excesiva del carácter por multitud de influencias -medioambientales o genéticas (Muller, 1932). Estos modificadores afectan la reacción del gene primario, que cuando se encuentra en dos dosis, tiene la misma curva de efectividad, impidiendo su variación por influencias ambientales o por la reducción de dosis del gene primario. El origen de la dominancia bajo esta hipótesis, supone que el cambio de dosis causa un cambio perceptible fenotípico, y el grado de expresión del carácter será modificable a un nivel desfavorable por el medioambiente o por cambios genéticos (Muller, 1932, 1947, 1948).

De estos estudios surgen dos ideas fundamentales que modificaron el concepto de gene: una interpretación fisiológica

de la dirección de la acción del gene mutante y la teoría de los modificadores que actúan en el cromosoma X para abolir los efectos de las dosis de genes normales en la hembra.

El descubrimiento de la compensación de dosis fue importante para la comprensión de la regulación genética. Aunque los machos tienen un solo cromosoma X y las hembras dos, presentan, usualmente, el mismo fenotipo. La compensación de dosis es un mecanismo que equilibra las expresiones de diferentes dosis de genes normales presentes en el cromosoma X de los dos sexos. Fue también a través de estos estudios que el gene pudo definirse fisiológicamente y entender el papel de los modificadores en el proceso evolutivo.

4.2.3. El caso Barra.

El ojo barra (Bar, B) fue descubierto por Tice en 1913. Estas moscas se caracterizan por tener los ojos reducidos a delgadas barras. El análisis mostró que ojos barra estaba ligado al sexo y era dominante con respecto al alelo normal. Las hembras barra homocigas son idénticas al macho (heterocigo para Bar). Las hembras B/+ (heterocigas), sin embargo, muestran amplitud en la anchura y aumento en el número de omatidios del ojo compuesto. Esto se explicó suponiendo que el alelo normal no era completamente recesivo y así contribuía a aumentar el número de facetas. Bridges (1917) encontró el primer caso de 'deficiencias': cuando se obtenía una deficiencia de barra (B) y cerdas bifurcadas (f) en estado homocigo era letal. Si se cruzaba un macho barra (B/+) con una hembra con tal deficiencia, el compuesto de la deficiencia con Bar mostraba el mismo fenotipo

de un heterócigo B/+. "Se concluyó que el ancho del ojo de la hembra heteróciga normal no se debe a la acción del alelo silvestre, como fue originalmente supuesto" (Morgan y col., 1925).

Parecía que Bar había aparecido como una nueva 'presencia' sin su alelo normal.

Zeleny (1924) reportó dos hechos importantes. Primero la mutación reversa en el locus Bar, segundo, encontró una variante más extrema de Bar que llamó 'ultrabar' con los ojos aún más delgados y con 1 o 2 marcas de omatidios a cada lado de la cabeza. Su frecuencia era menor que la ocurrencia de ojos redondos. Ultrabar (Bu) y Bar (B) eran inestables y se obtenían por mutación de Bar y ojos redondos respectivamente. Una característica que notó Zeleny en contraste con el análisis de Muller sobre el origen de las mutaciones en el locus 'ojos blancos' (w) era la falta de mosaicos en las reversiones, tanto somáticas como germinales. Como mutación dominante, se esperarían más mosaicos que para ojos blancos (w),

Morgan y Sturtevant (1923) analizaron el caso Bar y encontraron que era inconsistente con los hechos conocidos para los genes de Drosophila. Las tasas de mutación y mutación reversa eran específicas como las observadas para otros genes; parecía ser un caso si no exclusivo, preponderante en las hembras; el patrón de mutación en la oogenesis con ausencia de mosaicos hizo dudoso su origen como mutación. Propusieron otro mecanismo que implicaba la reversión al ojo barra normal asociada a la recombinación (Morgan y Sturtevant, 1923).

Sturtevant (1925) hizo dos nuevos descubrimientos. Encontró un nuevo mutante de barra que era una reversión parcial llamada infrabarra (B'). Al ultrabarra (Bu) que aparecía por recombinación de hembras homocigas lo llamó doble-barra (BB). La producción y la reversión de doble-barra se debe a recombinación desigual (Sturtevant 1925). El otro descubrimiento fue resultado de la observación del número de omatidios en los ojos compuestos para barra (B), infrabarra (B') y doble-barra (BB). La posición relativa de los dos genes idénticos afectan su acción en el número de facetas. Para B/B , 68 facetas; $BB/+$ 45.5; B/B' 73.5 y $BB'/+$ 50, B'/B' 292.6 y $B'B'/+$ 200.2.

Para Sturtevant, barra, doble-barra y ojos redondos por reversión, representan variaciones cuantitativas de la misma sustancia. Sin embargo, el caso Bar no representa un modelo general sobre el origen de las mutaciones, a saber, que éstas son de naturaleza cuantitativa.

Dobzhansky (1932) demuestra que baroid, mutante recesivo de barra, reduce la recombinación cerca de la región barra, indicando que se trataba de una translocación entre el cromosoma X y el segundo cromosoma. "Muller y Altenburg sugirieron que la acción del gene puede cambiar por la 'alteración de las contiguidades intergénicas'. Una translocación, que ponga en contacto dos genes que antes no lo estaban, puede cambiar los efectos de estos genes. Esta sugerencia se basa en el descubrimiento de Sturtevant (1925) del 'efecto de posición' en barra" (Dobzhansky, 1932).

Muller no considera a Bar como una 'nueva presencia' sino como una mutación neomorfa. Incluso, propone que Bar se origina

por un duplicación in situ. Bar aparece por rompimiento y translocación mutua entre las cromátidas homólogas en un punto (no exactamente el mismo). El fenotipo Bar representa un efecto de posición de la sección extra del cromosoma interactuando con otros loci cercanos (Muller, Prokofejieva y Kossikov, 1935).

"Una mayor oportunidad de unir las piezas del rompecabezas que representa el caso barra se debe al descubrimiento de los cromosomas gigantes de las glándulas salivales. Estudios con bandeo.. muestran que un banda extra está presente en el complemento normal por duplicación" (Bridges, 1935).

Los cromosomas con el alelo normal y con la reversión a barra muestran el segmento no duplicado, Bar muestra una duplicación y doble-bar una triplicación. Sin embargo, la explicación de Bridges es diferente de la de Muller. Bridges creyó que la región Bar de un cromosoma se había deletado e insertado en una región cerca de barra en el homólogo. También, no veía diferencia entre la interpretación cuantitativa y la de efecto de posición para los segmentos repetidos de un alelo. "La reducción del ojo barra puede interpretarse como un efecto de balance génico -genes duplicados o triplicados. Sin embargo, los efectos de posición no se incluyen cuando existe una duplicación o un rearreglo... En ojos barra y sus derivados, atribuirle al balance génico o al efecto de posición la producción del carácter parece más bien un caso de gusto que un análisis detallado" (Bridges, 1935).

Muller se opone a esta explicación, sosteniendo que Bar aparece por recombinación desigual. La explicación más plausible

es que en el momento del rompimiento las dos cromátidas u homólogos del cromosoma X ya estaban separadas, sólo el rompimiento izquierdo ocurre en una de ellas, y en la otra, el rompimiento derecho, y subsecuentemente se unen la pieza izquierda y la derecha que lleva el rompimiento a su izquierda. Bajo esta hipótesis, la duplicación no se origina de una inserción. "La recombinación desigual observada en ojos barra es, entonces, sólo una clase de recombinación desigual secundaria, que resulta indirectamente de la primera recombinación desigual que estableció, en primer término, la duplicación" (Muller, 1936).

Sobre la diferencia entre efecto de posición y una interpretación cuantitativa (Bridges, 1935), Muller sostiene que el efecto Bar es debido solamente a un efecto de posición, ya que Bar se comporta como neomorfo, es decir, la sola adición de dosis extras no incrementa el efecto Bar, además de que otros rearrreglos de genes en la región Bar causan efectos similares a aquellos de la duplicación Bar. Es difícil, sin embargo, distinguir claramente en muchos casos entre estos dos fenómenos (efecto de posición y cambio de dosis).

El caso Bar no sólo era un controversia académica, tenía una importancia evolutiva. "Consideramos el punto de esencial interés ya que el caso barra ilustra como se originan los genes adicionales en la evolución. Ojos barra ha sido durante mucho tiempo el mejor caso para sostener la idea de que los genes aparecen de novo. Su interpretación como una duplicación se encontró en dificultades por nuestra ignorancia acerca de la existencia real del 'efecto de posición' en genes no alelomórficos. Ahora estas dificultades se han resuelto, y puede

aplicarse el dictum 'toda la vida de la vida preexistente' y 'toda célula de una célula anterior' al gene: 'todo gene de un gene anterior'. Necesitamos hacer aquí una excepción sólo en aquellos casos especiales en los cuales, la vida misma, como un gene desnudo, se origina" (Muller, 1936).

De este modo el grupo Drosophila estableció la importancia evolutiva de las duplicaciones genicas. Este fenómeno genético se relaciona con el origen de ciertos genes, y por lo tanto, con la creación de variantes nuevas.

La existencia de dos copias de un mismo gene permite que una de estas copias pueda acumular mutaciones y eventualmente convertirse en un gene distinto, mientras que la copia original mantiene su función asegurando la síntesis proteica necesaria para la sobrevivencia de la especie.

Se han sugerido muchas ideas acerca del papel que juegan las enormes cantidades de ADN que no se transcribe. Se ha propuesto, por ejemplo, que el ADN altamente repetido de las células eucarióticas son encargadas de la regulación genica (Britten y Davison, 1969). Ohno (1970) propone que las duplicaciones genicas tienen un papel muy importante en la generación de variantes nuevas en las poblaciones naturales. La mejor evidencia es la que se refiere a la evolución de la globina, en donde varias duplicaciones aparecieron y se fijaron en los vertebrados. La cadena original, (beta) es la más antigua, la cadena alfa se originó de una duplicación hace 500 millones de años, y posteriormente las cadenas delta y gama lo hicieron también por duplicación (Vogel y Motulsky, 1979). Otro ejemplo es el de Stein

y col. (1980) acerca de los tres dominios de la proteína ovomucoide. Las homologías entre los tres dominios a nivel de amino ácido varía entre un 30 y un 40%, mientras que a nivel de ARNm (mensajero) las homologías van desde un 42 a un 66%. La interpretación es que estas homologías no se deben a un origen independiente de los genes que codifican para estos dominios. La duplicación es, entonces, un fenómeno que crea nuevas variantes y mantiene una gran diversidad en los dominios de las proteínas de las células.

El origen de muchos cambios morfológicos en los organismos se deben a un cambio en la función de una estructura preexistente. Gould y Vrba (1981) han propuesto que el término original para este fenómeno (preadaptación) sea cambiado por el término menos antropomórfico de 'ex-aptación'. A nivel molecular esta idea se ve reforzada si notamos que muchas variantes moleculares pudieron en otro tiempo, tener otra función (Ohno, 1970; Li, 1983).

4.2.4. Mutaciones puntuales y rearrreglos.

Al tratar de definir las mutaciones puntuales, aparecen dos limitaciones conceptuales. Primero, no existía una técnica que permitiera demostrar las modificaciones químicas del gene, y segundo, existía una clasificación ambigua de las mutaciones puntuales. Esta definición consistía en que las mutaciones puntuales no eran ni rearrreglos gruesos ni rearrreglos pequeños. Por esto se generó una confrontación entre los que defendían la existencia de las mutaciones genéticas como puntuales y quienes creían en los rearrreglos por rompimiento. Con estas hipótesis

pretendían dar una base para entender el significado evolutivo de las mutaciones.

El uso de radiaciones por sí mismo proveyó de nuevas ideas y abundantes direcciones de investigación. Conforme estas investigaciones avanzaban se encontraron nuevos hallazgos: en adición a las mutaciones génicas producidas por los rayos X, se encontraron numerosos rearrreglos cromosómicos. Cerca del 20% de los letales inducidos por rayos X mostraron contener el factor "C" (inhibidor de la recombinación) causado por inversiones. Muller (1925) había estudiado este factor "C" aunque nunca publicó sus resultados ya que Sturtevant había llegado a la misma conclusión (Sturtevant, 1926).

El descubrimiento de regiones especiales llamadas 'inertes' (Muller, Ellenhorn y Prokofejeva, 1935), en las cuales existen pocos genes activos no fueron entendidas hasta el descubrimiento de una región inerte en el cromosoma X homóloga a la del cromosoma Y, el cual se comporta como 'vacío', haciendo posible pensar que estas regiones existen en todos los cromosomas en la vecindad de los centrómeros (Muller, 1932).

Estudios sobre deleciones del cromosoma X y de autosomas translocados, así como estudios del cromosoma X, e inversiones del mismo, llevaron a conclusiones sobre el rompimiento en estas regiones inertes, el cual es tan frecuente como en las regiones activas. Muller y Gershenson (1935) encontraron que estos rompimientos en las zonas inertes ocurren sólo en 2 o 3 puntos específicos. Es decir, las regiones entre estos puntos son bloques genéticamente indivisibles producidos por genes individuales. El número de genes y el largo del cromonema en esta

región inerte debe ser menor que en las regiones activas. Inclusive hay evidencia de que deleciones o duplicaciones de los genes de estas regiones causan efectos menos anormales pensando que sus funciones se llevan a cabo por genes similares en otras regiones correspondientes (Muller, 1935). "Esto no quiere decir, sin embargo, que los cambios se producen completamente al azar en el sentido de que todas las partes tengan la misma probabilidad de rompimiento e intercambio. Por el contrario, las 'regiones heterocromáticas'... y las regiones cercanas a ellas, están más sujetas a rompimiento e intercambio ... que las regiones ordinarias" (Muller, 1940). Según Stadler (1941) no hay ningún criterio para distinguir entre cambios estructurales de mutaciones intragénicas, es decir, que todas las aparentes mutaciones génicas causadas por radiación son realmente cambios extragénicos en el sentido de cambios en el arreglo lineal y número de genes incluyendo deleciones pequeñas y duplicaciones o rearrreglos de otro tipo acompañados por efectos de posición.

En Drosophila el problema se plantea de la siguiente manera: son las mutaciones genicas espontaneas variantes extremadamente pequeñas de cambios estructurales? No es concebible que todas las mutaciones genicas espontaneas consistan en pérdidas o cambios en la posición original de los genes. La distinción entre mutaciones génicas (intragénicas) y mutaciones cromosómicas (extragenicas) es la consecuencia lógica de la existencia de rompimientos y reuniones entre 'regiones' denotadas como 'genes', diferentes de los límites entre subdivisiones de éstos (radicales, etc.). "Este punto de vista como la única explicación

razonable, haria del 'gene' sólo una región artificialmente delimitada, sin fronteras distintivas" (Muller, 1940).

Oliver (1930) demostró que los letales recesivos eran inducidos a un frecuencia directamente proporcional a la dosis de radiación administrada. Para las translocaciones, las proporciones fueron diferentes con respecto a la dosis que para los letales recesivos. Se pensó que si los rompimientos eran acompañados por intercambio mutuo de brazos de cromosomas no homólogos, que es el caso más común de translocaciones recíprocas, entonces los dos rompimientos requeridos, independientes entre si, darían una frecuencia de translocación aproximadamente del cuadrado de la probabilidad de cada rompimiento inducido. Pero los resultados experimentales mostraron que la frecuencia era menor. Para explicar esto, Muller sugirió que los cromosomas no-homólogos tendrían que estar en contacto en algún punto a lo largo del cromosoma y que al momento de la radiación cada contacto podría inducir un tipo de recombinación no-homóloga de los cromosomas. En este caso la frecuencia de los rearrreglos era muy diferente que para los letales recesivos, y esto se usó como evidencia de la diferencia entre las mutaciones puntuales y los rearrreglos. Con este tipo de evidencia Muller descartó la idea de Goldschmidt de que todas las mutaciones no eran más que distintos grados de alteración estructural, y también la idea de Stadler de que los procesos mecánicos son las únicas vías mutagénicas posibles de radiación ionizante. El argumento de Goldshmidt de que todas las mutaciones son la consecuencia de múltiples rompimientos y de un restablecimiento de un patrón en un continuo -el cromosoma- no

explica la relación entre los efectos del rearrreglo y el número y tipo de ellos. Entonces un pequeño rearrreglo debía ser letal o producir cambios visibles, pero rearrreglos como translocaciones o inversiones no producirían anomalías severas. Si la continuidad fisiológica de los genes existe, cómo podría explicarse la independencia de la expresión génica de la magnitud del cambio? La teoría del gene del grupo Drosophila si tuvo una respuesta a esta paradoja, ya que el efecto de posición indica una relación funcional entre genes, aunque estos genes mantengan su discontinuidad estructural en el cromosoma. Sin embargo, aún no existía una prueba directa que demostrara que las mutaciones puntuales eran cambios químicos en el gene que hacían que este se diferenciara a lo largo de la evolución. La falta de esta evidencia en la investigación con Drosophila y la falta de evidencia experimental en maíz fueron una de las causas que hizo que Stadler dijera que las mutaciones eran por definición, alteraciones de naturaleza desconocida. Los resultados con maíz, en donde hay claras diferencias entre las mutaciones espontáneas y las producidas por rayos-X, no indicaron más que las inducidas por rayos-X eran una clase especial: ni efecto de posición ni deficiencias o translocaciones. Para ilustrar la hipótesis de la radiación en maíz, Stadler (1941) comparó mutaciones inducidas en el locus A (color de la aleurona de las semillas) con rayos-X y las inducidas por radiación ultravioleta (que es no-ionizante). La radiación ultravioleta dió un patrón diferente de mutación con respecto a los rayos-X. Con rayos-X se encontró que podían detectarse mutaciones debido a la pérdida del efecto del alelo.

Así, se encontraron distintos casos de mutaciones: aquellas debidas a deficiencias o mutaciones no-viables (correspondientes a defectos en fertilidad y desarrollo) y aquellas debidas a mutaciones viables con fertilidad normal. Entre las deficiencias se identificaron plantas incapaces de producir flores, o si producian flores, el polen era infértil. De estos resultados Stadler concluyó que no habia sido posible encontrar un caso unico de mutaciones. El patron de mutaciones inducidas por radiación ultravioleta era distinto. Se obtuvieron tres casos de mutantes recesivos para a (alelo recesivo de A) y una clase de mutación de fenotipo intermedio al que se llamo 'brillante' Alt. Estos mutantes fueron normales en crecimiento y en el desarrollo del polen. La conclusión mas obvia, segun Stadler, es que existe una diferencia básica en la naturaleza de las mutaciones inducidas por los dos agentes (Stadler, 1941).

En 1954 Stadler trata de dar una definición del concepto de gene. Este concepto se derivaba de los estudios experimentales y teoricos con Drosophila y maiz y aun permanecia ambiguo. Los terminos mutación genica dependen del concepto de gene que se use. Así, Stadler dice: "La ambigüedad significativa no esta en nuestra definición de mutación genica, sino en nuestra definición de gene, puesto que, cualquier definición de mutación genica presupone una definición de gene" (Stadler, 1954).

Para Stadler el gene solo puede definirse como el segmento mas pequeño de material hereditario que está fuertemente asociado con la aparición de un efecto genetico especifico. No podra definirse como una simple molécula ya que no existen las pruebas experimentales que así lo determinen. Tampoco podra definirse

como una unidad indivisible a pesar de que la definición de gene misma reconoce que el gene puede separarse por recombinación o translocaciones de otros genes. Por las mismas razones tampoco podrá definirse como la unidad de reproducción o la unidad funcional (Stadler, 1954). Al estudiar genes individuales Stadler intenta otro enfoque a través de los análisis genéticos de mutantes específicos, cuyos resultados sean aplicables a otros loci. Stadler introduce una paradoja que deja el concepto de gene indefinido cuando utiliza las mutaciones reversas como criterio indispensable de definición de las mutaciones genicas: "En el estudio de la mutación genética, nos encontramos en una situación anómala. Puede pensarse que un mutante que no es capaz de mutación reversa indica una pérdida del gene, mientras que si lo es, indica que esta se debe a un efecto que se expresa. La única salida a este dilema es a través del estudio de mutaciones de genes específicos ... con la esperanza de desarrollar criterios más sensibles para la identificación de mutaciones genicas" (Stadler, 1954).

Así, la probabilidad de distinguir las mutaciones genicas, causadas por cambios de naturaleza química, y los rearrreglos, cambios en la alineación de genes provocados por rompimiento y fusión, llevaron a la concepción del gene delimitado entre quienes (y no dentro de quienes) ocurren los rompimientos causados por rayos X, y dentro de los cuales (y no entre los cuales) ocurren cambios causados por rayos UV.

En suma, los estudios llevados a cabo para 'caracterizar al gene' hicieron posible distinguir entre las mutaciones puntuales

(cambios de naturaleza química dentro del gene) de los rearrreglos cromosómicos (cambios en la linealidad de los genes). Una vez más, para Muller (1935), la mutación será el cambio en el gene individual, base de la evolución orgánica. Las mutaciones que involucren cambios intergénicos serán inadecuadas como material sobre el que actuará la selección, las importantes son las mutaciones intragénicas (Muller, 1935).

5. LA ESTRUCTURA DEL GENE Y LA MUTACION EN LA ACTUALIDAD.

5.1. El gene como unidad fisiologica.

Hasta 1945 el gene era considerado como la unidad fundamental de la herencia, pero poco se sabia acerca de como funcionaba. Los genes solo podian identificarse por mutaciones que producian aberraciones fenotipicas. Estas alteraciones variaban desde aberraciones simples (color de ojos) hasta cambios morfologicos drasticos. Aunque estos efectos solo pudieron ser analizados descriptivamente, se asumió que debia existir una base comun para todos ellos.

Tres factores fueron importantes para los estudios fisiologicos del gene: los estudios de Garrod, los pigmentos de plantas y animales, y la concepción de la función génica como auto y heterocatalitica.

A partir de los trabajos de Garrod (1914) sobre errores de nacimiento (albinismo, alcaptonuria, etc.) y de Troland (1917) a principios de siglo, el interés de la bioquímica en la acción génica se desarrolló rápidamente.

Un estudio sistemático para asociar los genes con enzimas fue el de Beadle y Tatum en los 1930s.

Beadle, inicialmente un genetista de maiz, trabajó con Sturtevant en la pigmentación de los ojos en Drosophila. Viajó a Paris para aprender las técnicas de Ephrussi sobre transplante de rudimentos embriológicos de los ojos a huéspedes larvas. Beadle reconoció que uno de los principales problemas de la genética es la naturaleza de la acción de los genes: dónde, cuándo y qué mecanismos intervienen en el desarrollo. Para Beadle uno de los factores que han retardado la contestación de estas preguntas es

lo poco que se conoce sobre desarrollo de los organismos estudiados desde el punto de vista genético, además de que poco se sabe sobre la genética de los organismos que han sido estudiados desde el punto de vista del desarrollo.

En cuanto al color de los ojos, Sturtevant había demostrado que el color vermilion, bajo ciertas condiciones, no es autónomo en su desarrollo en mosaicos. En trasplantes tampoco es autónomo, un ojo vermilion (v) implantado en un tipo silvestre desarrolla pigmentación característica del tipo silvestre. Usando trasplantes estudiaron mosaicos que de forma natural era muy difícil conseguir: cinnabar (cn) que es un color de ojos fenotípicamente similar a vermilion, no es autónomo en su diferenciación. Otros dos mutantes, scarlet (st) y cardinal (cd) fenotípicamente similares a vermilion, son completamente autónomos en el desarrollo de sus colores en todas las combinaciones estudiadas. Encontraron que una implantación de v en cn da como resultado el tipo silvestre, pero la implantación de un disco cn en un huésped v da un ojo cn, v y cn se comportan de la misma manera. En un huésped claret (ca) los implantes de cn y v son autónomos; en huéspedes st y cd, cn y v son modificados a tipo silvestre. La conclusión es que los trasplantes recíprocos entre v y cn indican que éstos están genéticamente relacionados. El comportamiento no autónomo de claret, vermilion y cinnabar bajo ciertas condiciones y la forma en que estos mutantes producen sus efectos en los trasplantes se explicó bajo la siguiente hipótesis: ca, v y cn son productos de una cadena de reacciones (sustancia ca + sustancia v + sustancia cn). En

esta cadena el gene mutado ca produce un cambio interrumpiendo la cadena antes de la formación de cn. Entonces una mosca cuyo fenotipo es "claret" (ca) es aquella a la cual le faltan las sustancias ca, y y cn, y así sucesivamente para cn. etc (Beadle y Tatum, 1940). Beadle y Tatum (1940) reconocieron que el color café de ojos estaba asociado con la conversión del amino ácido triptófano a kynurenina. La oxidación de la kinurenina en ácido kinurénico esta bajo el control del gene vermilion. En la presencia del alelo recesivo para este gene, la kinurenina se restablece porque el paso a ácido kinurenico esta bloqueado dando como resultado el caracter de ojos cafés (Beadle y Tatum, 1940). Cada paso de la cadena era responsabilidad de un gene individual, "un gene dado tiene un función primaria singular" (Beadle y Tatum, 1941). Estos genes actuan por intermediación de las enzimas catalizando los pasos. La especificidad de los genes corresponde a la especificidad de las enzimas habiendo una relación estrecha entre genes y enzimas.

Trabajando con Neurospora encontraron tres mutantes bioquímicos que afectan la síntesis de vitaminas. "Se puede suponer que estos genes, que son partes del sistema, controlan o regulan reacciones específicas en el sistema ya sea actuando directamente sobre las enzimas, o indirectamente determinando las especificidad de ellas" (Beadle & Tatum, 1941).

Esta hipótesis de trabajo se llamó la hipótesis de un gene-una enzima. La idea original era revertir el procedimiento y buscar las mutaciones genicas que influncian las reacciones químicas conocidas (Beadle, 1958).

Esta hipótesis propone que cada paso metabólico es catalizado por una enzima particular, cuyos productos son de la responsabilidad de un gene simple. Una mutación en este gene puede abolir la actividad de la proteína de la cual es responsable. Ya que la mutación es un evento al azar en cuanto a la estructura del gene, existe una gran probabilidad de que se dañe la función génica. Entonces, la mayoría de las mutaciones crean genes no-funcionales, aunque no sea la única consecuencia, mutaciones, ya que a veces alteran en lugar de abolir las funciones del gene.

Con esta hipótesis se explican las mutaciones recesivas: estas representan una ausencia de función ya que el gene mutado no produce la enzima deseada. La prueba directa de que los genes son los responsables de controlar la estructura de las proteínas no fue dada sino hasta 1957 por Ingram quien demostró que el gene de la anemia falciforme producía un cambio en la composición de los aminoácidos de la hemoglobina. Con estos estudios se alteró la hipótesis original de un gene-una enzima por la más precisa de un gene-un polipéptido.

La importancia de los estudios de Beadle y Tatum radicó en la posibilidad de definir al gene como aquella secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido, o, más aún, para un dominio de una proteína, y por lo tanto, en la posibilidad de definir a una mutación como aquel fenómeno que altera la expresión de un gene, dando como resultado la alteración de la función de la proteína original.

Si antes el gene era concebido como carácter (de Vries,

1901), posteriormente como factor (Morgan, 1914), ahora era posible definirlo como aquella entidad capaz de producir una proteína con una función específica. Vemos una vez más como el avance de la biología permitió caracterizar de manera más profunda la problemática fundamental del gene.

5.2. Estructura del gene.

5.2.1. Pseudoalelismo o efecto Lewis.

El descubrimiento de los alelos múltiples (Morgan, 1913) planteó el problema del origen independiente de los alelos, y de si estos factores formaban una serie integrada en un segmento del cromosoma. East (1929) plantea que, efectivamente estas 'series' forman segmentos integrados de los cromosomas donde no ocurre la recombinación. Entonces, el origen de los alelos múltiples es el cambio en cada lugar ('spot' East, 1929) en este fragmento lineal produciéndose los distintos alelos de manera independiente.

Este problema, sin embargo, fue temporalmente abandonado ya que los experimentos no estaban planeados para detectar la recombinación entre alelos de una misma serie. A partir de un gran número de descubrimientos de 'series alelicas' este problema fue retomado nuevamente.

Oliver (1940) reporta una reversión al tipo silvestre asociada con la recombinación en Drosophila melanogaster. Para Oliver la recombinación es un factor activo de la reversión de los alelos a su tipo normal. Esta condición se puede deber a recombinación desigual o puede explicarse bajo la hipótesis de Bridges en la cual loci diferentes están involucrados en la expresión de dos mutantes. Esta hipótesis de la repetición de

Bridges propone la evolución de los genes por duplicaciones en tandem con su subsecuente evolución independiente.

Lewis (1941) reporta un caso con el mutante dominante Star y su alelo recesivo (llamado asteroid después). Este caso era similar al reportado por Oliver, de reversiones asociadas a la recombinación (Oliver usó mutantes de ojos lozenge, la reversión al tipo normal incluía el color y estructura del ojo y los tractos genitales que en la hembras mutantes eran anormales). En 1942 reportó el aislamiento del mutante doble y denominó al recesivo de Star (S), asteroid, (ast). En este análisis reportó 16 casos de normales dobles (++) y tres de dobles mutantes (S ast). Esto quiere decir que hay dos tipos complementarios de recombinaciones (en una dirección no hay recombinación desigual) y los fenotipos de los dos arreglos Sast++ y S+/ast son diferentes. El arreglo S+/ast tiene un ojo anormal en comparación con el arreglo Sast++. Es decir, existe una diferencia en los arreglos cis y trans, indicando la existencia de genes relacionados llamados por Lewis pseudoalelos de posición.

"Una interpretación posible de los loci S y ast se puede desarrollar asumiendo que éstos han resultado de la duplicación de un locus ancestral, y que tal duplicación ha sido establecida en la especie. Esta noción está principalmente basada en el hallazgo de que S y, muy probablemente ast, están localizados en la estructura doble 21E1-2 de los cromosomas de las glándulas salivales... Si estas estructuras dobles ... son repeticiones, entonces, juzgando a partir de su ocurrencia tan extensa en los cromosomas de las glándulas salivales de Drosophila, es muy

probable que otras series alélicas pudieran haberse establecido como loci duplicados, los cuales, por efecto de posición, actúan como unidades de desarrollo" (Lewis, 1941). La estructura 21E1-2 de la que habla Lewis se refiere a un segmento duplicado. Un caso similar fue reportado por el mismo Lewis (1948) con las series para cerdas Stubble y para cerdas bitorácicas. Como en los casos anteriores, los alelos son distinguibles por su expresión y por la diferencia cis-trans, interpretándose como si hubiesen aparecido por duplicación y estuviesen en proceso de cambio y su similitud de función estaría mantenida por un efecto de posición.

McClintock (1945) llamó a este fenómeno pseudoalelismo. Ella estudió los alelos amarillo, verde pálido y blanco en la pigmentación de la aleurona del maíz. Amarillo y verde pálido son complementarios en el compuesto, pero cada uno manifiesta alelismo con blanco. Blanco y verde pálido son deleciones demostradas citológicamente, pero amarillo es una mutación puntual.

La presencia de una diferencia cis-trans indica la existencia de genes relacionados (llamados en este caso pseudoalelos de posición). En el caso trans cada cromosoma estará bloqueando el camino bioquímico en uno o dos de los puntos posibles, previniendo la formación de cierta sustancia. En el arreglo cis un cromosoma con dos alelos normales, complementa el paso bioquímico y por lo tanto ese arreglo tenderá a presentar un fenotipo más normal que el trans. "La posibilidad de que genes duplicados divergan uno de otro en su funcionamiento en el sentido antes mencionado es atractiva ya que ofrece un proceso

conservativo y progresivo, mismo que se requiere para una teoría general de la evolución génica. Más aún, el desarrollo de pasos secuenciales en este nivel sólo es posible en el caso de genes que alguna vez fueron idénticos" (Lewis, 1951).

Pontecorvo (1952) intenta dar otra explicación al pseudoalelismo, basándose en la recombinación entre series alelicas múltiples en Aspergillus nidulans. "La recombinación puede ocurrir a todo lo largo del cromosoma en varios sitios mutables; entonces la unidad última de recombinación y la unidad última de mutación -no necesariamente las mismas- pueden ser, al menos en algunos casos, de uno o dos órdenes de magnitud más pequeñas que el segmento del cromosoma que forma la base para la unidad de acción fisiológica" (Pontecorvo, 1952). Este punto de vista sostenía la existencia de recombinación intragenética y la continuidad fisiológica del material hereditario, con claras implicaciones genéticas. En este modelo el origen de los pseudoalelos no es necesariamente por duplicaciones repetidas. "...Los alelos se deben a mutaciones ... en diferentes sitios del gene; en cada caso el resultado de la mutación es inactivar el gene. Bajo esta interpretación, en un heterocigoto para dos alelos mutantes diferentes, la recombinación entre sitios mutacionales, puede ocurrir..." (Pontecorvo, 1952).

Aplicando este modelo al locus para ojos blancos, Pontecorvo (1952) obtiene recombinantes de los alelos de este locus, apoyando la idea según la cual ésta debía ser una característica general de todos los genes.

Lewis (1952) estudiando la misma serie que Pontecorvo trabajó los genes w y w^a (color blanco y color durazno), los

cuales se encuentran en loci separados, demostrando que éstos eran pseudoalelos de posición. Según el modelo de Lewis cada gene controlaría un paso bioquímico en una cadena de reacciones, entonces el efecto de posición resultaría de la interrupción de la cadena si el mutante bloqueara el funcionamiento normal del alelo del otro locus, es decir, si w bloquea la expresión de w^a o viceversa.

Pontecorvo (1955) critica esta posición. Si el gene podía ser definido en tres sentidos, unidad de recombinación, de mutación y de acción fisiológica, el efecto de posición tenía que ser explicado con base en éstas; podía ser considerado como consecuencia de interacciones localizadas entre genes distintos. Y por lo tanto propone que el fenómeno cis-trans que parecía ser un caso particular se llamase 'efecto Lewis' y no pseudoalelismo.

Para Pontecorvo la distinción entre efecto Lewis y complementación es consecuencia de la organización espacial, es decir, de la distancia. Sitios mutables muy cercanos dan origen a alelos con efecto Lewis, y sitios muy separados muestran complementación. Hay una relación entre la distancia de los alelos y su grado de complementación.

Uno de los dos modelos para analizar la estructura del gene era la que asumía la universalidad de la recombinación intragénica y la existencia de reacciones bioquímicas milimicromolares (modelo de Pontecorvo). Otro modelo, por otra parte, asumía la duplicación ocasional de dos o más genes cuyas mutaciones independientes explican su relación bioquímica. El modelo de Pontecorvo predijo la probabilidad de recombinación

entre alelos, la cual fue rápidamente aceptada por los genetistas a partir de los descubrimientos de la estructura fina de virus y bacterias.

5.2.2. Complementación.

En la mosca normal existen cerdas localizadas en la parte trasera del tórax y algunas pequeñas en la cabeza. Además hay algunas demasiado pequeñas, llamadas microquetas, que forman una serie de líneas paralelas a lo largo del tórax. Algunas mutaciones en el cromosoma X afectan los números de estas vellosidades y de las microquetas. La primera mutación conocida fue la denominada 'cerdas escutelares' (sc) ya que presentaba una forma de escudo en la región escutelar del tórax. Cerca de esta región se encuentra un gene cuyas mutaciones expresan color del cuerpo amarillo (y) y algunas muestran anomalías de los vellos o microquetas, denominándoseles achaete (sin cerdas). Este fenómeno fue descrito por Muller (1932) y los genetistas modernos lo designan con el nombre de complementación (Muller, 1932).

Muller quería demostrar que las mutaciones naturales no se debían a deleciones o a efectos de posición como el mecanismo principal que las produce. En esta línea de investigación, Muller estudia la terminal izquierda del cromosoma X en donde se encuentra el alelo normal para 'cerdas escutelares' (sc). Estudiando las inversiones que afectaban la región de sc Muller se dió cuenta que si dos inversiones, A y B, tienen rompimientos en esta región -sc- y los localizados en la parte derecha del cromosoma estaban cerca uno de otro, se podría comprobar si los rompimientos en la región escutelar estaban en el mismo lugar o

no. Esta prueba, llamada 'left-right test', produciría dos productos de la recombinación. Uno contendría la porción izquierda de A y la derecha de B. El otro producto tendría la porción izquierda de B y la derecha de A. Si el rompimiento en A estuviera a la izquierda de *sc* y el rompimiento en B a la derecha de *sc*, la inversión A contendría *sc* a la derecha y la inversión B retendría *sc* a su izquierda. El recombinante con la parte izquierda de A y la derecha de B no tendría *sc*; y el recombinante con el lado izquierdo de B y el derecho de A tendría una duplicación para *sc*, cada uno en lados opuestos del cromosoma. Si la deficiencia es viable, sería un fenotipo *sc* extremo, mientras que la duplicación tendría un fenotipo normal o casi normal.

En diferentes inversiones, no existe diferencia entre los dos productos de la recombinación, como si los dos rompimientos fuesen en el mismo punto. La cromatina, entonces, sólo es afectada por la radiación en ciertos puntos, siendo posible descubrir la totalidad de ellos para un cromosoma dado, a través de análisis genéticos. Los bloques de material entre estos puntos de rompimiento podrán ser vistos como genes (Muller y Prokofyeva, 1934).

Esta prueba, en donde los puntos de rompimiento ocurren sin ganancia o pérdida de material, indicó a Muller que los genes eran unidades discretas. Esta prueba indica el carácter potencialmente discontinuo del material hereditario, en el sentido de que el -el material hereditario- es divisible en bloques definidos capaces de autopropagación en cualquier nuevo arreglo, y también indica que esta divisibilidad tiene límites

definidos de tamaño. Por otra parte, los efectos fenotípicos producidos en presencia de estos rearrreglos son evidencia de que los genes son, desde el punto de vista de sus funciones, no discontinuos, ya que los genes vecinos están en relaciones especiales unos con otros formando un sistema genico. "Las bases de la determinación genética de los caracteres de un organismo no pueden establecerse enlistando los genes individuales que el organismo contiene; el arreglo es, en sí mismo, en efecto, de naturaleza genética" (Muller, 1934). Estos resultados permitieron pensar en la divisibilidad del material genético como criterio para reconocer la presencia de genes y sus límites espaciales y el grado en el cual deben considerarse, en el cromosoma, funcional o estructuralmente continuos o discontinuos. "En la teoría genética, los genes han sido considerados 1) como unidades de recombinación -segmentos hipotéticos entre los que ocurre un entrecruzamiento; 2) unidades de rompimiento -otra vez, segmentos hipotéticos entre los cuales no ocurren rompimientos y reensambles; 3) unidades mutacionales y funcionales -aquellas pequeñas regiones de los cromosomas, en las cuales un cambio está conectado con cambios en el funcionamiento del resto de la región dando lugar al fenómeno de 'alelismo múltiple'; o, 4) unidades reproductivas -los bloques más pequeños en los cuales, teóricamente, el hilo genético se puede dividir sin pérdida del poder de la autoreproducción de alguna de sus partes" (Muller, y Raffel, 1940). Sin embargo, Muller no les atribuye más que una existencia teórica o hipotética a estos segmentos. No existe evidencia para asumir que las líneas de demarcación entre los

genes así definidos, coincidan unos con otros, o incluso, que tengan límites invariables, bien definidos, absolutos y no sobrelapados (Muller y Raffel, 1940).

Una línea de evidencia indicando una estructura segmentaria del cromonema está dada por Muller (1940) sobre el número restringido de rompimientos genéticamente distinguibles producidos por rayos-X en la región de 'cuerdas escutelares' (sc) y 'cuerpo amarillo' (y) en Drosophila. Muller (1940) demostró la existencia de genes separados por secciones de material genético sin funciones, o al menos sin importancia, ya que su pérdida total permite la viabilidad y apariencia normal del individuo. En este caso, los 'genes' visibles darían la apariencia de estar discontinuos sólo por estar separados por este material inerte, siendo esta discontinuidad sólo de naturaleza funcional.

La problemática acerca de la divisibilidad del gene y su continuidad funcional será definitivamente resuelta con los estudios de Benzer sobre la estructura fina del gene.

5.2.3. Estructura fina.

En estudios bacterianos se obtienen mutaciones que pueden ser estudiadas bioquímicamente. Demerec (1952) empezó trabajando con E.coli para estudiar la mutación espontánea y la mutabilidad inducida. Más tarde empezó a trabajar con Salmonella typhimurium ya que el fenómeno de la transducción se podía usar para determinar relaciones alélicas. La transducción es el fenómeno de recombinación genética en el cual la transferencia de material genético es mediada por plasmidios, episomas o fagos. Ya que los segmentos que se transfieren contienen varios loci, las

frecuencias de transducción pueden usarse para secuenciar los genes de dichos segmentos.

En genética bacteriana los mutantes que pierden la capacidad para crecer en un medio determinado, pero que de otra manera son viables en un medio suplementado se llaman auxótrofos. En la prueba de transducción, los virus infectan bacterias normales y llevan fragmentos de los cromosomas del huésped. Estos fragmentos son parecidos a los fragmentos transformantes de ADN. Cuando se infectan cepas auxótrofas, las células son inmunes a los efectos del virus e incorporan el fragmento en su genoma. Si el fragmento lleva el alelo normal del mutante auxótrofo, la célula se transduce de manera análoga (no homóloga) a la transformación. Estos auxótrofos pueden separarse por la prueba de transducción en grupos bien definidos. Entre miembros del mismo grupo, la transducción o no toma lugar o es menos frecuente que entre estos miembros y auxótrofos de otros grupos, o tipos silvestres. El reagrupamiento a través de la prueba de transducción coincide con los métodos bioquímicos que investigan bloqueos en las cadenas de reacción para la síntesis de compuestos requeridos por los auxótrofos. Esto quiere decir que los miembros de cada grupo son alélicos y la ocurrencia de la transducción dentro de un grupo se explica igual que la poca frecuencia de recombinación entre pseudoalelos. Esto sugiere que un locus se extiende sobre una sección del cromosoma y los cambios ocurridos en diferentes regiones de esta sección dan lugar a diferentes alelos. También indica que las regiones dentro de esta sección son separables y recombinables con regiones homólogas dentro de un locus de otro cromosoma.

Benzer (1955) trata de explicar el alelismo en el bacteriófago T4. Algunas mutaciones producen placas en un disco de petri que contenga E.coli. En la desintegración viral ordinaria (lisis) la placa es menor ya que se inhibe la lisis por las partículas virales que están fuera de las células bacterianas. Esta inhibición no se presenta cuando las placas son mayores. Ciertas regiones del cromosoma viral son las causantes de la inhibición de la lisis, y esta región es conocida como la región rII del bacteriófago T4. "Se requiere un alto grado de resolución para examinar a la progenie. Esto se puede llevar a cabo si está disponible una característica selectiva para la detección de pequeñas proporciones de recombinantes... Tal característica se presenta en el caso de mutantes de la región rII del bacteriófago T4... El tipo silvestre produce placas en dos cepas de bacterias, B o K, mientras que el mutante de la región rII sólo produce placas en B. Entonces, si se cruzan dos mutantes rII diferentes, cualquier recombinante silvestre que aparezca, aún en proporciones tan bajas como 10^{-8} , será detectado por la presencia de placas en K" (Benzer, 1955). Así, el fago normal (r+) sobrevivirá en K y no el mutante de la región rII. Recombinaciones entre alelos se reconocieron por la presencia de placas r+ en K.

Este descubrimiento iba más allá del debate de la recombinación inter o intragénica. Esta sensibilidad plantea la pregunta de qué tan cerca este nivel de resolución refleja los límites moleculares del material genético. A partir del establecimiento de Hershey y Chase (1952) de que es el ADN el

material hereditario, tendrán que transformarse las distancias de ligamiento en unidades moleculares. Entonces suponiendo la continuidad o uniformidad de la recombinación y la probabilidad de que el ADN del fago sea haploide y funcional entonces las distancias genéticas (según Benzer de 200 unidades en el mapa) y su correspondencia molecular (que según el modelo de Watson y Crick sería de 200,000 pares de nucleótidos) puede hacerse. "Dados dos mutantes cuyas mutaciones estén localizadas sólo dos nucleótidos aparte, una cruce entre estos dos mutantes dará lugar a una población en la cual una partícula de 10^5 resulte de la recombinación entre las mutaciones" (Benzer, 1955).

El procedimiento de mapeo se basó en la frecuencia de recombinaciones de las diferentes cruces. A mayor distancia entre las mutaciones, mayor número de placas, y por extensión, se caracterizó, en términos moleculares, el tamaño de las unidades de recombinación, mutación y función. En los primeros experimentos (Benzer, 1955) se calculó que el orden de magnitud de la unidad de recombinación era de una docena de pares de nucleótidos, y la unidad mutacional hasta de varios cientos de pares de nucleótidos.

Un análisis más detallado de la organización de la región rII del bacteriófago T4 (Benzer, 1956) describió que esta región está dividida en dos regiones (A y B) en donde los genes 'clásicos' están ordenados en un arreglo dimensional en cromosomas divisibles por recombinación.

Combinando el total de medidas de ligamiento y el total de ADN contenido en el bacteriófago T4, y traduciéndolas en medidas moleculares, pueden estimarse las medidas de las unidades

fisiológicas, de mutación y de recombinación génicas. Si el porcentaje de recombinación es de 10^{-5} , los segmentos funcionales de la región rII serán de cerca de 400 pares de nucleótidos (Benzer, 1956). El cromosoma, entonces, será divisible por recombinación en secciones de hasta una decena de pares de nucleótidos de longitud. Benzer mismo reconoció la similitud con las predicciones hechas por Pontecorvo sobre la recombinación intragenica. Demerec, (1956) extendió sus estudios de transducción en Salmonella a la región responsable de la biosíntesis de triptófano, y encontró que había varias regiones ligadas, funcionalmente distintas y que formaban una serie secuencial de genes. Hay correspondencia entre el orden de loci en la mapa y la secuencia de bloques bioquímicos. Esta correspondencia había sido estudiada en Drosophila, hongos y maíz. Sin embargo la existencia de dos regiones rII de Benzer era más parecida al sistema de Lewis que al de Pontecorvo ya que se definió la región rII morfológicamente más que por su naturaleza bioquímica.

Benzer (1957) define el gene de un modo novedoso que incluye una división tripartita basada en la estructura fina de la mutación, función y recombinación. "La unidad de recombinación será definida como el elemento más pequeño en un arreglo unidimensional que es intercambiable -pero no divisible- por recombinación genética. A este elemento se le llamará 'recón'. La unidad de mutación, el 'mutón', se definirá como el elemento más pequeño que, alterado, da lugar a una forma mutante del organismo. La unidad de función es más difícil de definir... Una

unidad funcional podrá definirse genéticamente, independientemente de la información bioquímica, por medio de la comparación 'cis-trans' de Lewis. Es decir, un grupo de mutantes no-complementarios que caigan dentro del segmento limitado del mapa genético. Este segmento del mapa, que corresponde a una función unitaria y que es definido por la prueba 'cis-trans' será llamado 'cistrón'" (Benzer, 1957).

En este nuevo análisis Benzer utilizó las mutaciones o deleciones para construir un mapa de deleciones sobrelapadas restringidas a porciones de la región rII. La localización de las mutaciones en las regiones sobrelapadas o no sobrelapadas hizo que Benzer corroborara independientemente las localizaciones hechas con base en las frecuencias de recombinación. En términos de distancias en el mapa, el recón fue de 0.02 unidades, el mutón de 0.05 y el cistrón de varias unidades de largo. En el cistrón A se localizaron 60 sitios para 241 de los 923 mutantes de rII, lo cual quiere decir que en este segmento (cistrón A) existen puntos sensitivos en los cuales la mutación permite un efecto fenotípico visible (Benzer, 1957).

Benzer (1959) trató de hacer un estudio para alinear las distintas partes de la estructura y saber cómo se tocan entre sí, y no ya a qué distancia se encuentran. Por medio de pruebas funcionales (bioquímicas) se concluyó que cada cistrón correspondía a un segmento limitado en la estructura (Benzer, 1959).

En el análisis topográfico de la estructura, es decir, de las diferencias de las propiedades de las partes, cabía preguntarse si los sub-elementos no eran igualmente mutables. Si

lo fuesen las mutaciones ocurrirían al azar a través de la estructura y su topografía sería sencilla. Si no lo fuesen los sitios 'sensitivos' podrían ser muy interesantes para entender el mecanismo de la mutación. El número de sitios en un cistrón podría calcularse en una distribución de Poisson para 1, 2 o más alelos en un sitio. La azarosidad del alelismo en una distribución de Poisson implica una distribución uniforme a lo largo del cistrón. Sin embargo un análisis de las tasa de mutación en los cistrones A y B del bacteriófago T4 (Benzer 1961) demuestra la existencia de puntos 'calientes' que tienen una tasa mucho más alta que implica que la distribución no sigue una distribución de Poisson, y que la mutación no es un fenómeno que se esté produciendo al azar en todos los puntos.

El gene definido como unidad de función, de mutación y de recombinación se convirtió, a partir de estos estudios sobre estructura fina, en obsoleto. Benzer (1957) usando nuevos términos conceptuales simplificó la discusión acerca del gene. El gene 'clásico' era dividido en cistrón, mutón y recon, los cuales no coincidían ya que sus medidas eran distintas. El 'gene' que produce una proteína específica o un mensaje se denominó como 'cistrón'; el segmento más pequeño capaz de recombinarse se denominó 'recon', y el gene definido como el segmento mutable más pequeño fue llamado 'recon'. De estos terminos, el cistrón es el más ampliamente usado, especialmente en sistemas microbianos, como sinonimo de gene, pero con una clara conotación que hace referencia a la estructura fina encontrada por Benzer (1955) en la región rII del bacteriófago T4.

Por otra parte, la problemática acerca del fenómeno de la mutación se simplificó, ya que se supo entonces que la mutación puede involucrar sólo unos cuantos pares de bases de nucleótidos, explicándose así las mutaciones puntuales.

5.2.4. Explicación molecular de las mutaciones

Muller (1930) reconoció y demostró la característica altamente localizada de las mutaciones puntuales y propuso que su origen era consecuencia de un cambio químico o físico del gene. El modelo de Watson y Crick (1953) y los estudios de estructura fina de Benzer (1955) en la región rII del bacteriófago T4 proveyeron las bases moleculares para las teorías de la mutagénesis que intentaban resolver la paradoja de Stadler (1954) según la cual, primero, la mutación es un cambio de naturaleza desconocida, y segundo, es imposible distinguir entre las mutaciones puntuales y los rearrreglos.

El modelo de Watson y Crick (1953) sugirió que un par de nucleótidos, si era sustituido o sustraído (delección) causaría una mutación puntual. Benzer (1955) demostró que existe una relación entre la molécula de ADN y los sitios mutables en la estructura fina del mapa genético. Freese (1959) mapeó las mutaciones producidas en el fago T4 por una base-análoga 5-bromouracil y observó que los agentes usados requerían que el ADN se replicase para producir una mutación. A partir de estas observaciones Freese (1959) propuso dos diferentes clases de mutaciones: las transiciones y las transversiones.

Las transiciones las atribuyó a errores de apareamiento causantes del remplazo de una purina por otra purina o una

pirimidina por otra semejante, causando una mutación 'de sentido equivocado' (missense) para dar lugar a una proteína en la cual se ha sustituido un aminoácido. Si esta sustitución se lleva a cabo al tiempo de la replicación, la mutación se fijará en la siguiente replicación del ADN. Las transversiones son el remplazo de una purina por una pirimidina y viceversa causadas por compuestos de acridinas. Sin embargo Brenner (1958) había demostrado que las acridinas producían deleciones intragenicas minúsculas o duplicaciones no mayores de un par de nucleótidos. Brenner (1958) propuso que los compuestos de acridina se intercalan en la molécula de ADN causando una copia inexacta (miscopying) de la secuencia por la inserción de una o más bases. Este tipo de mutaciones se llaman 'mutaciones de corrimiento' (frame-shift mutations) y los mutantes que aparecen tienen la característica de que no producen la proteína similar a la del tipo silvestre y en este caso, las mutaciones se consideran 'sin sentido' (nonsense).

Existen dificultades en la interpretación de la actividad mutagénica de otros compuestos como ácido nítrico, formaldehído, o agentes alquilantes, cuyas reacciones con el ADN son complejas. Sin embargo los estudios de Freese (1959) y Brenner (1958) sobre la explicación molecular de las mutaciones puntuales ha servido de estímulo para la investigación de las mutaciones puntuales en organismos superiores.

5.2.5. Genes fragmentados

Uno de los descubrimientos más sobresalientes en la biología molecular es el hecho de que los genes están fragmentados en una

serie de regiones alternantes que codifican para dominios discretos de las proteínas (exones) y regiones intercaladas (intrones) que no codifican pero que son transcritas junto con las anteriores formando una sola molécula de ARN. Por medio de un proceso llamado 'ARN de empalme' los intrones son removidos del ARN para generar un ARN mensajero funcional que contiene la información requerida para la síntesis proteica. De esta forma los exones son las unidades evolutivas y funcionales que codifican para las proteínas (Hunkapiller y col., 1982). Esta idea sugiere que muchos de los genes actuales pudieron haberse originado de la duplicación de un exón primordial. Entonces, la evolución de muchos multidominios de las proteínas se pueden explicar por duplicación de un exón original y la subsecuente divergencia del homólogo. Sin embargo, no todos los genes pueden tener funciones nuevas. Un gene duplicado puede acumular mutaciones deletéreas y convertirse en no funcional (seudogene). Un seudogene es un segmento de ADN que muestra gran homología con un gene funcional pero que contiene defectos tales como mutaciones sin sentido (nonsense) o de corrimiento (frame-shift) que evitan que se elabore el producto funcional (un péptido). La evidencia actual indica que los seudogenes tienen características que hacen pensar que estos se derivan de la no-funcionalización de genes duplicados (por ejemplo, seudogene psi beta 2 de la globina del conejo, Li, 1983). De esta manera los seudogenes aparecen como mutantes que generan codones de terminación entre los exones, cambios en el procesamiento del ARN o secuencias de interrupción que producen cambios en la lectura de las secuencias del ADN. Como la selección opera sobre exones funcionales y no

sobre los pseudogenes ni sobre los intrones, la unidad de selección es el exón. Este es el concepto actual de gene a nivel molecular.

5.3. Transposición.

La transposición es un término que se refiere a la movilidad de ciertos fragmentos de ADN dentro del genoma de un organismo. Este fenómeno fue descubierto por Barbara McClintock (1948) en maíz. No es accidental que fuese el maíz aquel organismo en el cual este fenómeno haya sido descrito. Una gran tradición de genetistas de plantas, y particularmente del maíz, lograron establecer líneas de investigación paralelas (no independientes) a las de la genética morganiana. Tal es el caso de Anderson, Eyster, Emerson y Demerec, y la misma McClintock.

Los genes inestables, compuestos y mutables fueron estudiados por ambas escuelas. Estos genes se habían detectado en casi todos los organismos, principalmente Drosophila y maíz. Sin embargo, fue la escuela del maíz la que planteó la problemática en toda su extensión; el resultado fue la propuesta de una teoría que explicara estos casos de inestabilidad genética cuyo rasgo fenotípico era el mosaicismo o variegación. Tal teoría, teoría de los genómenos, propone al gene compuesto de sub-elementos, siendo entonces el número de éstos el que determine la característica fundamental. Aunque esta teoría mostró ser incorrecta, fue a través de estos estudios y de las polémicas que suscitó (principalmente con Muller, 1926) que se sentaron las bases para el reconocimiento de la transposición.

5.3.1. Genes inestables y genes compuestos.

El gene es ya considerado el material hereditario capaz de reproducirse, mutar y retener esta capacidad en sus nuevas formas (Muller, 1926).

Varias consideraciones hacen pensar como probable que los genes en el cromosoma no forman un continuo, sino que ocurren de forma segmentada, en unidades cuyas interconexiones son parecidas pero distintas de sus intraconexiones (vgr. intrones y exones, familias de genes, etc. en Ayala, 1976).

"Aunque podamos hablar de los genes como unidades, ya sea en el sentido de los diferenciadores mendelianos o en el sentido de elementos independientes propagables, hay que reconocer que estas unidades lo pueden ser sólo en potencia, y que en el cromosoma pueden existir no como partículas separadas, o incluso como sustancias desunidas, sino en la forma de una estructura linealmente continua" (Muller, 1926).

En este sentido es válida la pregunta acerca del tamaño y número de los genes, ya que si están alineados y son separables por recombinación, ayudaría a nuestra concepción acerca de su estructura específica. Pero, y su composición interna? "Si definimos al gene en el sentido anterior (como estructuras linealmente continuas), se puede mostrar que está compuesto de partes idénticas; entonces nuestra unidad fundamental deviene más pequeña y nuestra interpretación del fenómeno genético básico se verá afectado en varios sentidos" (Muller, 1926). De los estudios con mosaicos somáticos de Drosophila, originados por mutación, se ha visto que en todos los casos la región mutada parece formar un bloque contrastando con otro bloque de tejido no mutado (por

ejemplo, el macho dividido en amarillo y gris (Muller, 1920)). Esto se explica ya que la mutación somática sólo afecta a una célula que al dividirse sucesivamente formará un grupo de células o bloque de tejido que fenotípicamente será distinto del tejido normal que aparece por divisiones de las células normales, pareciendo que los genes de cada cromosoma se comportan como unidades, conteniendo no más de una molécula intercambiable, mutable y autopropagable.

Goldschmidt ve al gene de otra forma. En 1917 dice que el grado de masculinidad y feminidad en razas distintas del género Limantria varía en series cuantitativas parecidas a las series de alelos múltiples para el locus de ojos blancos en Drosophila. Sin hacer análisis de recombinación concluye que los múltiples alelos para la pigmentación de los ojos son diferentes cantidades de genes causantes de la aceleración o reacción en las proporciones de dichas cantidades. Si suponemos esto, entonces el problema de la variabilidad de los genes es otro. "Las condiciones variables que rodean al gene causan una cierta cantidad de fluctuaciones en sus cantidades" (Goldschmidt, 1917).

Así, el mecanismo fisiológico de la modificación del carácter es debido a las velocidades de reacción de los materiales génicos. El carácter somático sólo cambia hacia una mayor o menor cantidad de los elementos que constituyen los genes. Este cambio puede deberse a la acción del medio produciéndose una modificación, o puede deberse a la fluctuación de su cantidad causando incremento o decremento en la velocidad. Sin embargo, el análisis de B'd y uno similar con 'eosin' y 'alas

truncadas', demostraban la presencia de factores modificadores que Goldschmidt y Castle no aceptaban. También la demostración de Muller (1914) de la herencia residual en ratas hizo que Castle abandonara esta explicación para sus experimentos sucesivos (1919a). Mientras la hipótesis factorial triunfaba sobre el modelo de Goldschmidt, éste, modificado, serviría de base para otros modelos cuantitativos del gene y de autoregulación.

Correns estudiando la coloración variegada de las hojas en Capsella (1919) descubrió que este carácter podía ser transmitido mendelianamente. Correns atribuyó esta inestabilidad del carácter a genes enfermos. En 1919 Correns propone un modelo para estos genes anómalos. Para Correns los genes están compuestos de una molécula con un determinado número de radicales, la inestabilidad de estos genes se deberá al cambio en el número de los radicales que estén presentes. Este número de radicales es mutable y puede cambiar en dirección de mayor o menor cantidad de ellos.

En Cornell, Emerson (1917), trabajando con maíz, se interesó en la variegación. El carácter que estudió era expresado por miembros de una serie alélica múltiple que afecta el color del pericarpio de los granos y el zuro de las mazorcas. Esta serie tenía varios grados de constancia factorial. En un extremo hay totalmente coloreadas y en el otro extremo las hay sin color, ambos caracteres constantes mendelianos. Cerca de estos extremos existen tipos coloreados que exhiben de 1 a 5 semillas total o parcialmente variegadas en las mazorcas heterocígas. Luego se presenta una raza clara (light) en la cual el cambio factorial ocurre en un estadio de la ontogenia que afecta las células germinales pero más frecuentemente en estadios posteriores. El

otro extremo consiste de variegados oscuros en donde los cambios factoriales ocurren frecuentemente. Para Emerson estos cambios factoriales son no-mendelianos, incluso anti-mendelianos; la modificación genética será ya no asunto de la genética mendeliana, sino de la mutación ya que la característica esencial del mendelismo es la segregación de los factores sin contaminación (Emerson y col., 1917).

Anderson (1920) propone un modelo para explicar las mutaciones frecuentes en genes inestables. Estos no son las últimas unidades hereditarias sino que están compuestos de unidades aún más pequeñas. En el caso de la variegación del pericarpio supone que los genes inestables contienen dos clases de 'sub-genes' o partículas, una blanca, que determina una clase, y otra roja que determina otra clase; éstas por mera segregación formarán ya sea el gene determinante del color blanco o el rojo.

Esta teoría fue públicamente anunciada en 1921 y desarrollada por Eyster (1924). Eyster comenzó con una mazorca simple de maíz de grano naranja y obtuvo el espectro completo de coloración para toda la serie de alelos. Las formas variegadas podían seleccionarse en cualquier dirección y mazorcas con granos rojos o blancos podían obtenerse como formas estables. Eyster explicó este fenómeno suponiendo al gene como una unidad compuesta, en donde la intensidad del color dependía de los números relativos de los sub-elementos productores de pigmento y de sub-elementos formadores de no-pigmento.

Esta explicación da cuenta de los matices de las semillas y mazorcas, pero deja sin explicar la variegación. La más pequeña

variación en la separación de los elementos en la mitosis o las diferencias en la tasa de reproducción de los elementos genéticos, en este caso de los sub-genes, será la causante de la presencia de ciertos tejidos con sus colores respectivos. La diferencia fundamental entre el pericarpio naranja y el variegado es que en el primero el pigmento está difuso en todo el tejido, mientras que en el segundo está concentrado en parches de diversos tamaños. En el gene para pericarpio naranja la completa segregación de los elementos no ocurre del todo, o muy tarde en el desarrollo, de tal modo que sólo pequeños segmentos rojos o sin color se producen. En el gene para la variegación la segregación de los elementos empieza muy temprano segregándose completamente para el final del desarrollo del tejido del pericarpio. El color variegado se produce cuando el gene incluye los elementos para la producción de color y para la no-producción de color. Los diferentes tamaños de los parches indicarían diferencias en el tiempo de origen (Eyster, 1924); los parches grandes serían originados en el desarrollo temprano de la mazorca y los pequeños en el estadio tardío. Clasificando estos parches y determinando la frecuencia de cada clase es posible encontrar una tasa de cambio aproximada en las generaciones celulares siguientes. Suponiendo que estas sub-unidades se aparean al azar es posible estimar las tasas de cambio en cada división mitótica, y ya que esta tasa dependen del número de partículas que se segregan (mendelizantes) que forman el gene (la unidad) se puede estimar el número de sub-genes en el gene inestable. Estas subunidades o 'genómeros' proponían una nueva estructura del gene.

Demerec (1926) empieza a trabajar con Drosophila para tratar, también, de atacar el problema de la estructura del gene. Encontró tres genes con inestabilidad o variegación que se parecían a los genes inestables del maíz que presentaban mutabilidad somática y germinal (1926). Uno de ellos 'reddish alfa' es un alelo del locus 'amarillo' en Drosophila virilis. Frecuentemente aparecía progenie no-amarilla estable somática y germinalmente. Otros dos, magenta y miniature alfa, eran inestables somática y germinalmente: unas líneas mantenían el carácter variegado en toda la progenie, otras líneas daban progenie que eran variegadas como los padres o mutantes estables. De estos datos Demerec asegura que la hipótesis del gene complejo propuesta inicialmente por Correns (1919) y por Anderson (1921) y más tarde por Eyster (1924) para explicar las condiciones mutables de los genes que causan variegaciones es correcta. La evidencia del origen de las mutaciones tiende a generalizar tal hipótesis (Demerec, 1926).

Para el maíz, el modelo de Demerec sostiene que en la variegación del gene, este contiene una mezcla de genómeros oscuros y claros. Divisiones mitóticas dan lugar a distribuciones desiguales de tales genómeros. Los fenotipos de los granos que se derivan de estos gametos portadores de tales distribuciones desiguales reflejarán las proporciones de los genómeros presentes en el gene.

Esta visión fue problematizada por Muller (1926). Si el gene es una unidad simple y el evento de mutación requiere una o más replicaciones para su fijación entonces el patrón de variegados o

mosaicos sería distinto del gene compuesto por un número de sub-unidades. "La segregación de partículas génicas mutantes en la descendencia en un sólo bloque de células ... quiere decir que el hilo de la cromatina no tiene una estructura compuesta. Por otro lado, el mosaicismo indicaría una estructura génica compuesta, en donde las células permanecerían juntas dependiendo del grado de relación entre ellas" (Muller, 1926). Los mosaicos somáticos en Drosophila que se han originado por mutación génica indican que en todos los casos la región mutada parece formar un bloque unitario, que contrasta con el bloque no-mutado. Los genes en Drosophila se comportan como unidades y no contienen más que una clase de partícula intercambiable, mutable y propagable (Muller, 1926).

Cuando Muller descubre los efectos mutagénicos de los rayos X (1927) en Drosophila melanogaster se aclararía esta discusión. El efecto altamente localizado de la radiación y la distribución del tejido mutado hacen inconsistente la aplicación de la teoría de los 'elementos génicos' sugerida por Anderson (1921), Eyster (1924) y Demerec (1926).

Esta interpretación se confirmó tiempo después con letales producidos por rayos X. Muller analizó la F3 y F4 de padres tratados tratando de encontrar una separación germinal de letales nuevos. Se encontró un pequeño número en la F3 pero ninguno en la F4. Ni mosaicismo somático ni germinal fue encontrado comparable con la variegación en D. virilis.

El hallazgo de 'mottled' (mutante de la región 'white' en Drosophila que produce un ojo moteado) fue presentado como evidencia de que su variegación o comportamiento inestable se

debe a otro tipo de estructura o característica génica que la aparente mezcla de los elementos del color (Muller, 1928a).

Goldschmidt (1928) por su parte dice que los genes normales y estables tienen la propiedad elemental de ser absorbidos por el cromosoma, siempre en su característica cuantitativa. Los inestables (genes enfermos llamados por Correns) son inestables en el sentido de la ausencia de propiedades fisicoquímicas necesarias para asegurar la constancia de sus moléculas. Para Goldschmidt no es necesario que existan los distintos tipos de genómeros con segregación cuantitativa, sino que cantidades definidas de un solo gene o sustancia explican los genes inestables.

Emerson aceptó la mutabilidad como una interpretación válida de los genes inestables. Un gene cerca del locus del gene de la variegación, influencia la mutabilidad del gene de la variegación. Los grados de variegación dependen de la frecuencia de aparición de la mutación. O, siguiendo la hipótesis de los genómeros, depende de la relativa rapidez de la separación de los elementos génicos, dependientes a su vez de la combinación particular de ellos mismos.

Demerec (1931) impulsó la investigación en dos direcciones. Primero, trató de obtener mayor número de genes mutables en D. virilis a través de radiaciones. No obtuvo ningún resultado, concluyendo que las reacciones responsables de los cambios en los genes inestables no se incrementan por rayos X en la misma proporción que aquellos que se producen en genes estables. Segundo, trató de calcular el número de genómeros involucrados en

el patrón de variegación del color de la flor en Delphinium. Con ayuda de Wright se construyó un modelo de segregación de los genómeros que explicara la variegación en cada generación. Según los cálculos de Wright para obtener una tasa de mutación de 7^{-5} por generación celular se requieren 4000 genómeros. Con un número tan alto de componentes, miles de generaciones celulares se necesitarían antes de que se fijara el carácter. Demerec abandonó la hipótesis de los genómeros y se fue del lado de Emerson: los cambios en genes inestables son más bien de naturaleza química.

Tiene especial interés un artículo publicado por Muller (1930b) por su explicación del mosaicismo y de los genes inestables, introduciendo la posibilidad de movimiento de algunos segmentos dentro del cromosoma que alteran tanto la tasa de mutación como el efecto fenotípico producido. Además de los ya mencionados efectos (mutaciones puntuales, rearrreglos -llamados desplazamientos- como inversiones, translocaciones, deleciones y duplicaciones) el punto importante es la anomalía visible que los acompaña, además de que se comportan como 'eversporting', es decir, ocurren a una alta tasa, lo cual indica su inestabilidad. Esta inestabilidad genética da lugar a mosaicismo tanto germinal como somático. La inestabilidad genética en el tejido germinal resulta de una división de un tipo anormal que da pocas variantes germinales y un tipo extremo que mantiene la tendencia a partirse como el anterior (mosaicismo fraccional). Los mosaicismos somáticos denotan la inestabilidad de las líneas surgidas del tipo anterior. Para el caso del locus 'ojos blancos' (w) en donde existen genes inestables (serie 'ojos moteados' la cual altera

también la coloración testicular de manera variegada) y los loci vecinos (alas hendidas -N') cambian simultáneamente y en la misma dirección. "Las objeciones a la hipótesis de los genómeros como explicación de estos casos 'eversporting', son, primero, el hecho de que estos desplazamientos de regiones enteras es un prerrequisito, segundo, el hecho de que las líneas estables no se separan, y tercero, la correlación entre las variaciones en dos loci vecinos. Las variaciones parecen deberse al comportamiento de cuerpos que no son más pequeños que los genes pero si más grandes, comprendiendo segmentos enteros de los cromosomas" (Muller, 1930a). La manera en que estos desplazamientos cambian o se mueven para dar lugar al mosaicismo queda sin explicar aún. Sin embargo, el cambio de posición es reversible y la posición de los segmentos afecta la expresión de los genes que contiene.

A principios de los 20's el descubrimiento de los genes inestables intimidó al concepto de gene clásico, aunque al finalizar la década, éste aún permanecía como unitario.

En 1931 se conocían ya 3 tipos de variegación que necesitarían nuevas técnicas y conceptos para su entendimiento: la somática y germinal (mutación fraccional) en D. melanogaster atribuida a la estructura de la cromatina, los genes mutables característicos de plantas y D. virilis y las mutaciones 'eversporting' para 'mottled' en D. melanogaster.

5.3.2. Elementos móviles.

Desde que McClintock (1948) propuso por primera vez el término 'transposición' para definir a los elementos genéticos

móviles y a su relación con eventos genéticos como la inestabilidad, variegación y mosaicismo, el problema de la regulación, rearrreglos y mutaciones relacionados a la transposición han sido incluidos en la problemática de la biología molecular y la evolución.

Estos elementos móviles se han clasificado en: secuencias de inserción, transposones o elementos controladores, ADN accesorio o plasmidios, y bacteriófagos.

Estos elementos son determinadores genéticos que cambian su posición en el genoma alterando la expresión del gene en el cual se han insertado. Los elementos más pequeños capaces de moverse son las secuencias de inserción (IS). Estas son unidades discretas características de E. coli y otros microorganismos que tienen la capacidad de moverse e integrarse en sitios específicos y crear de esta forma nuevos mutantes. Los transposones son elementos más grandes con IS en ambas colas y que codifican para más funciones como la resistencia a los antibióticos (Campbell, 1981, Berg y col., 1984).

Con un cultivo de plantas autopolinizadoras, Barbara McClintock encontró que las semillas mostraban una variedad de parches o bloques de color todos ellos variaciones del verde: blanco, verde brillante y amarillo pálido. Estas mutaciones eran inestables durante el ciclo de la planta. Este fenómeno ya había sido descrito en otros organismos bajo los nombres de genes mutables, variegación o mosaicismo, pero nunca habían sido descritos en maíz. McClintock (1950) menciona el paralelo entre los sistemas que ella estaba estudiando y estos eventos genéticos.

Para McClintock, cada parche reflejaba una familia de células crecidas por división de una célula mutada, es decir, mutaciones tempranas en el desarrollo ontogenético darían parches grandes, mientras que mutaciones tardías darían parches más pequeños. El número de parches de un tamaño particular podría ayudar a estimar la frecuencia de mutación en un estado de desarrollo de la planta. Muchos parches grandes indicarían una tasa de mutación muy alta en un estado temprano, y así sucesivamente. De la distribución de estos parches era posible seguir la historia de los eventos genéticos que habían ocurrido durante el desarrollo de la planta.

Estudiando estas semillas McClintock notó que la tasa de mutación era característica para cada una, indicando la posibilidad de que el proceso estuviese controlado y ligado a eventos genéticos (y no como hasta entonces a eventos embriológicos) en donde la mutación tenía dos efectos directos: uno, permitía seguir la historia de la diferenciación celular, y otra, permitía establecer que estos patrones no se producían al azar. En un número considerable de plantas con inestabilidad genética McClintock encontró la evidencia de que los rompimientos ocurrían con regularidad y gran especificidad. Con estas semillas, McClintock observó que durante el desarrollo, uno o ambos cromosomas 9 estaban rotos. Dependiendo de la clase de ciclo de rompimiento que hubiese ocurrido en las plantas parentales, la descendencia tendría ciertas variantes del color. McClintock llegó a la conclusión de que lo que estaba observando

era una forma de rompimiento o disociación en el cromosoma que estaba controlado.

Siguiendo la frecuencia de los patrones de parches, cada sector era caracterizado por una distribución característica de áreas coloreadas del mismo tamaño sugiriendo que un factor I (inhibidor) había sido sistemáticamente eliminado de las células con una tasa particular y en un estado particular del desarrollo. McClintock mapeó el factor I, y precisando la composición genética del cromosoma 9 encontró que este factor, aparentemente responsable de la disociación estaba en el brazo corto del cromosoma 9 aproximadamente a un tercio hacia abajo del centrómero. Análisis citológicos confirmaron que los rompimientos ocurrían en el mismo punto, al que posteriormente se le llamó el locus Ds. En 1946 ella concluyó que el rompimiento corresponde a mutaciones génicas observadas en otras variegaciones. La mutabilidad es expresada no como un cambio fenotípico visible en la acción de un gene, sino en la disociación de los lazos que normalmente mantendrían la cohesión lineal de los loci entre si, siendo la consecuencia de esta mutación la disociación del cromosoma en dos segmentos separados. Siguiendo los patrones de las cruces en las que se involucraban los factores genéticos que los producían, llegó a la conclusión de que no sólo un factor (Ds) estaba presente sino que había otro (Ac) que cuando estaba presente activaba la disociación. Así logró establecer la familia Ac-Ds.

La primera familia de elementos controladores investigada por McClintock fue la familia Activador-Disociador (Ac-Ds). El término genérico 'disociador' se utilizó para designar elementos

no autónomos pertenecientes a esta familia y su nombre se derivó de las observaciones de McClintock de que este elemento puede formar en un sitio específico del cromosoma rompimiento o disociación produciendo dos fragmentos. El elemento autónomo 'activador' se deriva de su habilidad para activar el rompimiento en el sitio donde está Ds, el cual puede moverse en presencia, pero no en la ausencia, de Ac e insertarse o asociarse con el locus de tal modo que su expresión resulte afectada. Una mutación causada por la inserción de Ds es inestable sólo en la presencia de Ac. Este elemento autónomo Ac puede insertarse en otro locus para producir un mutante inestable.

Había que asumir que "1) el locus Ac está compuesto de un número de unidades idénticas y probablemente alineadas, y 2) que cambios en el número de unidades tienen lugar en el locus durante o después de la duplicación cromosómica, en donde una cromátida gana lo que la hermana pierde" (McClintock, 1946). Los "cambios de estado" corresponderían a las dosis presentes de Ac (a mayor dosis de Ac, se reduce la frecuencia de mutaciones).

Una vez establecido que Ac induce rompimientos en el locus Ds y que generalmente estos rompimientos son seguidos de la fusión de sus terminales, los análisis genéticos revelaron que ambos, Ac y Ds, podían encontrarse en posiciones diferentes de las originales. Esto sugirió la transposición, término que McClintock introdujo por primer vez en 1948 (McClintock, 1948).

Si dos rompimientos son inducidos en lados opuestos al locus Ds, el fragmento del cromosoma con Ds es liberado y capaz de insertarse o fusionarse en otra parte del complemento cromosómico

donde haya ocurrido otro rompimiento. Por este mecanismo, Ds cambia su posición. Ac controla la aparición del evento induciendo los rompimientos en el locus Ds original. La detección de Ds es fácil ya que se comporta como en su posición original, es decir, produce disociaciones subsecuentes. Entonces los loci mutables controlados por Ac no son más que nuevos sitios del locus Ds. Si el nuevo sitio es un gene funcional, la presencia de Ds inhibirá la función normal del gene, estableciéndose de nuevo tal normalidad con la liberación de Ds. Se puede detectar la presencia de Ds por la inhibición o restauración de la función del gene que tiene expresión fenotípica directa. Así, también, cambios en el estado de Ds, corresponderán al cambio en las dosis de Ds. El tiempo y tasa de rompimientos en Ds -ya sea por transposición, pérdida de un fragmento del cromosoma o cambios de estado- son dependientes de la dosis de Ac. Sin embargo, Ac también cambia de estado, se rompe y se transpone. Porqué? "En cualquier estado o dosis particular de Ac, el momento y aparición de Ac están controlados por Ac mismo" (McClintock, 1951). Las consecuencias del cambio en Ac dependen del desarrollo gametofítico de la planta antes de la fertilización dando diferencias entre los granos de una mazorca particular, mientras que cambios durante el desarrollo del endospermo generan uniformidad entre las semillas, con la posibilidad de desarrollos diferentes de células particulares dentro de cada grano (McClintock, 1951). Sin embargo, la alteración del ambiente externo o interno pueden causar cambios en Ac, dependiendo estos cambios en Ac del ambiente celular o nuclear en donde ocurre tal cambio generando destinos genéticos distintos. La dependencia de

los cambios de estado o localización de Ac en el estado de Ac indica la gran variedad de patrones de mutabilidad observados por McClintock. Los estudios de McClintock indican que las mutaciones en Ds alteran la estructura y expresión del locus de diversas formas. Pueden reducir el nivel de transcripción, mover los tiempos del desarrollo y alterar la estructura primaria de la unidad transcripcional (McClintock, 1951). Hay evidencia de que la transposición de Ac se relaciona con la replicación cromosómica y que resulta en la remoción del elemento de su posición original en una de las cromátidas hermanas (McClintock, 1946). Estudiando el elemento Ac, McClintock notó diferencias heredables entre los elementos Ac en el tiempo del desarrollo y la frecuencia de la activación causada por Ac del rompimiento y formación de unidades acéntricas-dicéntricas en Ds (McClintock, 1948). Estos fueron designados como 'estados diferentes' del elemento, heredables pero inestables y cuyo cambio, así como cambios en la dosis de Ac ocurrían en estados precisos del desarrollo.

Otra familia investigada fue la designada como Supresor-mutador (Spm) por McClintock en 1954, y 'Enhancer' (En) por Peterson en 1956. Esta familia tiene en común con otros elementos controladores su capacidad para causar mutaciones inestables por inserción en un locus. Sin embargo difiere de la familia Ac-Ds en que no existe la formación del complejo acéntrico-dicéntrico, por lo que no involucra una inversión. Spm se distingue de Ac en su efecto en ciertos alelos de un locus con un elemento no autónomo de esta misma familia. En algunas

líneas, la inserción de un elemento no autónomo en un locus resulta en un fenotipo que es intermedio entre el dominante y el recesivo. La función del elemento responsable de inhibir la pigmentación fue designada como la función supresora, mientras que la función responsable de la reversión somática fue designada función mutadora. Las funciones sp y m son genéticamente distinguibles, la función m es necesaria para la inestabilidad somática y germinal. Los elementos autónomos y no autónomos de la familia Spm tienen dos distintos tipos de interacciones.

Un locus insertado con un elemento controlador no autónomo (m) de esta familia puede producir cambios en el patron somático; estos cambios son heredables, formando nuevos alelos que difieren del alelo original en su frecuencia de mutación somática, el nivel de la expresión génica y el tiempo en que ocurre dicha mutación.

Se ha visto que el elemento no autónomo (m) sólo modifica la expresión del locus con el que se asocia ya que su acción es en posición cis; el elemento autónomo puede actuar en trans. Las mutaciones reversas se deben a la presencia del elemento trans-activador (McClintock, 1954).

Una característica importante de los cambios ocurridos que afectan la respuesta del elemento no autónomo a la activación en trans, es que alteran los parámetros del desarrollo. Cada alelo o estado tiene sus propias características definibles en términos de su frecuencia, origen durante el desarrollo y el nivel de expresión génica característica de la reversión somática en presencia de Spm, así como el nivel de expresión génica en su

ausencia. Cada alelo es responsable de un patrón característico de expresión en el organismo (McClintock, 1954).

Las mutaciones germinales sin inestabilidad somática en presencia del sistema Spm es evidencia de que tales mutaciones aparecen por transposición del elemento no autónomo (m) fuera del locus. Los alelos estables son derivados de alelos inestables con un elemento no autónomo (m) integrado en presencia, pero no en ausencia del elemento autónomo (Sp) del sistema Spm. Por ejemplo, mutaciones estables derivadas de mutantes inestables de un locus varían el color de la aleurona (capa que cubre al endospermo de las semillas del maíz) desde completamente descoloridos hasta totalmente coloreados. El fenotipo de la aleurona de muchos mutantes es el mismo en presencia y ausencia de elementos controladores Spm. La frecuencia de aparición de estas mutaciones estables con su fenotipo característico varía de cepa a cepa, y este hecho es consistente con el patrón somático de cada una. Hay un segundo tipo de cambios genéticos estables no asociados a la transposición del elemento sino que parecen afectar la capacidad del elemento de transponerse. Tales mutaciones pueden afectar la habilidad del elemento para responder a la función mutadora (m) de Spm sin alterar su respuesta a la supresora (Sp).

Los elementos controladores pueden transponerse sin causar rearrreglos cromosómicos, también pueden causar mutaciones inestables en una gran cantidad de loci, y producir aberraciones cromosómicas locales y rearrreglos sin transposición (Fedoroff, 1984).

Recientemente han sido descubiertos una gran cantidad de

elementos controladores, que incluyen elementos con defectos en la transposición en posición cis, y elementos que tienen cambios reversibles en su habilidad para moverse y activar en posición trans al elemento no autónomo.

La inserción de un elemento en un locus hace que este se exprese bajo el control del elemento por efecto de posición. La escisión o pérdida del elemento del locus durante el desarrollo dará lugar a un patrón de expresión génica en el organismo dictada por las propiedades de los elementos controladores (Fedoroff, 1984). Ya que un elemento autónomo produce mutaciones en loci diferentes, sólo un elemento puede determinar simultáneamente el patrón de expresión de varios loci.

Para la genética en 1950 el problema se planteaba de la siguiente manera: si los elementos genéticos están sujetos a regulación y control, qué significado tiene el gene como unidad hereditaria fija e inmutable?. En la visión clásica, cualquiera que fuere la variación genética, ésta debe ocurrir al azar, y los elementos controladores, más tarde los transposones, secuencias de inserción, ADN extracromosomal o accesorio -plásmidos, virus- y bacteriófagos, demostraban la existencia de cambios controlados por el organismo.

Vemos, así que la década de los '50s fue una crisis de la genética clásica, de la crisis del concepto clásico de gen. No es accidental que el simposio de 1951 se titulase "Genes and Mutations", mientras que diez años antes se llamara "Genes and Chromosomes", evidenciándose el problema original al tratar de definir a la unidad de la herencia, la cual había empezado hacia

casi 50 años y evidenciando la incertidumbre de los genetistas al hablar de las propiedades físicas de los genes.

El simposio de 1941 había marcado un progreso en el conocimiento de los cromosomas como base de la genética gracias al florecimiento de la citología. Así, se conoció más acerca de la base físico-química de los genes y su integridad como partículas o unidades discretas. En 1951 la visión de los genes como cuentas de collar, como entidades moleculares discretas ya no era sostenida por el grueso de los geneticistas. El gene se había definido mejor gracias a los estudios de Muller acerca de las mutaciones. Este concepto del gene discreto se infirió a partir de la existencia de mutaciones localizadas. Pero, entonces, ¿qué eran o qué son las mutaciones? Con la cada vez mayor cantidad de evidencia acerca de los eventos mutagénicos que dan lugar a rearrreglos cromosomales, era lógico pensar, como Goldschmidt (1950) que los que parecían ser las mutaciones puntuales son simplemente efectos de rearrreglos en una escala submicroscópica, es decir, los cambios observados no se deben a cambios en el gene mismo, sino a cambios en la cromatina haciendo del fenómeno del efecto de posición un fenómeno universal (Goldschmidt, 1950).

Stadler (1951), en el mismo congreso apunta que las mutaciones puntuales no pueden ser distinguidas de los rearrreglos, "y ya que nuestros conocimientos acerca de los genes dependen de la aparición de las mutaciones... nuestra definición de gene se queda colgando en el aire... Al insistir en que las mutaciones son cambios en genes específicos, porque es eso lo que queremos decir cuando hablamos de mutaciones génicas, es como

adoptar el dictum de Humpty Dumpty: 'Cuando yo uso una palabra, ésta quiere decir exactamente lo que yo quiero que quiera decir, ni más ni menos' (Stadler, 1951).

Con el desarrollo de la microbiología se inauguró un campo nuevo de investigación en donde la problemática se refería a saber si estos microorganismos, distintos de los ya conocidos, tenían un aparato genético particular o era semejante al de los organismos superiores y si tenían la misma capacidad para mutar. Luria (1943), trabajando con bacterias, diseñó un experimento para saber si los cambios eran inducidos ambientalmente o producto de la selección natural que actuaba sobre mutaciones espontáneas. Los resultados fueron concluyentes: las bacterias mutan en el mismo sentido que los organismos superiores y sus adaptaciones son el resultado de la selección natural.

Avery, McLeod y McCarty (1944) publicaron sus resultados sobre transformación bacteriana y demostraron que la sustancia "transformadora" (sustancia de una célula que puede integrarse a otra) era ADN. Sin embargo en esa época, el ADN no era considerado el portador de la información genética ya que sólo estaba compuesto de cuatro bases y la información requerida por los organismos vivos debía ser más compleja.

Sin embargo, el experimento de Hershey y Chase (1952) fue definitivo para que los genetistas y microbiólogos aceptaran al ADN como el material hereditario. Ellos mostraron en forma muy elegante, que sólo el ADN del bacteriófago penetraba en la bacteria mientras que la proteína quedaba fuera. Más tarde, en 1953, el descubrimiento de Watson y Crick sobre la estructura de

la doble-hélice haría un impacto sobre la Biología. Permitió responder casi todas las preguntas acerca de la mecánica de la herencia y de la mutación. Contestó a la pregunta de cómo se replican los genes (cada cadena de la doble hélice se copia a sí misma uniendo simplemente los nucleótidos correspondientes), y una vez que se estableció que la información estaba contenida en la secuencia más que en la variedad de las bases, se concluyó que el ADN era capaz de portar la cantidad y especificidad de información requerida por los organismos.

Watson y Crick, con su modelo, proveyeron el arma para explicar la expresión de la información genética. Si se piensa en las cuatro bases posibles que tiene el ADN como letras en un alfabeto y veinte o más aminoácidos que hacen un molécula de proteína como otro alfabeto, entonces, entender como el ADN dicta o codifica la construcción de proteínas particulares, sólo necesita la traducción de un alfabeto a otro. Fueron sugeridos varios códigos (Gamow, 1954), pero el de tres letras -en donde la secuencia de tres bases del ADN corresponde a un aminoácido, y la cadena de aminoácidos que hacen una proteína corresponde a una serie de triplete de bases en el ADN- fue el más aceptado (Crick, 1954).

En 1957, Francis Crick propone el dogma central de la biología molecular diciendo: "Este establece que una vez que la 'información' pasa a la proteína ésta no puede salir de nuevo (subrayado en el original). En más detalle, la transferencia de información de ácido nucleico a ácido nucleico, o de ácido nucleico a proteína es posible, pero la transferencia de proteína a proteína, o de proteína a ácido nucleico es imposible" (Crick,

1957). Pocos años después Monod, Changeaux y Jacob (1963) dirán: "Lo que ha hecho la biología molecular es probar sin lugar a dudas ... la completa independencia de la información genética de eventos fuera o dentro de la célula..."

Para la biología molecular la problemática del gene como cuentas de collar no sólo no era ya problemático, era innecesario. Pensando en el material genético como una secuencia lineal de bases de nucleótidos, la identidad supuesta por la genética clásica de las unidades de recombinación, mutación y función se disolvieron. Benzer (1957) introdujo el término cistrón para denotar la longitud más pequeña del material genético que era funcional (una unidad correspondiente a un carácter fenotípico), recón y mutón, para denotar, respectivamente, el elemento más pequeño en un arreglo unidimensional que podía intercambiarse durante la recombinación, y el elemento más pequeño capaz de mutar. El cistrón fue interpretado como un trozo de ADN, mientras que el mutón y el recón como bases individuales (o pares de bases). Esto permitió resolver el problema de la divisibilidad de los genes, los cuales, entendidos como cistrones, eran indivisibles; la mutación y recombinación podían ocurrir en cualquier punto del ADN, pudiéndose entender, entonces, la recombinación intragénica. La base mecánica de la herencia se convertía en universal. Sin embargo esta nueva teoría no resolvió todos los problemas de la genética "clásica". Para McClintock, la información genética no estaba contenida en el gene. El gene como 'cuenta de collar' no daba cuenta de la proposición de que la función de un gene puede

variar con su posición. Para la nueva teoría, en la cual la información genética está contenida en la secuencia de los nucleótidos, tal dependencia posicional no era explicada. Si el cistrón es una palabra distinguible por su secuencia de letras (o bases), tiene que ser la misma palabra cualquiera que sea su lugar en el cromosoma. En este sentido, esta nueva teoría, era una teoría 'local'. El trabajo de McClintock requeriría la aprobación o admisión de efectos no locales o globales. Los elementos genéticos no sólo cambian su posición, sino que en cada nueva posición, una nueva función es expresada. En la década de 1950 a 1960 no podría explicarse este fenómeno en términos de secuencias de bases.

La Biología Molecular hace del gene una entidad química con una estructura que permite explicar la mecánica de la herencia. El modelo de la doble hélice permite explicar la replicación: cómo hacen los genes copias exactas de si mismos. Watson y Crick proponen que el ADN consiste de dos cadenas complementarias y unidas por enlaces químicos entre cada par de bases complementarias.

"Cada cadena actúa como molde para la formación de una nueva cadena complementaria, en donde, eventualmente, tendremos dos cadenas donde antes teníamos sólo una" (Watson y Crick, 1953). Sin embargo, en adición a esta replicación, el ADN también transfiere la información para el metabolismo de la célula. El ADN hace tres tipos de ARN, todos los cuales median entre el ADN y las proteínas. Solo el ARN mensajero contiene la información que codifica para la secuencia de aminoácidos que construyen o forman las proteínas; los otros dos, de transferencia y

ribosomal, son facilitadores estructurales para el proceso físico de la síntesis proteica. Sin embargo, algunos problemas no fueron resueltos. El problema de la diferenciación celular ha constituido uno de los problemas biológicos más difíciles de atacar. Si todas las células de un organismo contienen el mismo ADN, cuál es la fuente de la diversidad no sólo de forma sino también de función que hace que una célula se especialice en la producción de enzimas digestivas, mientras que otra actúe como centro nervioso? Una de las respuestas ha sido que no todos los genes, aunque presentes, están activos en todos los tipos de células. Sin embargo, cuál es el mecanismo de regulación genética?

Barbara McClintock, a través de su trabajo, establece que el aparato genético es más lábil y flexible de lo que el dogma central le permite. Sabemos que en adición al sistema Ds-Ac, detalla un nuevo sistema de regulación y control llamado Spm (supresor-mutador). Como en el primer sistema, dos elementos controladores son la fuente de la variación genética. El primero, en interacción con el segundo, es capaz de afectar la supresión de la función de un gene (vgr. pigmentación) o inducir la escisión del segundo elemento controlador. En este último caso, la función genética es restaurada. Las dos funciones del primer elemento (represor y mutador) pueden sufrir mutaciones independientes, indicando que son codificados por genes distintos. Mas aún, el elemento mutador no sólo media la escisión del segundo, sino que induce la alteraciones heredables en su estado. Diferentes estados se expresan en diferentes niveles de

aparición de manchas de diferente pigmentación. Al igual que el sistema Ds-Ac, estos elementos controladores pueden encontrarse en diversas posiciones a través del cromosoma. El hecho de su transposición fue importante para su descubrimiento. "Los elementos controladores parecen reflejar la presencia en el núcleo de sistemas altamente integrados de control génico... La transposición que hace posible reconocer a los elementos controladores en los cromosomas del maíz, pueden servir en todos los casos como criterio para la discriminación entre genes y elementos controladores, ya que la frecuencia de su aparición es tan baja en determinadas condiciones, que su detección se dificulta. Sin embargo, ... sería sorprendente no encontrar elementos controladores en otros organismos.,. (McClintock, 1956).

Jacob y Monod (1959) publicaron un primer artículo sobre los mecanismos de regulación. En este artículo ellos proponen un modelo en el cual la síntesis de proteínas es regulada no por los genes estructurales mismos (los genes que codifican para las proteínas) sino de otros dos genes, un operador que se localiza adyacente al estructural, y un regulador localizado en otra parte del cromosoma. El gene regulador codifica para un represor (que inicialmente se creyó era ARN, pero posteriormente se supo que era una proteína) que a su vez se combina con el gene operador para bloquear la transcripción normal del gene estructural. En la presencia de una sustancia química particular que sea capaz de unirse al represor, éste queda neutralizado e incapaz de combinarse con el operador, reactivándose la transcripción.

Llamaron a este sistema operón el cual contiene genes estructurales, reguladores y operadores.

La consecuencia de este trabajo fue ampliar el horizonte del dogma central ya que añade una forma de retroalimentación al comando unidireccional que va de ADN a ARN a proteína. La característica principal del dogma se conserva intocable: una vez que la información llega a la proteína no regresa. Lo que el modelo de Jacob y Monod modifica es que ahora, ciertas proteínas o químicos, pueden influenciar al menos la tasa de flujo de la información y regular el funcionamiento de todo el sistema, proveyendo un modelo molecular que explica satisfactoriamente el problema de cómo un gene funciona en una célula.

Barbara McClintock (1961a) hizo una analogía con el análisis del sistema bacteriano de Jacob y Monod, cuyas similitudes con su análisis del maíz eran notables. En primer lugar en ambos se habían identificado dos elementos controladores: uno adyacente al gene estructural y en control directo de su acción, y otro independientemente situado y que a través de su efecto en el primer elemento, ejercía control indirecto sobre el gene. El hecho de que los elementos controladores en su sistema fueran transponibles fue determinante para su descubrimiento, pero no eran necesarios para la operación del sistema (McClintock, 1961a).

Un primer paso para el reconocimiento de la transposición fue la transducción, en la cual un bacteriófago es capaz de llevar pedazos de material genético de un cromosoma bacteriano a otro. Lo que la distingue de la transposición es que los sitios

de inserción, y consecuentemente de posibles deleciones o inserciones de genes bacterianos, parecen estar bien definidos y fijados. Sin embargo, Taylor (1963) demostró que el bacteriófago mu podía insertarse en el cromosoma bacteriano en muchos sitios y tal vez de manera azarosa. Esto quiere decir, que durante el movimiento de una bacteria a otra, o quizá de un sitio a otro dentro del mismo cromosoma, mu sirve de agente de transposición, aunque Taylor no lo llama así. En 1966 Beckwith, Signer y Epstein en un reporte acerca del factor F (una partícula parecida a un virus, que se replica autónomamente en la bacteria), utilizaron la palabra transposición para describir el fenómeno.

Al final de la década de los '60s empezó el trabajo mutagénico en operones de E. coli, que parecían constituir una fracción de mutaciones espontáneas e inusuales. Primero, no anulan la función del gene mutado, pero si inhiben efectos de otros genes. Segundo, son capaces de reversión espontánea, y no tienen respuesta a agentes mutágenos indicando que son aberraciones cromosómicas. Pronto se descubrió que estas mutaciones eran causadas por inserción de un grupo pequeño de segmentos de ADN específicos, denominadas secuencias de inserción en un gene regulador o estructural. Estas secuencias de inserción no son ADN extraño como los bacteriófagos sino material desplazado. Su inserción marca una mutación, su escisión, una reversión. La escisión es precisa restaurando la función normal del gene. Cuando la escisión es imprecisa, la secuencia lleva consigo un trozo de material adyacente, pudiendo llevar este material a otra posición, insertándola en la misma o en la orientación reversa. Por este mecanismo, las secuencias de

inserción pueden causar, deleciones, translocaciones e inversiones. En Salmonella typhimurium se descubrió un evento con implicaciones médicas. Se identificó que los genes responsables de la resistencia a las drogas y su rápida diseminación, se debía a su movilidad en el cromosoma. Principalmente radicando en un trozo de ADN extracromosomal (plasmidio). Los genes responsables de la resistencia parecían moverse del plasmidio al bacteriófago, o del bacteriófago a la bacteria, de una posición del cromosoma a otra, de ahí a otro bacteriófago que pudiese llevarlo a otra bacteria, etc. Estos genes tienen una estructura particular pues a cada lado de estos genes existen secuencias de ADN invertidas (o repetidas) de tal suerte que pueden unirse unas a otras por apareamiento homológico, formando una estructura característica de anillo u orquilla que es visible en el microscopio. Fue esta observación la que permitió asegurar que estos elementos, llamados después transposones, tenían secuencias repetidas en ambas colas (Kleckner, 1981).

Las secuencias de inserción, los genes para la resistencia a los antibióticos y los bacteriófagos tienen en común su capacidad de insertarse en el cromosoma bacteriano en ausencia de recombinación y pueden hacerlo con o sin especificidad, resultando en rearreglos cromosómicos (Kleckner, 1981). Otras similitudes consisten en que las secuencias de ADN finales en los genes para la resistencia a los antibióticos son idénticas o similares a aquellas secuencias que bordean a las secuencias de inserción (Kleckner, 1981). Se ha pensado que las secuencias de inserción, ya que existen en múltiples copias en el cromosoma

bacteriano, representan lugares de construcción modular de los cromosomas ya que son sitios de integración de genes (Kleckner, 1981).

La función principal de los finales repetidos se descubrió en el bacteriófago mu, en donde las terminales se pueden unir a una pieza de ADN bacteriano, provocando la misma estructura y el mismo efecto (Toussaint y Resibois, 1983).

Fue en 1972 en el congreso sobre "DNA Insertion Elements, Plasmids, and Episomes", en Cold Spring Harbor que se introdujo el término "elementos transposables" para referirse a segmentos de ADN que pueden insertarse en distintos sitios en el genoma.

Evidencia de la transposición en Drosophila fue proporcionada por varios autores (para una revisión ver Green, 1976, 1977, 1980). Más tarde fue proporcionada en hongos, en donde dos diferentes estadios del desarrollo que corresponden a funciones sexuales complementarias, parecen ser el resultado de la inserción física de uno o dos genes, en diferentes partes o sitios del genoma, en un tercer locus que corresponden al 'mating locus' (Roeder y Fink, 1983).

En Drosophila se han encontrado una gran cantidad de "genes saltadores" con implicaciones directas en el desarrollo. Un grupo de ellos llamado complejo bitorácico (ya que controla el desarrollo de los segmentos del cuerpo), la transposición ha sido identificada como el mecanismo por medio del cual aparecen mutaciones que afectan la morfología de la mosca. Un elemento genético que se mueva de un sitio a otro puede ser responsable del cambio en las instrucciones del desarrollo que permiten la formación de piernas en lugar de alas, o alas en lugar de una

pieza del ojo compuesto, etc. Sin embargo casi todos estos fenómenos ligados con la transposición son anomalías, aunque se especula acerca de que los rearrreglos genéticos puedan ser una característica del desarrollo normal.

En los últimos años se han llevado a cabo muchos estudios sobre transposición (vgr. Shapiro, 1983), y han emergido las similitudes entre otros organismos, por ejemplo hongos, con el maíz. Gerald Fink y colaboradores han estudiado mutantes inestables en el loci responsables de la síntesis de la histidina, adoptando el nombre Ty para esta familia de elementos. (Fink y Roeder, 1983).

"Es superfluo decir que nuestro entendimiento es virtualmente nulo acerca de cómo está conectada la división celular con cualquier fenómeno regulatorio... Sin embargo, es ahora claro que tales conexiones existen y que los patrones bizarros en las semillas del maíz controlados por los elementos genéticos móviles son más bien casos típicos de desarrollo normal que procesos excepcionales" (Shapiro, 1983).

En 1978 sería McClintock quien diría: "No hay duda que los genomas son frágiles y que los cambios drásticos pueden ocurrir con tasas rápidas. Esto puede dar lugar a organizaciones genómicas nuevas y modificar el tipo y tiempo de la expresión génica... Ya que los tipos de genomas reestructurados inducidos por estos elementos conocen pocos límites, su aparición tan extensa, seguida por su estabilización, puede dar lugar a nuevas especies o incluso a nuevos géneros" (McClintock, 1978).

Es ya aceptable la idea de que el genoma no es una entidad estática, sino una estructura compleja en estado de equilibrio dinámico en donde los elementos móviles todos con una misma organización estructural, son una característica de los organismos superiores e inferiores. "Tal vez el futuro nos mostrará que la complejidad interna de los organismos es tal como para permitir no solo programar los ciclos de vida, sino también para reprogramarse a si mismos al estar expuestos a presiones medioambientales... Tal pintura haría justicia a la visión de McClintock: implicaría un concepto de variación genética que no es ni azarosa ni propositiva -y un entendimiento de la evolución que trascendiera tanto a Lamarck como a Darwin" (Keller, 1982).

Podemos concluir que la transposición no es un evento azaroso ya que altera la naturaleza, frecuencia y desarrollo de manera heredable. Uno de los aspectos más interesantes de los elementos controladores en maíz es su habilidad para responder y controlar los parámetros del desarrollo. Pueden reprogramar genes en tanto que la inserción de un elemento en un locus gobierna la expresión de ese locus dependiendo de las características del elemento y de la inserción misma. También pueden inducir mutaciones que resulten en cambios complejos (macromutaciones) con implicaciones evolutivas inmediatas y en periodos de tiempo cortos.

El gene ha sido considerado como una unidad indefinida, un carácter unitario, un factor, un punto abstracto en un mapa de recombinación, un segmento lineal en un cromosoma, un saco de genómeros, un gene móvil, una secuencia lineal de subgenes, una unidad funcional que codifica para una proteína, un exón, un pseudoalelo, un segmento de cromosoma sujeto a efecto de posición, una secuencia de nucleótidos que especifica un producto estructural o funcional, o como un cistron en donde su estructura fina puede demostrarse.

Desde el nacimiento de la genética se ha clarificado el concepto de gene. La localización del gene en el cromosoma y su modo de transmisión fueron los problemas inmediatos que atacaron los pioneros de la genética. Su modificación por mutación marcaron una segunda fase dando lugar al desarrollo de nuevas técnicas y al uso de nuevos organismos para explicar los problemas de la estructura, tamaño y función del gene. La fase molecular, con sus modelos de codificación y regulación han hecho del gene un concepto clarificador. Los resultados obtenidos por el conocimiento científico a través de la experimentación demostraron la posibilidad 'técnica' de tratar viejos problemas y darles nuevas soluciones.

Durante el desarrollo del concepto de mutación se demostró que la mutación es la fuente de la diversidad orgánica y que por lo tanto su estudio merecía especial atención. El principal avance de la genética durante la tercera década de este siglo fue la prueba convincente de que las mutaciones pueden ser producidas en masa por radiaciones de diferentes tipos.

Ya que los mutantes producidos son de la misma naturaleza que aquellos encontrados de manera espontánea se hizo evidente que el aumento en la cantidad de energía absorbida por el material hereditario resulta en el incremento de la tasa de mutación de animales y plantas no tratados.

Las ideas y la terminología de la teoría de la mutación surgen con de Vries (1901, 1903). Sin embargo, los cambios heredados de de Vries consistían de colecciones heterogéneas, algunas de las cuales representan nuevas formas genéticas de rearrreglos algunas dando la apariencia de supresión de la recombinación en un sistema de balance de letales (Muller, 1917). El descubrimiento de los mutantes de Drosophila, muchos de los cuales son alelos de otros mutantes, fue la clave de las 'mutaciones génicas', el origen de nuevos alelos como la materia prima de la evolución. La pregunta acerca de si las mutaciones pueden ser deliberadamente inducidas y cuantificadas, fue contestada afirmativamente (Muller, 1921). La detección de cambios en el gene individual es el método de medición de la frecuencia de mutación a gran escala. Quedó demostrado, sin lugar a dudas, que es posible incrementar intencionalmente la frecuencia de mutación proporcionalmente a la intensidad de la radiación aplicada. Las mutaciones obtenidas no fueron sólo en el gene individual, sino que incluían también aberraciones cromosómicas (Stadler, 1928, 1932, 1941).

La intensa actividad en el estudio de la mutación trajo como consecuencia la creación de una nueva rama de la genética: la mutagénesis. Como una noción concebida como límite (como proceso

sobre el cual se desconocen sus causas) se convierte en teoría y en la explicación refinada de la evolución genética, confirmándose que la mutación es el proceso 'responsable' de la generación de variantes nuevas en la evolución.

El estudio del gene como entidad corpuscular se justificó por los resultados obtenidos de su estudio. La concepción de Muller del gene como una partícula material tuvo un efecto inmediato. Si el gene es real, se puede golpear con un proyectil (electrones) y estimar su tamaño. El concepto corpuscular del gene nacido del trabajo con Drosophila es una entidad diferente de las gémulas, pangenes, etc. del periodo pre-mendeliano. El concepto corpuscular nace del pensamiento operativo inaugurado por Morgan (1914) en su teoría del gene y es confirmado por métodos citogenéticos. Los diseños experimentales de Muller para determinar las mutaciones a gran escala influyen determinadamente en la concepción de la genética y de la experimentación. En suma, el estudio de la mutación concebida como arma para estudiar al gene fue más allá: puntualizó claramente la relación evolutiva del gene y la mutación.

Los distintos conceptos de gene produjeron distintos conceptos de la mutación como evento fortuito, accidental, no-direccional, o aleatorio. Experimentalmente quedó demostrado que las mutaciones no producen una distribución uniforme, es decir, que no todos los genes tienen la misma probabilidad de mutar. También quedó demostrado que existen rangos de variaciones para la expresión de un mutante dado: no todos los cambios fenotípicos posibles ocurren; y, por último se demostró que la mayoría de las mutaciones son hipomorfas (alteran la función del gene) y por lo

tanto deletéreas. Del estudio de la mutación como evento aleatorio, la opinión más aceptada es que, efectivamente, la mutación carece de dirección adaptativa.

APENDICE

Métodos para estudiar la mutación fenotípica

i) Letales balanceados

Muller (1917) presenta el caso de alas incompletas (beaded, B'd) en el cual, primero describe a este como factor inconstante, segundo, prueba la existencia de la 'herencia residual' la cual causa la variación del carácter, tercero, da una explicación de la teoría mutacionista de de Vries y último, introduce el concepto de híbridos perpetuos.

En este estudio Muller asume que B'd es una mutación dominante que causa escisiones en las partes terminales de las alas. El efecto es variable y se puede modificar por selección. Cuando B'd se cruza con moscas normales, no más de la mitad de la progenie presenta el carácter B'd. Después de varios años de selección se obtuvo una línea cuya progenie era B'dB'd. Pocos individuos normales (++) aparecían rara vez. Muller interpretó esto de la siguiente manera: en condición homociga (B'd B'd) es letal y su variabilidad se debe a otros factores que están en otros cromosomas; la línea 'beaded' estable se debía a otro letal en el cromosoma homólogo el cual era un recesivo simple. La consecuencia es un 'balance de letales' o 'mortalidad balanceada' que mata a toda la progenie homociga para cualquiera de los dos factores, pero que permite su viabilidad en condición heterociga (B'd +). "Esta situación genética, en la cual ambos tipos de homocigotos están prevenidos de aparecer por la acción de factores letales en cromosomas opuestos, puede denominarse como una condición de 'factores letales balanceados'" (Muller, 1917).

Si las Denotheas devresianas fueran letales balanceados, podrían producir entrecruzamientos, cuyas nuevas características recesivas se manifestarán en cambios en los caracteres de mayor expresión que las mutaciones simples; así, las mutaciones de de Vries serán sólo recombinaciones.

También Muller infirió que el número de letales recesivos era mayor que otros recesivos. "Siguiendo nuestra inferencia original acerca de la alta frecuencia de letales entre los mutantes recesivos, debería pensarse que los mutantes recesivos son una clase mucho más numerosa que los dominantes, y que los primeros aparecen más frecuentemente que los últimos" (Muller, 1917)>. El caso B'd ilustra el peligro de confundir caracteres con genes y de sacar conclusiones sobre el comportamiento de los genes sin bases experimentales. "El trabajo de los primeros cinco años acerca de la herencia de alas incompletas proporcionó evidencias ... de que el material hereditario en este caso es fluctuante, y consiste de 'tendencias' plásticas, más que de partículas físicas definidas." (Muller, 1917).

Con este estudio (Muller, 1918) se demuestra que B'd es dominante y letal en condición homóciga, al igual que 'dichaete' y 'ojo estrellado', clasificando en Drosophila, los mutantes dominantes con respecto a su efecto letal en condición homóciga como viables (Bar), parcialmente letales (Df) y completamente letales (alas hendidas (N'), B'd, truncate y dichaete).

"Para Drosophila al menos, esta enumeración prueba que existe una fuerte tendencia de los factores dominantes a ser

letales, y alas incompletas, en este caso, es más una excepción a la regla, que un hecho esperado" (Muller, 1917).

Esta afirmación necesita dos consideraciones: primero, los mutantes letales se encuentran entre el tipo de mutantes más comunes, pero se descubren más rápidamente si son dominantes para un carácter visible que si fuesen recesivos, causando una alta proporción de letales entre los factores dominantes si se la compara con los recesivos (Muller, 1918). Resultará en consecuencia, que el más mínimo cambio en cualquiera de las partes del organismo cuyo resultado sea la evolución de un sistema de reacciones, afectará radicalmente a todo el organismo, siendo esta la razón de que muchas de las mutaciones sean letales, y el resto, la mayoría sean semiletal o al menos desvestajosas en la lucha por la existencia. Segundo, los letales ligados al sexo son detectados rápidamente ya que la progenie de la hembra que contenga un factor letal afectará la proporción 1:1 de machos y hembras, la cual será de 2:1 de machos y hembras. La razón de esto es que el cromosoma Y no es dominante para ningún factor contenido en X. Esto explicaría porque se han detectado más recesivos en el cromosoma I (el sexual) que en cualquiera otro de Drosophila. Los factores mutantes llamados 'dominantes' no lo son en el mismo sentido que los alelos normales lo son. Se le ha llamado dominante al mutante que produce un efecto conspicuo en condición heteróciga en lugar de producir un efecto más marcado en condición homóciga (Muller, 1918). Esto hace pensar a Muller que la mutación puede ser una pérdida de alguna porción del 'factor', sin embargo, en esta época el problema era no tanto la causa sino el resultado.

El análisis de beaded es interesante. Este 'factor' está en el cromosoma III. En una línea pura para beaded (B^d) ningún individuo puede ser homocigoto y todos presentan el carácter B^d . Esto se debe a que en el cromosoma III homólogo al que lleva el B^d , existe otro factor letal (l III), que en condición homocigota es letal. Este factor ' l III' no produce efectos visibles cuando heterocigoto. Su locus está situado a 12 unidades a la izquierda de B^d . Como está en el mismo cromosoma homólogo que el alelo normal para beaded, ninguna mosca de esta cepa que sea homocigota para alas normales puede vivir, excepto cuando ' l III' se recombine con el factor normal de alas.

Además, existe otro factor, C' , mutante en el cromosoma III homólogo que contiene el alelo de alas normales. Este no produce efecto visible, pero en condición heterocigota previene la recombinación en la región cercana a él, ya que este factor es una inversión. C' está localizado a la izquierda de ' l III' y lo previene de separarse de alas normales. Ni los homocigotos normales ni los homocigotos para beaded son viables, la condición es creada de una cepa heterocigota. Muller propone (1918) designar a esta condición en la cual la heterocigosis se refuerza por dos letales opuestos, cada uno de los cuales de alguna manera previene la aparición del tipo opuesto de homocigotos, como condición de 'letales balanceados'.

"El efecto letal de B^d no sólo explica porqué era imposible obtener cepas puras para alas incompletas, sino también porqué estaba asegurada su aparición... En general, la condición de letales balanceados tiende a aparecer cuando un factor letal

'benéfico' existe de antemano" (Muller, 1918). Muller entiende por beneficioso la propiedad de tener un valor de sobrevivencia. El resultado es la heterocigosis reforzada. Los cromosomas involucrados se protegen el uno al otro. En estos casos, los factores letales, y los factores no deseados se acumularán gradualmente en los cromosomas afectados. Además, la evolución de estas especies se impedirá en estos casos por el hecho de que los factores mutantes recesivos de naturaleza beneficiosa no podrán ser seleccionados a favor. El proceso degenerativo causará una reversión a la condición de comportamiento genético normal en la cual cada uno de los cromosomas originalmente balanceado quedará representado por un par independiente. Esta es para Muller la explicación de la evolución del cromosoma Y como un cromosoma que no presenta determinadores dominantes (Muller, 1917).

ii) Radiación.

El estudio de las mutaciones, y por lo tanto de los genes mismos, se ve seriamente impedido por la aparición poco frecuente en condiciones ordinarias de las mutaciones y por el fracaso para producirlas, o al menos para modificar la tasa mutacional 'natural'.

Aunque ya habían sido reportados casos de cambios germinales inducidos por rayos X, su interpretación desde un punto de vista genético, no había sido posible. Es por esto, por la necesidad de producir datos acerca del problema de la mutación por radiación, que Muller (1927a) empieza sus experimentos con la mosca de la fruta, Drosophila melanogaster.

Muller encontró que el esperma tratado con altas dosis de rayos X induce la aparición de mutaciones genicas verdaderas (no

confundidas con el efecto bien conocido de los rayos X sobre la distribución de la cromatina expresada en no-disyunción, modificaciones en la recombinación no heredadas, etc.) en una alta proporción de las células germinales tratadas. Se encontraron varios cientos de mutantes y tal vez un ciento de estas fueron seguidas hasta por 4 generaciones. Estas mutaciones 'verdaderas' son estables en su herencia y casi todas se comportan mendelianamente. La naturaleza de las cruzas favoreció la detección de las mutaciones ya que muchas estaban ligadas al sexo. Aproximadamente 1/7 de la descendencia mostró mutaciones detectables en el cromosoma X. Ya que el cromosoma X forma 1/4 de la cromatina haploide, y si se establece una tasa mutacional igual para todos los cromosomas (por unidad de su longitud) se desprende que cualquier otro de los espermias capaces de producir un adulto fértil contendrá una mutación detectable en cualquier cromosoma. Tomando como control miles de moscas normales y comparando sus tasas de mutación, Muller encontró que la mutación se incrementó 15 veces sobre la mutación en el grupo control.

Los tipos de mutación obtenidos fueron:

- 1) el número de letales (recesivos por su efecto aunque algunos son dominantes por sus efectos visibles) era mayor que las no-letales que producen alguna anomalía morfológica visible (14/7373),
- 2) semi-letales (definidos como mutantes con viabilidad entre 0.5 y 10 por ciento de lo normal) no tan numerosas como letales,
- 3) mutaciones 'invisibles' que causan una menor reducción de la viabilidad, fueron más numerosas que las semi-letales pero no

objetos de este estudio,

4) por primera vez se obtuvo evidencia de mutaciones letales dominantes tanto en el cromosoma X como en otros. Ya que los cigotos que las reciben nunca maduran, no pueden detectarse individualmente, sin embargo, su número fue muy grande a través de la cuenta de huevos y de la alteración de la proporción de los sexos. Su número es parecido al de recesivos letales (13/1034). La esterilidad parcial de los machos se debe a éstas,

5) otra clase de mutaciones que no se habían reconocido antes son las que en condición heterociga, causan esterilidad sin reducir apariencia detectable. Este tipo de esterilidad, como ocurre en la descendencia de individuos tratados, es otro fenómeno separado del de 'esterilidad parcial' causada por letales dominantes. Su número es parecido al de letales recesivos. (Muller, 1927a)

Si la tasa de mutación después de radiación es suficientemente alta este tratamiento será aplicable a estudios sobre mutación o alelomorfismo en loci individuales.

En cuanto al tipo de mutación que se produce con rayos X en relación con las mutaciones naturales Muller apunta que las mutaciones visibles causadas por radiación son similares en sus características generales a las detectadas previamente con material no radiado según las observaciones de Bridges y otros, para Drosophila.

Muller consideraba que aunque muchas mutaciones inducidas son en loci nuevos, es decir, en donde nunca se habían detectado antes y que estas implicaban cambios morfológicos no vistos (splotched wing, sex-combless) por otra parte se habían obtenido mutaciones repetidas ya conocidas (ojos blancos "wi, alas

miniatura "mi, cerdas bifurcadas "fi, etc.). "No queda duda, entonces, que los posibles cambios producidos por rayos X, sea del mismo tipo que las 'mutaciones génicas' que se obtienen, aunque raramente, sin tratamiento y que pensamos sean los ladrillos de la evolución" (Muller, 1927a).

Además de las mutaciones génicas, también se observaron rearrreglos en el orden lineal de los genes. Evidencia de estos tipos fueron el aumento de las irregularidades en la recombinación que eran heredadas (3% detectadas en el cromosoma X, algunas acompañadas por efectos letales), y evidencia de inversiones, deficiencias, fragmentaciones y translocaciones.

Para Muller la conclusión más importante es la apertura de una nueva rama de experimentación que permita dar cuenta de la estructura y comportamiento de los genes y de los cromosomas.

A partir de 1927, Muller (1927b) publica y describe sus experimentos. El primero de ellos consistió en el estudio del cromosoma X en lugar del segundo ya que no importaba saber el número total de mutaciones durante cierto número de generaciones sino la incidencia de mutaciones en cada generación por separado. La intención era obtener evidencia acerca del origen de las mutaciones, haciendo hincapié en si el gene está compuesto de partículas intercambiables.

En el primer conjunto de experimentos con rayos X los machos fueron tomados (tanto los que se tratarían como los controles) de un solo lote, divididos al azar entre las diferentes series de machos. El cromosoma X de todos estos machos se derivó, sin recombinación (por la presencia de una inversión),

de un cromosoma particular presente en una mosca abuela. Este cromosoma X contiene el gene para 'cerdas cortas' (bb) como marcador aunque su apariencia es normal ya que bb no se expresa en los machos. Esto hará posible que se reconozca cualquier mutación visible nueva más fácilmente. Las hembras con la que se cruzaron estos machos son homocígas para 'cerdas escutelares' (sc), 'ojos color vermellón' (v) y 'cerdas bifurcadas' (f) que están en el cromosoma X, también éstas provienen de un solo abuelo. Se mezclaron hembras y se dividieron al azar entre las series de machos del experimento. Entonces P1

hembras $sc\ v\ f/sc\ v\ f$ x machos bb
(solo se representan los alelos mutantes).

Antes de la cruce, las moscas machos de una serie dada se radiaron con distintas longitudes de tiempo ($t_1=12$, $t_2=24$, $t_3=36$ y $t_4=48$ minutos de duración). A las hembras sólo se les aplicó t_1 y t_2 , estableciéndose 6 cultivos. Después de 6 días se transfirieron a cultivos frescos.

Examinando la F1 Muller encontró que su productividad decreció progresivamente conforme aumentó el tratamiento, y según lo esperado, la fertilidad de las hembras se afectó más que en los machos. Cuando se examinó la F1 se encontraron 81/2000 con anomalías morfológicas distinguibles, mientras que en los controles había 19. Entre las anomalías se incluyen modificaciones cuya base no es genética.

La F2 se formó cruzando hermanos y hermanas cuya fórmula es
hembras $sc\ v\ f/bb$ x machos $sc\ v\ f$
la condición heterocíga de estas hembras P2 hace posible ver y localizar mutantes letales o visibles en cualquier hijo F2. En el

caso de mutantes letales en F2, los hijos portadores de la combinación de los genes que no hayn sido recombinados y que estén a cada lado del letal estarán ausentes y el porcentaje de las recombinaciones localizará al gene mutante más fielmente.

En la F2 se notó que los cultivos control tienen una tasa de mutación menor (1/947), la cual indica la tasa de mutación 'natural'. Las series tratadas, sin embargo, mostraron una tasa mayor de lo esperado (122/783), pudiendose asegurar que la mutación es producida por los rayos y más aún, que ésta puede presentarse aunque el tratamiento sea en esperma maduro o en los huevos.

Las mutaciones de los cromosomas tratados fueron similares a las ya conocidas en trabajos anteriores con Drosophila: ojos blancos, cerdas delgadas, alas cortas, ojos pequeños, etc., indicando que los mutantes aparecidos con radiación fueron mutaciones en alelos ya presentes. Es decir, las direcciones de tales mutaciones por radiación, al ser las mismas que las anteriormente estudiadas y debidas a otras causas, resultaron no ser aleatorias, e decir, algunos alelos siempre mutan en la misma dirección.

También se detectaron mutaciones visibles que no corresponden a alelos de genes ya conocidos: tres caracterizadas como desarreglos omatidiales, dos con particularidades en las alas (alas expandidas, alas arqueadas), una combinación de melanismo con enanismo (pigmy) y dos con efectos diversos.

Según los resultados (Muller, 1927b) tanto las mutaciones ya conocidas como las observadas por vez primera, se localizan en

cualquier región aunque hay un máximo en la densidad de ocurrencia en ciertas regiones. Esto mismo se ha observado en Drosophila con mutaciones espontáneas en el cromosoma X. Esta diferencia en densidad indica variación en la frecuencia de la recombinación por unidad física (la relación entre la distancia en el mapa y la distancia real) más que variaciones reales en la frecuencia de mutaciones o de genes en las distintas partes del cromonema (Muller usa indistintamente la palabra cromosoma y la palabra cromonema para designar a los cromosomas). Fig...

Sin embargo el efecto de los rayos X no está restringido a mutaciones puntuales, sino también produce reducciones de la recombinación y alteraciones en los mapas. Estos factores (llamados por Muller factores 'C') son rearrreglos en la secuencia de los genes, como inversiones y translocaciones, deleciones y duplicaciones. Estos rearrreglos producidos por los rayos X se relacionan directamente con ciertos problemas genéticos, a saber, asociación sináptica, loci o locus de la diferenciación sexual, balance de la cromatina (efectos en los cambios de las proporciones de los genes), etc. Deberá ser posible, entonces, atacar estos problemas y obtener mapas de ligamiento más adecuados, y rectificar la 'teoría mecánica' de la recombinación sobre la que se basan estos eventos (Muller, 1927b).

Otro conjunto de experimentos se llevó a cabo con el factor 'Cl' que lleva un letal recesivo asociado que previene la recombinación (por ser una inversión) y la muerte de los hijos cuyas madres no tratadas llevan el factor 'Cl'. Así, si aparece un letal nuevo en el otro cromosoma (el homólogo), no se obtendrán hijos. La primera cruce se hizo entre machos con 'ojos

pequeños (sy), cuyos espermias fueron sujetos a tratamiento, con hembras conteniendo el cromosomas 'Cl' y otro con los genes 'sc' 'v' 'f' y 'bb'. En la F1 las hembras con 'Cl' se identificaron ya que este cromosoma también contiene 'ojos barra' (B), el cual es dominante. Estas hembras fueron cruzadas despues con sus hermanos estableciéndose la F2, en donde los letales en el cromosoma con 'sy' se observó por la ausencia de machos.

Los resultados demostraron que el incremento en la dosis de rayos X causa un incremento en la producción de mutaciones y Muller propone la idea de que debe existir una relación proporcional entre la dosis y las mutaciones puntuales, si las primeras resultan de los impactos individuales de los rayos.

Muller (1928) señala las características similares de las mutaciones inducidas con respecto a la naturales o espontáneas:

- 1) la gran mayoría son letales, el resto reduce la viabilidad o la fertilidad,
- 2) hay más recesivas que dominantes,
- 3) muchos de los efectos visibles son relativamente inconspicuos,
- 4) aunque aparezcan nuevas mutaciones, éstas lo hacen con las mismas frecuencias de mutación,
- 5) se afectan todas las regiones de la cromatina, aunque las mutaciones inducidas se distribuyen principalmente en las zonas donde existen con mayor frecuencia las mutaciones espontáneas, es decir, hay sitios preferenciales,
- 6) hay alelomorfismo múltiple,
- 7) hay mutación reversa,
- 8) la regla son mutaciones puntuales, sin embargo, existen mutaciones 'lineales' (cromosómicas) que involucran a genes vecinos,
- 9) estabilidad en la herencia tanto de genes normales como de genes mutantes,
- 10) el efecto es fraccional.

La radiación explicaría las mutaciones 'naturales'? "Cuando se encontró que en Drosophila la radiación producía un incremento en la frecuencia de mutación, la pregunta inmediata fue si las mutaciones en material no-tratado eran causadas por radiación natural similar" (Muller, 1930a). En material sin tratar Muller y Altenburg (1930) encontraron que la frecuencia mutacional es muy variable, con un rango de 1:100 hasta de 1:1000. Hanson y Oliver (1930) encontraron que la frecuencia de las mutaciones inducidas es estrictamente proporcional a la cantidad de ionización producida. La conclusión es: "Es probable que la radiación natural no sea la causa principal de las mutaciones naturales, y, por lo tanto, de la evolución. La búsqueda de otras causas debe continuar.... y este método de producción artificial de mutaciones, el único hasta ahora conocido, deberá servir para estudiar el mecanismo de la mutación y las propiedades del material hereditario" (Muller y Altenburg, 1930).

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, G. 1974. Opposition to the mendelian chromosome theory: the physiological and developmental genetics of R. Goldschmidt. Jour. Hist. of Biol. 7:49-92.
- ALTENBURG, E. 1946. Commentary on T.M.Sonneborn's paper. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 11:236-255.
- AVERY, O.T., C.M. MacLeod, and M. McCarty. 1944. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. Journal of Exp. Biology and Medicine 79:137-158.
- AYALA, F.J. y J.K. Kiger Jr. 1980. Modern Genetics. Benjamin/Cummings Pub. Co. Inc.
- BATESON, W. 1897. On progress in the study of Variation. Science Progress, n.s. Vol.1, 5:1-15.
- BATESON, W. 1898. On the Progress of the Study of Variation. Part II. Science Progress, n.s. Vol.2. 6:1-16.
- BATESON, W. 1900. Hybridization and Cross-breeding as a Method of Scientific Investigation. Journal of the Royal Horticultural Society 25:41-8.
- BATESON, W. 1900. Problems of Heredity as a Subject for Horticultural Investigation. Journal of the Royal Horticultural Society 25:1-8.
- BATESON, W. 1900. Problems of Heredity and Their Solution. Journal of the Horticultural Society 25:54-61.
- BATESON, W. 1901. Heredity, Differentiation, and other Conceptions of Biology: a consideration of Professor Karl Pearson's Paper 'on the Principle of Homotyposis'. Proceedings of the Royal Society 69:193-205.

- BATESON, W. 1902. A Defence of Mendel's Principles of Heredity. Cambridge Univ. Press.
- BATESON, W. y Punnet, 1905. The theory of coupling and repulsion. Proc. of the Royal Society, 79:293-400.
- BEADLE, G.W. y B. Ephrussi. 1937. Development of eye color in Drosophila: diffusable substances and their interrelations. Genetics 22:76-86.
- BEADLE, G.W., y E.L. Tatum. 1941. Genetic control of biochemical reactions in Neurospora. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 27:499-506.
- BRENNER, S., Benzer, S. y L. Barnett. 1958. Nature 182:983.
- BENZER, S. 1955. Fine structure of a genetic region in bacteriophage. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 41:862-863.
- BENZER, S. 1956. Genetic fine structure and its relation to the DNA molecule. Brookhaven Symposia in Biology, 8:3-5.
- BENZER, S. 1961. Fine structure mapping of the rII region of bacteriophage T4. Proceedings of the Nat. Acad. of Sci. U.S. 47:403-415.
- BENZER, S., 1961. Genetic Fine Structure en Harvey Lectures, vol. 56. Ac. Press Inc. N.Y.
- BERG, D.E., Sasakawa, C., Hirschel, B.J., Johnsrud, L. McDivitt, L., Egner, C., Ramabhadran, R. 1984. Transposition of the inverted repeats of Tn5. En Molecular Biology, Pathogenicity and Ecology of Bacterial Plasmids, ed. S.B. Levy, pp. 380-91. N. Y.:Plenum.
- BRIDGES, C.B., 1916. Nondisjunction as proof of the chromosome theory of heredity. Genetics 1:1-52, 107-163.

- BRIDGES, C.B., 1925. Sex relation to chromosomes and genes. Amer. Natur. 59:127-137.
- BRITEN, R.J. y E.H. Davidson. 1969. Gene regulation for higher cells: a theory. Science 164:349-357.
- CAMPBELL, A., 1981. 'Evolutionary Significance of Accessory DNA Elements in Bacteria'. Ann. Rev. Microbiol. 35:55-83.
- CARLSON, E.A. 1959. Allelism, pseudoallelism, and complementation at the dumpy locus in D. melanogaster. Genetics 44:347-373.
- CARLSON, E.A. 1959. Comparative Genetics of Complex Loci. Quarterly Review of Biology 34:33-67.
- CARLSON, E.A. 1961. Limitations of Geometrical Models for Complementation Mapping of allelic series. Nature 191:788-790.
- CARLSON, E.A. 1966. The gene: a critical history. Saunders, Phil.
- CASTLE, W. E. 1903. Mendel's Law of Heredity. Proceedings of the American Academy of Arts and Science 38:535-548.
- CASTLE, W. E. 1905. Recent Discoveries in Heredity and Their Bearing on Animal Breeding. Popular Science Monthly 66:193-208.
- CASTLE, W. E. 1906. Yellow Mice and Gametic Purity. Science, n.s. 24:275-281.
- CASTLE, W. E. 1910. Heredity. Popular Science Monthly 71:417-428.
- CASTLE, W. E. The inconstancy of Unit-Characters. American Naturalist 46:352-362.
- CASTLE, W. E. 1914. Mr. Muller on the Constancy of Mendelian Factors. American Naturalist 49:37-42.
- CASTLE, W. E. 1916. Can Selection Cause Genetic Change? American naturalist 50:248-256.

- CASTLE, W. E. 1919. Piebald rats and the Theory of Genes. Proceedings of the Nat. Ac. of Sci. 5:126-130.
- CASTLE, W. E. 1919. Are Genes Linear or non-linear in Arrangement? Proceedings of the Nat. Ac. of Sci. 5:500-506.
- CASTLE, W. E. and G. M. Allen. 1903. Mendel's Law and the Heredity of Albinism. Mark's Anniversary Volume articulo 19, pp.329-398.
- CASTLE, W. E. y G. M. Allen. 1903. Heredity of Albinism. Proceedings of the Am. Aca. of Arts and Sci. 38:603-622.
- CASTLE, W. E. y P. B. Hadley. 1915. The English Rabbit and the Question of Mendelian Unit-character Constancy. Proceedings of the Nat. Aca. of Sci. 1:39-42.
- CASTLE, W. E. y J. C. Phillips. 1909. A Successful Ovarian Transplantation in the Guinea-pig, and Its Bearing on Problems of Genetics. Science, n.s. 30:312-314.
- CASTLE, W. E. y J. C. Phillips. 1914. Piebald Rats and Selection. Carnegie Inst. Wash. Publication 195.
- CATCHESIDE, D. G. y A. Overton. 1958. Complementation between Alleles in Heterocaryons. Cold Spring Harbor Sym. on Quantitative Biology 23:137.
- CONKLIN, E. G. 1905. The Mutation Theory from the Standpoint of Cytology. Science, n.s. 21:525-529.
- CORRENS, C., 1900. Mendel's Law Concerning the Behavior of Progeny of Varietal Hybrids, en Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 18:158-168.
- CRICK, F. H. C. 1958. On Protein Synthesis. Symposium of the Society of Experimental Biology 12:138-167.

- CRICK, F. H. C. 1959. The present position of the coding problem. Brookhaven Symposia in Biology 12:35-39.
- CRICK, F. H. C. y L. Orgel. 1964. The Theory of Inter-allelic Complementation. Journal of Molecular Biology 8:161.
- DARLINGTON, C. D. 1944. Heredity, development, and infection. Nature 154-169.
- DARWIN, C. 1858. On the Origin of Species by Means of Natural Selection. pp. 517. Doubleday & Co. Inc. N.Y.
- DARWIN, C. 1868. Provisional Hypothesis of Pangenesis. Animals and Plants under Domestication Vol. II. Orange Judd & Co., New York.
- DAVIS, B. M. 1909. Genetical Studies on *Oenothera* I. American Naturalist. 1909.
- DAVIS, B. M. 1911. Genetical Studies on *Oenothera* II. American Naturalist 1911.
- DAVIS, B. M. 1912. Genetical Studies on *Oenothera* III. American Naturalist. 1912.
- DEMEREK, M. 1926. Mutable Genes in *Drosophila virilis*. Proceedings of the Intern. Congress of Plant Science (Ithaca) 1:943-946.
- DEMEREK, M. 1928. Mutable Characters of *Drosophila virilis*. Genetics 13:359-388.
- DEMEREK, M. 1928b. The behavior of mutable genes. Proceedings of the 5th. Intern. Congress of Genetics, 1927, Suppl. 1, ZiAV 1928:183-193.
- DEMEREK, M. 1935. Unstable Genes. Botanical Review 1:233-248.
- DEMEREK, M. 1939. Chromosome Structure Viewed by a Geneticist. American Naturalist 73:331-338.

DEMEREK, M. 1955. What's is a Gene -Twenty Years Later. American Naturalist 89:5-20.

DEMEREK, M. 1956. Structure and Arrangement of Gene Loci. Proceedings of the Inter. Genetics Symposia, en Cytologia Julio 1957.

DEMEREK, M. 1956. A Comparative study of certain gene loci in Salmonella. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 21:113-120.

DEMEREK, M. y Z. Demerek. 1956. Analysis of linkage relationships in Salmonella by transduction techniques. Brookhaven Symposia in Biology 8:75-87.

DEMEREK, M. y Hartman, Z. 1956. Tryptophan mutants in Salmonella typhimurium. en Genetic Studies with Bacteria, Carnegie Inst. Wash. Pub. 612:5-33.

DEMEREK, M. y col., 1954. Bacterial Genetics. Annual report, Department of Genetics, Carnegie Inst. Wash. Year Book 53:225-241.

DE VRIES, H. 1889. Intracellular Pangenesis, traducido por C.S. Gager, 1910. Open Court Publishers, Chicago.

DE VRIES, H. 1900. Sur la loi de disjunction des Hybrides. C.R. Acad. Sci. (Paris) 130:845-847.

DE VRIES, H. 1903. Fertilization and Hybridization. traducido por C.S. Gager, 1910 en Intracellular Pangenesis, Open Court Publishers, Chicago.

DE VRIES, H. 1901-03. Die Mutationstheorie Veit & Co. Leipzig.

DE VRIES, H. 1914. Principles of the Theory of Mutation. Science, n.s. 40:77-84.

DOBZHANSKY, Y. 1932. The Baroid Mutation in Drosophila

melanogaster. Genetics 17:369-392.

DOBZHANSKY, T. 1970. Genetics of the Evolutionary Process.
Columbia Univ. Press.

DRAKE, T.W. 1970. The Molecular Basis of Mutation. Holden-Day Sn.
Fco.

DUNN, L.C. 1965. A Short History of Genetics. McGraw Hill. N.Y.

EAST, E. M. 1910. A Mendelian Interpretation of Variation that is
Apparently Continuous. American Naturalist 44:65-82.

EAST, E. M. 1912. The Mendelian Notation as a Description of
Physiological Facts. American Naturalist 46:633-695.

EAST, E. M. 1929. The Concept of the Gene. Proceedings of the
Inter. Congress of Plant Sci. 1:889-895.

EAST, E. M. y H. K. Hayes. 1911. Inheritance in Maize. Conn. Agr.
Exp. Sta. Bull. 167:1-141.

EMERSON, R. A. 1917. Genetical Studies of Variegated Pericarp in
Maize. Genetics 2:1-35.

EMERSON, R. A. 1929. The frequency of Somatic Mutation in
Variegated Pericarp of Maize. Genetics 14:488-511.

EMERSON, R. A., W.H. Eyster, E.G. Anderson y M. Demerec. 1922.
Studies of Somatic Mutations in variegated Maize Pericarp.
Anatomical Record 23:90-91.

EYSTER, W. H. 1924. A Genetic Analysis of Variegation. Genetics
9:372-404.

FEDOROFF, N. 1983. Controlling elements in Maize. En: Mobile
Genetic Elements. Shapiro, J. (ed.) Ac. Press Inc.

FREESE, E. 1959. On the Molecular Explanation of Spontaneous and
Induced Mutations. Brookhaven Symposia in Biology 12:63-75.

GALTON, F. 1886. Heredity stature. Nature 33:295-298.

GALTON, F. 1897. The Average Contribution of Each Several Ancestor to the Total Heritage of the Offspring. Proceedings of the Royal Society 61:401-413.

GAMOW, G. 1954. Possible reation between Deoxyribonucleic Acid and Protein Structure. Nature 173-318.

GATES, R. R. 1909. The material basis of mendelian phenomena. American Naturalist.

GATES, R. R. 1915. On the modification of characters by crossing. American Naturalist Vol. XLIX, No. 588.

GOLDSCHMIDT, R. 1938. The Theory of the Gene. Science Monthly 46:268-273.

GOLDSCHMIDT, R. 1946. Position effect and the Theory of the Corpuscular Gene. Experientia 2:1-40.

GOLDSCHMIDT, R. 1950. Fifty Years of Genetics. American Naturalist 84:313-340.

GOULD, S. J. y E. Vbra. 1981. Exaptation: a missing term in science of form. Paleobiology. Vol. 8.

GOULD, S. J. 1985. Fleeming Jenkin Revisited. Natural History. American Museum of Natural History Pub. N. Y.

GREEN, M.M. 1977. The case for DNA inserion mutations in Drosophila. En: DNA Insertion Elements, Plasmids and Episomes. Cold Spring Harbor Lab. pp. 437-45.

GREEN, M.M. 1978. The Genetic Control of mutation in Drosophila. Stadler Symp. 10:95-104.

GREEN, M.M. 1980. Transposable elements in Drosophila and other Diptera. Ann. Rev. Genet. 14:109-20.

GRIFFITH, F. 1928. Significance of pneumococcal types. J> Hygiene

27:113-159.

HALDANE, J. B. S. 1930. A Note on Fisher's Theory of the Origin of Dominance, and on a Correlation between Dominance and Linkage. American naturalist 64:87-90.

HERSHEY, A.D. y M. Chase, 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. Gen. Physiol. 36:39-56.

HERSKOWITZ, I.H. 1977. Principles of Genetics. 2a. ed. McMillan Publishing Co. Inc. N.Y.

HUNKAPILLER, T., H. Huang, L. Hood y J. Campbel. 1982. The Impact of Modern Genetics on Evolutionary Theory. en: Perspectives on Evolution. R. Milkman (ed) Sinauer Ass. Inc.

JACOB, F. y J. Monod. 1961. Genetic Regulatory mechanisms in the Synthesis of Proteins. Journal of Molecular Biology 3:318-356.

JACOB, F. y J. Monod, 1961b. On the Regulation of Gene Activity. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 26:193-209.

JANSSENS, F. A. 1909. La Theorie de la Chiasmotypie. La Cellule 25:389.

JOHANNSEN, W. 1906. Does Hybridisation increase Fluctuating Variability? Report of the 3rd. Intern. Congress of Genetics. pp. 98-112.

JOHANNSEN, W. 1909. Elemente der Exakten Erblchkeitslehre. G. Fischer, Jena.

KIMURA, M. 1983. The Neutral Theory of Molecular Evolution. Cambridge Univ. Press.

KLECKNER, N. 1981. Transposable elements in Prokaryotes. Ann. Rev. Genet. 15:341-404.

LAMARCK, J.B. 1809. Philosophie Zoologique. Bruxelles, Culture et

Civilisation, 1969, 2 vols.

LEWIS, E. B. 1941. Another case of unequal crossing over in Drosophila melanogaster. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 27:31-34.

LEWIS, E. B. 1942. The Star and Asteroid Loci in Drosophila melanogaster. Genetics 27:153-154.

LEWIS, E. B. 1948. Pseudoallelism in Drosophila melanogaster. Genetics 33:113.

LEWIS, E. B. 1951. Pseudoallelism and Gene Evolution. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 16:159-174.

LEWIS, E. B. 1952. The Pseudoallelism of White and Apricot in Drosophila melanogaster. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 38:953-961.

LEWIS, E. B. 1954. Pseudoallelism and the Gene Concept. Caryologia, vol. suppl. 1:100-105.

LI, W. H. 1983. Evolution of duplicate genes and pseudogenes. En: Evolution of Genes and Proteins. Nei, M. y R.K. Kohn (eds.) Sinauer Ass. Inc. Sunderland, Mass.

MACKENDRICK, M. E. y G. Pontecorvo. 1952. Crossing-over between alleles at the W locus in Drosophila melanogaster. Experimentis 8:390.

McCLINTOCK, B. 1946. Maize Genetic. Carnegie Inst. Wash. Years Book 47:155-169.

McCLINTOCK, B. 1947. Cytogenetic studies of Maize and Neurospora. Carnegie Inst. Wash. Year Book 46:146-152.

McCLINTOCK, B. 1950. The origin and behavior of mutable loci in Maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 36:344-355.

- McCLINTOCK, B. 1951. Chromosome organization and gene expression. Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 16:13-47.
- McCLINTOCK, B. 1951. Mutable loci in Maize. Carnegie Wash. Year Book 50:174-181.
- McCLINTOCK, B. 1955. Controlled Mutations in Maize. Carnegie Inst. Wash. Year Book 54:245-255.
- McCLINTOCK, B. 1956. Controlling Elements and the Gene. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 21:197-216.
- McCLINTOCK, B. 1961a. Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria. Am. Nat. 95:265-277.
- McCLINTOCK, B. 1961b. Further Studies of the suppressor-mutator system of control of gene action in maize. Carnegie Inst. Wash. Year Book 60:469-476.
- McCLINTOCK, B. 1978. Mechanisms that rapidly reorganize the genome. Stadler Genet. Symp. 10:25-48.
- MENDEL, G. 1965. Experiments in Plant-hybridization. Verh. naturf. ver. in Brunn, Abv. iv. 1865.
- MILKMAN, R. (ed) 1982. Perspectives on Evolution. Sinauer Ass. Inc.
- MONOD, J., J. P. Changeux, y F. Jacob. 1963. Allosteris Proteins and Cellular Control Systems. Journal of Molecular Biology 6:306-329.
- MORGAN, T. H. 1909. For Darwin. Popular Science Monthly, April 70:367-380.
- MORGAN, T. H. 1910. Chromosomes and Heredity. American Naturalist 44:449-496.
- MORGAN, T.H. 1910. Sex-limited inheritance in Drosophila. Science 32:120-122.

MORGAN, T. H. 1911. Chromosomes and Associative Inheritance. Science, n. s. 34:636-638.

MORGAN, T. H. 1911. Random segregation versus coupling in mendelian inheritance. Science 34:384. Morgan, T. H. 1914. The Failure of Ether to Produce mutations in Drosophila. American Naturalist 48:705-711.

MORGAN, T. H. 1917. The Theory of the Gene. American Naturalist 51:513-544.

MORGAN, T. H. 1922. On the Mechanism of Heredity. Proceedings of the Royal Society of Biology 94:162-197.

MORGAN, T. H. 1932. The Rise of Genetics. Science 76:261-167.

MORGAN, T. H., A. H. Sturtevant, H. J. Muller, y C. B. Bridges. 1915. The Mechanism of Mendelian Heredity. Henry Holt and Co., New York.

MULLER, H. J. 1914. The Bearing of the Selection Experiments of Castle and Phillips on the Variability of Genes. American Naturalist 48:567-576.

MULLER, H. J. 1916. The Mechanism of Crossing Over. American Naturalist 50:193-221, 284-305, 350-366, 421-434.

MULLER, H. J. 1917. An Oenothera-like case in Drosophila. Proceedings of the National Acad. of Sci. 3:619-626.

MULLER, H. J. 1918. Genetic Variability, Twin Hybrids, and Constant Hybrids, in a case of Balanced Lethal Factors. Genetics 3:422-499.

MULLER, H. J. 1920. Are the Factors of Heredity Arranged in a Line? American Naturalist 54:97-121.

MULLER, H. J. 1920b. Further Changes in the White-eye Series in

Drosophila, and Their Bearing on the Manner of Occurrence of Mutation. Journal of Experimental Zoology 31:443-473.

MULLER, H. J. 1922. Variation due to Change in the Individual Gene. American Naturalist 56:32-50.

MULLER, H. J. 1923. Mutation. Eugenics, Genetics and the Family 1:106-112.

MULLER, H. J. 1926. The Gene as the Basis of Life. Proceedings of the Intern. Congress of Plant Science 1:897-921.

MULLER, H. J. 1927a. Artificial Transmutation of the Gene. Science 66:84-87.

MULLER, H. J. 1928. The Production of Mutation by X-rays. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 14:714-726.

MULLER, H. J., 1927b. The Problem of Gene Modification. Proceedings of the 5th. International Congress of Genetics, Berlin, 1927, Zeitschrift fur induktive Abstammungs und Vererbungslehre suppl. 1:234-260.

MULLER, H. J. 1930a. Radiation and Genetics. American Naturalist 64:220-225.

MULLER, H. J. 1930b. Types of Visible Variations Induced by X-rays in *Drosophila*. Journal of Genetics 22:20-334.

MULLER, H. J. 1932. Further Studies on the Nature and Causes of Gene Mutations. Proceedings of the 6th International Congress of Genetics 1:213-255.

MULLER, H. J. 1935. A Viable two-gene Deficiency. Journal of Heredity 26:469-478.

MULLER, H. J. 1935b. The Origination of Chromatin Deficiency as Minute Deletions Subject to Insertion Elsewhere. Genetica 17:237-252.

- MULLER, H. J. 1935c. On the Dimensions of Chromosomes and Genes in Dipterian Salivary Glands. American Naturalist 69:405-411.
- MULLER, H. J. 1936. Bar Duplication. Science 83:528-530.
- MULLER, H. J. 1938. The Position Effect as Evidence of the Localization of the Immediate Products of Gene Activity. Proceedings of the 15th International Physiology Congress. Leningrad, 1935. Secherov J. Physiol USSR 21:587-589.
- MULLER, H. J. 1938b. The Present Status of the Mutation Theory. Current Science March, 1938.
- MULLER, H. J. 1940. An Analysis of the Process of Structural Change in Chromosomes of Drosophila. Journal of Genetics 40:1-66.
- MULLER, H. J. 1945. The Gene, Proceedings of the Royal Society of Biology 134:1-37.
- MULLER, H. J. 1956. On the Relation between Chromosome Changes and Gene Mutations. Brookhaven Symposia in Biology 8:126-147.
- MULLER, H. J. y E. Altenburg. 1919. The Rate of Change of Hereditary Factors in Drosophila. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine 17:10-14.
- MULLER, H. J. y E. Altenburg. 1930. The Frequency of Translocations Produced by X-rays in Drosophila. Genetics 15:283-311.
- MULLER, H. J. y A. Prokofyeva. 1934. Continuity and Discontinuity of the Hereditary Material. C. R. (Doklady) de l'Acad. des Sci. USSR vol. 4 no. 1, pp. 8-12.
- MULLER, H. J., y A. Prokofyeva. 1935. The Individual Gene in Relation to the Chromomere and the Chromosome. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 21:16-26.

- MULLER, H. J., A. Prokofyeva-Belgovskaya, y K. V. Kossikov. 1936. Unequal Crossing-over in the Bar Mutant as a Result of Duplication of a Minute Chromosome Section. C. D. (Doklady) de l'Acad. des Sci. USSR 1(k), #2 (79), pp. 87-88.
- MULLER, H. J., A. Prokofyeva, y D. Raffel. 1935. Minute Intergenic Rearrangement as a Cause of Apparent 'Gene Mutation'. Nature 135:253-255.
- OFFERMANN, C. A. 1935. The Position Effect and Its Bearing on Genetics. Izvestia Akademii Nauk. USSR 1935, Bull. de l'Acad. des Sci. de l'URSS 7a serie, pp. 129-140.
- OHNO, S. 1970. Evolution of Gene Duplication Springer-Verlag, Berlin.
- OLIVER, C. P. 1940. A Reversion to Wild Type Associated with Crossing-over in D. melanogaster. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 26:452-454.
- PAULING, L. H.A. Itano, S.J. Singer y I.C. Wells. 1949. Sickle-cell anemia, a molecular disease. Science 110:543-548.
- PONTECORVO, G. 1952. Genetic Formulation of Gene Structure and Gene Action. Advances Enzym. 13:121-149.
- PONTECORVO, G. 1955. Gene Structure and Action in Relation to Heterosis. Proceedings of the Royal Society of Biology 144:171-177.
- PONTECORVO, G. 1956. Allelism. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 21:171-174.
- RAFFEL, D. y H. J. Muller. 1940. Position Effect and Gene Divisibility Considered in Connection with Three Strikingly Similar Scute Mutations. Genetics 25:541-583.
- ROEDER, S. y Fink, G. 1983. Transposable elements in Yeast. En:

- Mobile Genetic Elements Shapiro, J. (ed) Academic Press Inc.
- RUBIN, G. 1983. Dispersed repetitive DNA in Drosophila. En: Mobile Genetic Elements Shapiro, J. (ed) Academic Press Inc.
- SEREBROVSKY, A. S., O. A. Ivanova, y L. Ferry. 1929. On the influence of Genes γ , 1 , N on the Crossing Over Close to their Loci in the Sex-chromosome of D. melanogaster. Journal of Genetics 21:287-314.
- SHAPIRO, J. 1983. Mobile Genetic Elements. New York/London: Academic. 688 pp.
- SONNEBORN, T. M. 1943. Gene and Cytoplasm. II. The Bearing of the Determination and Inheritance of Characters in Paramecium aurelia on the Problems of Cytoplasmic Inheritance. Pneumococcus Transformations. Mutations and Development. Proceedings of the Natl. Acad. of Sci. 29:338-343.
- SONNEBORN, T. M. 1955. Heredity, Development, and Evolution in Paramecium. Nature 175:1100.
- SONNEBORN, T. M. 1959. Kappa and Related Particles in Paramecium. Advances in Virus Research 1959:229-356.
- SONNEBORN, T. M. 1961. Kappa Particles and Their Bearing on Host-parasite Relations. Perspectives in Virology 2:5-12
- SPILLMAN, W. J. 1909. Mendelian phenomena without devresian theory. American Naturalist, Mayo, 1909.
- STADLER, L. J. 1928. Mutations in Barley Induced by X-rays and Radium. Science 68:186-187.
- STADLER, L. J. 1932. On the Genetic Nature of Induced Mutations in Plants. Proceedings of the 6th. International Congress of Genetics 1:274-294.

- STADLER, L. J. 1941. The Comparison of Ultraviolet and X-rays Effects on Mutation. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 9:108-177.
- STADLER, L. J. 1954. The Gene. Science 120:811-819.
- STURTEVANT, A. H. 1913. The Himalayan Rabbit Case, with Some Considerations on Multiple Allelomorphs. American Naturalist 47:234-238.
- STURTEVANT, A. H. 1913. A Third Group of Linked Gene in Drosophila ampelaphila. Science 37:990-992.
- STURTEVANT, A. H. 1913. The Linear Arrangement of Six Sex-linked Factors in Drosophila, as Shown by Their Mode of Association. Journal of Experimental Zoology 14:43-59.
- STURTEVANT, A. H. 1914. The Reduplication Hypothesis as Applied to Drosophila. American Naturalist 48:535-549.
- STURTEVANT, A. H. 1925. The Effects of Unequal Crossing Over at the Bar Locus in Drosophila. Genetics 10:117-147.
- STURTEVANT, A. H. 1928. A Further Study of the So-called Mutation at the Bar Locus of Drosophila. Genetics 13:401-409.
- STURTEVANT, A. H. y T. H. Morgan. 1923. Reverse Mutation of the Bar Gene Correlated with Crossing Over. Science 57:746-747.
- STEIN, J.P., J.K. Caterall, P. Kristo, A.R. Menas y B. W. O'Malley. 1980. Ovomuroid intervening sequences specify functional domains and generate protein polymorphism. Cell 21:681-687.
- STENT, G. 1963. Molecular Biology of Bacterial Viruses. Sn. Fco.: W.H. Freeman & Co. pp. 376.
- STENT, G. 1968. That was the Molecular Biology that was. Science 16:393.

- STENT, G. 1969. The coming of the golden age. N.Y.: Am. Museum of Nat. Hist. Press. pp. 343.
- SYVANEN, M. 1984. The evolutionary implications of mobile genetic elements. Ann. Rev. Genet. 18:271-93.
- TSCHERMAK, E. 1900. Concerning Artificial Crossing in Pisum sativum. Berichte der Deutsche Botanischen Gesellschaft 18:232-239.
- TOUSSAINT, A. y A. Resibois, 1983. Phage Mu: Transposition as a Life-Style. En: Mobile Genetic Elements. Shapiro J. (ed) Ac. Press Inc. N.Y.
- THOMPSON, D. H. 1931. The Side Chain Theory of the Structure of the Gene. Genetics 16:267-290.
- VOGEL, F. y Motolsky, A.G. 1979. Human Genetics. Spring-Verlag. Berlin.
- WATSON, J. D. y F. H. C. Crick. 1953. Molecular Structure of Nuclei Acids. Nature 171:737-738.
- WATSON, J. D. y F. H. C. Crick. 1953. Genetical Implications of the Structure of Deoxyribonucleic Acid. Nature 171:964.
- WATSON, J. D. 1977. Molecular Biology of the Gene. 3a. ed. W.A. Benjamin Inc.