



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS

INSTITUTO DE FÍSICA

LA MORFOGÉNESIS EN LA DIFERENCIACIÓN CELULAR
DE FLORES: *Arabidopsis thaliana*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA

JOSÉ ROBERTO ROMERO ARIAS

Director de tesis

DR. RAFAEL ÁNGEL BARRIO PAREDES

COMITÉ TUTORAL

DRA. MARÍA ELENA ÁLVAREZ-BUYLLA ROCES

DRA. CARMEN VAREA GILABERT



posgrado en ciencias físicas
u n a m

MÉXICO D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Dedicatoria

A mis padres:

Carmen Arias y Alberto Romero

A la familia:

Ruben, Rene, Lidia, Dan, Michelle y Miriam

A los amigos:

*Allié Sarmiento, Alejandro Radillo, Atahualpa Kraemer,
Carlos Cajas, Eduardo Barrios, Fernando de Samaniego,
Fernando Salazar, Francisco Rodríguez, Gerardo Zavaleta,
Gustavo Armendáriz, Heinrich Terborg, Indira Blanco,
Josué Romero, Michelle Jiménez, Ricardo Trejo,
Roland Terborg, Tula Bernal y Yask'in Coronado*

A mi maestro:

Rafael Barrio

A la UNAM

Agradecimientos

Cada vez que me detengo a pensar, me doy cuenta que soy muy afortunado, pues siempre hay personas que me guían, me inspiran y me dan lecciones de vida. A ellas quiero agradecerles.

Recuerdo que cuando cursaba el segundo grado de primaria mi profesora Margarita mando pintar en la parte trasera del salón el esquema de una flor y números romanos alrededor. Esa imagen ha estado siempre en mi mente y no sé si eso sea la causa de que me gusten las matemáticas y la biología. Sin embargo, lo que sí sé bien es que la física me encanto gracias a mi profesor de la preparatoria, Daniel. A ellos dos: Margarita y Daniel, gracias por ser mi guía.

A lo largo de este trabajo he encontrado gente que inspiran a los demás, y claro yo no fui la excepción. Así que quiero agradecerle a las personas: que plantearon este trabajo y me dieron la oportunidad de participar en el; que revisaron este escrito y a las que siempre estuvieron a mi alrededor.

Quiero agradecerle al software libre, ya que gran parte de esta tesis y otras publicaciones relacionadas con este trabajo fueron escritas con su ayuda.

También quiero agradecer al CONACyT por el apoyo económico que me brindo durante dos años y por mostrarme que el ciclo continua.

Le doy las gracias a: la UNAM por ser una gran fuente de conocimiento e interacción social y al Instituto de Física por enseñarme que siempre hay retos que vencer.

Para finalizar, le agradezco a las personas que me dieron la vida y a las que cada día me dan lecciones. Gracias Carmen y Alberto.

Resumen

Planteamos que el problema de diferenciación celular se puede abordar con la premisa de que las células reciben del medio en el que se encuentran información espacio-temporal que les permite cambiar la expresión de sus genes a través de una interacción entre campos físicos macroscópicos y sus redes de regulación genéticas. La idea fundamental es que la red genética de cada célula interactúe con la dinámica de los campos macroscópicos durante la morfogénesis de tal manera que se rompa la simetría del espacio-tiempo para proveer de información a la red genética y ésta haga que los genes se expresen de forma selectiva. Así, describimos un modelo de coevolución entre dos sistemas físicos que reaccionan como agentes químicos para describir el desarrollo temprano de las flores en las plantas angiospermas usando a *Arabidopsis thaliana* como organismo modelo. Ya que usando la información experimental de esta podemos describir los patrones espaciales de los primordios y su evolución temporal en forma separada.

Pensando que el lugar geométrico en donde están las células antes de diferenciarse es el disparador de la expresión genética en cada célula. Entonces, tomamos la curvatura del espacio como el agente físico que rompe la simetría del lugar geométrico y la modelamos en términos de un campo-fase de curvatura espontánea que hace una separación de los lugares que ocupan los distintos primordios florales mediante una interfase difusiva. La descripción entre el lugar geométrico y la separación de fases se logra acoplando un campo que regula la curvatura del espacio físico donde conviven los primordios en el término de curvatura espontánea del modelo de campo-fase. Para obtener la diferenciación celular espacial se generaron las reglas lógicas de manera coevolutiva entre la dinámica de los campos y la red de regulación genética propuesta para *Arabidopsis thaliana*. Posteriormente, se determinó el crecimiento celular como una función matemática para describir la diferenciación celular en el espacio-tiempo. Basados en los datos experimentales del crecimiento de los primordios de *A. thaliana* y en el escalamiento del dominio para ecuaciones hidrostáticas generamos la dinámica de los campos y su acoplamiento con la red de regulación genética.

Realizamos una simulación numérica para describir el desarrollo temprano de la flor en nuestro sistema modelo y los primeros resultados relevantes fueron la obtención de los primordios con la distribución espacio-temporal tal como aparecen descritos en la literatura al igual que la predicción de todos los mutantes del modelo ABC. Otros resultados encontrados por el modelo son la predicción de mutantes no encontrados aún y la aparición de un patrón espacio-temporal equivalente a la formación de primordios en la flor de la planta *Lacandonia schismatica*, que es la única especie angiospermas dentro del cuarto millón de especies reportada hasta ahora en la literatura que tiene los estambres rodeados por carpelos .

Como punto final, mostramos la robustez de nuestro modelo cambiando los parámetros y encontramos que la distribución espacio-temporal de los órganos de la flor no se modifica drásticamente, lo que sugiere que la esencia de los sistemas biológicos queda plasmada en él y proporciona una hipótesis plausible para el intercambio de información espacio-temporal de las células indiferenciadas y su medio a través de la curvatura para generar los patrones celulares en cualquier sistema biológico y por tanto podemos decir que las ideas del desarrollo floral de *Arabidopsis thaliana* descritas en esta tesis se pueden aplicar al desarrollo floral de cualquier planta angiosperma.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Enfoque a un sistema biológico modelo: <i>Arabidopsis thaliana</i>	3
1.2. Objetivo y estructura	6
2. Modelos biológicos	7
2.1. Modelo ABC	7
2.2. Modelo de red de regulación genética (GRN)	8
3. Dinámica celular	13
3.1. Forma celular	13
3.2. Modelo de campo-fase de curvatura espontánea	14
4. Modelo coevolutivo	21
4.1. Coevolución espacial	21
4.2. Coevolución espacio-temporal (MCET)	32
5. Predicciones	39
6. Conclusiones	44
A. Escalamiento	46
B. Programas	50

Índice de figuras

1.1. Meristemo de una flor joven donde se muestran los primordios . . .	4
1.2. Micrografía del meristemo. Curvatura alrededor de los primordios	5
2.1. Diagrama del modelo ABC	8
2.2. Red de regulación genética	10
2.3. Secuencias temporales del modelo booleano estocástico	12
3.1. Superficies según el signo de sus curvaturas principales	14
3.2. Perfil del campo-fase	16
4.1. Configuración final de los campos ϕ y u	24
4.2. Distribución espacial del modelo ABC con los campos ϕ y u . . .	25
4.3. Modelo simplificado de la red de regulación genética	27
4.4. Prototipo del desarrollo floral	30
4.5. Comparación entre parámetros del modelo	31
4.6. Tiempos de entrada de la red de regulación genética	32
4.7. Fases de crecimiento de los primordios	34
4.8. Simulación de las fases de crecimiento en el meristemo	36
4.9. Comparación del parámetro σ en una vista lateral	37
4.10. Comparación del parámetro σ y D en una vista frontal	38
5.1. Comparación entre mutantes reales y mutantes obtenidos con el MCET	40
5.2. Mutantes generados con la activación directa de los genes	42
5.3. Mutante equivalente. <i>Lacandonia schismatica</i>	43

Capítulo 1

Introducción

En las últimas décadas la comunidad científica ha presenciado la unión de varias disciplinas para el tratamiento de problemas de diversas índoles. La dinámica, la evolución, la interacción, la propagación y la formación de fenómenos naturales han sido los objetos de estudio en esta unión interdisciplinaria donde las ideas físicas, matemáticas, biológicas y sociales han convergido para plantear una nueva visión de algún fenómeno. Entender la evolución de los fenómenos de forma espacial y temporal es uno de los objetivos de esta interdisciplina. Generalmente, el estudio de estos sistemas se lleva a cabo a partir de dinámicas no-lineales donde la escala de tiempo entre la interacción de los agentes que producen el fenómeno y su dinámica son del mismo orden. Muchos de estos sistemas entran en la clasificación de los fenómenos que la comunidad científica clasifica como “sistemas complejos”.

Un método relativamente reciente que nos ayuda a comprender el funcionamiento de diversos sistemas complejos está relacionado con el concepto matemático de red [27, 18]. Este concepto, se basa en la descripción general de un sistema a través de nodos y enlaces que representan los estados e interacciones entre las variables de estado del sistema. En general se pueden construir redes con propiedades notablemente diferentes para la explicación de un mismo fenómeno, por ello hay que ser críticos y claros al asociar una red a un sistema complejo. Algunos sistemas biológicos que caen dentro de nuestra clasificación de sistemas complejos y que podemos intentar describir con ayuda de redes, son aquellos donde se conoce su desarrollo molecular y donde se ha logrado la clasificación de sus genes y la interacción que tienen estos con las proteínas que hay a su alrededor y las que ellos mismos codifican. En ese sentido, los genes y sus productos forman distintos niveles de interacción que se pueden representar con redes. En particular, la activación o inhibición de ciertos genes a través de factores de transcripción que se relacionan con las proteínas que codifican, forman una red que regula la expresión de genes y se le conoce como “red de regulación genética” o “GRN” por sus siglas en inglés “Gene Regulatory Network”.

A pesar de la gran cantidad de procesos estudiados por la biología molecular en el desarrollo de los seres vivos, hay muy pocos procesos a los cuales se les ha podido asociar una red de regulación genética. En este sentido, abordar el estudio de la interacción de una GRN y su dinámica se vuelve una tarea importante para la comprensión del desarrollo de los seres vivos, pues esto se refleja en su morfología. En otras palabras, la dinámica que surge entre las variables de estado lleva al sistema a puntos atractores que forman patrones morfológicos [25]. La red de regulación actúa entonces con cada atractor mediante una combinación de estados de expresión genética que especifica un estado celular en el espacio-tiempo y por tanto, los procesos por los que pasa un organismo para obtener una morfología usando el concepto de red nos ayuda a describir el desarrollo del organismo a través de su morfogénesis.

La idea de plantear modelos matemáticos para entender los sistemas biológicos fue probablemente influenciada por el descubrimiento de patrones morfológicos en las estructuras vegetales, pues sin lugar a duda, las plantas son la evidencia más factible de la existencia de patrones matemáticos en los seres vivos [7]. Es por ello que hemos escogido la función de un sistema biológico modelo de las plantas angiospermas para desarrollar las ideas antes mencionadas. Esta función se trata del desarrollo temprano de la flor de *Arabidopsis thaliana*.

La elección de este sistema modelo se debe a que es uno de los organismos más estudiados y al cual se ha secuenciado su genoma completo [19], además de tener asociada una red de regulación genética para la diferenciación celular en etapas tempranas del desarrollo floral [14, 1, 2] y conocer la distribución espacio-tiempo de sus órganos [20, 32]. Lo que hace a *Arabidopsis thaliana* un buen sistema modelo para entender a las plantas angiospermas, es que: a) es fácilmente manipulable en el laboratorio debido a su tamaño (del orden de decímetros), b) su ciclo de vida es del orden de 6 semanas y c) se pueden estudiar mutantes al alterar las interacciones de su red de regulación genética y explorar sus efectos en el desarrollo [6, 5].

Si bien, el desarrollo floral ya tiene asociada una red de regulación en la cual los genes se manifiestan para formar partes de la flor cuando la red cae en puntos atractores [1], no es claro cómo las variables de la red mantienen el patrón morfológico cuando el organismo se desarrolla. Por ello desarrollaremos las ideas de morfogénesis en la diferenciación celular en etapas tempranas del desarrollo floral con la dinámica de dos campos físicos en coevolución con la red genética y dar con ello un nuevo enfoque al desarrollo floral usando la curvatura del espacio en el que crece la flor como la única información disponible para que las células se diferencien y generen la morfología de la flor.

1.1. Enfoque a un sistema biológico modelo:

Arabidopsis thaliana

Las células indiferenciadas o células “madre” no sólo comparten el mismo ADN, sino también los mismos genes y sus redes genéticas. Durante el desarrollo de un ser vivo las células madre adquieren un destino específico que indudablemente está gobernado por su expresión genética a través de sus redes de regulación genética y que hoy en día se asocia a la posición espacial y al linaje celular [30]. Si bien la diferenciación celular ocurre como resultado de una complicada interacción química en el medio intercelular e intracelular a través del uso de intrincados medios de comunicación entre las células, entonces es apropiado pensar en estos procesos como un sistema coevolutivo en el que la dinámica de las redes genéticas de cada célula recibe su estado espacio-temporal mediante un campo físico macroscópico que a su vez se ve influenciado por la misma expresión de los genes.

Dentro de los campos físicos que se han propuesto en la literatura como mecanismos regulatorios de diferenciación se encuentra el de campos de esfuerzos mecánicos [35]. Otro ejemplo se encuentra en la formación de patrones espaciales por difusión de sustancias químicas [34] (patrones de Turing) o comunicación entre las redes genéticas de células contiguas por difusión de algunos de sus elementos [16].

A diferencia de los animales, la morfogénesis en las plantas ocurre durante todo el ciclo de vida en grupos de células indiferenciadas llamados meristemas. Existen dos tipos de meristemas que son activos durante toda la vida de la planta, el de inflorescencia o “shoot apical meristem” (SAM) y el de raíz o “root apical meristem” (RAM). En el primero, durante la formación de la flor, aparecen cuatro regiones concéntricas de células primigenias (“primordios”) que eventualmente se convertirán en los cuatro órganos: sépalos, pétalos, estambres y carpelos, dispuestos desde fuera hacia adentro como se muestra en la figura 1.1. El patrón espacio-temporal de la morfogénesis de la flor es el mismo en aproximadamente el cuarto de millón de especies de plantas con flores, lo que sugiere que debe existir un mecanismo robusto y general en la formación de este patrón, pero que no se entiende bien hasta la fecha.

La propuesta para la reproducción de células indiferenciadas en el meristemo es un mecanismo de interacción química que se da por un gradiente de hormonas de crecimiento (en particular auxinas) [4, 17]. Bajo esta idea, se han formulado varios modelos de red de regulación genética para el desarrollo temprano de la flor de *Arabidopsis thaliana*, que proponen un mecanismo de concentración de agentes químicos que actúan como activadores selectivos de los diferentes atractores de las redes genéticas y que producen las partes de la flor. De esto, realizaremos una descripción en el capítulo 2.

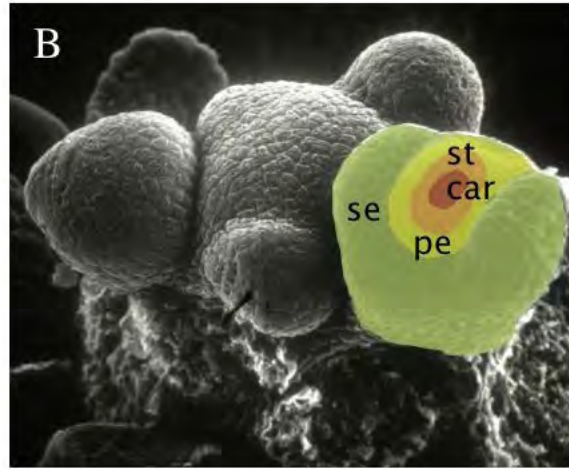


Figura 1.1: Meristemo de una flor joven dividido en cuatro regiones, cada una contiene los primordios que posteriormente se desarrollaran en órganos de la flor. De afuera hacia adentro se encuentran los sépalos(Se), pétalos(Pe), estambres(St) y carpelos(Car). Foto tomada de [1].

La disposición geométrica de los activadores en el desarrollo temprano de la flor en forma de anillos concéntricos no es un resultado que se obtenga solamente con el uso de la red regulatoria, sino también de la disposición espacio-tiempo. Para ello debe de haber alguna forma en la que las células del meristemo reciban información de donde están. Resulta interesante que estudios recientes *in vivo* del desarrollo floral en *Arabidopsis thaliana* [22, 21, 20] sugieren que la información espacio-temporal necesaria para la construcción de una geometría anillada se obtiene a través de la curvatura local, pues se ha observado que cuando aparecen los primordios la curvatura media en el meristemo sufre cambios notables [33, 22, 31]. La figura 1.2 muestra el cambio de curvatura del meristemo cuando aparecen los primeros pétalos primordiales. Cabe señalar que los otros primordios también presentan situaciones parecidas [21, 22] a la figura 1.2. Este tipo de características físicas nos lleva a pensar que el proceso de diferenciación celular con la aparición concéntrica de órganos es un caso general de las formas celulares que ha descrito Félix Campelo en su trabajo doctoral [9, 10, 11] con ayuda del modelo de campo-fase con curvatura espontánea. Así que realizaremos un estudio sobre el modelo de campo-fase para poder ligarlo con la red de regulación genética y describir con ello la morfogénesis en desarrollo temprano de las flores angiospermas a través de nuestro sistema modelo.

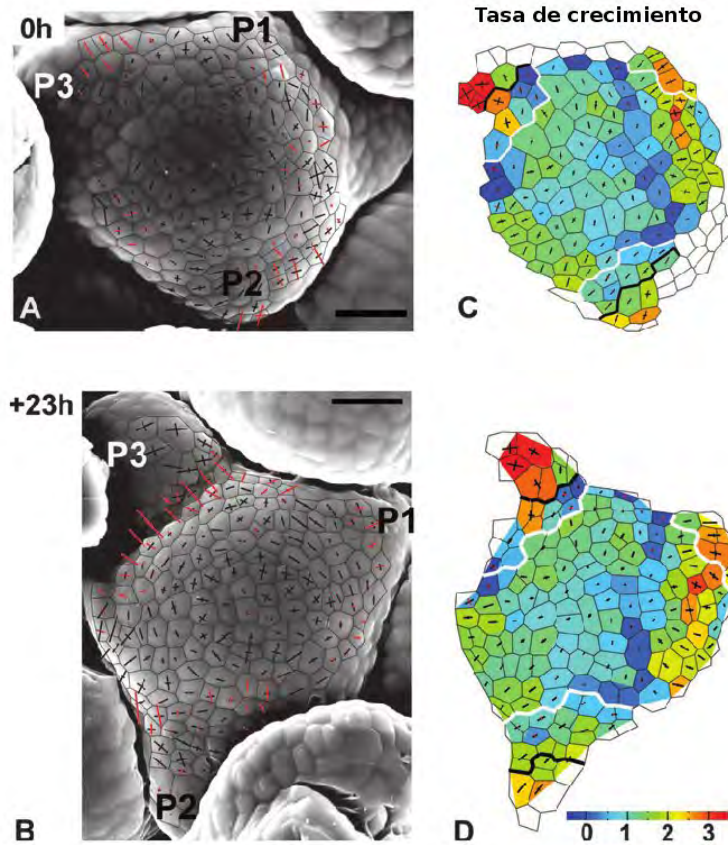


Figura 1.2: Se muestran las micrografías del meristemo de *A. thaliana* con diagramas de curvatura sobrepuestas (A, B) y las tasas de crecimiento (C, D) para el desarrollo del ápice. Los pétalos primordiales (P1-3) se nombran según su aparición. El tiempo en el que se tomaron las replicas es de 23 horas. En las figuras (A) y (B) las líneas cruzadas representan la dirección y magnitud de la curvatura celular, las líneas de color rojo tiene curvatura negativa (la superficie es cóncava) y las de color negro tiene asociadas una curvatura positiva (la superficie es convexa). Las gráficas (C) y (D) muestran las tasas de crecimiento (en unidades de $10^{-2}h^{-1}$) de los contornos celulares, las líneas cruzadas están orientadas sobre el crecimiento principal. Las fronteras primordiales se identifican cuando la curvatura meridional es negativa. Está característica se presenta en las gráficas con un delineado en dos colores: negro para el tiempo 0h; blanco para 23h. Las barras equivalen a $15\mu m$. Imágenes tomadas de [21].

1.2. Objetivo y estructura

El objetivo de este trabajo es formular un modelo coevolutivo espacio-temporal donde la red de regulación genética y la estructura topológica del espacio que se rige por campos físicos nos ayude a entender la formación de primordios y mutantes en el desarrollo temprano de *Arabidopsis thaliana* para generar una idea general de la floración de las plantas angiospermas.

Para ello, haremos una revisión de los modelos existentes en el desarrollo temprano de la flor y las características de las redes genéticas responsables al igual que los atractores que dictan la diferenciación en el capítulo 2. Usaremos el modelo de campo-fase de curvatura espontánea propuesto por F. Campelo como agente macroscópico para formular un vínculo coevolutivo con lo microscópico de la red de regulación genética y su dinámica en el capítulo 3. En el capítulo 4 desarrollaremos las ideas de un modelo puramente espacial con una red de regulación genética simplificada que incorpore los aspectos más relevantes del desarrollo temprano floral y luego incluiremos la parte temporal con el concepto de escalamiento para describir el crecimiento celular. En el capítulo 5 aplicaremos el modelo para obtener y predecir las mutaciones que se observan en la floración cuando algunos de los genes fallen. Por último mencionaremos los aspectos más relevantes de este modelo en las conclusiones.

Capítulo 2

Modelos biológicos

Desarrollo floral y la determinación de los órganos de la flor

2.1. Modelo ABC

Uno de los modelos más aceptados para entender el desarrollo floral de *Arabidopsis thaliana* es el llamado ABC. En este modelo se supone que existen interacciones con tres clases de transcritores de genes que son activados en forma diferente según su concentración relativa. Los genes que de cada clase son de carácter homeóticos y se encargan de regular la expresión del ADN a través de las proteínas que codifican. Consecuentemente a la división en las tres clases de genes, el modelo propone la identificación de cada órgano con la interacción de los genes [14]. La forma lógica de la interacción de estas tres clase determina los órganos florales suponiendo que los transcritores actúan desde el centro como se ve en la figura 2.1. De esta forma observamos que:

- Los genes de la clase A inducen el desarrollo de los sépalos (Se).
- Los genes de la clase A junto con los de la clase B inducen el desarrollo de los pétalos (Pe).
- Los genes de la clase B junto con los de la clase C inducen el desarrollo de los estambres (St).
- Los genes de la clase C inducen el desarrollo de los carpelos (Car).

La clasificación de los órganos de la flor a partir de este modelo es un buen punto de partida pues su forma simplifica la esencia de una red de regulación. Sin embargo, el modelo no proporciona una explicación de cómo las combinaciones selectivas en la activación de genes determinan una especialización en los primordios florales ni tampoco cómo los patrones espacio-temporales aparecen

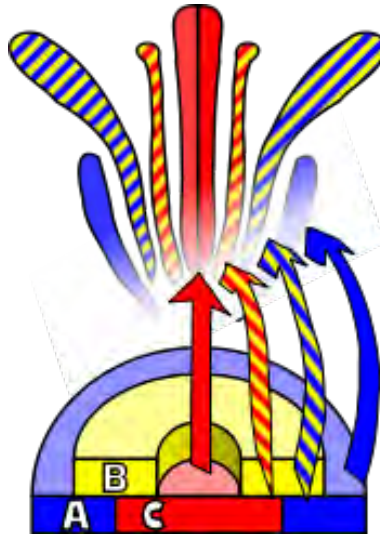


Figura 2.1: Diagrama del modelo ABC. Los genes de la clase A (azul) afectan sépalos y pétalos, los de la clase B (amarillo) se relacionan con pétalos y estambres y los de la clase C (rojo) afectan los estambres y carpelos.

al establecer sólo el modelo [13]. Además, de la acumulación y clasificación de los datos experimentales se sabe que los genes determinan el estado final de los primordios conforme se van especializando, lo que hace que detrás de un modelo tan simplificado haya agentes que proporcionen una conservación de la distribución espacial y que incluyan mecanismos robustos. Por ello, la idea de investigar y asociar una red de regulación genética al modelo de desarrollo floral despertó el interés de varios investigadores, ya que con ayuda de una GRN se podrían superar los defectos del modelo ABC como la explicación de la dinámica de los patrones estacionarios de la expresión genética que caracteriza cada célula floral primordial cuando se mantienen las interacciones de los genes ABC y los que no son ABC [23, 16].

2.2. Modelo de red de regulación genética (GRN)

Este modelo se basa en datos experimentales recolectados durante un largo período y en un trabajo arduo en su clasificación, ya que no sólo tiene las características básicas del modelo ABC, sino que también incorpora la información de múltiples interacciones de regulación que son fundamentales para el desarrollo floral y que se dan a partir de los genes *Flowering Locus T* (FT), *Terminal Flower1* (TFL1), *Sepallata* (SEP) y el gen *Wuschel* (WUS) [2]. Así, investigadores de la UNAM, en los que destacan los grupos de Elena Álvarez-Buylla y Pablo Padilla Longoria, propusieron un modelo de red de regulación genética que incluye 15 genes y cuyos atractores pueden reproducir los resultados del modelo

ABC [16, 13, 1]. La figura 2.2 muestra esta distribución. Los atractores de la red se definen como la activación sostenida de un gen o perfil característico de un tipo celular tras ser visitado por la dinámica de la red un número grande de veces [28]. La red de *A. thaliana* incluye genes que se relacionan con: las interacciones en el modelo ABC (AP1, AP2, AP3, PI, AG, SEP); los procesos de formación de los primordios y homeostasis (AG, CLF, WUS); la inflorescencia del meristemo (FT, TFL, EMF, FLY, AP1, FUL) y la formación de las fronteras (LUG, UFO) [2].

Ya que por sí sola la GRN funciona como un modelo ABC extendido, se ha planteado una dinámica para la red mediante dos modelos. El primero trata a cada gen como una variable lógica llamada booleana (X) cuyo estado final está dado en un tiempo $t + \tau$. El estado del gen, prendido o apagado, se determina con una función booleana (F) que depende de las reglas que regulan a dicho gen al tiempo t . La forma matemática de esta situación para el gen n -ésimo con k agentes regulatorios es [1]:

$$X_n(t + \tau) = F_n(X_{n1}(t), X_{n2}(t), \dots, X_{nk}(t)). \quad (2.1)$$

Algunos de los resultados de este modelo determinista se presentan en la figura 2.2(b). Un estudio más a fondo de las variables de estado de esta red se hace introduciendo un pequeño ruido para quitarle el carácter determinista a cada variable booleana mediante una probabilidad η que determina el estado de la variable a través de su función booleana. Esta probabilidad hace que la variable tenga la siguiente dinámica.

$$X_n(t + \tau) = \begin{cases} F_n(t) & \text{con probabilidad } 1 - \eta \\ 1 - F_n(t) & \eta \end{cases}, \quad (2.2)$$

De esta forma la dinámica de la red se vuelve estocástica si $\eta \neq 0$. Aunque el modelo booleano tiene una situación casi determinista permite encontrar 10 puntos atractores para el desarrollo floral y asociar 6 de ellos a los sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Este modelo permite reproducir de la secuencia temporal en la que aparecen los primordios florales. En la figura 2.3 se muestra esta secuencia para una probabilidad dada. Cabe mencionar que la aparición de los carpelos antes que los estambres recrea el del desarrollo periférico de los órganos.

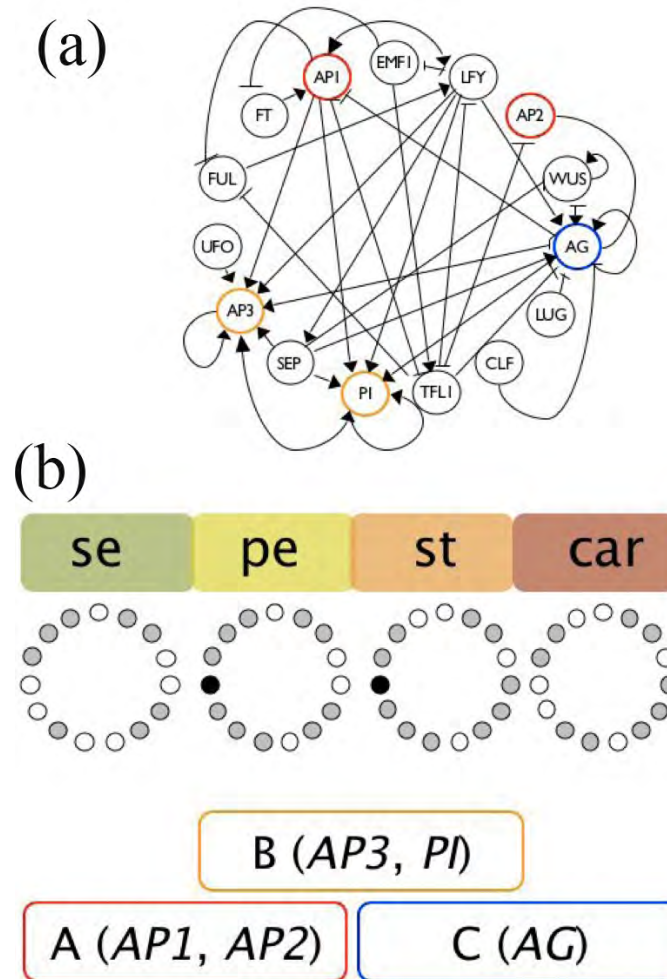


Figura 2.2: Red de regulación genética (gene regulatory network o GRN por sus siglas en inglés) propuesta con 15 genes para controlar la expresión los genes. (a) Representación del modelo para la GRN que determina el destino final de las células del meristemo. La correspondencia con el modelo ABC se indica usando los mismos colores para cada gen que en la figura 2.1. (b) Se muestran los atractores que corresponden al modelo ABC. Los genes expresados para cada atractor están pintados en una escala de grises mientras que los que no se expresan están en color blanco, los círculos en negro representan al gen UFO que tiene la libertad de expresarse o no en los pétalos y estambres, dando en efecto dos atractores para cada par de órganos. Figura tomada de [1].

Si bien, este modelo no nos ayuda a estudiar las transiciones entre los diferentes atractores de la red, sirve como catapulta para proponer un nuevo modelo, en el cual, el carácter determinista de cada variable booleana se representa usando la función de Heaviside como:

$$\hat{X}_n(t) = H(X_n - \theta_n), \quad (2.3)$$

donde $\theta_n \in (0, 1)$ está asociado con el valor umbral del gen n . La variable booleana \hat{X}_n es la parte discreta mientras que X_n es la parte continua que se asocia a la concentración de dicha variable. Así, el segundo modelo propone hacer un desarrollo temporal a primer orden en τ para el lado izquierdo de la ecuación (2.1) y con ello generar un modelo continuo mediante una ecuación tipo reacción de la siguiente forma:

$$\frac{dX_n(t)}{dt} = \alpha[G_n(X_{n1}(t), X_{n2}(t), \dots, X_{nk}(t)) - X_n(t)], \quad (2.4)$$

donde $\alpha = 1/\tau$ se convierte en la tasa de reacción, G_n es la representación continua de F_n de la ecuación (2.1). Ahora cada variable booleana se ve como una concentración y las variables discretas que representarán los estados de expresión están asociados a los valores de la función θ_n de cada gen. Esto es, un gen estará prendido si su variable continua $X_n \geq \theta_n$ y se apagará en caso contrario.

Pensando en la transición entre los estados de los genes con este nuevo modelo dinámico, Alvarez *et al.* [1] incorporan la probabilidad η de la ecuación (2.2) de una forma equivalente para las nuevas variables booleanas. Los resultados de este nuevo esquema muestran que los estados atractores del desarrollo temprano de la flor siguen visitándose en una secuencia parecida a la figura 2.3, lo que indica que detrás de todo hay un mecanismo robusto que permite que la aparición de los primordios en el desarrollo floral mantenga las características básicas del modelo ABC.

Aunque este último modelo abre nuevos canales para la interpretación de mutantes y el desarrollo temprano de la flor, la distribución espacio-temporal de los genes no está especificada en la dinámica de la red. Sin embargo, el modelo sugiere que podemos acoplar de cierta forma la expresión genética con la estructura topológica macroscópica que dictan las ecuaciones cinéticas de sus variables y con ello incluir las interacciones célula a célula, los efectos de linaje y la información posicional en la flor. Si bien, no se puede medir con precisión la forma del espacio en el que se desarrollan los primordios, los estudios de Kwiatkowska [22, 20, 33] revelan que el ápice del meristemo (SAM) presenta diferentes curvaturas alrededor de los primordios en las primeras fases del desarrollo floral indicando que la curvatura podría imponer la expresión genética de forma local y el crecimiento celular.

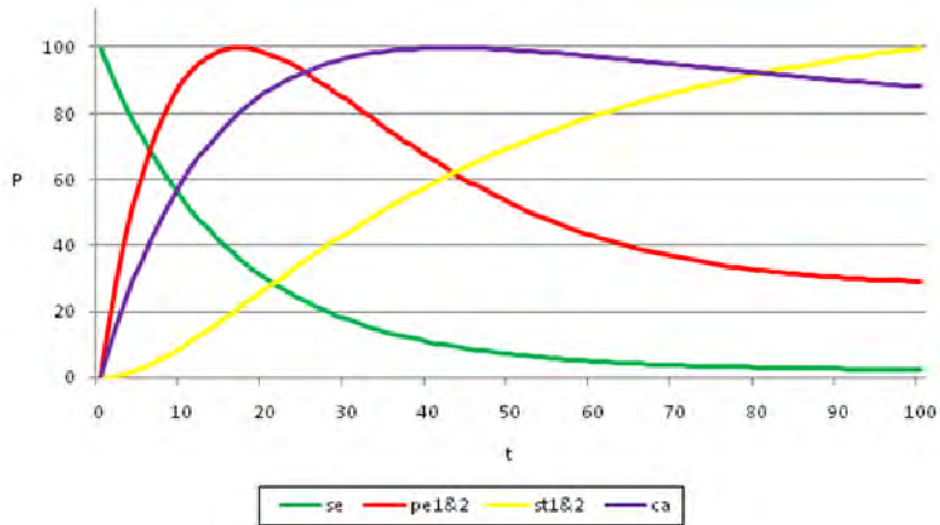


Figura 2.3: Secuencias temporales del modelo booleano estocástico donde se presenta la probabilidad porcentual “P” en la que los genes caen en un atractor (en el eje Y) contra la evolución temporal “t” (en el eje X) descrita por el número de iteraciones. La palabra “se” corresponde a los sépalos, la “pe1&2” corresponde a los pétalos, la “st1&2” a los estambres y la palabra “ca” a los carpelos. Gráfica tomada de [1].

Esta evidencia nos recuerda un proceso genérico de coevolución, en el que los genes responden a la activación e inhibición entre agentes químicos, que dictan la geometría del meristemo, y a su vez ésta última regula la dinámica entre los agentes químicos. Podríamos decir que el problema de diferenciación celular en este caso se reduce a encontrar campos macroscópicos que rompan la simetría espacio-temporal del meristemo para formar diferentes regiones que involucren una situación geométrica determinada y además a asociar transcritores a estas regiones, que induzcan a las redes de regulación genética en cada célula a llegar a alguno de sus diferentes puntos fijos y por consecuencia a formar los órganos de la flor.

Capítulo 3

Dinámica celular

3.1. Forma celular

La forma en la que las estructuras celulares se forman e interactúan en el medio intracelular se puede explicar en términos de sus fronteras. Si bien la frontera puede determinar el tipo de interacción, la forma en la que las células llegan a tener una frontera o bien membrana determinada apenas se empieza a estudiar. Las ideas que se han planteado para obtener diferentes geometrías en las membranas celulares recaen en algunas ideas que se ha planteado la física desde hace siglos y que se basan en encontrar los caminos óptimos para que surjan eventos o movimientos. Por ejemplo, la obtención de las ecuaciones de movimiento de un cuerpo a partir de la función lagrangiana o bien la obtención de la curva geodésica que une dos puntos en un espacio métrico determinado.

Dado que las membranas celulares están sujetas a constricciones físicas se les puede asociar una energía que se puede considerar como la función hamiltoniana del sistema y con ello encontrar la forma de doblado o bien energía de doblado de las membranas al minimizarla. Esta energía de doblado fue estudiada por W. Helfrich en 1973 para bicapas de lípidos incorporando propiedades elásticas de la membrana a través de la curvatura como una función cuadrática de sus curvaturas principales, C_1 y C_2 [36]. Así, la densidad de energía de doblado por unidad de área está dada por [9]:

$$\omega_c = \frac{1}{2}\kappa(J - c_0)^2 + \bar{\kappa}K, \omega_c = \frac{1}{2}\kappa(J - c_0)^2 + \bar{\kappa}K, \quad (3.1)$$

donde $J = C_1 + C_2$ es la curvatura total, $K = C_1C_2$ es la curvatura gaussiana, c_0 es la curvatura espontánea de la superficie de la membrana y las κ 's representan los módulos elásticos de las curvaturas. Este modelo recupera la ideas desarrolladas por Canham tres años antes para explicar la forma de los glóbulos rojos de la sangre [12] y otras membranas a partir de la minimización de la energía. La figura 3.1 muestra la forma genérica en la que operan las curvaturas

en un punto de la superficie de la membrana suponiendo que esta es homogénea y tiene asociada funciones analíticas que determinan su forma. El origen físico de la curvatura espontánea recae en varios procesos – como la inserción de proteínas através de la membrana, por la composición de los lípidos que forma la frontera o por agentes externos como el medio donde se desarrollan las células [10]– que hacen que las células conserven su proporción área-volumen tratando de alcanzar su menor estado de energía a costa de una longitud mayor.

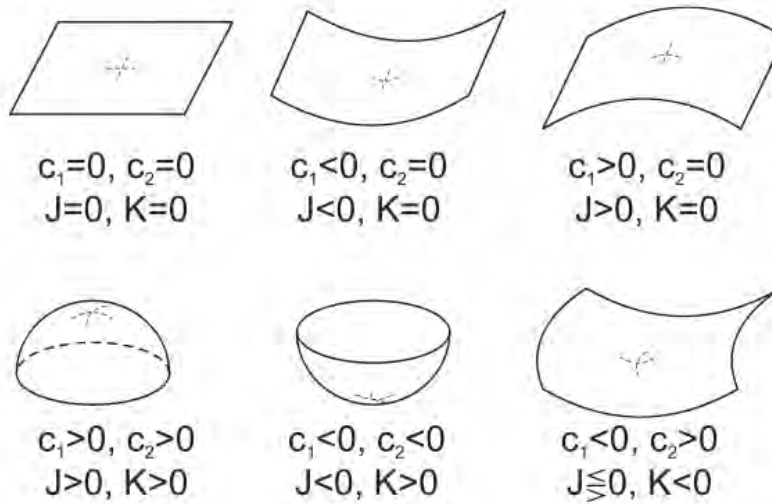


Figura 3.1: Diferentes tipos de superficies según el signo de sus curvaturas principales C_1 y C_2 y las curvaturas totales J y gaussiana K . Diagrama tomado de [9].

3.2. Modelo de campo-fase de curvatura espontánea

Una forma alternativa para ver los procesos de formación de membranas celulares la ha descrito Félix Campelo en su tesis doctoral y en algunos artículos publicados [10, 11, 9]. Esta propuesta consiste en relacionar la energía de doblado de una membrana celular con la distribución de su frontera en el espacio con ayuda de un campo-fase. Esta nueva descripción permite también incorporar las constricciones que impone el espacio donde se forman las membranas de manera más natural que en los modelos de Canham y Helfrich. La forma en que el modelo de campo-fase puede introducir las características físicas del medio intercelular es considerando que el medio induce una curvatura en la membrana que se le conoce como curvatura espontánea. La idea general de lo anterior se

conoce como campo-fase de curvatura espontánea y uno de sus principales méritos lo a conseguido al describir el aperlamiento de una membrana cuando entra en contacto con un polímero hidrofílico suponiendo que la concentración de este tiene una influencia lineal en la curvatura espontánea de la membrana [10]. La situación clásica de esto se conoce como la inestabilidad de Rayleigh-Plateau.

Caracterización del campo-fase

Pensando en extrapolar la idea de formación de membranas celulares a la formación de fronteras que hacen un grupo grande de células en un organismo y al final un tejido, uno se da cuenta que el problema se podría atacar a partir de la forma en la que las membranas de cada célula forma una frontera con un análisis estadístico sobre como estas se curvan para formar la frontera de manera local o bien usando un método que tome la información global de la fronteras y que conserve las ideas de formación de membranas a partir de la optimización y las interacciones del medio intercelular sobre la frontera. El uso de un campo-fase engloba los acontecimientos en la frontera y además puede expresarse mediante ecuaciones diferenciales parciales [10]. Dicho campo sólo se concentra en entender lo que pasa en la frontera como una interfase matemática entre dos fases y se olvida de lo que pasa internamente. Situaciones parecidas a este fenómeno se ven usualmente en el tratamiento hidrodinámico donde se plantea la dinámica del cuerpo o “bulto” de un fenómeno sin ocuparse de sus partes internas como por ejemplo, el flujo de aire a través de una avión o automóvil, los modelos de capa límite o bien la unión de gotas de aceite en una superficie de agua. De esta forma, el propósito del campo-fase es describir la dinámica del “bulto” en la frontera y para ello propone que hay una interfase delgada con un parámetro difusivo entre las fronteras de sus agentes. En el contexto de esta tesis se limita al contacto entre dos grupos de células teniendo en cuenta los estudios de Kwiatkowska [21, 22] que revelan que la separación de estos grupos celulares cambia la frontera.

La forma de caracterizar este campo consiste en pensar que un parámetro $\phi(\mathbf{r})$ que depende de la posición y asigna un valor o “fase” a cada punto de su dominio de tal forma que genera dos mesetas en las que se representan las fronteras de cada agente y que se separa por una interfase difusiva, para excluir las fases no abruptamente. Como el valor de las mesetas no está determinado se proponen valores ± 1 donde el valor positivo corresponde a una fase, digamos fase ϕ_A , y el negativo a la otra fase, ϕ_B . En la figura 3.2 mostramos un perfil cualitativo del campo-fase. Pensando en que el campo-fase es una función regular y analítica del espacio, se propone un perfil de tangente hiperbólica como función de la distancia a la interfase, $d(\mathbf{r})$, y su ancho difusivo, ϵ , de tal forma que cumplan las condiciones de frontera $\phi(\pm\infty) = \pm 1$ [9]. El motivo de tomar este perfil así es porque el gradiente de la distancia nos da el vector normal a la interfase. El perfil es:

$$\phi(\mathbf{r}) = \tanh \frac{d(\mathbf{r})}{\sqrt{2}\epsilon}. \quad (3.2)$$

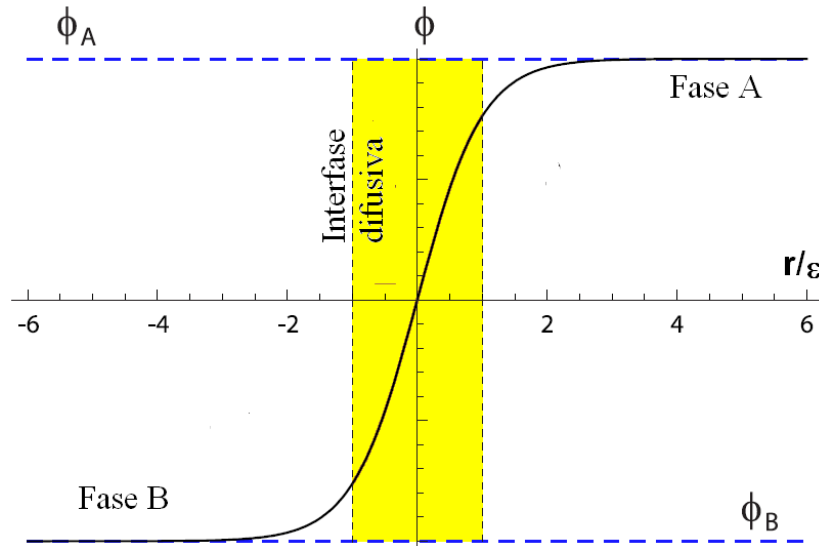


Figura 3.2: Perfil de tangente hiperbólica de la ecuación (3.2). Fases del campo ϕ según el signo de la función e interfase difusiva entre las fases.

Dinámica de Cahn-Hilliard

A manera de entender los procesos que ocurren en el modelo de campo-fase de curvatura espontánea que abordaremos más adelante, describiremos el modelo-B o modelo de Cahn-Hilliard que estudia la descomposición de aleaciones binarias. En este caso, el campo ϕ representa la concentración de las dos componentes de la aleación y también una cantidad que se conserva de manera local, es decir, el campo ϕ sigue la ley de Fick:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\nabla \cdot J_\phi, \quad (3.3)$$

donde el flujo en la aproximación lineal es $J_\phi = -D_\phi \nabla \mu$. D_ϕ es el parámetro difusivo que puede depender del campo y μ es el potencial químico que representa los cambios de la energía con respecto al campo.

Pensado que la energía libre total del sistema (Ω_f) descrita por su densidad de energía libre ($\omega_f(\mathbf{r})$) como [8]:

$$\Omega_f = \int_V \omega_f(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (3.4)$$

donde V es el volumen, es función de la concentración y sus gradientes, es decir, $\omega_f = \omega_f(\phi, \nabla\phi)$ y que el sistema es isotrópico y homogéneo. Entonces, uno puede escribir:

$$\omega_f = g(\phi) + \frac{\epsilon^2}{2} |\nabla\phi|^2. \quad (3.5)$$

De esta forma, el potencial químico lo podemos encontrar como:

$$\mu[\phi] = \frac{\delta\Omega_f}{\delta\phi} = \frac{\partial}{\partial\phi} g(\phi) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (3.6)$$

Si se considera que la parte homogénea tiene es biestable, obtenemos:

$$g[\phi] = -\frac{\phi^2}{2} + \frac{\phi^4}{4}, \quad (3.7)$$

y por tanto

$$\mu[\phi] = -\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (3.8)$$

Al final, la energía libre total del sistema se describe a partir del potencial químico y sus tres puntos de inflexión, de los cuales los dos extremos son estables y corresponden a las dos fases que hay en la aleación, mientras que el tercer punto, que además está en el centro, es inestable y no corresponde a ninguna fase. El modelo de Cahn-Hilliard usando las ecuaciones (3.3), (3.6) y (3.6) se puede representar por la ecuación dinámica:

$$\frac{\partial\phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 [-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi]. \quad (3.9)$$

El campo-fase en el modelo de Helfrich

Retomando las ideas de Helfrich para membranas en una superficie cerrada, nos damos cuenta que la curvatura gaussiana se convierte en una invariante topológica según el teorema Gauss-Bonnet y por tanto funciona como un punto de referencia en la energía libre al no cambiar las condiciones topológicas del espacio. La energía libre, Ω , del sistema a través de su densidad de energía w_c de la ecuación (3.1) queda como:

$$\Omega = \frac{\kappa}{2} \int_S (J - c_0)^2 ds. \quad (3.10)$$

Cabe mencionar que la curvatura espontánea c_0 en general puede depender de la posición o bien de las concentraciones que delimitan la frontera. Si bien, no haremos un análisis para describir la curvatura espontánea en términos de

un campo por ahora, si consideraremos que la curvatura media al igual que la energía dependen de cada punto de la superficie S . Como el campo ϕ asigna a cada punto de esta superficie un valor asociándoles una fase. Entonces, podemos pensar en reformular la energía como una funcional del campo. Para ello hay que considerar que el elemento de área ds lo podemos escribir como:

$$ds = \delta(d(\mathbf{r}))d\mathbf{r}. \quad (3.11)$$

Viendo el perfil de tangente hiperbólica como una función escalón cuando $\epsilon \rightarrow 0$. Es entonces fácil pensar que la delta de Dirac está relacionada con la derivada de la ecuación (3.2) respecto a su argumento como:

$$\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \left\{ \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} \operatorname{sech}^4 \frac{d(\mathbf{r})}{\sqrt{2}\epsilon} \right\} = \delta(d(\mathbf{r})). \quad (3.12)$$

Usando las dos ecuaciones anteriores y la derivada de la tangente hiperbólica tenemos que:

$$ds = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} (1 - \phi^2)^2 d\mathbf{r}. \quad (3.13)$$

Por otro lado, las derivadas del campo-fase respecto a las coordenadas queda como [10]:

$$\partial_i \phi = \frac{1}{\sqrt{2}\epsilon} \phi' \partial_i d, \quad (3.14)$$

y

$$\partial_{ij}^2 \phi = \frac{1}{2\epsilon^2} \phi'' \partial_i d \partial_j d + \frac{1}{\sqrt{2}\epsilon} \phi' \partial_{ij}^2 d, \quad (3.15)$$

donde la notación $\partial_i \equiv d/dx^i$ corresponde a las derivadas con respecto a las coordenadas y la prima corresponde a la derivada respecto al argumento $d(\mathbf{r})/\sqrt{2}\epsilon$. Si usamos las ecuaciones anteriores, podemos escribir la distancia a la interfase como función del campo de la siguiente forma:

$$\partial_{ij}^2 d = \frac{\sqrt{2}\epsilon}{1 - \phi^2} \left[\partial_{ij}^2 \phi + \frac{2\phi}{1 - \phi^2} \partial_i \phi \partial_j \phi \right]. \quad (3.16)$$

Considerando que la curvatura media es una invariante ante transformaciones de coordenadas, ésta puede escribirse como [10]:

$$J = \frac{1}{2} \operatorname{tr} [\nabla_{ij}^2 d]. \quad (3.17)$$

Usando la ecuación (3.16) y la derivada de la tangente hiperbólica obtenemos la curvatura media en términos del campo-fase así:

$$J[\phi] = -\frac{\sqrt{2}}{2\epsilon(1 - \phi^2)} (-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi). \quad (3.18)$$

Tomando las ecuaciones (3.13) y (3.18), la ecuación (3.10) queda descrita en términos del campo fase como [10]:

$$\Omega[\phi(\mathbf{r})] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_V (\Phi[\phi(\mathbf{r})])^2 d\mathbf{r}, \quad (3.19)$$

donde

$$\Phi[\phi] = -\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi - \epsilon C_0 (1 - \phi^2). \quad (3.20)$$

y

$$\bar{\kappa} = \frac{3\sqrt{2}}{4\epsilon^3} \kappa, \quad (3.21)$$

la curvatura espontánea $C_0 = c_0/\sqrt{2}$ sigue dependiendo de la posición. La V representa el volumen donde se encuentra la interfase. Cabe mencionar que el propósito del campo-fase queda explícito en la ecuación (3.19) ya que no hay que preocuparse por saber cómo cambia la interfase sino saber donde se está ubicando en el volumen. Los primeros tres términos de la ecuación (3.20) no son más que el potencial químico del modelo de Cahn-Hilliard [8]. Por tanto,

$$\Phi[\phi] = \mu[\phi] - \epsilon C_0 (1 - \phi^2), \quad (3.22)$$

Constricciones geométricas

Si bien, la frontera está sujeta a constricciones geométricas, éstas no se encuentran dentro del modelo de energía libre propuesto por el campo-fase y por ello hay que incluirlas como un multiplicador de Lagrange que nos ayude a conservar la relación área-volumen a lo largo del dominio geométrico dictado por la frontera. De esta forma podemos definir la funcional de energía libre efectiva como:

$$\Omega_{ef}[\phi] = \Omega[\phi] + \sigma \int_V a[\phi] d\mathbf{r}, \quad (3.23)$$

donde σ es el multiplicador de Lagrange y que podemos interpretar como la tensión superficial y $a[\phi]$ es la funcional de área. Teniendo en cuenta que $a(\mathbf{r}) = \delta(d(\mathbf{r}))$ y el perfil del campo dado por la ecuación (3.2), entonces [9]:

$$a[\phi] = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} |\nabla\phi|^2. \quad (3.24)$$

En este sentido, el área total encerrada por la frontera es:

$$\int_S ds = \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \int_V a[\phi] d\mathbf{r}, \quad (3.25)$$

Ecuaciones dinámicas

Para encontrar la dinámica del campo-fase hay que tomar el método variacional que propone Cahn-Hilliard en su modelo-B considerando que el campo es un parámetro conservado, o mejor dicho, que el volumen encerrado se conserva. La ecuación dinámica se escribe como:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla^2 \left(\frac{\delta \Omega[\phi]}{\delta \phi} \right), \quad (3.26)$$

donde

$$\frac{\delta \Omega[\phi]}{\delta \phi} = \frac{\partial \omega}{\partial \phi} - \nabla \cdot \frac{\partial \omega}{\partial (\nabla \phi)} + \nabla^2 \frac{\partial \omega}{\partial (\nabla^2 \phi)}, \quad (3.27)$$

es la derivada funcional de la energía libre considerando a ω como la densidad de energía. La dinámica que rige el campo-fase ϕ de curvatura espontánea y con la cual trabajaremos más adelante es:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \bar{\kappa} \nabla^2 \{ (3\phi^2 - 1 - 2\epsilon C_0(\mathbf{r})\phi) \Phi[\phi] - \epsilon^2 \nabla^2 \Phi[\phi] + \epsilon^2 \bar{\sigma} \nabla^2 \phi \}, \quad (3.28)$$

donde $\bar{\sigma} = \frac{\sqrt{2}}{6\epsilon^3 \bar{\kappa}} \sigma$.

Capítulo 4

Modelo coevolutivo

Retomando el propósito de esta tesis consideremos en primera instancia que el tamaño del meristemo está fijo justo en el momento en que aparece un primordio. Entonces, esto determina una división del dominio geométrico del meristemo que podemos interpretar como la formación de dos módulos celulares que se separan por una interfase. Estos módulos interactúan entre sí cuando la flor va creciendo lo que provoca que cada módulo se reajuste en el espacio y en el tiempo. Es evidente entonces que los procesos importantes ocurren justamente en la superficie que separa ambos módulos. En este sentido, sólo nos interesaría estudiar la dinámica de la frontera. En física, este problema se reduce a proponer la interacción de los módulos mediante un intercambio de energía y otras cantidades conservadas que reproduzca la forma de la interfase y los módulos.

Para empezar a formular un modelo que reúna estas características es indispensable que la distribución espacio-temporal de los primordios cumpla con el crecimiento y distribución espacial en la floración de *Arabidopsis thaliana*. Por ello, fijaremos nuestra atención en la distribución espacial de los primordios como punto de partida y posteriormente podremos incorporar la parte temporal a este modelo pensando en el crecimiento de los primordios, claro, sin olvidar que la red de regulación juega un papel muy importante.

4.1. Coevolución espacial

Caracterización macroscópica

Pensando en el modelo de campo-fase de curvatura espontánea desarrollado en el capítulo anterior, los módulos de la floración se representarían como fases (en el sentido termodinámico) de un sistema usando el campo ϕ , que es un parámetro de orden conservado. El valor del parámetro de orden en el espacio simularía dos fases separadas abruptamente en los lugares donde el campo cambia de valor, como en la figura 3.2. De esta forma la dinámica de cada fase,

que corresponde a cada primordio en la flor, se describe con ecuaciones diferenciales parciales. Como mencionamos anteriormente, la distribución espacial de cada fase se debe relacionar con la forma en la que el modelo ABC y el de la red de regulación genética describen la formación de los primordios. Si bien, la evidencia experimental revela que hay un cambio en la curvatura del ápice del meristemo cuando aparecen los primordios [20, 21, 22], como se ve en la figura 1.2. Pensamos que este hecho lo podemos ligar al acoplamiento del campo-fase de curvatura espontánea mediante el uso de un campo u que regule la curvatura espontánea en el término C_0 de la ecuación 3.20 y permita una expresión genética de manera local. Al igual que ϕ , el campo u toma valores del espacio y les asocia una fase a través de la curvatura espontánea. Pesando en la aproximación lineal para C_0 en términos de u , podemos escribir:

$$C_0[u] = C(1 + \beta u), \quad (4.1)$$

donde C es la curvatura espontánea local y β es el parámetro que mide la fuerza de la interacción.

Ahora pensemos en el modelo ABC y consideremos al campo ϕ tal que $\phi = 1$ es donde la concentración de la clase A domina y $\phi = -1$ en regiones donde la concentración de la clase C domina. De esta forma, las regiones de ambas concentraciones están separadas por una delgada interfase debido a la exclusión mutua de los genes. El acoplamiento del agente B lo hacemos a través del campo u considerando que el gen de la clase B delimita los primordios de la flor y por tanto u debe formar el vínculo coevolutivo entre la dinámica de los campos y el modelo ABC o la GRN. Entonces, proponemos que la curvatura de u obtenga información del estado de la GRN de manera local a través de un potencial $R(u)$, que nos diga como cambia la interfase. De esta forma, proponemos una densidad de energía que tome las constricciones de la frontera para la conservación del campo ϕ y la formación de u como [3]:

$$\omega = \mu^2 + R(u) (\phi^2 - 1)^2 + \frac{D}{2} |\nabla u|^2 + \frac{\sigma}{2} |\nabla \phi|^2, \quad (4.2)$$

donde R representa la energía potencial del campo u , D y σ están relacionadas con la energía para cambiar la superficie de los campos u y ϕ , respectivamente. La densidad de energía dada por μ^2 no es otra cosa que la obtenida en las ecuaciones (3.19) y (3.22). Por tanto, el nuevo “potencial químico” está dado por:

$$\mu = \phi (\phi^2 - 1) - \epsilon C (\phi^2 - 1) (1 + \beta u) - \frac{\epsilon^2}{2} \nabla^2 \phi, \quad (4.3)$$

donde C es término de curvatura espontánea local, la ϵ está relacionada al ancho de la interfase y β es el parámetro que mide la fuerza de la interacción.

La energía total Ω se define como:

$$\Omega = \int_V \omega \, d\mathbf{r}. \quad (4.4)$$

donde ω es la densidad de energía y V es el volumen donde se encuentra distribuida. Pensando que la escala de tiempo donde evolucionan los campos es tal que el meristemo permanece constante. Entonces podemos interpretar la cinética de los campos como una cinética conservativa y por tanto la dinámica del sistema se puede calcular a partir de la variación de Ω en función de los campos ϕ y u como en las ecuaciones (3.26) y (3.27) de la forma siguiente:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi}{\partial t} &= \nabla^2 (F_1 + F_s) \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= \nabla^2 G, \end{aligned} \quad (4.5)$$

donde

$$\begin{aligned} F_s &= \sigma \nabla^2 \phi \\ F_1 &= 2\mu [3\phi^2 - 1 - 2\epsilon C \phi(1 + \beta u)] \\ &\quad - \epsilon^2 \nabla^2 \mu + 4R\phi(\phi^2 - 1) \\ G &= \frac{\partial R}{\partial u} (\phi^2 - 1)^2 - 2\epsilon C \beta \mu (\phi^2 - 1) \\ &\quad - D \nabla^2 u. \end{aligned} \quad (4.6)$$

El parámetro σ está relacionado con el área que encierra el volumen de ϕ . Si queremos que ésta se conserve, debemos considerar a σ como un multiplicador de Lagrange y por tanto calcularlo a partir de $dS/dt = 0$ Tomando las ecuaciones (3.24) y (3.25) observamos que:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d}{dt} \int_S ds \propto \int_V \nabla \phi \cdot \left(\nabla \frac{\partial \phi}{\partial t} \right) d\mathbf{r}, \quad (4.7)$$

por lo que al sustituir la ecuación dinámica para ϕ y haciendo la integral cero obtenemos:

$$\sigma = - \frac{\int \nabla \phi \cdot \nabla (\nabla^2 F_1) \, d\mathbf{r}}{\int \nabla \phi \cdot \nabla [\nabla^2 (\nabla^2 \phi)] \, d\mathbf{r}}, \quad (4.8)$$

Integración numérica

Teniendo en cuenta que el meristemo en su fase justo antes de la diferenciación tiene un diámetro de ~ 50 células [32] integramos numéricamente estas ecuaciones en un dominio bidimensional cuadrado de 50×50 , pensando en que

cada píxel del dominio representará el estado de una célula. Usamos las ecuaciones (4.5) en un dominio bidimensional observando que el crecimiento del meristemo se da con una simetría cilíndrica y por tanto el dominio que contiene el eje de simetría representaría la forma periférica en la que los primordios se desarrollan. La forma en que realizamos la simulación numérica fue usando el método de Euler simple con un paso $dt = 5 \times 10^{-4}$ para la parte temporal y el método de diferencias finitas para la parte espacial con condiciones a la frontera de flujo cero para evitar problemas de tamaño y con condiciones iniciales que delinear un perfil circular de tangente hiperbólica de radio $r = 10$, donde $\phi = -1$ afuera y $\phi = 1$ dentro en dirección del eje de simetría. Se tomó $u = 0$ como condición inicial sobre todo el espacio. Como primer ejemplo simple escogeremos el potencial parabólico para u con un pozo: $R = (u - 1)^2$.

Las figuras 4.1(a) y 4.1(b) muestran la configuración final de los campos ϕ y u respectivamente, después de 2.86×10^4 iteraciones en el tiempo. Pensando aun en el modelo ABC, podemos asociar la aparición de los primordios según los signos de los campos como primer modelo. Así, la formación de los carpelos (Car) corresponde a $\phi > 0$ y $u < 0$; la formación de los estambres (St) se debe a $\phi > 0$ y $u > 0$; la de los pétalos (Pe) está dada por $\phi < 0$ y $u > 0$ y finalmente la formación de los sépalos (Se) se debe a $\phi < 0$ y $u < 0$. Las figuras 4.2(a) y 4.2(b) muestran este hecho. Es evidente que la aparición de los primordios no se debe a una asignación arbitraria de los signos de los campos como lo hemos hecho, sino a la interacción de la GRN con los campos. Por ello revisaremos la red de la figura 2.2 para proponer la forma en que interacciona la GRN de cada célula con la dinámica macroscópica de los campos.

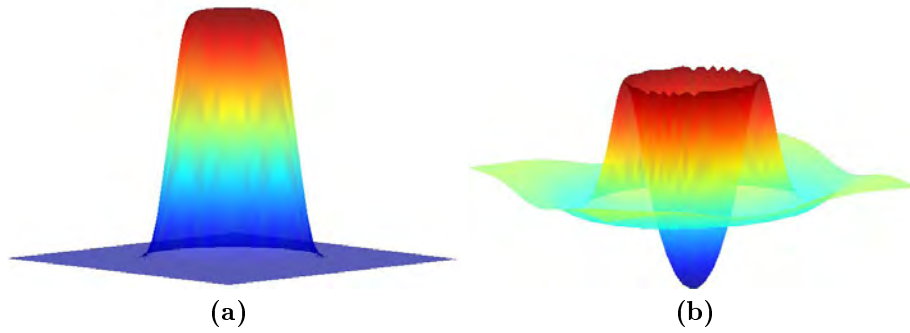
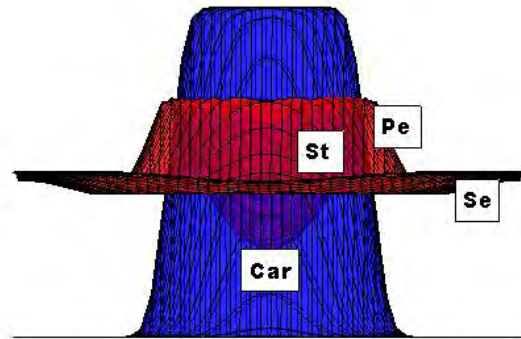
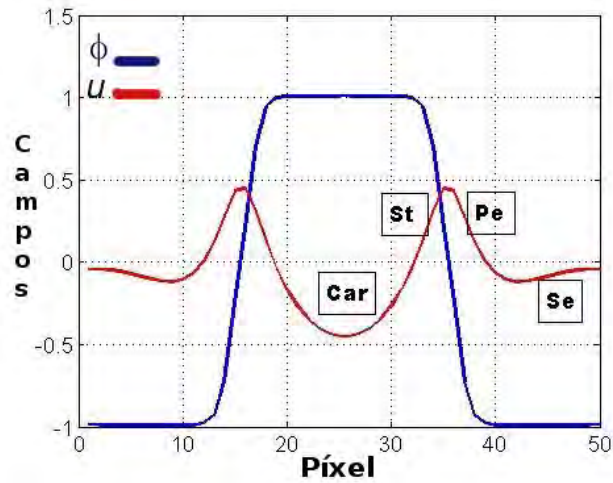


Figura 4.1: (a) Configuración final del campo ϕ . (b) Configuración final del campo u . Se realizaron 28600 iteraciones temporales y los valores de los parámetros fueron: $C = 0.1$, $D = 5$, $\beta = 0.2$ y $\epsilon = 0.1$.



(a)



(b)

Figura 4.2: (a) Distribución espacial del modelo ABC, el campo u en rojo y el campo ϕ en azul. (b) Perfil de la distribución espacial en el centro del dominio. Los parámetros usados fueron los de la figura anterior.

Cabe mencionar que los resultados obtenidos en la figura 4.2 se conservan cuando los parámetros cambian dentro de límites razonables. Para tiempos muy grandes, eventualmente la forma de los campos cambia, pero no cualitativamente. Esto significa que nuestro primer modelo tiene un grado de robustez grande que lo hace apropiado para tratar procesos biológicos, pues como sabemos éstos se deben adaptar a la presencia de cambios abruptos del medio sin destruirse.

Es de esperarse que la escala de tiempo dT en que se acoplan los campos con los genes sea más grande que la escala de tiempo característica de la dinámica de los campos (dt). Así en los cálculos numéricos hacemos actuar este acoplamiento después de un número grande de iteraciones.

Las operaciones lógicas muestran que hay 2^6 posibles condiciones iniciales de nuestro modelo. Sin embargo, hay cuatro atractores a los cuales se les puede asignar un primordio en la flor de la siguiente forma:

$$(\text{WUS}, \text{AP1}, \text{AP3}, \text{AG}) = \begin{cases} (w, 0, 0, 1) & \text{Car} \\ (w, 0, 1, 1) & \text{St} \\ (w, 1, 1, 0) & \text{Pe} \\ (w, 1, 0, 0) & \text{Se} \end{cases} \quad (4.9)$$

donde w representa el estado de WUS y juega el papel de organizador de los primordios como era de esperarse, ya que $w = 0$ se relaciona con los sépalos y pétalos, mientras que $w = 1$ se relaciona con los estambres y carpelos.

Caracterización microscópica

Hasta ahora nuestro primer modelo usando el campo-fase de curvatura espontánea puede reproducir la geometría postulada por el modelo ABC si asignamos arbitrariamente los primordios florales a los valores que obtienen los campos. Sin embargo, esta labor debe ser realizada por los genes de forma que tenemos que acoplar la GRN con el campo-fase. Si bien, el modelo ABC establece las combinaciones necesarias entre los genes y sus primordios florales, la red de regulación genética propuesta en el capítulo 2 incorpora estas propiedades y otras más para asignar la aparición de los diferentes primordios florales a genes específicos, como lo muestra la figura 2.2. A pesar de que la red de regulación es muy grande para ser acoplada con los dos campos físicos que proponemos, creemos que contiene los datos más relevantes para la formación de los primordios florales que necesitamos [1, 2, 33, 29] y que podemos identificar con los campos.

Primeramente consideremos: que el gen WUS actúa como un regulador y modulador de células indiferenciadas en el núcleo del meristemo (SAM); que el gen AP3 está asociado a la formación de estambres y pétalos; que el gen AP1 se relaciona con los sépalos y que el gen AG se relaciona con los carpelos. Posteriormente, nos damos cuenta que la GRN tiene genes que se autoregulan (como los genes WUS, AG, PI y AP3) y otros que reciben información extra (como los genes WUS, AP1, AP3 y AG). Estas evidencias nos permite pensar que la interacción macroscópica con la GRN ocurre principalmente en dos genes, la

primera a través del campo ϕ con el gen WUS para que regule el crecimiento del meristemo y la segunda con el campo u en el gen AP3 para detectar la información de las interfases basado en la formación de fronteras que le dicta el gen UFO al gen AP3. Uniendo estos resultados conseguimos un modelo simplificado de GRN que incluye los modelos ABC y los méritos de la GRN propuesta en el capítulo 2 para el desarrollo floral de *Arabidopsis thaliana* [3]. La forma esquemática del modelo acoplado aparece en la figura 4.3.

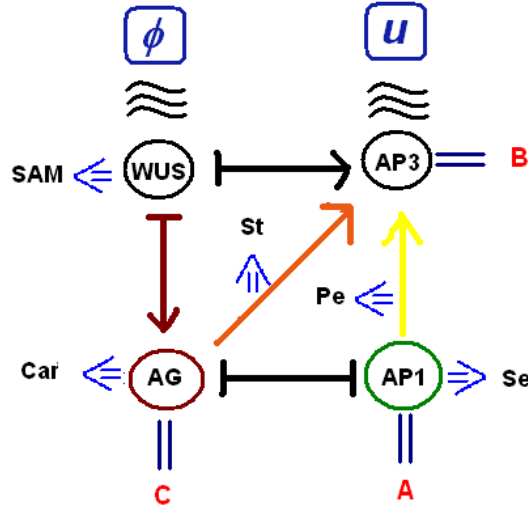


Figura 4.3: Modelo simplificado de la GRN o GRNs. La flecha indica un activador y la barra un inhibidor. Las ondas indican la forma de interacción predominante de la GRNs con los campos ϕ y u . Los símbolos de igualdad relacionan la GRNs con el modelo ABC y los símbolos de implicación muestran el promordio floral.

Las operaciones lógicas F_i de los genes que están representados en la figura 4.3 son las siguientes:

$$F_{AP1} = \begin{cases} 0 & \text{si } AG = 1 \\ 1 & \text{si } AG = 0 \end{cases} \quad (4.10)$$

$$F_{AP3} = \begin{cases} 0 & \text{si } u \leq 0 \\ 1 & \text{si } u > 0 \text{ ó } (WUS + AG + AP1) > 1 \end{cases} \quad (4.11)$$

$$F_{AG} = \begin{cases} 0 & \text{si } AP1 = 1 \text{ y } AP3 = 1 \\ 1 & \text{si } WUS = 1 \end{cases} \quad (4.12)$$

$$F_{WUS} = \begin{cases} 0 & \text{si } \phi \leq 0 \text{ ó } AG = 1 \text{ ó } AP3 = 1 \\ 1 & \text{si } \phi > 0 \end{cases} \quad (4.13)$$

y la dinámica que siguen es:

$$X_n(t + \tau) = X_n(t) + \delta(t + dT)[F_n(t) - X_n(t)], \quad (4.14)$$

donde X es la variable dinámica que representa el estado del gen, es decir prendido o apagado, n representa a los genes WUS, AP1, AP3 y AG, δ toma valores 0 ó 1 si $t \neq n \cdot dT$ o si $t = n \cdot dT$ respectivamente, con n un número entero. dT es el tiempo que tarda en interactuar la GRNs con la dinámica de los campos. Estas operaciones lógicas las organizamos en la tabla de verdad 4.1.

Es de esperarse que la escala de tiempo dT en que se acoplan los campos con los genes sea más grande que la escala de tiempo característica de la dinámica de los campos (dt). Así en los cálculos numéricos hacemos actuar este acoplamiento después de un número grande de iteraciones.

Las operaciones lógicas muestran que hay 2^6 posibles condiciones iniciales de nuestro modelo. Sin embargo, hay cuatro atractores a los cuales se les puede asignar un primordio en la flor de la siguiente forma:

$$(WUS, AP1, AP3, AG) = \begin{cases} (w, 0, 0, 1) & \text{Car} \\ (w, 0, 1, 1) & \text{St} \\ (w, 1, 1, 0) & \text{Pe} \\ (w, 1, 0, 0) & \text{Se} \end{cases} \quad (4.15)$$

donde w representa el estado de WUS y juega el papel de organizador de los primordios como era de esperarse, ya que $w = 0$ se relaciona con los sépalos y pétalos, mientras que $w = 1$ se relaciona con los estambres y carpelos.

Genes				Estados de los genes dados por sus funciones lógicas F_i 's y el signo de los campos después de una iteración															
WUS	$AP1$	$AP3$	AG	$F_{WUS} F_{AP1} F_{AP3} F_{AG}$															
				$\phi < 0, u < 0$				$\phi < 0, u > 0$				$\phi > 0, u < 0$				$\phi > 0, u > 0$			
0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0
0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1
1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1

Tabla 4.1: Tablas de verdad construidas a partir de las funciones lógicas y los estados de los genes de la GRNs.

Como mencionamos al construir las ecuaciones (4.5) la influencia de los genes en los campos debería ser a través del potencial R y los estados de expresión genética. Por ello, proponemos que los puntos fijos del potencial sean $u = \pm 1$ y escogeremos la adaptación de la GRNs en una forma sencilla. Esto es, suponemos que la curvatura que se rige por la dinámica de u se relacionará con el estado de AP3 tratando ser consistentes con la propuesta de curvatura espontánea relacionada con el campo u y las evidencias experimentales sobre la curvatura del ápice del meristemo cuando se forman los primordios. De esta forma el potencial que proponemos es:

$$R = R_1 (1 - AP3) + R_2 (AP3), \tag{4.16}$$

donde $R_1 = (u + 1)^2$ y $R_2 = (u - 1)^2$ y será el que usaremos de ahora en adelante. En la figura 4.4 mostramos los estados de expresión de los genes en un prototipo con los resultados obtenidos bajo este modelo usando los parámetros indicados en el pie de la figura. De ahora en adelante las figuras de este tipo representaran los estados de expresión de los genes.

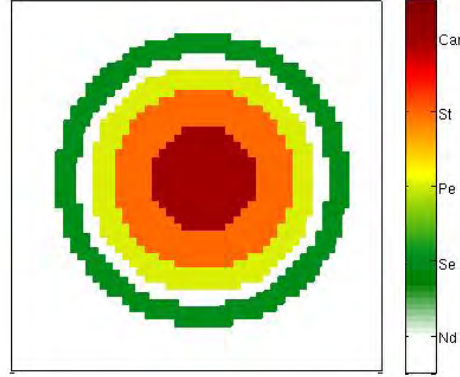


Figura 4.4: Estados de los genes. Prototipo del desarrollo floral usando los valores siguientes: $C = 0.1$, $\epsilon = 0.1$, $\beta = 0.2$, $D = 5$, $dt = 0.0005$ y el acoplamiento con la GRNs dado por dT cada 2000 iteraciones temporales. El dominio circular representa la vista frontal de un corte del meristemo. La barra de color representa a los sépalos (Se), pétalos (Pe), estambres (St), carpelos (Car) y la cantidad de células indiferenciadas (Nd).

Exploración de parámetros

Mencionamos la robustez del modelo argumentando que reproducía perfiles muy similares al cambiar los parámetros pero no mencionamos el papel que juegan dichos parámetros. Como es de esperarse el parámetro difusivo D hace que el perfil de u se forme rápida o lentamente. El parámetro ϵ regula la rapidez con que ϕ llega a encontrar un perfil semejante al de la tangente hiperbólica, aunque también se relaciona con que tan grande es la región de sépalos y carpelos, y la formación de estambres y pétalos. Sin embargo entender que papel juegan β y la curvatura espontánea local C no es fácil, para ello hicimos varios cálculos numéricos, como los mostrados en la figura 4.5, haciendo que C y β tomaran valores extremos con las mismas condiciones iniciales y el mismo tiempo de aparición de la GNRs de la figura 4.4.

Los resultados más notables es que ambos parámetros, tanto C como β , regulan el ancho de los anillos de los primordios de sépalos (Se), pétalos (Pe), estambres (St), carpelos (Car) y la cantidad de células indiferenciadas (Nd). La interacción que tiene la GRNs es muy importante ya que dependiendo de la escala de tiempo dT con la que interactúa con los campos se pueden obtener estructuras diferentes. Esto es debido a que la formación del perfil de ϕ se ve afectada y no alcanza su estado estacionario (un perfil de tangente hiperbólica cuando la curvatura espontánea es cero o bien de perfil tipo tangente hiperbólica con un escalón en el cero debido al parámetro ϵ de las ecuaciones (4.5)). Para

mostrar esto hicimos que la GNRs actuará tres veces más rápido y así obtuvimos que los sépalos casi desaparecen y la estructura interna de la flor se modifica. La figura 4.6 muestra estos resultados.

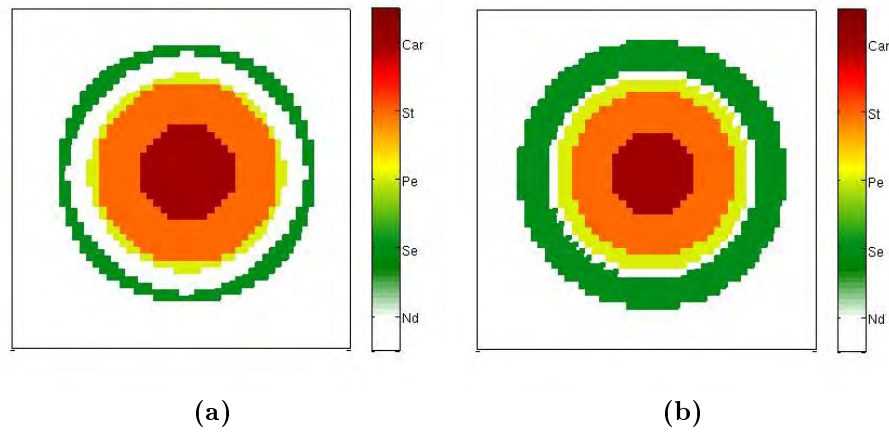


Figura 4.5: Se muestra la importancia de la curvatura espontánea y el tamaño de la interacción entre los campos. (a) Aquí mostramos una curvatura espontánea ($C = 50$) mayor que la usada en el prototipo mostrado en la figura 4.4. (b) El tamaño de la interacción entre los campos ($\beta = 100$) es más grande que el mostrado en la figura 4.4.

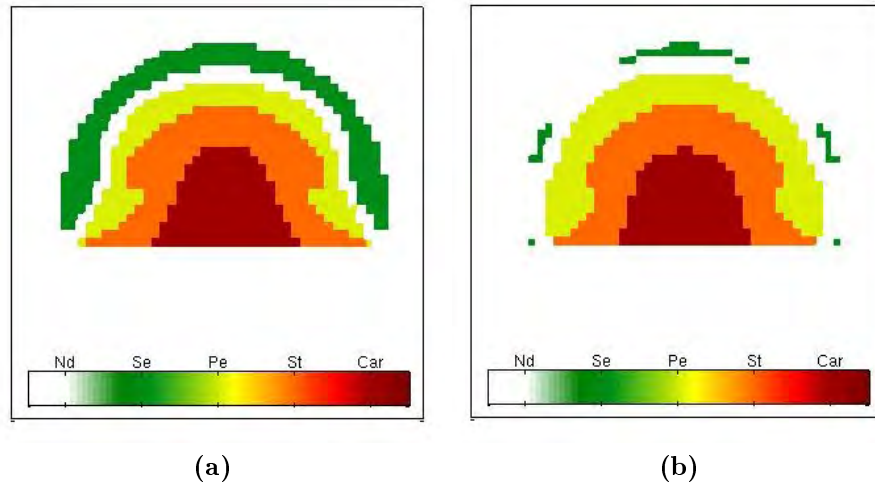


Figura 4.6: Vista lateral del meristemo (se supone simetría cilíndrica) y sus primordios al cambiar la entrada de la GRNs con los campos. (a) Interacción de la GRNs es la misma que el prototipo de la figura 4.4. (b) Interacción de la GRNs es tres veces mayor que en (a).

4.2. Coevolución espacio-temporal (MCET)

Crecimiento celular

Cuando hablamos de un modelo en el espacio-tiempo estamos pensando en la distribución de los agentes biológicos cuando hay reproducción celular. En el caso de *Arabidopsis thaliana* se conoce de forma aproximada del crecimiento celular en cada uno de los primordios del meristemo que van cubriendo el espacio al reproducirse [32]. Modelar la reproducción celular en el espacio de tres dimensiones es laborioso y complicado. Sin embargo podemos simular el cambio de forma del meristemo cuando crece cambiando la escala del dominio en el que lo representamos, de manera que cada píxel represente a un grupo de células cada vez mayor.

La manera de justificar esto es pensando que, cuando una célula se divide hace que el espacio donde conviven las células aumente en un factor de dos. Ahora bien, si consideramos una nueva “célula” formada por dos células después de la división veremos al mismo sistema inicial de un grupo de células en una escala diferente con las mismas propiedades. Así, describir el crecimiento de un grupo de células es equivalente a describir al sistema en escalas espaciales diferentes. Esta nueva forma de ver la reproducción como un cambio de escala nos ayuda a acoplar el modelo de campo-fase con el crecimiento celular ya que para describir los cambios de escala no necesitamos saber la distribución espacial de cada célula, lo que nos deja la libertad de expresar la dinámica del crecimiento de

los primordios como la interacción entre sus fronteras. Los problemas de escala en ecuaciones conservativas, como las del modelo de campo-fase de curvatura espontánea, no involucran términos extra en la cinética y los factores de escala en la distribución espacial son los que representan el cambio de dominio y que en nuestro caso representan la forma en que crecen los primordios. Observamos que la forma en la que los primordios crecen inicialmente, que es casi homogénea e isotrópica [32, 21], nos ayuda a plantear el crecimiento como lo hemos descrito.

Para construir el modelo coevolutivo espacio-temporal es necesario incorporar los cambios de escala en las ecuaciones dinámicas (4.5). Los estudios de Plaza *et al.* [26] en ecuaciones de reacción-difusión se pueden extender a un modelo hidrostático de dinámicas cinéticas que ayudan a modificar nuestro modelo coevolutivo espacial. Los detalles de como obtener las ecuaciones dinámicas cuando hay cambios de escala los desarrollamos en el apéndice A. La forma genérica de estos resultados con la dinámica de dos campos acoplados es la siguiente:

$$\begin{aligned}\frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial t} &= \Delta_s \tilde{F} - \partial_t(\ln(h_1 h_2)) \tilde{\phi} - \Xi_t \tilde{F} \\ \frac{\partial \tilde{u}}{\partial t} &= \Delta_s \tilde{G} - \partial_t(\ln(h_1 h_2)) \tilde{u} - \Xi_t \tilde{G}\end{aligned}\tag{4.17}$$

donde la tilde pone de manifiesto que la función depende del tiempo y de la forma del espacio, Δ_s es el operador Laplace-Beltrami, que en el caso de curvatura constante y crecimiento isotrópico en un plano se reduce al operador laplaciano, h_1 y h_2 representa las direcciones de crecimiento del dominio y Ξ_t representa los cambios temporales de las h 's multiplicados por el gradiente en la superficie. La F y la G son las mismas de las Ecs. (4.5). La esencia de este modelo genérico es que si conocemos la tasa de crecimiento podemos describir lo que les pasan a los campos en el espacio-tiempo.

Analizando el trabajo del desarrollo temprano de los órganos florales de Smyth *et al.* [32] notamos que el crecimiento de los primordios es homogéneo e isotrópico en sus primeras etapas y por tanto podemos poner las direcciones de crecimiento en función de una tasa de crecimiento exclusiva del tiempo como $h_1 = h_2 = \rho(t)$, donde la función $\rho(t)$ se puede ajustar a partir de los datos experimentales del crecimiento de los primordios. Cabe mencionar que las etapas de crecimiento tienen un tiempo promedio de duración y con ello podemos relacionar el tiempo dT en que actúan los genes con cada primordio y con la tasa de crecimiento ρ . La tasa de crecimiento se obtuvo ajustando los datos experimentales para el crecimiento de los primordios bajo una función de crecimiento que se obtuvo por mínimos cuadrados. De esta forma la expresión para la tasa de crecimiento resultó ser exponencial del tipo $\rho(t) = A + B e^{(t/m)}$ con $A = -10.4$, $B = 22.5$ y $m = 3.6$. Con estos números el modelo podrá representar un crecimiento en que el tiempo dt que usaremos para describir la dinámica de los campos está en unidades de días. El ajuste se muestra en la figura 4.7.

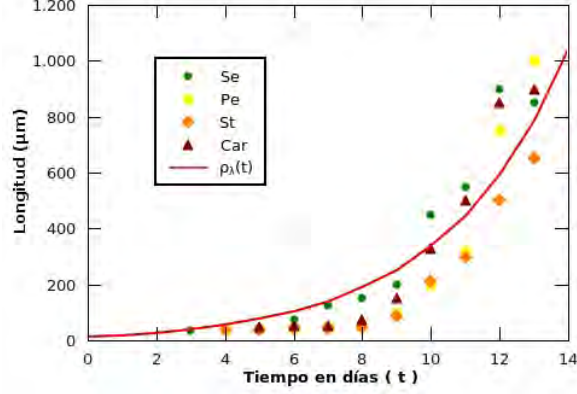


Figura 4.7: Se muestran las fases de crecimiento de los primordios: sépalos (Se), pétalos (Pe), estambres (St) y carpelos (Car). La longitud de crecimiento $\rho_\lambda(t)$ se muestra con una línea roja y se relaciona con la tasa de crecimiento ($\rho(t)$) por medio de una longitud característica ($\lambda = 1\mu m$) como $\rho_\lambda(t) = \lambda\rho(t)$. Los datos experimentales del crecimiento de los primordios se tomaron del trabajo de Smyth *et al.* [32].

La transformación de las ecuaciones dinámicas (4.5) que describen el crecimiento y que detallamos en el apéndice A son:

$$\begin{aligned}\frac{\partial\phi}{\partial t} &= \frac{1}{\rho^2}\nabla^2 F - \frac{\dot{\rho}}{\rho}(F + \phi) \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= \frac{1}{\rho^2}\nabla^2 G - \frac{\dot{\rho}}{\rho}(G + u),\end{aligned}\tag{4.18}$$

donde F y G son las mismas funciones presentadas en las ecuaciones (4.5) pero con la diferencia de que σ es constante, ya que el área se modifica con el crecimiento. Cabe mencionar que en el modelo se modificó el tiempo dT para que cada órgano representado por la GNRs aparezca en el tiempo adecuado de acuerdo a los resultados de Smyth *et al.* [32]. De esta forma los sépalos entran entre el tercero y cuarto día de crecimiento cuando $\rho \simeq 35$, los pétalos y los estambres entran después del cuarto día cuando $\rho \simeq 45$ y los carpelos entran al quinto día cuando $\rho \simeq 50$.

Primordios florales simulados

A continuación presentamos los resultados aplicados al desarrollo temprano de *Arabidopsis thaliana*. Las condiciones de frontera que hemos considerado en los cálculos numéricos son de no flujo, iniciando con un perfil de tangente hiperbólica ensanchado para el campo ϕ y $u = 0$ en todo el espacio. También cabe mencionar que el punto de referencia para el campo u con respecto a la sensibilidad de los genes lo cambiamos de cero a 0.1, esto fué debido a que el factor $\hat{\rho}/\rho G$ de las ecuaciones (4.18) hace que el campo u se difunda a valores más positivos. En la figura 4.8 mostramos la aparición de los primordios según el tiempo transcurrido. La importancia de esta figura es que los primordios aparecen en la misma distribución espacial y temporal que en los experimentos y por tanto nuestro modelo MCET describe muy bien el desarrollo temprano de la flor.

En la figura 4.9 mostramos una vista lateral del meristemo y en la figura 4.10 mostramos una vista frontal. En estas figuras expresamos la importancia de la relación área-volumen a través del parámetro σ haciendo una comparación entre cantidades chicas y grandes de éste. El resultado más notable es que el crecimiento de σ favorece la existencia de más sépalos. Otro punto a evaluar fue la difusión del campo u , esta situación la mostramos en la figura 4.10(c) y el resultado más importante es que al aumentar D desaparecen los carpelos y los sépalos. También exploramos los parámetros ϵ , C y β pero estos no presentaron cambios notables en la estructura de los primordios, lo cual dice que la robustez del modelo espacial mejora ahora que hay crecimiento.

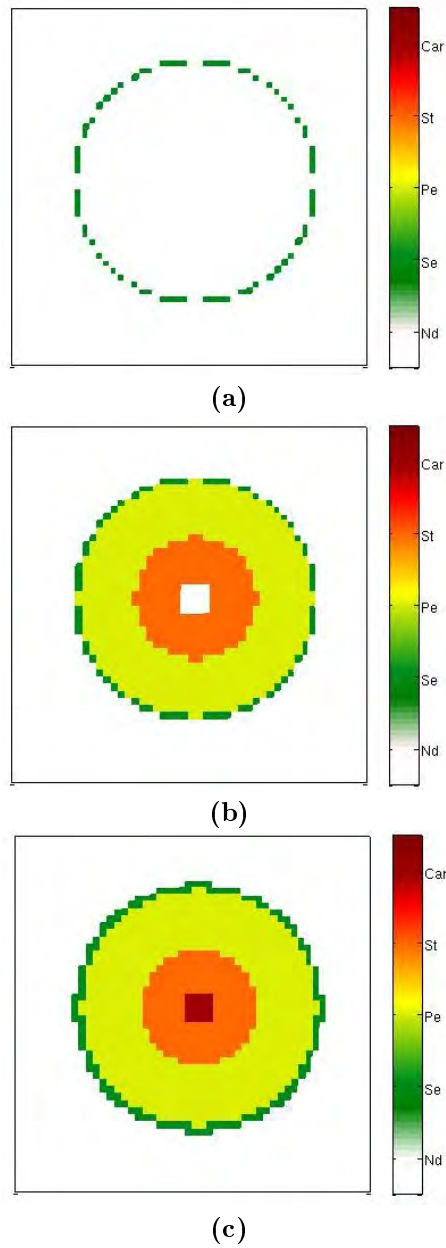
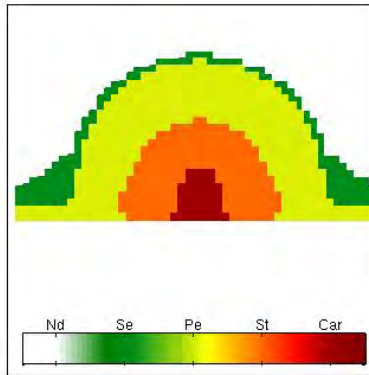
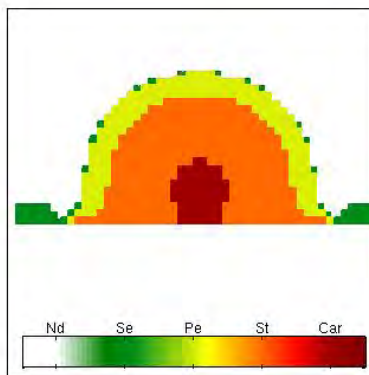


Figura 4.8: Se muestran las fases consecutivas de crecimiento en el meristemo conforme los primordios aparecen: en (a) $\rho \simeq 35$, (b) $\rho \simeq 45$ y en (c) $\rho \simeq 50$. Este modelo lo usaremos como prototipo y nos servirá como punto de comparación. Los parámetros usados fueron: $C = 0.1$, $\beta = 0.2$, $\epsilon = 0.1$, $D = 0.5$, $dt = 0.0005$, $\sigma = 4$ y la GRNs entrando cada 200 iteraciones.

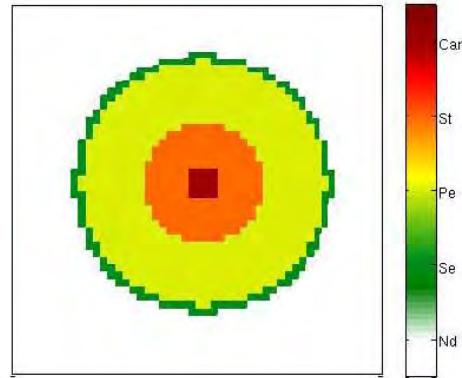


(a)

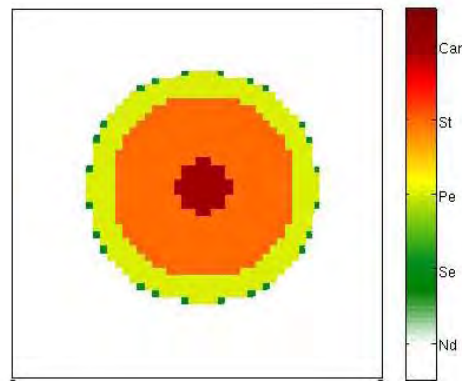


(b)

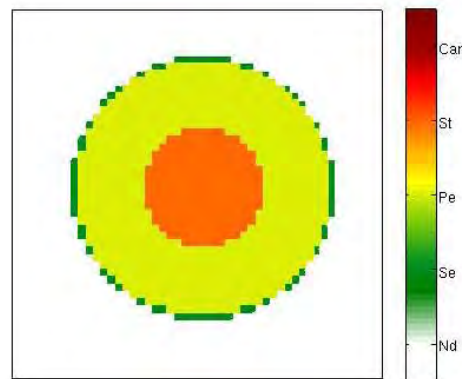
Figura 4.9: Vista lateral del meristemo y sus primordios. Comparación del parámetro σ usando: (a) el prototipo con los valores de la figura 4.8 y (b) el prototipo con una $\sigma = 0.4$.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.10: Vista frontal del meristemo y sus primordios. Comparación de los parámetros σ y D usando: (a) el prototipo con los valores de la figura 4.8. (b) El prototipo con una $\sigma = 0.4$. (c) El prototipo con una difusión $D = 1.5$.

Capítulo 5

Predicciones

La robustez con la que operan los organismos biológicos es muy importante, pues les permite sobrevivir innumerables generaciones a pesar de los cambios repentinos en su medio ambiente. Esta propiedad fundamental parece estar plasmada en nuestro modelo, lo que lo hace válido para explicar el crecimiento de los primordios en la floración de *Arabidopsis thaliana*. Sin embargo, no todos los parámetros del modelo reproducen primordios similares al variarlos como hemos visto en la figura 4.10, lo que nos deja caminos abiertos para tratar de entender las mutaciones que se llevan a cabo en *Arabidopsis thaliana* e inclusive en otras plantas variando la forma del campo u y su difusión a través de D , la relación área-volumen que nos da σ y el tiempo en que la GRNs interactúa con los campos.

Mutantes

Para ver el poder predictivo de nuestro modelo decidimos investigar los mutantes que deberán generarse cuando alguno de los genes falla. Para esto encontramos que en *Arabidopsis thaliana* hay tres tipos de mutantes: los mutantes de la clase A que se forman con carpelos y estambres y que además se encuentran en la secuencia (Car,St,Car), los mutantes de la clase B que se forma de sépalos y carpelos y que tienen la secuencia (Se,Car) y los de la clase C que se forman por (Se,Pe,Se). Nuestro modelo predice fácilmente los mutantes B y C ya que sólo hay que inhibir los genes AP3 y AG respectivamente. Sin embargo, la predicción del mutante A no es tan sencilla, pues la inhibición del gen AP1 muestra los primordios en una secuencia (St,Car) que es diferente a la del mutante tipo A. En este caso los parámetros del modelo juegan su papel, pues encontramos que el mutante tipo A se puede lograr si se inhibe el gen AP1 y si se hace que el ancho de la interfase (ϵ) y la interacción (β) entre los campos sean grandes cuando la GRNs actúa de forma más rápida. En otras palabras, la aparición del mutante tipo A implica un cambio muy grande en los parámetros del modelo, lo que lo hace en un sentido poco probable bajo la condición de que el gen AP1 se inhiba directamente. La figura 5.1 muestra los mutantes.

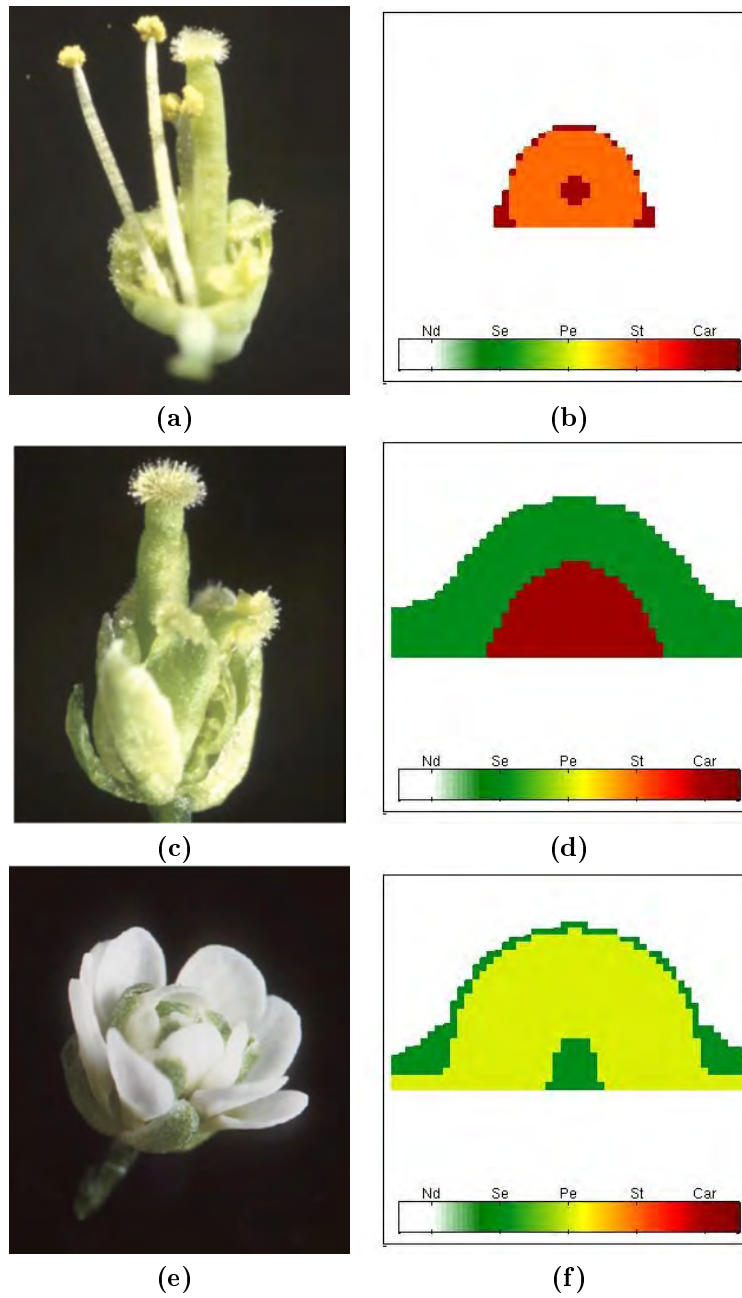
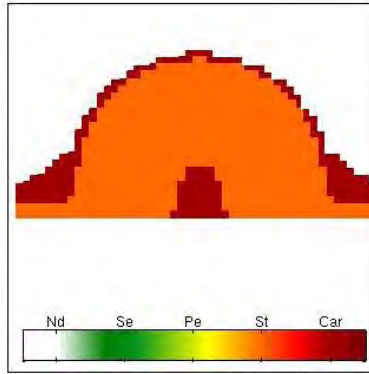
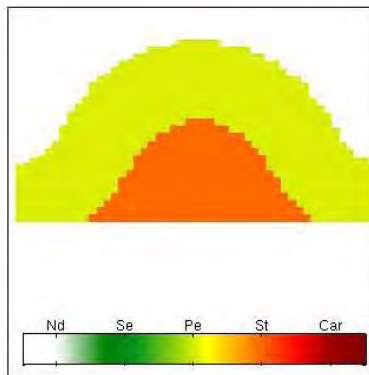


Figura 5.1: Mostramos una comparación de los mutantes reales en la columna de la izquierda contra una vista lateral de los mutantes simulados con el MCET en la columna derecha. (a) Flor mutante tipo A (Car,St,Car). (b) Mutante A generado con $AP1=0$. (c) Flor mutante tipo B tipo B (Se,Car). (d) Mutante B generado con $AP3=0$. (e) Flor mutante tipo C (Se,Pe,Se). (f) Mutante C generado con $AG=0$.

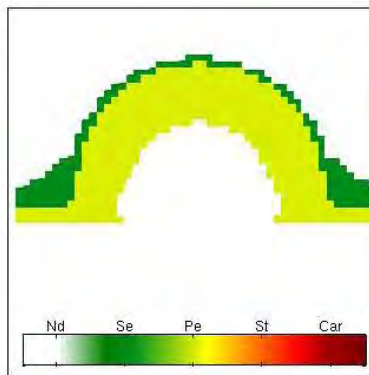
Explorando la GRNs encontramos que la activación perenne de ciertos genes también produce mutantes, esta situación nos hace ver que el mutante tipo A se produce con gran facilidad (dejando los parámetros con los que se calculan los mutante B, C y el prototipo de la figura 4.8) si se deja activado el gen AG. En este sentido el MCET nos dice que la aparición del mutante tipo A no se debe a que hay una inhibición de AP1 directa sino a una inhibición provocada por la activación de AG. Este dato concuerda con los experimentos realizados por Mitzukami y Ma [24]. Dentro de los nuevos mutantes que podemos predecir encontramos que la activación del gen AP1 nos da un mutante C modificado en el cual hay una zona que queda indiferenciada, la que correspondería a los sépalos centrales del mutante tipo C, lo que nos da como resultado que la correspondencia entre la activación e inhibición de AP1 y AG no sea biunívoca. La activación de AP3 da como resultado la aparición de pétalos y estambres en la secuencia del mutante tipo B si se intercambian los sépalos por pétalos y carpelos por estambres. Los resultados numéricos de los mutantes se encuentran en las figuras 5.1 y 5.2.



(a)



(b)



(c)

Figura 5.2: Vista lateral del meristemo en la formación de mutantes. (a) Mutante tipo A (Car,St,Car) generado con $AG=1$. (b) Mutante tipo B+ (“over B”) (Pe,St) generado con $AP3=1$. (c) Mutante tipo C+ (Se,Pe,Nd) generado con $AP1=1$.

Mutante equivalente

Como mencionamos antes, el papel que juega u es extremadamente importante y puede estropear el desarrollo floral normal. Un ejemplo interesante, o mutación, se puede obtener si se cambia el signo de u , o equivalentemente se intercambian los puntos fijos intercambiando R_1 y R_2 en la Ec. (4.16). El resultado que se obtiene es sorprendente y se muestra en la figura 5.3(a), donde se muestra el resultado de un cálculo en donde se ha hecho esta inversión de u . Como puede observarse la disposición de los órganos centrales está invertida, así mismo los sépalos ocupan la posición de los pétalos y viceversa. De todas las plantas angiospermas, que son alrededor de 250000 especies conocidas, la única que presenta esta mutación es la *Lacandonia schismatica*, que es una planta descubierta en 1985 en las selvas de Chiapas. Se muestra una fotografía de esta flor en la figura 5.3(b).

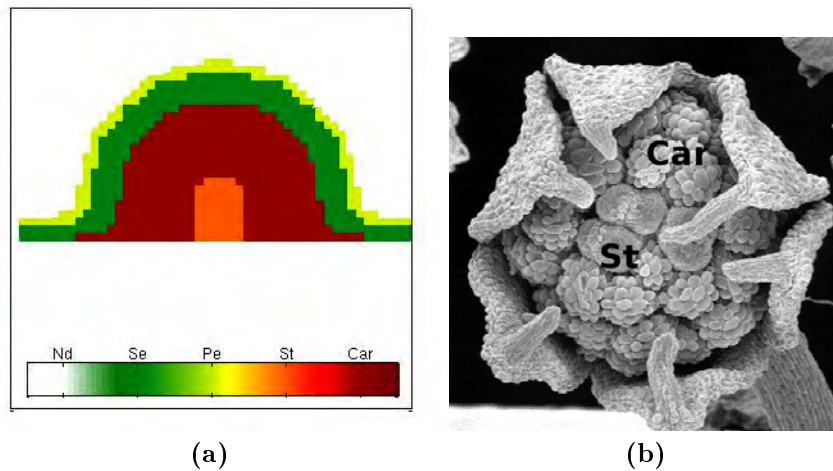


Figura 5.3: (a) Mutante obtenido numéricamente invirtiendo los puntos fijos de u . Todos los demás parámetros son los de la figura anterior, excepto $\sigma = 0.4$. (b) Fotografía de una flor de *Lacandonia schismatica*.

Capítulo 6

Conclusiones

Hemos descrito un modelo de coevolución entre dos sistemas dinámicos interactuantes que puede ser utilizado para investigar el problema de diferenciación celular en general. El modelo no propone dinámicas específicas para los sistemas, sino que simplemente se basa en la idea fundamental de que es necesario que las células indiferenciadas del tejido embrionario reciban la información espacio-temporal necesaria para decidir su destino final a través de su curvatura. El modelo ha sido detalladamente expuesto para tratar el caso del desarrollo floral de *Arabidopsis thaliana* ya que es el sistema biológico modelo de las plantas angiospermas y tiene una literatura basta sobre los mecanismos biomoleculares como del desarrollo del meristemo que nos ayudo a plantear un modelo general de diferenciación celular en el desarrollo temprano de la flor.

El modelo ha sido desarrollado en pasos, proponiendo un modelo espacial que describe la dinámica de los campos macroscópicos que se acoplan a las redes genéticas de cada célula para darles la información espacial que requieren. Esta parte se basó principalmente en las ideas expuestas por el modelo ABC y con la simplificación de la GRN inferidas de los datos experimentales. Este modelo simple por sí solo es capaz de reproducir la conformación espacial de anillos concéntricos de los órganos que se observa experimentalmente [3].

Finalmente incorporamos la evolución temporal del proceso suponiendo que la reproducción celular resulta en el crecimiento homogéneo e isotrópico del meristemo. Derivamos las ecuaciones dinámicas del sistema en esta situación y ajustamos los parámetros para reproducir la aparición de los órganos en el tiempo adecuados. El resultado más sorprendente es que el patrón espacial se conserva y que los verticilos de los órganos van apareciendo en forma concéntrica de afuera hacia adentro empezando con los sépalos y terminando con los carpelos. Este resultado nos indica que la curvatura más pequeña se puede asociar a la formación de los sépalos y la más grande a los carpelos, las curvaturas intermedias estarían asociadas a los pétalos y estambres. Esta propuesta deja caminos abiertos para la experimentación ya que se podría plantear la medición

de las curvaturas a lo largo del meristemo para determinar el intervalo de valores de la curvatura donde se desarrolla un primordio.

Examinamos el poder predictivo de nuestro modelo estudiando todas las posibles mutaciones de *Arabidopsis thaliana* y fuimos capaces de reproducir todas las variedades de mutantes y otras aún no encontradas como la B+, la C+ y la inversión de órganos por pares, que presenta la flor de *Lacandonia schismatica*.

El caso del mutante A es interesante, pues nuestro modelo predice que es difícil de obtener y que además puede producirse por causas diferentes. Cabe mencionar que las condiciones que nuestro modelo predice, ya sea $AP1=0$ o $AG=1$, son afines a las condiciones que se han investigado experimentalmente para obtener este mutante. En el artículo de Mitzukami y Ma [24] se menciona que el mutante A se logra en el laboratorio activando anticipadamente el gen AG desde el principio del desarrollo floral.

Como punto final, la robustez con la que operan los sistemas biológicos queda plasmada en el modelo ya que a pesar de cambiar los parámetros, la distribución espacio-temporal de los órganos de la flor queda igual. Lo que sugiere que el acoplamiento de la red de regulación genética con la dinámica física del MCET incorpora aspectos claves de la morfogénesis de flores y proporciona una hipótesis plausible para el intercambio de información espacio-temporal de las células indiferenciadas y su medio a través de la curvatura para generar los patrones celulares.

Apéndice A

Escalamiento

Crecimiento del dominio

La derivación de ecuaciones dinámicas para ciertas concentraciones en un dominio que va creciendo con el tiempo se puede hacer mediante un mapeo del dominio con una función ψ_t que modele la superficie S_t al tiempo t . Consideremos los parámetros (ζ, η) que pertenecen a un dominio inicial Ω_0 en dos dimensiones, el mapeo del dominio lo podemos expresar como:

$$\psi_t(\zeta, \eta) \equiv X(\zeta, \eta, t) = \bar{r}(\zeta, \eta, t), \quad (\text{A.1})$$

donde X representa la superficie parametrizada por los parámetros y el tiempo y \bar{r} es el vector de posición. De esta forma el dominio al tiempo t esta representado por:

$$\Omega(t) = \psi_t(\Omega_0). \quad (\text{A.2})$$

Tratamiento de las ecuaciones dinámicas del modelo con crecimiento

En esta sección seguimos los mismos pasos que en la Ref. [26] aplicados a nuestras ecuaciones dinámicas. El flujo de $F = (F_1 + F_s)$ es

$$\nabla \cdot J = \nabla \cdot (\nabla F). \quad (\text{A.3})$$

Integrando en todo el volumen Ω y usando el teorema de la divergencia

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} \phi dX = \int_{\Omega} \nabla \cdot (\nabla F) dX = \int_{\partial\Omega} \nabla F \cdot \mathbf{n} dS, \quad (\text{A.4})$$

en la que Ω representa el dominio y $\partial\Omega$ la superficie de ese dominio. El vector normal a la superficie está representado por \mathbf{n} .

Pensando que toda la dinámica se lleva acabo en la frontera, podemos considerar un dominio en dos dimensiones donde $h_1 \equiv |X_\zeta|$ y $h_2 \equiv |X_\eta|$ con X_ζ y X_η los vectores unitarios de la superficie. Usando esto podemos escribir la ecuación (A.4) como:

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega(t)} \phi(X, t) dS_X = \oint_{\partial\Omega(t)} \nabla F \cdot \mathbf{n} dl. \quad (\text{A.5})$$

Aquí, $\partial\Omega(t)$ es una curva regular que descansa en la superficie además de ser la imagen de $\partial\Omega_0$ bajo la función de crecimiento o mapeo. Considerando que la curva inicial se puede parametrizar por s , entonces la curva queda descrita por $(\zeta_0(s), \eta_0(s))$. Si definimos el vector tangente sobre la curva $\partial\Omega(t)$ como:

$$\tau = \zeta'_0 X_\zeta + \eta'_0 X_\eta, \quad (\text{A.6})$$

donde $\zeta'_0 = d\zeta_0/ds$ y $\eta'_0 = d\eta_0/ds$. Y si también definimos el vector normal como:

$$\mathbf{n} = \alpha X_\zeta + \beta X_\eta, \quad (\text{A.7})$$

donde $\alpha = -\frac{h_1 \zeta'_0}{h_2 |\tau|}$ y $\beta = \frac{h_2 \eta'_0}{h_1 |\tau|}$, podemos reescribir el lado derecho de la ecuación (A.5) con el uso del teorema de Stokes como:

$$\begin{aligned} \oint_{\partial\Omega(t)} \nabla F \cdot \mathbf{n} dl &= \oint_{\partial\Omega_0} \nabla F \cdot (\alpha X_\zeta + \beta X_\eta) |\tau| ds \\ &= \oint_{\partial\Omega_0} \left(-\frac{h_1}{h_2} \partial_\eta F \right) d\zeta + \left(\frac{h_2}{h_1} \partial_\zeta F \right) d\eta \\ &= \oint_{\Omega_0} \left[\left(\frac{h_2}{h_1} \partial_\zeta F \right)_\zeta + \left(\frac{h_1}{h_2} \partial_\eta F \right)_\eta \right] d\zeta d\eta, \end{aligned} \quad (\text{A.8})$$

y la parte izquierda de la ecuación (A.5) como:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \int_{\Omega(t)} \phi(X, t) dS_X &= \frac{d}{dt} \int_{\Omega_0} \phi(X(\zeta, \eta, t), t) h_1 h_2 d\zeta d\eta \\ &= \int_{\Omega_0} ((\partial_t \phi + \nabla \phi \cdot \partial_t X) h_1 h_2 + \phi \partial_t (h_1 h_2)) d\zeta d\eta. \end{aligned} \quad (\text{A.9})$$

Juntando las ecuaciones (A.8) y (A.9) y considerando $\tilde{\phi}(\zeta, \eta, t) \equiv \phi(X(\zeta, \eta, t), t)$ podemos ver claramente que $\partial_t \tilde{\phi} = \partial_t \phi + \nabla \phi \cdot \partial_t X$, $\tilde{F}_\zeta = \partial_\zeta F$, $\tilde{F}_\eta = \partial_\eta F$ y por tanto encontramos que:

$$\int_{\Omega_0} \partial_t \tilde{\phi} (h_1 h_2) + \tilde{\phi} \partial_t (h_1 h_2) - \left[\left(\frac{h_2}{h_1} \tilde{F}_\zeta \right)_\zeta + \left(\frac{h_1}{h_2} \tilde{F}_\eta \right)_\eta \right] d\zeta d\eta = 0, \quad (\text{A.10})$$

como es válido para cualquier superficie podemos escribir:

$$\partial_t \tilde{\phi} = \Delta_s \tilde{F} - \partial_t (\ln(h_1 h_2)) \tilde{\phi}, \quad (\text{A.11})$$

donde

$$\Delta_s \tilde{F} = \frac{1}{h_1 h_2} \left[\left(\frac{h_2}{h_1} \tilde{F}_\zeta \right)_\zeta + \left(\frac{h_1}{h_2} \tilde{F}_\eta \right)_\eta \right], \quad (\text{A.12})$$

es el operador Laplace-Beltrami. Esta ecuación nos describe la evolución de una concentración de un agente cualquiera por medio de ϕ cuando el dominio va creciendo en el tiempo. En muchos casos ϕ representa concentraciones químicas de morfógenos que ayudan a describir la formación de patrones en la naturaleza [25].

Dinámica cinética

Considerando que las ecuaciones que rigen nuestro modelo coevolutivo presentan una dinámica cinética implícita, desarrollaremos las ecuaciones de la dinámica cinética considerando que el dominio crece a una velocidad \bar{v} y se mueve como un fluido ideal, regido por la ecuación hidrostática [15] como:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\bar{v} \cdot \nabla F + \nabla \cdot J. \quad (\text{A.13})$$

Si integramos la ecuación (A.13) en el dominio Ω y considerando las premisas del apartado anterior, obtenemos que:

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega(t)} \phi dS_X = \int_{\partial\Omega(t)} \nabla F \cdot \mathbf{n} dl - \int_{\Omega(t)} \bar{v} \cdot \nabla F dS_X. \quad (\text{A.14})$$

Al comparar la ecuación (A.14) con la ecuación (A.5), nos damos cuenta que los dos primeros términos son iguales y se pueden desarrollar como hasta las ecuaciones (A.8) y (A.9). Para el último término debemos considerar que:

$$\bar{v} = \dot{h}_1 X_\zeta + \dot{h}_2 X_\eta, \quad (\text{A.15})$$

y por tanto

$$\begin{aligned} \int_{\Omega(t)} \bar{v} \cdot \nabla F dS_X &= \int_{\Omega_0} \bar{v} \cdot \nabla F h_1 h_2 d\zeta d\eta \\ &= \int_{\Omega_0} \left[\dot{h}_1 \partial_\zeta F + \dot{h}_2 \partial_\eta F \right] h_1 h_2 d\zeta d\eta. \end{aligned} \quad (\text{A.16})$$

Al unir todos los términos bajo las definiciones de las ecuaciones (A.10) y (A.11) obtenemos:

$$\partial_t \tilde{\phi} = \Delta_s \tilde{F} - \partial_t(\ln(h_1 h_2)) \tilde{\phi} - \Xi_t \tilde{F}, \quad (\text{A.17})$$

donde Δ_s está definido por la ecuación (A.12) y

$$\Xi_t \tilde{F} = \dot{h}_1 \tilde{F}_\zeta + \dot{h}_2 \tilde{F}_\eta. \quad (\text{A.18})$$

Si siguiendo los pasos del apartado anterior para u finalmente podemos escribir:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial t} &= \Delta_s \tilde{F} - \partial_t(\ln(h_1 h_2)) \tilde{\phi} - \Xi_t \tilde{F} \\ \frac{\partial \tilde{u}}{\partial t} &= \Delta_s \tilde{G} - \partial_t(\ln(h_1 h_2)) \tilde{u} - \Xi_t \tilde{G} \end{aligned} \quad (\text{A.19})$$

Crecimiento isotrópico

Pensando que el dominio crece igual en todas direcciones, este se puede escribir como:

$$X(\zeta, \eta, t) = \rho(t) X_0(\zeta, \eta). \quad (\text{A.20})$$

donde $\rho(t)$ representa la función de crecimiento.

Ahora bien, si aplicamos esta condición a las ecuaciones (A.19) de los dos campos obtenemos para un dominio bidimensional plano

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi}{\partial t} &= \frac{1}{\rho^2} \nabla^2 F - \frac{\dot{\rho}}{\rho} (F + \phi) \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= \frac{1}{\rho^2} \nabla^2 G - \frac{\dot{\rho}}{\rho} (G + u), \end{aligned} \quad (\text{A.21})$$

donde ∇^2 reemplaza al operador de Laplace-Beltrami y $\Xi_t = \dot{\rho}/\rho$ calculando el gradiente en la superficie del dominio.

Apéndice B

Programas

La simulación numérica la desarrollamos en MATLAB versión 7.7. Los laplacianos quedaron discretizados en la forma habitual, es decir, midiendo el cambio en las 4 direcciones de una red cuadrada. El programa que simula los laplaciano se llama delta2fun. Este programa se encuentra en la rutina del programa dinámica de los campos. Los dos programas con los que se desarrollaron todos los cálculos numéricos en este trabajo se presentan en las siguientes secciones.

Programa para calcular los laplacianos

```
lap=0*Fun;
M=N;
unog=ones(M,N);

lampl=0*unog;
lampr=0*unog;
lampu=0*unog;
lampd=0*unog;

lampl(2:M-1,2:N-1)=(Fun(3:M,2:N-1)-Fun(2:M-1,2:N-1));
lampr(2:M-1,2:N-1)=(Fun(1:M-2,2:N-1)-Fun(2:M-1,2:N-1));
lampu(2:M-1,2:N-1)=(Fun(2:M-1,3:N)-Fun(2:M-1,2:N-1));
lampd(2:M-1,2:N-1)=(Fun(2:M-1,1:N-2)-Fun(2:M-1,2:N-1));
lap=lampl+lampr+lampu+lampd;
```

Programa lógico de los genes (genesp.m)

```

    T=5;
    u0=u;
    fi0=sign(fi);

    for i =1:length(fi)
    for j=1:length(fi)

        if fi1(i,j) <=0 fi(i,j)=-1;
        u(i,j)=0;
        end

        for ii=1:T-1

            w1=w(i,j);
            a1=a(i,j);
            b1=b(i,j);
            c1=c(i,j);

            *****Wus funtion*****
            if fi0(i,j)<=0 | c==1 | b==1
            w1=0;
            end
            if fi0(i,j)>0
            w1=1;
            end
            *****

            *****A funtion*****
            if c(i,j)==1
            a1=0;
            end
            if c==0
            a1=1;
            end
            *****

            *****B funtion*****
            if u0(i,j)>=0 | (w(i,j)+a(i,j)+c(i,j))>=1.1
            b1=1;
            end
            if u0(i,j)<0
            b1=0;
            end
            *****

```

```

*****C funtion*****
if a(i,j)==1 & b(i,j)==0
c1=0;
end
if w(i,j)==1
c1=1;
end
*****
mutants*****
a1=1;
a1=0;
a=-(fi0-1)/2;
b=(fi0+1)/2;
c1=1;
w(i,j)=w1;
a(i,j)=a1;
b(i,j)=b1;
c(i,j)=c1;

end

if (a1==1 & b1==0 & c1==0) *****Sepals*****
qq(i,j)=.5;
end
if (a1==1 & b1==1 & c1==0) *****Petals*****
qq(i,j)=1;
end
if (a1==0 & b1==1 & c1==1) *****Stamens*****
qq(i,j)=1.5;
end
if (a1==0 & b1==0 & c1==1) *****Carpels*****
qq(i,j)=2;
end
if fi(i,j)<=-.9 & abs(u(i,j))<=.05
qq(i,j)=0;
fi0(i,j)=-1;
u0(i,j)=0;
end

u(i,j)=u(i,j)+.01*sign(u(i,j));

end
end

```

Programa de la dinámica de los campos

```

clear all
N=50;
rad=10;
radm=2*rad;
dx=1;
dt=0.0005;
C=0.1;
bet=0.2;
dx=1;
ep=0.01;
ep1=sqrt(ep);
D=0.5;
s=1;
sigma=4;
rho=1;
rhos=1;
mrho=10;
*****
***** Contadores del programa*****
step=100;
iniciogenes=2;
Finaliter=13;
pent=iniciogenes;
count=0;
countiter=0;
numer=0;
numero=0;
*****

*****

fiin=1;
fiout=-1;

for i=1:N
for j=1:N
r=sqrt((i-.5*(N+1))^2+(j-.5*(N+1))^2);
fi(i,j)=.5*(fiout-fiin)*tanh((r-rad)*0.3)+(fiout+fiin)*.8;
fi1(i,j)=.5*(fiout-fiin)*tanh((r-radm)*.8)+(fiout+fiin)*.5;
line(i,j)=-0.1;
line1(i,j)=0.1;
end
end

fi(1:20,:)=1;

```

```

fi(1:15, :) = -1;
fi1(1:20, :) = 1;
fi1(1:15, :) = -1;

u = 0.0 * (rand(N, N) - 0.5);

*****

*****

u0 = sign(u - 0.5);
fi0 = sign(fi);
w = (fi0 + 1) / 2;
a = ones(N, N);
b = a;
c = w;
*****

pa = -10.4;
pb = 22.5;
pc = 1 / 3.6;
for q = 1:22

    for iter = 1:Finaliter

        count = count + 1;
        if count == iniciogenes
            genesp
            count = 0;

            if rho >= 20
                numero = numero + 1;
                figure(2)
                qq(1:15, :) = 0;
                plis

            end
            if rho >= 33
                pent = 20;
            end
            iniciogenes = pent;
        end

        *****dynamic *****
    for iter = 1:step

        *****growing*****

```

```

if rho<=12.1
rhos =rhos +mrho*dt;
end
if rho>12.1
rhos=pa+pb*exp(pc*dt*(numer));
numer=numer+1;
end
rhop=(rhos-rho)/dt;

    rarho=rhop/rho;
invrho=(1.0/(rho*rho));
esc=1.0;
*****

    R1=s*(u+1).^2;
Ru1=s*2*(u+1);

    R2=s*(u-1).^2;
Ru2=s*2*(u-1);

    R=R1.*(1-b)+R2.*b;
Ru=Ru1.*(1-b)+Ru2.*b;

    Fun=fi;
delta2fun
lapfi=lap;

    mu=(fi-ep1*C*(1+bet*u)).*(fi.^2-1)-ep*lapfi;

    Fun=mu;
delta2fun
lapmu=lap;

    F=2*(3*fi.^2-1-2*ep1*C*fi.*(1+bet*u)).*mu-ep*lapmu+4*R.*fi.*(fi.^2-1);

    Fun=F;
delta2fun
lapF=lap;

    Fs=lapfi;
Fun=Fs;
delta2fun
lapFs=lap;
*****

    Fun=u;

```

```

delta2fun
lapu=lap;

    G=Ru.*(fi.^2-1).^2-2*ep1*C*bet*mu.*(fi.^2-1)-D*lapu;

    Fun=G;
delta2fun
lapG=lap;
*****

    FFF=F-sigma*Fs;

    u=(u+invrho*dt*lapG-(esc*G+u)*dt*rarho);

    fi=fi+invrho*(dt*(lapF)-dt*sigma*lapFs)-(esc*FFF+fi)*dt*rarho;

    ***** sigma calculation *****
lapF(1,:)=lapF(2,:);
lapF(N,:)=lapF(N-1,:);
lapF(:,1)=lapF(:,2);
lapF(:,N)=lapF(:,N-1);
[derilapF, derjlapF] = gradient(lapF);

    lapFs(1,:)=lapFs(2,:);
lapFs(N,:)=lapFs(N-1,:);
lapFs(:,1)=lapFs(:,2);
lapFs(:,N)=lapFs(:,N-1);
[derilapFs, derjlapFs] = gradient(lapFs);

    fi(1,:)=fi(2,:);
fi(N,:)=fi(N-1,:);
fi(:,1)=fi(:,2);
fi(:,N)=fi(:,N-1);
[derifi, derjfi] = gradient(fi);

    I=sum(sum(derifi.*(derilapF-derifi)+derjfi.*(derjlapF-derjfi)));
Is=sum(sum(derifi.*(derilapFs)+derjfi.*(derjlapFs)));

    sigma=I/(Is);

    *****

    u(1,:)=u(2,:);
u(N,:)=u(N-1,:);
u(:,1)=u(:,2);

```



```
u(:,N)=u(:,N-1);

    rho=rhos;

end

*****
countiter=countiter +1;

    numero=numero+1;

*****

    sig(countiter)=sigma;
    rhoplot(countiter)=rho;
    rhoploti(countiter)=dt*100*countiter;
    figure(1)
    plot(u(N/2,:), 'r'), axis square
    hold on
    plot(fi(N/2:)), grid
    hold off

    Run=[num2str(q) ' ' num2str(iter) ' ' num2str(rho)]

end

save([num2str(q)])

end
```

Bibliografía

- [1] E. R. Alvarez-Bullya, A. Chaos, M. Aldana, M. Benítez, Y. Cortés-Poza, C. Espinosa-Soto, D. A. Hartasánchez, R. Beau Lotto, D. Malking, G. J. Escalera Santos, and P. Padilla-Longoria. Floral morphogenesis: Stochastic explorations of gene network epigenetic landscape. *PLoS ONE*, 2008.
- [2] E. R. Alvarez-Buylla, E. Azpeitia, R. A. Barrio, M. Benitez, and P. Padilla-Longoria. From abc genes to regulatory networks, epigenetic landscapes and flower morphogenesis: Making biological sense of theoretical approaches. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21:108–117, 2010.
- [3] R. A. Barrio, A. Hernández-Machado, C. Varea, J. R. Romero-Arias, and E. R. Álvarez-Buylla. Flower development as an interplay between dynamical physical fields and genetic networks. *PLoS ONE*, 5(10), 2010.
- [4] Y. Benitez-Alfonso, M. Cilia, A. San Roman, C. Thomas, A. Maule, S. Hearn, and D. Jackson. Control of arabidopsis meristem development by thioredoxin-dependent regulation of intercellular transport. *PNAS*, 106:3615–3620, 2009.
- [5] J. L. Bowman, G.Ñ. Drews, and E. M. Meyerowitz. Expression of the arabidopsis floral homeotic gene *agamous* is restricted to specific cell types late in flower development. *The Plant Cell*, pages 749–758, 1991.
- [6] J. L. Bowman, D. R. Smyth, and E. M. Meyerowitz. Genetic interactions among floral homeotic genes of arabidopsis. *Development*, pages 1–20, 1991.
- [7] L. Caballero. *Emergencia de las formas de vida: aspectos dinámicos de la biología evolutiva*. CopIt ArXives, 2008.
- [8] J. W. Cahn and H. J. E. Free energy of a nonuniform system. interfacial energy. *J. Chem. Phys.*, 28:258, 1958.
- [9] F. Campelo. *Shapes in Cells*. PhD thesis, Universitat de Barcelona, 2008.
- [10] F. Campelo and A. Hernández-Machado. Dynamic model and stationary shapes of fluid vesicles. *Eur. Phys. J. E.*, 20(1):37–45, 2006.
- [11] F. Campelo and A. Hernández-Machado. Shape instabilities in vesicles: A phase-field model. *Eur. Phys. J. Special Topics*, 143:101, 2007.

- [12] P. A. Canham. The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell. *J. Theor. Biol*, 26(1):61–81, 1970.
- [13] A. Chaos, M. Aldana, C. Espinosa-Soto, B. García Ponce de León, A. Garay-Arroyo, and E. R. Alvarez-Buylla. From genes to flower patterns and evolution: Dynamics models of gene regulatory networks. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2006.
- [14] E. S. Coen and E. M. Meyerowitz. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 353:31–37, 1991.
- [15] S. R. De Groot and P. Mazur. *Non-equilibrium Thermodynamics*. Dover Publications, 1983.
- [16] C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, and E. R. Alvarez-Buylla. A gene regulatory network model for cell-fate determination during arabidopsis thaliana flower development that is robust and recovers experimental gene expression profiles. *The Plant Cell*, 16:2923–2939, 2004.
- [17] O. Hamant, M. G. Heisler, H. Jönsson, P. Krupinski, M. Uyttewaal, P. Borkov, F. Corson, P. Sahlin, A. Boudaoud, E. M. Meyerowitz, Y. Couder, and J. Traas. Developmental patterning by mechanical signals in arabidopsis. *Science*, 132:1650–1655, 2008.
- [18] G. Iníiguez González. Dinámica de redes y coevolución en sistemas complejos, 2009.
- [19] T. A. G. Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant arabidopsis thaliana. *Nature*, 408:796–815, 2000.
- [20] D. Kwiatkowska. Surface growth at the reproductive shoot apex of arabidopsis thaliana pin-formed 1 and wild type. *Journal of Experimental Botany*, 55:1021–1032, 2004.
- [21] D. Kwiatkowska. Flower primordium formation at the arabidopsis shoot apex: quantitative analysis of surface geometry and growth. *Journal of Experimental Botany*, 57:571–580, 2006.
- [22] D. Kwiatkowska. Flowering and apical meristem growth dynamics. *Journal of Experimental Botany*, 59:187–201, 2008.
- [23] L. Mendoza and E. R. Alvarez-Buylla. Dynamics of the genetic regulatory network for arabidopsis thaliana flower morphogenesis. *J Theor Biol*, 193:307–319, 1998.
- [24] Y. Mizukami and H. Ma. Determination of arabidopsis floral meristem identity by agamous. *The Plant Cell*, 9:393–408, 1997.
- [25] J. Murray. *Mathematical Biology I*. Springer, 2001.

- [26] R. Plaza, F. Sánchez-Garduño, P. Padilla, R. A. Barrio, and P. K. Maini. The effect of growth and curvature on pattern formation. *Journal of Dynamics and Differential Equations*, 16:1093–1121, 2004.
- [27] B. S., L. V., M. Y., C. M., and H. D.U. Complex networks: Structure and dynamics. *Physics Reports*, 424:175–308, 2006.
- [28] K. S. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *J. Theor. Biol.*, 9(1):67–103, 2002.
- [29] R. Sablowski. Flowering and determinacy in arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 58:899–907, 2007.
- [30] B. Scheres. Plant cell identity. the role of position and lineage. *Plant Physiol*, 135:112–114, 2001.
- [31] W. Sean E., K. Oleg A., H. Karl H., and K. John Z. Curvature in arabidopsis inflorescence stems is limited to the region of amyloplas displacement. *Plant Cell Physiol.*, 41(6):702–709, 2000.
- [32] D. R. Smyth, J. L. Bowman, and E. M. Meyerowitz. Early flower development in arabidopsis. *The Plant Cell*, 2:755–767, 1990.
- [33] T. Szczesny, A.-L. Routier-Kierzkowska, and D. Kwiatkowska. Influence of *clavata 3-2* mutation on early development in arabidopsis thaliana: quantitative analysis of changing geometry. *Journal of Experimental Botany*, 60:679–695, 2009.
- [34] A. M. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Biological Science B*, 237:37–72, 1952.
- [35] G. Von Dassow, E. Meir, and E. M. O. G. M. Munro. The segment polarity network is a robust developmental module. *Nature*, 406:188–192, 2000.
- [36] H. W. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforsch*, 28:693–703, 1973.