



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS
INSTITUTO DE FÍSICA

MODELOS DE DIFERENCIACIÓN CELULAR Y FORMACIÓN DE PATRONES.
ARABIDOPSIS THALIANA COMO MODELO DE ESTUDIO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA:
JOSÉ ROBERTO ROMERO ARIAS

TUTOR PRINCIPAL
DR. RAFAEL ÁNGEL BARRIO PAREDES
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. PEDRO EDUARDO MIRAMONTES VIDAL
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

DRA. CARMEN JOSEFA LUCIANA VAREA Y GILABERT
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. DE MÉXICO, AGOSTO DE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS

INSTITUTO DE FÍSICA

MODELOS DE DIFERENCIACIÓN CELULAR Y
FORMACIÓN DE PATRONES.
ARABIDOPSIS THALIANA COMO MODELO DE
ESTUDIO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA

JOSÉ ROBERTO ROMERO ARIAS

TUTOR PRINCIPAL

DR. RAFAEL ÁNGEL BARRIO PAREDES

COMITÉ TUTOR

DR. PEDRO EDUARDO MIRAMONTES VIDAL

DRA. CARMEN JOSEFA LUCIANA VAREA Y GILABERT



posgrado en ciencias físicas
u n a m

CIUDAD UNIVERSITARIA, Cd. DE MÉXICO AGOSTO 2016

Para

mamá y papá

Agradecimientos

Quiero empezar este apartado con mis más sinceros agradecimientos para aquellas personas que de alguna forma han compartido conmigo momentos significativos. Pues en ellas, he encontrado una guía, una inspiración y en varias ocasiones lecciones de vida.

De esta forma, me gustaría entonces agradecer a mi familia por apoyarme incondicionalmente. Gracias a mis padres, Carmen y Alberto; a mis hermanos, Rubén y Rene; a mis sobrinos, Dan, Michelle y Miriam y a Lidia y su familia.

También me gustaría agradecer a mis amigos que han estado de alguna u otra forma en esta etapa de mi vida: Gustavo Armendáriz, Eduardo Barrios, Indira Blanco, Carlos Cajas, Elba Campos, Yaxk'in Coronado, Carlos González, Michelle Jiménez, Atahualpa Kraemer, Karla Ortiz, Sofía Ortiz, Alejandro Radillo, Francisco Rodríguez, Allié Sarmiento, Heinrich Terborg, Roland Terborg, Ricardo Trejo y Gerardo Zavaleta.

En la parte de la academia quiero empezar agradeciéndole al Dr. Rafael Barrio, quien es hasta ahora una de las pocas personas que me ha inspirado y es una guía a seguir. Le agradezco mucho sus enseñanzas y su forma pragmática de mirar la naturaleza. Después de haber trabajado más de seis años bajo su tutela sólo puedo terminar esta oración diciendo: Gracias Rafael y ojalá algún día compartamos más.

Asimismo, le agradezco a Pedro Miramontes por sus consejos y su preocupación por mi situación de vida. Le agradezco a Carmen Varea por su gran colección de libros y su gran confianza durante estos años. También me gustaría agradecer a las personas que participaron en este trabajo y me dieron la oportunidad de conocer sus inquietudes. De igual forma le agradezco a los sinodales: Dra. Mariana Benítez Keinrad, Dr. Victor Breña Medina, Dr. Carlos Muñoz Garay y Dr. Carlos Villarreal Luján, quienes revisaron este trabajo y me brindaron muchas sugerencias para mejorarlo.

Por último, le agradezco al CONACyT por el apoyo económico que me brindó durante los años del doctorado y por mostrarme que el ciclo continua. Además, 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.

Resumen

En el presente trabajo planteamos que el problema de entender los procesos del desarrollo que involucran la proliferación celular, la formación de patrones y la diferenciación celular en un sistema biológico modelo, como el meristemo de la raíz de *Arabidopsis thaliana*, se pueden abordar bajo la premisa de que las células en el sistema biológico intercambian información espacio-temporal que les permite crecer y reproducirse a través de una interacción de campos físicos macroscópicos, agentes químicos y agentes genéticos. De esta forma, abordamos los procesos del desarrollo mediante varios modelos que describen de manera acoplada la dinámica de campos físicos y agentes químicos y genéticos en los que destacan las fitohormonas de crecimiento de las plantas llamadas auxinas y la síntesis de proteínas PIN que se encargan del transporte de las auxinas a lo largo del meristemo de la raíz de *Arabidopsis*.

Debido a que las auxinas se relacionan con los procesos del desarrollo de las plantas mediante mecanismos de señalización físicos y procesos biológicos como la síntesis de proteínas y la acción sobre otras hormonas durante la proliferación celular, proponemos que nuestros modelos integren la proliferación celular y los cambios de los campos físicos a través de la dinámica del ciclo celular y la distribución de auxina a lo largo de la raíz. Así, los campos físicos que hemos considerado se relacionan con la proliferación celular al tomar en cuenta la forma y el tamaño de cada célula bajo una perspectiva elástica y con el correcto desarrollo del dominio de la raíz mientras las células se reproducen.

Tomando en cuenta que las auxinas tienen una distribución espacial en el meristemo de la raíz que permite una proliferación celular diferenciada y que las tasas de proliferación a su vez generan un notable cambio en la distribución de auxina, esto debido al intercambio continuo de auxina entre las células y la síntesis de proteínas PIN que polariza el flujo de auxinas. Entonces, modelamos el flujo de auxinas con la ecuación de transporte hidrodinámico dada por la ley de Darcy y consideramos el coeficiente de permeabilidad como una medida del transporte polarizado de auxinas debido a la acumulación de las proteínas PIN en las células.

Con la integración de los modelos desarrollamos varios cálculos numéricos para la proliferación celular y realizamos una comparación cualitativa con los datos experimentales que consideran los patrones celulares a lo largo de la raíz. Los modelos recuperan, de forma emergente, los dominios característicos de la raíz en los que destacan la zona de elongación, el dominio de transición y la zona meristemática. De igual forma, los modelos nos ayudan a entender la formación del nicho de células troncales, la aparición del centro quiescente y la formación de una fuente inversa que se genera por el transporte de auxina en la raíz.

De igual forma, usamos las dinámicas acopladas de los modelos para estudiar sistemáticamente el surgimiento de las formas y los patrones biológicos en la raíz y con ello logramos describir el crecimiento de una raíz al cambiar la rigidez de las paredes celulares. Encontramos una relación entre los máximos de concentración de auxina y la curvatura de la raíz. Logramos describir el tamaño del meristemo al alterar la tasa de transporte de auxina, siendo el tamaño del meristemo más grande cuando la tasa de transporte es baja y más pequeño cuando la tasa es alta. Como punto final propusimos una forma de incluir las interacciones de una red genética usando un modelo de campo-fase de curvatura espontánea donde la concentración de múltiples sustancias y el tensor de esfuerzos alteran el crecimiento.

En términos generales podemos decir que la proliferación celular en el meristemo de la raíz se puede entender a partir de las interacciones auto-organizadas entre campos elásticos físicos y sustancias químicas que se transportan y que el acoplamiento dinámico entre los agentes es suficiente para que la organización celular en la raíz emerja como una propiedad robusta.

Abstract

In this work we propose that while cells reproduce, they obtain positional information from macroscopic physical and chemical fields that are modified in space during morphogenesis. We use this hypothesis to describe the mechanisms by which stem cells maintain their capacity to regenerate and provide the cellular fate for their daughter cells. We choose the root apical meristem of *Arabidopsis thaliana* to explore the emergence of cellular patterns through the cooperative dynamics in a proliferation model because this system is well studied at the molecular, genetic and cellular levels.

The model integrates the cell proliferation dynamics and the changes of the physical fields through the dynamics of cyclins B and D that occur during the cell cycle. One of the physical fields takes a count the form and the shape of every cell under elastic perspective and the other one uses the shape of the root domain to generate a proper growth of the cells when they reproduce. This second physical field is modeled using the phase-field model with spontaneous curvature in which its mobility was setting in terms of stress tensor.

We use an equivalent hydrodynamic Darcy's law to describe the polar auxin transport and the permeability of the cell walls to drive the polar localization of PIN transporters. We perform numerical calculations that allow for quantitative comparison with experimental measurements that consider the cellular patterns at the root tip. Our model recovers, as an emergent pattern, the transition from proliferative to transition and elongation domains, characteristic of stem-cell niches in multicellular organisms.

We successfully predict altered cellular patterns that are expected under various applied auxin treatments or modified physical growth conditions. Also we recover the inverse fountain pattern of auxin transport observed in real roots due to PIN auxin efflux dynamics. Our modeling platform successfully predicts the accumulation of auxin concentration near the region of maximum curvature in a bent root. On the other hand, our modeling platform may be extended to explicitly consider gene regulatory networks through a phase-field model with spontaneous curvature in which the stress tensor and the action of the genes change spontaneous curvature.

Overall, cell proliferation in the root meristem arises from self-organizing interactions between physical elastic fields and chemical substances, as well as the dynamical coupling between these agents which is sufficient to emerge cellular organization in the roots as a robust property.

Abreviaturas

- **CPD**, dominio de proliferación celular.
- **DZ**, zona de diferenciación.
- **EZ**, zona de elongación.
- **GRN**, red de regulación genética.
- **MZ**, zona meristemática.
- **PIN**, proteínas resultantes de la expresión de los genes *PINFORMED*.
- **PINs**, transportadores de auxina relacionados con la síntesis y localización de las proteínas PIN en la membrana plasmática.
- **QC**, centro quiescente.
- **RAM**, meristemo apical de la raíz.
- **SAM**, meristemo apical de la flor.
- **SCN**, nicho de células troncales.
- **TD**, dominio de transición.

Índice general

1. Introducción general	1
1.1. La física y las matemáticas en la biología	1
1.2. <i>Arabidopsis thaliana</i> , el modelo de estudio	3
1.3. Hipótesis	5
1.4. Objetivos	5
1.5. Estructura de la tesis	5
2. La raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	7
2.1. Disposición geométrica de la raíz	9
2.2. Proliferación celular	9
2.2.1. El Centro Quiescente	10
2.2.2. Nicho de células troncales	11
2.2.3. Células de la epidermis	13
2.3. Mecanismos de señalización	13
2.3.1. Auxinas	14
2.3.2. Las proteínas PIN	16
2.4. Mecanismos de reproducción celular	17
2.4.1. Las ciclinas y el ciclo celular	19
2.4.2. Interacción con campos mecánicos	20
3. Modelo del campo elástico	23
3.1. Diagramas de Voronoi	25
3.2. Energía libre como función de la forma y el tamaño	27
3.3. El campo elástico y formación de la epidermis	31
3.4. Resumen de modelos del campo elástico	33
4. Modelo del campo elástico y las auxinas	35
4.1. Transporte de auxinas	35
4.2. Permeabilidad y función de los PINs	36
4.2.1. Compuertas lógicas	36
4.2.2. Modelo dinámico	37
4.3. Resumen de modelos del transporte de auxina	38
5. Modelo del ciclo celular y adaptaciones para la simulación	41
5.1. El ciclo celular y el modelo Lotka-Volterra	41
5.1.1. Adaptación del ciclo celular y la división celular	43
5.2. Estimación numérica de los parámetros	44
6. Proliferación celular y las células internas	47
6.1. Condiciones generales	47
6.2. Desarrollo de la raíz	47
6.2.1. Concentración de auxinas y posición del QC	47
6.2.2. Proliferación celular	48
6.2.3. Comparación entre la simulación y el experimento	50
6.2.4. Discusión y predicciones	54

Índice general

6.3. Conclusiones	56
7. Proliferación celular y la epidermis	57
7.1. Condiciones generales	57
7.2. Propiedades emergentes en la proliferación	58
7.2.1. Gradiente de auxinas y proliferación celular	58
7.2.2. El QC como propiedad emergente	60
7.2.3. Transporte de auxinas y fuente inversa	61
7.2.4. Rigidez y alteración del ciclo celular	63
7.2.5. Discusión y predicciones	65
7.3. Conclusiones	65
8. Discusión general y conclusiones	67
8.1. Comparación de modelos	67
8.2. Flujo de auxinas en una raíz curva	69
8.3. Tamaño del dominio	71
8.3.1. Campo-fase y celdas Helen-Shaw	72
8.4. Ordenamiento de las proteínas PIN y el campo-fase	74
8.5. El campo-fase y el tensor de esfuerzos	78
8.6. Conclusiones	81
A. Modelo dinámico de los PINs	83
B. Interpretación del potencial elástico	93
C. Campo-fase	97
C.1. Caracterización del campo-fase	97
C.1.1. Dinámica de Cahn-Hilliard	97
C.1.2. El campo-fase en el modelo de Canham-Helfrich	99
C.1.3. Constricciones geométricas	101
C.1.4. Ecuaciones dinámicas	101
C.2. Tensor de esfuerzos	102
D. Artículos publicados	103

Índice de figuras

1.1. Efecto de patrones espaciales en animales	2
2.1. Zonas de distribución celular en la raíz	8
2.2. Partes de una célula vegetal	10
2.3. Diagrama de las partes de la raíz	12
2.4. Distribución de auxinas en la raíz	15
2.5. Auxinas en una raíz doblada	16
2.6. Acción de las proteínas PIN en el RAM	18
2.7. Fases ciclo celular	19
3.1. Esquema del modelo	25
3.2. Diagramas de Voronoi	26
3.3. Dominio de la raíz con diagramas de Voronoi	28
3.4. Evolución del campo elástico	30
3.5. Evolución del campo elástico con epidermis	33
4.1. Acción de los PINs. Compuertas lógicas	37
4.2. Polarización dependiente de los PINs	39
5.1. Ciclinas y Lotka-Volterra	42
6.1. Diagrama de flujo para el modelo sin epidermis	48
6.2. Crecimiento típico de la raíz	49
6.3. Potencial, auxinas y ciclo celular.	50
6.4. Histograma del número de divisiones celulares en el RAM	51
6.5. Validación experimental. Tasa de proliferación	52
6.6. Validación experimental. Distribución celular	53
6.7. Validación experimental. Tasa de proliferación	53
6.8. Validación experimental. Velocidad de proliferación	54
6.9. Tamaño del meristemo como función de α	55
7.1. Diagrama de flujo para el modelo con epidermis	58
7.2. Crecimiento de la raíz con epidermis	60
7.3. Potencial, auxinas y número de divisiones	61
7.4. Gradiente de auxina sin fijar el QC	62
7.5. Dirección de polarización	63
7.6. Flujo de auxinas con los PINs dinámicos	64
7.7. Longitud celular como función de la elasticidad en la epidermis, el ciclo celular y la posición del QC	66
8.1. Distribución de auxinas en una raíz con doblez en U	71
8.2. Distribución de auxinas en una raíz con doblez en U y crecimiento celular	72
8.3. Campo-fase $\tilde{\phi}$ para el crecimiento del dominio	74
8.4. Campo u y acción de las auxinas	77
8.5. Proliferación celular usando el campo-fase ϕ	77

Índice de figuras

8.6. Crecimiento de una raíz usando el tensor de esfuerzos	80
A.1. Red Booleana para los estados de polarización apical y basal de los PINs	85
A.2. Estados de polarización para los PINs	90
B.1. Cuerpo deformado	94
C.1. Perfil del campo-fase	98

Introducción general

La humanidad se ha cautivado desde hace mucho tiempo con la gran diversidad de sistemas biológicos y la amplia gama de patrones espaciales que hay en cada uno de ellos. Aunque esta cautivación se inició observando sólo animales y plantas, hoy en día esta atracción se ha llevado a otras escalas de la vida, donde los patrones siguen apareciendo en formas muy diversas y fascinantes. Si bien, muchos de los patrones que aparecen en un sistema biológico permanecen casi constantes durante todo el desarrollo, otros más cambian a lo largo de éste, creando así nuevos patrones. Este último hecho ha puesto a la comunidad científica la interrogante sobre cómo surgen esos cambios en estos sistemas. Así, en décadas recientes, se han formulado muchos modelos para explicar la aparición y evolución de estos patrones en organismos determinados, llevando con ello interpretación de la morfogénesis en dichos organismos [1, 2]. En varios casos, la comunidad científica ha recurrido a usar sistemas biológicos modelo, tal es el caso de la bacteria *Escherichia Coli* [3], la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* [4, 5], el ratón de laboratorio *Mus musculus* [6] y la planta *Arabidopsis thaliana* [7, 8, 9, 10], para poner en práctica sus hipótesis y generar con ello ideas generales sobre la morfogénesis y su aplicabilidad a organismos afines.

1.1. La física y las matemáticas en la biología

La incursión de la comunidad científica en el desarrollo de modelos que explican cierta función en un organismo, tiende a involucrar el uso de diferentes herramientas y la participación integral de diferentes disciplinas naturales, como son las matemáticas, la física, la química y la biología. De esta manera, en las últimas décadas, quizá el trabajo más citado sobre el uso de las matemáticas y la física es, *On growth and form* escrito por el biólogo y matemático D'Arcy Thompson a principios de siglo XX [11]. En este trabajo, se esboza una manera de determinar la forma y la estructura de un ser vivo con métodos geométricos, interacciones mecánicas y cambios de coordenadas. Si bien, este trabajo sólo representa una visión de cómo la combinación de ciertas herramientas puede proveer ideas para la creación de modelos, no deja de ser una inspiración para desarrollar muchas teorías que permiten entender la morfogénesis desde varios puntos de vista. Otros trabajos desarrollados más recientemente y que involucra ya el uso de modelos matemáticos, tratan de la formación de patrones en pieles de animales a través de ecuaciones de reacción-difusión con condiciones de Turing [12]. En este tipo de modelos se propone que las interacciones entre varias sustancias químicas (llamadas morfógenos por Alan Turing en 1952 [12]) son de carácter no-lineal, de tal forma que la concentración de un morfógeno cambia en el tiempo en forma difusiva mientras existe una reacción con los otros morfógenos. Aún cuando la cantidad de eventos entre morfógenos es enorme, la cinemática que rige al sistema bajo ciertas condiciones lineales encarcela en regiones espaciales la concentración de algún morfógeno, lo que permite que emerjan patrones espacio-temporales que se asemejan a algún patrón en un sistema biológico, como es el caso de las pieles de animales [13]. La figura 1.1 ejemplifica la formación de estos patrones en pieles de animales.

Aunque muchas de las ideas para la formulación y obtención de un modelo parecen estar plasmadas en los trabajos de Thompson [11] y Murray [13], todavía hay mucho que estudiar, pues las interacciones de los elementos que causan las distribuciones espaciales en los seres vivos y en general en los sistemas biológicos siguen una relación compleja, es decir, siguen dinámicas no-lineales donde

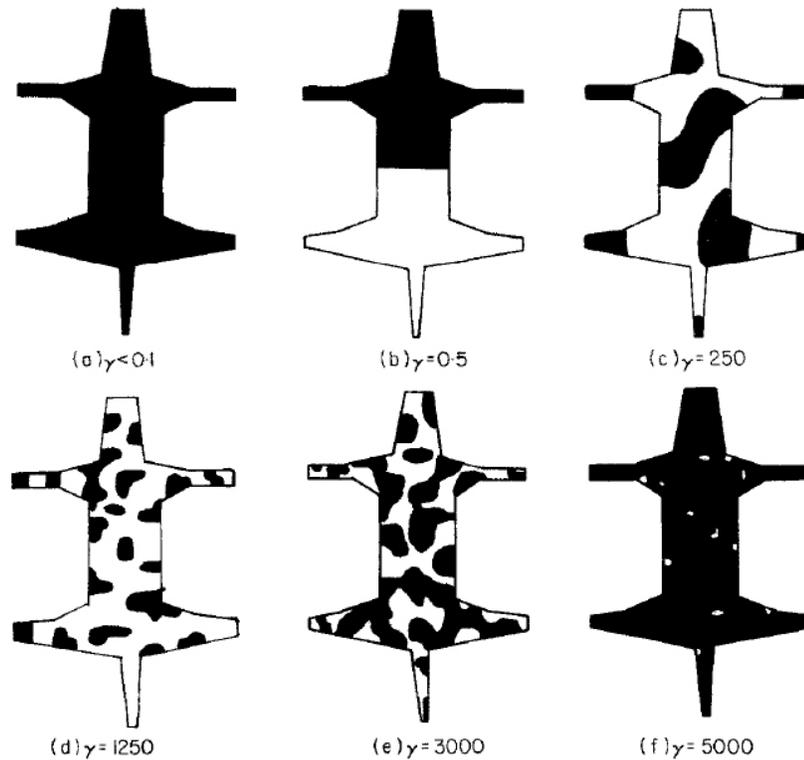


Figura 1.1: Se muestra el efecto que tiene la interacción de dos sustancias en un dominio que simula la superficie del cuerpo de un animal con cuatro patas, una cabeza y una cola. El parámetro γ en las figuras representa la magnitud de la interacción de esas dos sustancias en un sistema de ecuaciones tipo reacción-difusión. Imagen tomada de la referencia [13].

las escalas de tiempo entre las interacciones de sus elementos con las dinámicas de sus productos es casi del mismo orden. Si bien, en física y en matemáticas hay teorías que se ajustan para entender el comportamiento complejo de un sistema de esta naturaleza, en biología aún se están proponiendo y rescatando ideas para entender este tipo de situaciones. No obstante, algunas ramas de la biología, como la biología del desarrollo, la biología molecular y la genética, la genómica, la epigenética, entre otras, están recurriendo al uso del lenguaje matemático y físico para proponer modelos. Un ejemplo de esto es la representación de componentes genéticos y sus interacciones a través de una red Booleana con funciones probabilísticas de acción entre genes para describir el desarrollo de la floración de *Arabidopsis* [10, 14, 15]. Otra situación es, por ejemplo, la descripción de interacciones mecánicas que sufre el sustrato celular con las células para dar origen a la formación de pigmentos o patrones en las serpientes a través de una vinculación epigenética y física [16].

Si pensamos que los procesos que se llevan a cabo en un sistema, donde ocurre la aparición de patrones espaciales, ya sea por pigmentos, morfógenos, formas, etcétera, se pueden entender a partir de procesos de auto-organización mediante un lenguaje matemático; podemos decir entonces, que la descripción general del sistema donde ocurren todos estos procesos se puede modelar con el uso de la teoría de grafos a partir del concepto de red. De esta forma, el espacio gráfico donde hay nodos y enlaces representa los estados e interacciones entre las variables del sistema. Visto así, podemos decir, que las constricciones que hay entre los elementos (las variables) y los productos de estos se

pueden interpretar usando ligaduras entre los nodos de forma que las variables pueden estar activadas o inhibidas. Bajo esta visión, las ligaduras quedan libres y susceptibles a la asignación de diferentes propiedades dinámicas que se pueden relacionar con el ambiente a través de condiciones químicas y físicas. Tomando en cuenta esto, podemos pretender describir algunos sistemas biológicos en los que se conocen algunos procesos moleculares de forma detallada, o bien, donde se ha logrado una clasificación de sus genes y sus interacciones que tienen éstos con las proteínas que hay a su alrededor y las que ellos mismos codifican. Equivalentemente, donde se conoce la interacción de ciertos morfógenos que cambian los ciclos de reproducción celular, el crecimiento celular, la concentración u orientación de proteínas en las células o en el medio intercelular.

Si bien, el estudio de una función ligada a un patrón espacial se puede entonces entender desde varias perspectivas, o más aun, se pueden unir varios enfoques para proponer un modelo que ayude al entendimiento de dicho sistema y permita la exploración de nuevas vertientes del mismo, hay que ser cauteloso al proponer la función que ligue el patrón espacial, ya que se puede recurrir a generar sólo modelos *ad hoc*. Por ello, propondremos hacer una incursión sistemática con el uso de varias herramientas matemáticas y físicas para generar modelos sobre ciertas funciones en un sistema biológico modelo. Para esto, usaremos los patrones espaciales y las características más sobresalientes de este sistema tratando de englobar la mayor información posible. En todo momento recurriremos a la idea de que un modelo simple es mejor para el entendimiento general de cualquier sistema.

1.2. *Arabidopsis thaliana*, el modelo de estudio

Durante las últimas décadas una rama de la biología dedicada al desarrollo se ha centrado en estudiar los componentes moleculares de diferentes organismos con la finalidad de descubrir los mecanismos que rigen su desarrollo. De esta forma, varios grupos de científicos hemos empezado a considerar que para ciertos organismos como las plantas y los animales los procesos que ocurren durante su morfogénesis se pueden relacionar con la información posicional de sus células a través de un campo de constricciones físicas y los componentes químicos en el organismo mediante una retroalimentación dinámica [17, 18, 19, 20, 21, 22]. Así, esta retroalimentación junto con todos los procesos celulares que ocurren durante la vida del organismo forma en su totalidad una red de procesos dinámicos que da emergencia a una nueva información posicional [23] y constricciones físicas, que a su vez generan nuevas interacciones entre los componentes químicos y que provocan cambios en la expresión genética, en la proliferación celular, en la polarización y el gradiente de sustancias así como en el destino celular [23, 24, 25, 26]. De esta forma, se tiene mucho interés en buscar las condiciones físicas que hay entre un grupo de células y sus alrededores para determinar con ello el estado morfogenético de un organismo. Así, en los últimos años las condiciones físicas que más se han estudiado están relacionadas con los campos físicos de tensión, con los campos físicos de turgencia y con los campos de fuerzas mecánico-elásticas [27, 28].

Por tanto, en este trabajo hemos elegido a las plantas como un sistema experimental para explorar el papel de las fuerzas o constricciones físicas durante la morfogénesis. En particular, hemos considerado el uso de la planta *Arabidopsis* como sistema de estudio para integrar los procesos bioquímicos y genéticos a través de los factores físicos que actúan durante su desarrollo. Para ello, hemos considerado que la morfogénesis de las plantas tiene lugar en grupo de células indiferenciadas, llamadas meristemos, durante toda su vida. De estos meristemos existen dos tipos en las plantas en donde podemos centrar nuestro estudio, el primero llamado el meristemo del tallo que da origen a la floración o “shoot apical

meristem” (SAM) y el segundo el meristemo apical de la raíz o “root apical meristem” (RAM). Ambos meristemos tienen propiedades interesantes y de las cuales podemos mencionar: el SAM permite que los cuatro órganos de la flor (sépalos, pétalos, estambres y carpelos) se desarrollen en una estructura geométrica de anillos concéntricos que es notable en aproximadamente en el cuarto de millón de especies de plantas con flores [9, 10, 15, 29, 30, 31]; mientras que en el RAM es notable observar que un grupo de células madre, llamadas nicho de células troncales se encargan de organizar la proliferación y el desarrollo celular a través de una distribución de patrones espaciales en los que destacan los cambios del tamaño celular, la movilidad celular, la concentración de sustancias y la diferenciación celular [32, 33, 34, 35, 36].

El interés por estudiar el patrón de crecimiento en un grupo de células, en particular las células troncales en el RAM de las plantas mediante el uso de fuerzas físicas, se basa específicamente en determinar cómo es que las células troncales pueden mantener sus estados totipotenciales al mismo tiempo que dan lugar a sus células hijas, cuyos destinos se ligan a la formación de tejidos y órganos diferenciados. Desde luego, la historia que hay detrás de cada célula hija es fundamental para entender el desarrollo de cualquier organismo multicelular, por ello es necesario describir el linaje y el destino celular y una forma de hacerlo es a través de las tasas de división celular y sus interacciones genéticas [14, 37], dado que el desarrollo de tejidos y órganos, así como la conservación del nicho de células troncales se debe en gran medida a las redes de regulación genéticas (GRN, del inglés “gene regulatory network”) y a los componentes bioquímicos. Hoy se reconoce que los campos físicos son también críticos para explicar los patrones del desarrollo, ya que pueden proporcionar información posicional [23] que modifica el comportamiento celular y la diferenciación [38, 39]. De esta forma, a nivel celular la condición física más simple que puede afectar el crecimiento celular es el espacio que ocupa cada célula. Sin embargo, hay que tomar en cuenta también que la turgencia permite que la célula aumente su tamaño [40] a través de un equilibrio en su campo de tensiones y puede servir de señal mecánica al núcleo celular para que en este se activen los factores transcripcionales adecuados [19, 35].

La complejidad de los procesos que intervienen en el desarrollo es mayúscula y el uso de herramientas matemáticas y computacionales se han vuelto indispensables para cubrir los esfuerzos necesarios para entender la red de interacciones implicadas en la diferenciación celular y el desarrollo de órganos. Con ello, anteriormente se ha mostrado que una GRN puede acoplarse con un campo físico para entender el desarrollo temprano de la flor a través de la información posicional que provee el campo a las células meristemáticas [8, 9]. De esta manera, éste y otros estudios similares [29, 41, 42, 43, 44, 45, 46] sugieren que los patrones morfogenéticos en los organismos multicelulares, como las plantas, tienen un carácter robusto donde emergen procesos dinámicos complejos en diferentes niveles de organización y escalas espacio-temporales. Como es de esperar, estos modelos aún tienen mucha información disponible que cubrir y por ello se han convertido en casos modelo de la biología. Utilizar en este punto un sistema biológico modelo como el meristemo apical de la raíz de *Arabidopsis* es un buen punto de partida, pues en él se pueden proponer varios modelos que nos ayuden a explicar cómo la proliferación celular y el crecimiento de la raíz se relacionan con algunos procesos dinámicos entre campos físicos y químicos que dan origen a la morfogénesis.

Por otra parte, la simplicidad relativa con la que *Arabidopsis* facilita estudios genéticos ayuda a entender muchos fenotipos asociados a mutaciones [7, 47] en una gran cantidad de plantas y por ello la convierte en un organismo modelo. Otros hechos importantes, que hacen de *Arabidopsis* un organismo modelo son que: a) tiene una estructura celular relativamente simple con crecimiento indeterminado

y estructuras multicelulares donde la proliferación celular es diferencial y donde aparecen dominios de expresión genética; b) es fácilmente manipulable en el laboratorio debido a su tamaño (del orden de decímetros); c) tiene un ciclo de vida corto (del orden de seis semanas) y d) sus semillas, además de ser abundantes, tienen una germinación rápida, lo que permite observar alteraciones genéticas, químicas y físicas de manera muy rápida, además de ser uno de los primeros organismos a los cuales se les ha logrado secuenciar su genoma completo con 135 Mpb (mega pares de bases) y 5 cromosomas [48].

1.3. Hipótesis

La hipótesis de este trabajo es que podemos abordar el entendimiento de los procesos del desarrollo de un organismos con ayuda de la proliferación celular, la formación de patrones y la diferenciación celular en los meristemas de las plantas bajo la premisa de que las células intercambian información espacio-temporal que les permite crecer y reproducirse a través de una interacción entre campos físicos macroscópicos y agentes químicos y genéticos.

Así, para abordar esta hipótesis proponemos en este trabajo generar modelos simples para estudiar las interacciones antes mencionadas e implementar su uso mediante una simulación numérica.

1.4. Objetivos

De esta forma, los objetivos de este trabajo son la descripción cualitativa de la proliferación celular en el meristemo de la raíz de *Arabidopsis thaliana* mediante modelos que integren: las interacciones físicas mecánico-elásticas entre las células; el transporte de auxinas dada por la presencia de las proteínas PIN y los patrones espacio-temporales de concentración de auxina a lo largo del meristemo.

Como objetivo común buscamos que los modelos proporcionen una herramienta para entender y predecir el surgimiento de patrones espacio-temporales y la morfogénesis en los meristemas de las plantas, y que además, se conviertan en una plataforma para implementar otras dinámicas que surgen de las interacciones de las redes de regulación genética.

1.5. Estructura de la tesis

En lo que sigue de este trabajo describiremos tres modelos con diferentes características y su acoplamiento para entender cómo la proliferación celular de la raíz de *Arabidopsis* genera de forma suficiente una distribución celular y patrones espacio-temporales de concentración de auxina en el meristemo. Para lograr esto usaremos el capítulo dos para resaltar los elementos más importantes del meristemo de la raíz como son: la estructura de la raíz, el papel del nicho de células troncales y los mecanismos de proliferación celular a través del ciclo celular y el transporte activo de las auxinas. De igual forma, al final de este capítulo, mostraremos las relaciones que hay entre los agentes bioquímicos y los mecanismos de señalización físicos en la proliferación celular y la formación de patrones. En el capítulo tres abordaremos la construcción de un modelo que involucra los señalamientos mecánicos más sobresalientes y su acción en la proliferación celular. Mostraremos que el espacio que tienen las células al reproducirse es suficiente para obtener un campo elástico como función de la forma y el tamaño de cada célula y que el espacio geométrico de cada célula se puede representar con diagramas de Voronoi. Describiremos en detalle como construir un diagrama de Voronoi y haremos una distinción entre un

Capítulo 1. Introducción general

modelo que contempla solamente células internas de la raíz y uno que contempla todas las células en las que se incluye la epidermis. En el capítulo cuatro mostraremos dos formas de relacionar el transporte de auxinas con el campo elástico y la proliferación celular. Usaremos la acumulación de proteínas PIN en las paredes celulares para lograr esta relación a través de la permeabilidad de pared celular. En el capítulo cinco describiremos como se relaciona el ciclo celular y el transporte de auxinas con la proliferación celular y mencionaremos de forma detallada como implementar las dinámicas del campo elástico, el transporte de auxinas, la acción de las proteínas PIN y el ciclo celular en la simulación numérica. En los capítulos seis y siete mostraremos los resultados cualitativos de la proliferación celular comparados con los datos experimentales al implementar diferentes características de los modelos. De igual forma mostraremos como se pueden usar los modelos para predecir cambios en el desarrollo de la raíz. Por último, en el capítulo ocho haremos una comparación entre los modelos y desarrollaremos los efectos mecánicos en una raíz con un doblez y la forma de incorporar los efectos de las redes de regulación genética mediante el tensor de esfuerzos mecánicos.

La raíz de *Arabidopsis thaliana*

En las plantas, los meristemos son sitios con mucha información dinámica sobre los patrones espacio-temporales de auxina, agrupación de células y formación de células madre [49]. La organización de los meristemos, particularmente el de la raíz, depende de una sintonía entre el ritmo de proliferación celular, la disposición espacial entre células, la concentración de hormonas y las fuerzas mecánicas en cada especie de plantas. En estos meristemos, la existencia de un grupo de células siempre activas en fase de mitosis, llamadas células iniciales, mantiene la organización y crecimiento de la raíz de cualquier planta relativamente constante con sus destinos celulares estables y predecibles [50].

En el RAM (del inglés “Root Apical Meristem”) de *Arabidopsis*, las células madre que se reproducen sólo pueden desplazar a sus células hijas en dos sentidos: apical o basal. Estas direcciones se reflejan importantemente en las divisiones anticlinales y periclinales de las células y hacen que el crecimiento de la raíz sea ordenado en filas [51]. El desplazamiento celular en el sentido basal genera el cuerpo de la raíz y conforme se alejan las células de la parte apical, las células empiezan a elongarse y adquirir un estado diferenciado. Cuando el desplazamiento de las células es en sentido apical, algunas células se convierten en parte de la columela o cofia y otras tantas permanecen como células iniciales (ver Fig. 2.1). De esta forma, el meristemo de la raíz de *Arabidopsis* toma una visión estructurada donde hay filas de células indiferenciadas con diferentes linajes entre dos capas de células diferenciadas. La capa inferior de células diferenciadas corresponde a la columela y la capa superior a las células en elongación [52]. Cabe mencionar que las células iniciales en la parte apical de la raíz renuevan constantemente la columela y se encargan de organizar y regular la distribución de sustancias químicas en toda la raíz a través de un grupo de células organizadas en el centro quiescente.

Dentro de las hormonas que se encargan de regular los procesos de crecimiento y diferenciación en la raíz se encuentran las auxinas y las citoquininas. En el meristemo de la raíz, los niveles altos de concentración de auxina y los niveles bajos en la concentración de citoquininas promueven la división celular. Mientras que fuera del meristemo, la poca concentración de auxinas y alto nivel de citoquininas inhiben la división celular y con ello promueven la diferenciación [53]. Como es de esperar, el papel antagónico de estas sustancias en el RAM genera un gradiente de concentraciones y con ello un flujo de sustancias en el que se ve involucrado el estado reproductivo de cada célula [54, 55, 56].

Por otra parte, la capacidad que tiene una raíz para responder a señales externas permite conformar un catálogo de casos que nos ayuda a explorar el crecimiento y la adaptación de cualquier raíz a su entorno. De esta forma, haciendo uso de estudios de genética moleculares, tomado en gran parte de *Arabidopsis*, y un estudio sobre los reguladores mecánicos implicados en los patrones celulares de los meristemos en el crecimiento de las raíces, se ha comenzado a ajustar una estructura general sobre los procesos de crecimiento y la importancia de señales bióticas y abióticas que ocurren en las raíces.



Figura 2.1: Imagen de la punta de la raíz de *Arabidopsis* de siete días de crecimiento en un corte transversal tomada con un microscopio confocal. Se muestra el RAM con su zona meristemática (MZ) y su dominio de transición (TD). También se muestra la zona de elongación (EZ), el nicho de células troncales (SCN) y el dominio de proliferación (CPD). En color verde se marca el centro quiescente (QC) en la parte apical de la raíz. Imagen donada por la Dra. Adriana Garay Arroyo del laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas del Instituto de Ecología, UNAM.

2.1. Disposición geométrica de la raíz

Estudiar la disposición celular en la raíz es un buen punto de partida para encontrar los señalamientos abióticos, pues a pesar de que la raíz de *Arabidopsis* tiene una estructura celular simple, presenta una estructura multicelular compleja. Esta estructura geométrica es importante en el desarrollo de la raíz y se puede caracterizar en tres zonas o dominios: la zona meristemática (MZ, del inglés “meristematic zone”), la zona de elongación (EZ, del inglés “elongation zone”) y el dominio que une a estas dos llamado el dominio de transición (TD, del inglés “transition domain”). La zona meristemática se caracteriza por la actividad mitótica de las células [28, 57]. Así, las células que tienen una tasa alta de actividad mitótica pertenecen al dominio de proliferación celular (CPD, del inglés “cell proliferation domain”) y las células que tienen una tasa baja de actividad mitótica se encuentran en el nicho de células troncales (SCN, del inglés “stem cell niche”). Cabe señalar que el SCN, que se encuentra en la parte apical de la raíz, es el encargado de la creación de tejidos como la epidermis y la columela. En la parte más baja de MZ se encuentra el centro quiescente (QC, del inglés “quiescent center”) que garantiza que el meristemo de la raíz siempre produzca células madre. Cabe mencionar que el SCN contiene al QC y que ambos se encargan de la organización del crecimiento de la raíz [20]. El CPD por otro lado, se encarga de abastecer a la planta de células para la formación de tejidos diferenciados como el xilema y el floema una vez que las células pasan del CPD al TD y a la zona de diferenciación (DZ). De esta forma, el RAM está formado solamente por la zona meristemática y la zona de transición. La figura 2.1 muestra las zonas antes mencionadas en un corte transversal de una raíz tomada en un microscopio confocal, donde la raíz se preparó con marcadores fluorescente para mostrar las paredes celulares.

2.2. Proliferación celular

Una diferencia fundamental entre las plantas y los animales es que las células de las plantas mantienen rodeada su membrana plasmática por una pared rígida. En los animales, las células embrionarias pueden migrar de un lugar a otro para desarrollar tejidos y órganos. En las plantas estas migraciones están restringidas para las propias células debido a la interacción que hay entre sus paredes celulares y la de sus vecinos. Como consecuencia, el desarrollo de la planta depende principalmente de los patrones de división celular y elongación celular.

Las células vegetales tienen dos tipos de paredes: a) la pared primaria, que es una pared delgada y frágil que se encuentra en la parte más exterior de la célula; b) la pared secundaria, que es más gruesa y rígida y se encuentra en el interior de la célula resguardando a la membrana plasmática. Cabe señalar que la pared secundaria se relaciona con la especialización de cada tipo celular y la proporción de celulosa y lignina. Este hecho hace que algunas células vegetales no desarrollen pared secundaria y otras tengan una pared secundaria muy grande [58]. Por otro lado, el grado de rigidez de las paredes se debe a la cantidad de lignina [58], con ello entre más lignina hay en la pared mayor resistencia y rigidez habrá en la pared. La figura 2.2 muestra la estructura general de una célula vegetal.

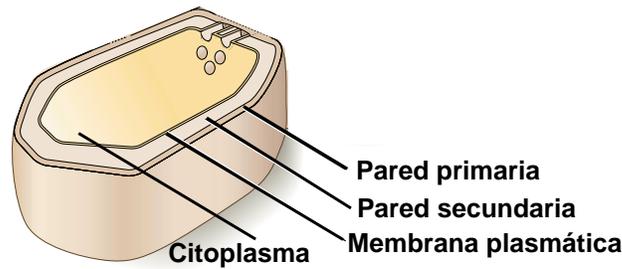


Figura 2.2: Dibujo de una célula vegetal donde se muestra la ubicación de las paredes celulares, la membrana plasmática y el citoplasma. Imagen modificada de Taiz y Zeiger [58].

Las paredes celulares son esenciales para muchos procesos en las plantas, como el crecimiento, el desarrollo, la conservación y la reproducción, gracias a que regulan la resistencia mecánica y controlan la forma y la elongación celular. Las paredes celulares además permiten que las células puedan acumular grandes presiones hidrostáticas internas que son esenciales para muchos procesos fisiológicos como el intercambio de gases, el transporte de sustancias en el floema y en varias regiones de las membranas plasmáticas. La presión de Turgor, llamada así a la presión hidrostática en las plantas, también contribuye con la rigidez y la estabilidad mecánica de los tejidos de plantas que poseen poca o nada de lignina [58, 59, 60].

Por otra parte, la membrana plasmática se encarga de separar el citoplasma del exterior y permite el transporte de ciertas sustancias entre el exterior y el interior. Varias proteínas que se encuentran en la membrana plasmática son responsables del transporte activo y selectivo de sustancias a través de la membrana [61] y con ello, las membranas regulan los flujos de iones y el metabolismo tanto dentro como fuera de la célula.

2.2.1. El Centro Quiescente

El centro quiescente QC es una región del nicho de células troncales que se caracteriza por tener una actividad mitótica baja. La posición del QC es el lugar geométrico donde convergen las capas de células que corresponden a la endodermis, la columela, el xilema y el floema (ver Fig. 2.3). El QC se distingue también por estar contenido en una zona con mucho mayor actividad de división celular que él, tal como es el caso del CPD [50, 46].

En *Arabidopsis* el QC es una de las primeras estructuras que se genera al final de la etapa embrionaria y comprende entre 4-7 células que pueden variar durante la vida de la planta [62]. El QC junto con las células iniciales en el SCN establecen un máximo de concentración de auxina desde etapas tempranas del desarrollo y además mantienen ese estado durante la vida de la planta. Estas condiciones hacen que el QC sea un apoyo inagotable para promover y mantener el crecimiento, así en cualquier instante el QC puede remplazar a cualquier célula para mantener la estructura del RAM. Varios estudios experimentales que consisten en someter a la raíz a condiciones de poca agua, bajas temperaturas, cortes en la zona meristemática y ablaciones de células, sugieren que el papel totipotencial del QC para sustituir cualquier célula durante el crecimiento de la raíz es una propiedad robusta y observable en las plantas [54, 53].

Cuando las células iniciales se dividen en el SCN, las células hijas son alejadas del QC y sometidas a un cierto grado de diferenciación [46], pues se sabe que dada la lejanía de la célula a la zona apical, los niveles de auxina disminuyen y se inician los procesos de expansión y diferenciación celular. Por tanto, se puede considerar que la distancia de cualquier célula al QC está involucrada en la competencia y el destino celular. Tras varios estudios en *Arabidopsis* [49, 63, 53] se ha mostrado que esta última idea es funcional y que el QC es un señalamiento nato para orquestar el crecimiento de la raíz. En el desarrollo de los modelos de proliferación celular tomaremos este hecho como un punto de comparación.

Para mostrar la importancia del QC se han desarrollado experimentos en los cuales se altera el entorno del QC y el propio QC [64, 65, 66]. Los resultados de estos experimentos revelan que se conserva el QC a través de una redistribución de células en el ápice de la raíz y un traslado espacial del QC con nuevas células iniciales a su alrededor. Como punto adicional, se sabe que el QC presenta un máximo de concentración de auxina [67], lo que sugiere que el pico de auxinas es un señalamiento clave para la formación y conservación del QC y viceversa. Para que el señalamiento de auxina se mantenga de manera continua se requiere que la auxina se transporte célula a célula en forma diferenciada. De esta forma, algunos estudios han comprobado que los picos de auxina y en particular la conservación del QC están relacionados con portadores de auxinas y transporte polarizado por proteínas PIN [55, 68, 69]. Visto de esta forma, la primacía de la señal de la auxina en el QC junto con la distancia que tienen las células respecto al QC establecen la posibilidad de un sistema autoorganizado en el que la auxina determina el QC y el QC a su vez mantiene un reclutamiento de células iniciales que garantiza un máximo de auxina y una organización de la estructura del meristemo de la raíz y del crecimiento propio de ésta.

2.2.2. Nicho de células troncales

Las células troncales son un grupo de células madre que se caracterizan por ser células indiferenciadas con alto potencial de proliferación y autoconservación. En el meristemo de la raíz existe un grupo de células que rodea al QC que tienen la propiedad de ser células con alto potencial de proliferación llamadas células iniciales. Dado que cuando se modifica la ubicación del QC las células que están a su alrededor se auto-organizan y se regeneran para seguir unidas al QC, se dice que este pequeño grupo de células iniciales es en realidad un grupo totipotencial de células que opera a una distancia determinada del QC. Por ello, el grupo de células que se encuentran alrededor del QC se les denomina nicho de células troncales [33]. En la figura 2.3 mostramos la ubicación del nicho de células troncales.

La definición de una célula totipotente se basa en gran parte en dos propiedades: 1) la capacidad de regenerar cualquier tejido y 2) la capacidad de dirigir el desarrollo de un órgano [53]. Por otro lado, el concepto nicho de células troncales tiene que ver con la conservación del potencial proliferativo sin la alteración propia por pertenecer al grupo troncal. Como ejemplo, cada que una célula troncal se aleja del nicho, ésta se transforma en una célula inicial formadora de primera generación de tejidos y órganos perdiendo así su papel totipotente [53]. En este sentido, el papel del nicho de células troncales en el meristemo de la raíz es la conservación del grupo de células troncales y el reclutamiento de nuevas células en el caso de pérdida de células para que con ello se mantenga la organización en el crecimiento de la raíz [49].

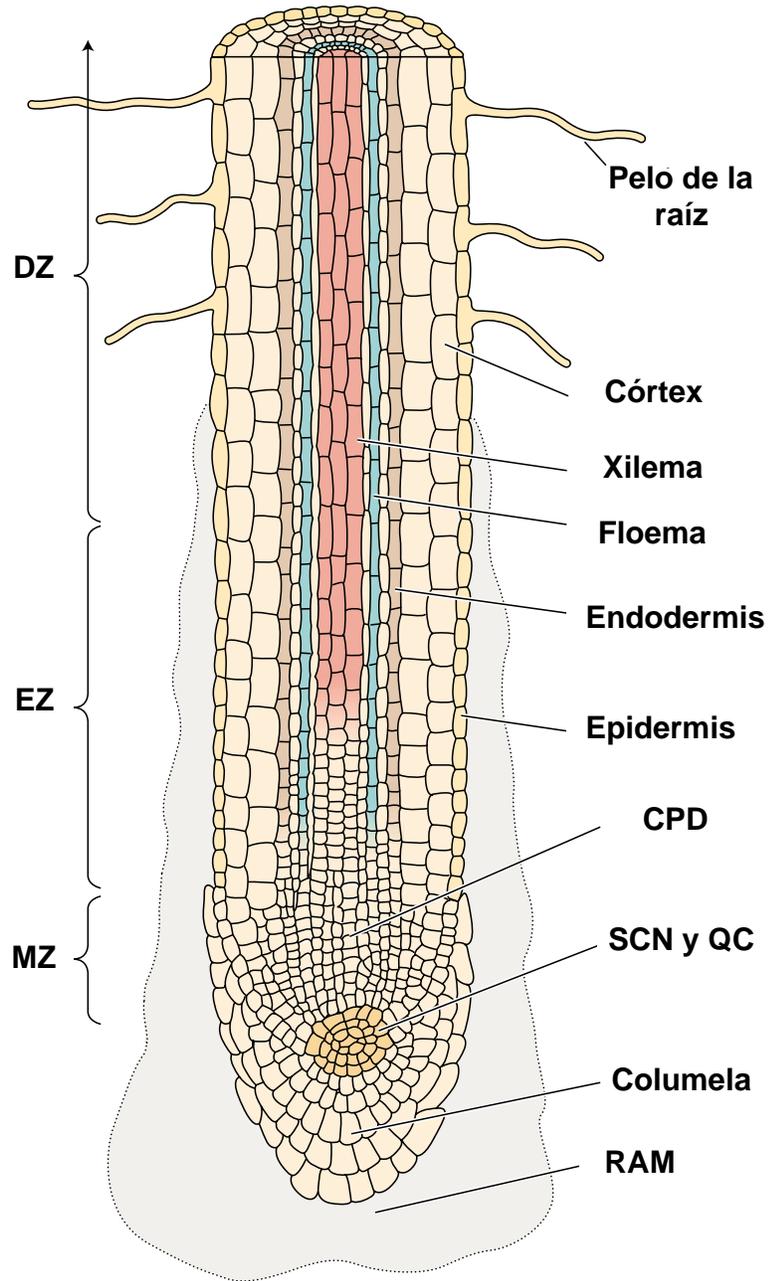


Figura 2.3: Diagrama de la raíz de *Arabidopsis* en un corte transversal en el que se muestra el RAM, la zona meristemática (MZ), la zona de elongación (EZ) y la zona de diferenciación (DZ, del inglés “differentiation zone”). También se muestran las partes que componen la raíz en estas zonas como la columela, el nicho de células troncales (SCN), el centro quiescente (QC), el dominio de proliferación (CPD) y la epidermis. En la zona de diferenciación se muestran los tejidos que corresponden al xilema y al floema así como la endodermis, la corteza y los pelos de la raíz. Los colores sólo representan una guía visual. Imagen modificada de Taiz y Zeiger [58].

2.2.3. Células de la epidermis

La distribución espacial de diferentes tipos de células se vuelve fundamental en los procesos de formación de un organismo multicelular. En las plantas, esta distribución se convierte en un patrón importante a describir y entender mediante el uso de modelos [40, 70, 71, 72, 73]. Dentro de las estructuras de las plantas, hay un patrón de células, llamadas células epidermales, que son interesante estudiar dado que son las que limitan el espacio entre la planta y el medio ambiente, además de que representan una fuente de intercambio de información abiótica y biótica para el resto del organismo.

En la raíz de *Arabidopsis* la epidermis contiene dos tipos de células: las que tienen y las que no tienen pelo. Esta característica de las células emerge del patrón celular de la raíz como función de la posición. Muchos estudios sugieren que detrás de esta asignación hay agentes de regulación genética y agentes físicos que influyen [27, 53, 70, 72]. Aunque todavía hay muchas preguntas por responder sobre la interacción entre diferentes agentes y el destino celular de la epidermis, podemos usar que el estado diferenciado de la epidermis es constante en varios sitios de la raíz [74], por ejemplo el RAM (ver Fig. 2.3). Cabe mencionar que aunque el estudio de los patrones de las células epidérmicas de la raíz de *Arabidopsis* ha enriquecido nuestra comprensión de la regulación genética y molecular del destino celular, en este trabajo sólo usaremos las propiedades mecánicas que surgen de esta capa celular para determinar el destino del RAM.

En este sentido, podemos observar que las células de la epidermis en el RAM se generan continuamente en hileras, esto significa que hay una línea de tiempo en el desarrollo completo de la raíz que se puede observar como función del número de células de la epidermis. En caso de *Arabidopsis* esta línea de tiempo nos revela que un grupo de células, dieciséis aproximadamente, emergen de la capa lateral de la columela en el ápice de la raíz y permanecen unidas al centro quiescente [62, 74]. Cuando las células de la epidermis se reproducen lo hacen de dos formas: 1) en forma periclinal que permiten la extensión de las capas externas de la raíz, así como una contribución al crecimiento interno de la raíz y 2) en forma longitudinal que permite la extensión de la epidermis hacia la zona basal de la raíz y un crecimiento longitudinal. Cabe mencionar que la primer forma de reproducción celular de la epidermis es más frecuente que la segunda [62, 74] y usaremos estos hechos para modelar el campo elástico de las células cuando involucremos la formación de células epidérmicas.

En cuestiones mecánicas, las paredes celulares de la epidermis suelen ser diez veces más delgadas y mucho más resistentes al esfuerzo mecánico que las paredes de las células internas de la raíz. Estas propiedades hacen que las capas de células externas tomen el control mecánico sobre el crecimiento bajo un incremento de la presión [75, 76]. En ese sentido, estudios previos muestran que las señales mecánicas del exterior permiten que las células del interior del órgano tengan un reajuste en su equilibrio mecánico y con ello información extra sobre su posición y su entorno físico para la traducción genética diferencial a lo largo del órgano [76]. Este factor mecánico también será un punto de compación en los modelos de proliferación celular que abordaremos en el capítulo tres.

2.3. Mecanismos de señalización

En esta sección abordaremos los mecanismos de señalización que usaremos para la construcción de los modelos de proliferación celular y la formación de patrones. Para ello consideraremos las secciones anteriores. Pensando que el crecimiento de la raíz proviene de una proliferación continua de nuevas células en el RAM y que después de múltiples divisiones, las células en la raíz se alejan progresivamente del

dominio de proliferación y comienzan a elongarse y a diferenciarse. Entonces, podemos decir que estas etapas mantienen a las células de la raíz en una organización longitudinal y radial. La organización longitudinal mantiene a las células en diferentes zonas mientras que la organización radial preserva el estado celular en anillos concéntricos a diferentes distancias del SCN y del QC. Ya que tanto la distribución longitudinal como radial de las células en la raíz se preserva a través de la regulación del SCN sobre patrones mecánicos, hormonales y de algunas proteínas desde la etapa postembrionaria [53, 77], podemos decir que hay una dinámica entre estos agentes que es usada por el SCN para regular el crecimiento de la raíz todo el tiempo.

Como mencionamos en las secciones anteriores, la concentración de auxina es crítica para mantener la organización del SCN y del QC, además de ser un marcador en el estado diferenciado de las células [54, 63, 78, 79]. Por ello, la auxina es fundamental para preservar la arquitectura de la raíz y el desarrollo celular [56, 77, 80]. En los siguientes apartados abordaremos los aspectos más relevantes de auxina y su transporte por proteínas PIN en todas las células.

2.3.1. Auxinas

Las auxinas afectan casi todos los aspectos del desarrollo de la planta, desde de la polinización y la fertilización hasta el desarrollo de los meristemos que afectan la floración y la formación de raíces [80, 81, 82]. Por tanto, las auxinas son la clave para entender los procesos de señalización que involucran estados abióticos como la gravedad, la luz y el contacto (vía fuerzas de compresión o de esfuerzos normales), y que se sabe que juegan un papel importante en la síntesis y la acción de otras hormonas y factores genéticos en las plantas. Cabe mencionar que estos efectos pueden ser explotados en la agricultura y horticultura y por ello el interés por estudiarlos.

En *Arabidopsis*, la información experimental muestra que la auxina (IAA) genera un gradiente de concentraciones a lo largo de la raíz. Este gradiente presenta un máximo en el QC y niveles altos de auxina en la endodermis, el xilema y el floema. Las células corticales y de la epidermis presentan un nivel más bajo de auxinas [55]. En el dominio de transición el gradiente longitudinal de auxina decrece debido a un flujo de retorno en el xilema y el floema dado en parte por la represión del gen regulador (SHY2/IAA3) que involucra la señal de las citoquininas [79]. Estos hechos hacen que la auxina se acumule en forma diferenciada en las células o un grupo de células para mantener una auto-organización a través de un mecanismo complejo en el que se involucra el transporte activo, la síntesis y degradación de la propia auxina.

Estudios recientes revelan que la mayor cantidad de auxina se genera en las hojas jóvenes y en el SAM. Estos estudios también muestran que la auxina se transporta a través del floema hacia la raíz bajo un transporte polarizado dado por agentes resistentes de auxina (AUX1/LAX) y los portadores de flujo de auxina PIN-FORMED (PIN) [53, 68, 83, 84, 85, 86]. De esta forma, el flujo de auxina converge al QC y se redistribuye a través de la columela y la epidermis hacia la parte basal del meristemo que corresponde al dominio de transición. Ya en este dominio, la auxina se reorienta y fluye de regreso al ápice de la raíz a través de la estructura central. Esta circulación de auxina en el RAM es conocido como el modelo de fuente inversa [87].

La figura 2.4 muestra la concentración de auxina en diferentes posiciones de la raíz después de hacer un análisis estadístico sobre un conjunto de raíces. Cabe mencionar que a pesar de que el transporte polar de auxinas se hace en forma ápico-basal (dirección tomada desde el ápice a la base en TD) debi-

do a la localización asimétrica de proteínas PIN en la membrana celular muchas auxinas se difunden libremente entre las células del meristemo [68, 69, 88, 89, 90]. Estas propiedades permiten que la proliferación y la expansión celular genere un crecimiento tridimensional uniforme en cada dominio de la raíz.

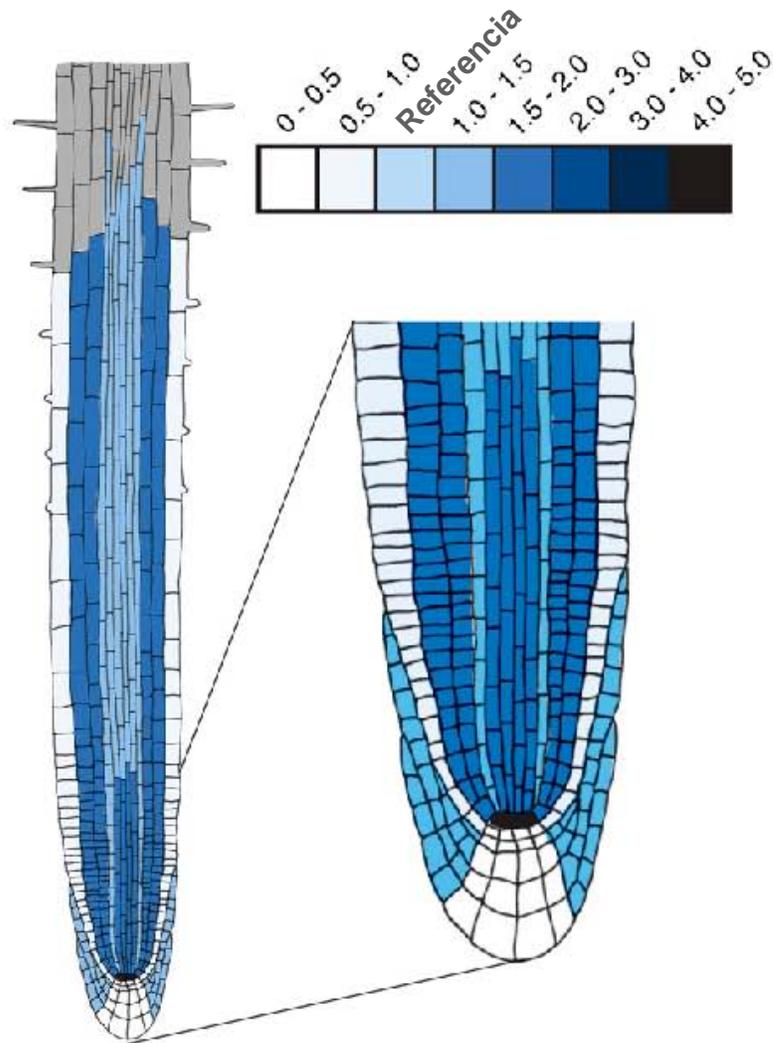


Figura 2.4: Se muestra la distribución de auxinas en un diagrama de la raíz. El diagrama representa las cantidades auxinas en un grupo de raíces a los cuales se les marco con 14 tipos de de proteínas fluorescentes. La escala de color indica la concentración de auxina relativa al valor de referencia. Imagen modificada Petersson *et al.* [55].

Aunque estos mecanismos de transporte de auxinas suelen ser robustos, hay ciertas alteraciones externas a la planta que pueden cambiar la distribución de auxinas. Por ejemplo bajo ciertas señales físicas, como un esfuerzo mecánico que doble la raíz, las auxinas comienzan a concentrarse en los lugares de mayor curvatura y a veces generan un nuevo nicho de células troncales que da origen a la iniciación de múltiples raíces en una misma planta [84, 91]. Estos resultados indican que la idea de

una dinámica interrelacionada entre el transporte de auxinas y la acción de fuerzas físicas es posible dado la modificación de los gradientes de los agentes reguladores que actúan en la morfogénesis de las raíces. Bajo estas ideas se ha demostrado que señales mecánicas afectan a la distribución de auxina. Un ejemplo de esto es que los gradientes de auxina pueden ser modificados por una inducción mecánica cuando se dobla una raíz [84, 92], o por cambios en la detección de la fuerza gravitacional [93, 94]. En la figura 2.5 se muestra la redistribución de auxinas en una micrografía de una raíz a la que se le ha inducido un doblez. Es importante notar que los puntos de mayor curvatura tienen indicadores de niveles altos de auxina (observe las células que se encierran en círculos blancos). Otro ejemplo más es que la orientación y el transporte de auxina se modifica por la respuesta mecánica en las componentes microtubulares de las paredes celulares [95, 96].

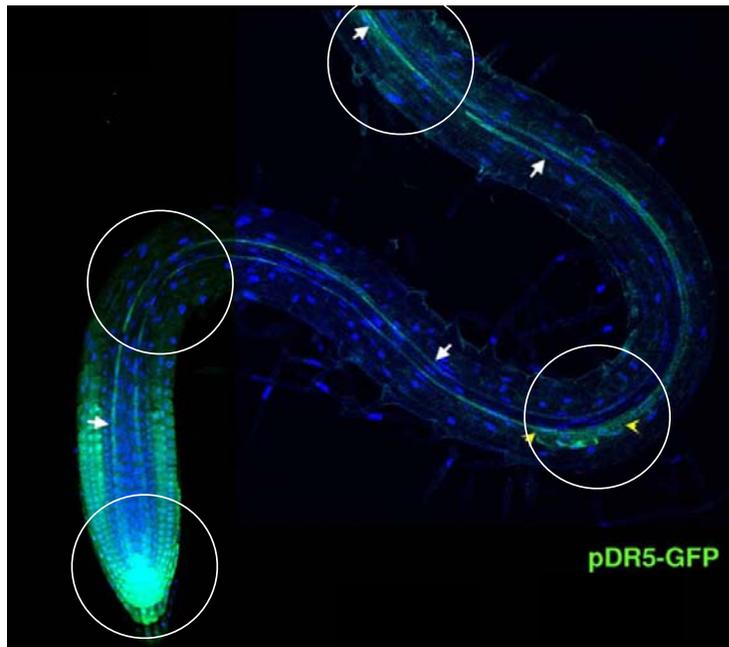


Figura 2.5: Se muestra la distribución de auxinas en una micrografía de una raíz doblada a través de la expresión de proteínas fluorescentes (pDR5-GFP) en color verde. Observe que los lugares de mayor curvatura (círculos blancos) contiene células con un mayor grado de expresión de proteínas, lo que indica que hay niveles altos de auxina en esas regiones de la raíz. Imagen tomada y modificada de Ditengou *et al.* [92].

2.3.2. Las proteínas PIN

La señalización de auxina no sólo depende de la producción de auxina en un tejido determinado, sino también de la distribución de la auxina vía el gradiente de concentración. Como vimos en el apartado anterior, es conocido que la auxina es sintetizada en la parte superior de la raíz y se transporta direccionalmente dentro de raíces mediante un flujo polar. La forma en que se transporta la auxina principalmente es por difusión y por acción de las proteínas PIN [67, 77, 97]. Los genes *PIN* codifican los transportadores de auxina (PINs) en cada célula para regular y localizar puntos de concentración de auxina [68] para que con ello los PINs liberaren y almacenen auxina en cada célula de la raíz en forma selectiva.

Estudios teóricos y experimentales sugieren que la conservación del gradiente de auxinas depende de manera crítica de la localización de los PINs [69, 88, 89, 90]. En *Arabidopsis* cinco miembros de las proteínas PIN dividen la región del RAM en dos dominios simétricos en los que se produce una circulación de auxina en forma de fuente inversa [87]. Las proteínas PIN 1, 3, 4 y 7 mantienen un flujo constante baso-apical en la parte central de la raíz. La redistribución de auxina que se lleva a cabo en el ápice de la raíz corre a cargo de las proteínas PIN 3 y 7. Finalmente, el flujo sufre un cambio de dirección por acción de PIN 2 en la epidermis de la raíz haciendo que la auxina fluya apico-basalmente [68, 85, 98, 99]. La figura 2.6E muestra el transporte polarizado de auxinas dado por la ubicación de las proteínas PIN. En las figuras 2.6A-2.6D se muestran los lugares donde están activas las proteínas PIN 1, 2, 4 y PIN 7 respectivamente mediante marcadores fluorescentes acoplados a la acción de las proteínas PIN.

Las proteínas PIN se ubican en la membrana plasmática de las células y su densidad y localización específica no sólo depende de la cantidad de auxina en la célula sino también de las tasas de endocitosis y exocitosis con las que se reciclan ellas mismas [100]. En ese sentido, estudios recientes tratan de vislumbrar los mecanismos moleculares que regulan la concentración de proteínas PIN y los niveles transcripcionales que hay detrás [101, 102, 103]. Sin embargo, pocos estudios han demostrado que además de las interacciones moleculares, las fuerzas mecánicas se vuelven relevantes en los procesos de polarización ya que afectan las propiedades mecánicas de la membrana plasmática y la pared celular y con ello todos los estados de endocitosis y exocitosis [56, 81, 104]. Aunque la mayoría de los estudios se basa en el uso de modelos de transporte, en los que se involucra la concentración molecular y el flujo de sustancias, ninguno de ellos es capaz de recuperar las interacciones básicas de polarización y flujo de auxinas en el sentido correcto, pues se necesita integrar propiedades sobre los tejidos como la posición, la rigidez de la pared celular o el tamaño celular en forma *a posteriori* [60, 100]. Por ello, uno de los propósitos de este trabajo es integrar la información de los tejidos de forma *a priori* y que el desarrollo de la raíz emerja de una manera simple al considerar una dinámica molecular y bioquímica integrada a un esfuerzo mecánico y así explicar la formación de patrones celulares de forma adecuada.

2.4. Mecanismos de reproducción celular

Las plantas al igual que otros organismos se mantienen en constante renovación celular. En las plantas, los meristemas son la fuente de células nuevas, lo que indica que cada célula en la planta estuvo alguna vez en algún meristemo y por ello estudiar la proliferación celular en los meristemas se ha vuelto importante para entender los procesos del desarrollo.

El proceso de división celular es un proceso sumamente preciso, ya que cuando una célula se reproduce mantiene una identidad genética igual a su progenitora y con ello su carácter totipotencial. De esta forma, cada célula que se divide es idéntica a cualquier otra y la capacidad de convertirse en una célula de cualquier tejido es igualmente probable. Dado la generalidad con la que deben de ocurrir los procesos de división celular, se piensa que existe un proceso auto-organizado y robusto en el que todas las células se encuentran inmersas. Por consiguiente, el ciclo celular convierte en candidato nato para explorar estos mecanismos que mantienen la proliferación celular en los meristemas.

Como mencionamos al inicio del capítulo, las auxinas y las citoquininas son importantes para mantener la proliferación celular. Por ello estudios recientes se han enfocado en ver la importancia que hay entre el crecimiento celular, la diferenciación celular y el ciclo celular como función de estas

dos sustancias [76]. Los resultados más interesantes de este y otros estudios [105, 106, 107, 108, 109] muestran que el ciclo celular se mantiene a través de una señal de auxina que regula los mecanismos moleculares, las tasas transcripcionales y los niveles de concentración de proteínas.

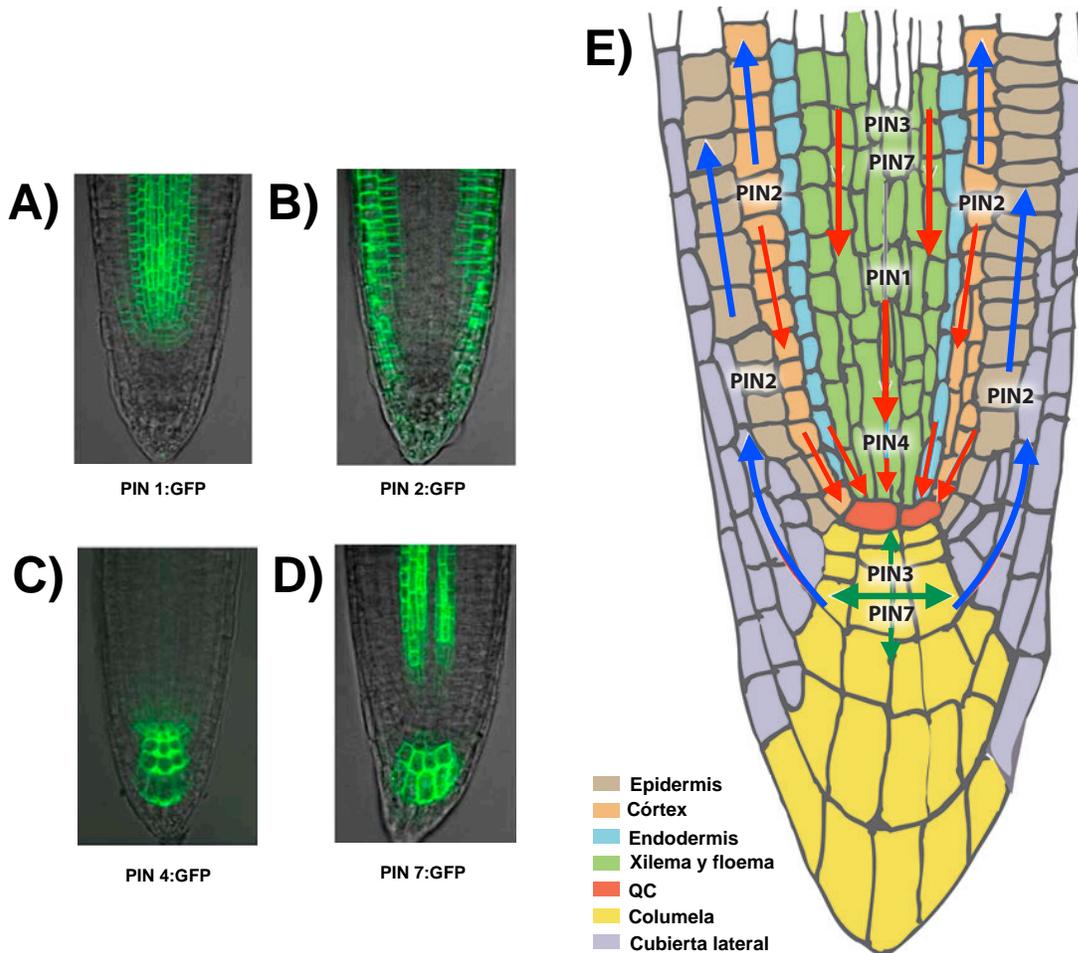


Figura 2.6: Se muestran micrografías de la raíz donde se ha marcado con proteínas fluorescente (GFP) la acción de las proteínas PIN en las paredes celulares para establecer la localización de los transportadores de auxina PINs y un diagrama sobre cómo debe ser el flujo de auxina debido a la localización de la familia de las proteínas PIN. A) Se muestra la localización del PIN 1 en la parte central de la raíz. B) La acción y localización del PIN 2 se observa en la zona de la epidermis y un poco en la corteza. C) El PIN 4 actúa solamente en la parte del QC y la columela. D) La distribución del PIN 7 está en la parte alta del xilema y el floema y en la zona de la columela. E) Muestra un diagrama de la localización de las proteínas PIN sobre los tejidos del RAM y el flujo de auxina. En color rojo las flechas indican que el flujo de auxina se dirige a la parte apical de la raíz y en color azul las flechas indican que el flujo se dirige a la parte basal de la raíz. Los tejidos están marcados de diferente color para ubicar sobre ellos la acción de las proteínas PIN. Imágenes modificadas de Taiz y Zeiger [58] y Feraru y Friml [98].

2.4.1. Las ciclinas y el ciclo celular

Las auxinas son un regulador importante para la proliferación y la elongación celular [77]. También se ha demostrado que son un regulador nato del ciclo celular al ser un agente que influye en los procesos de activación e inhibición de otras sustancias [106, 109, 110, 111]. Las ciclinas y las quinasas dependientes de las ciclinas (CDKs) son las sustancias que tienen una relación directa con las auxinas y las encargadas de someter a una célula a los procesos del ciclo celular. Estudios sobre el papel de la regulación de la auxina sobre las ciclinas han mostrado que las ciclinas del tipo A (CYCA) y del tipo B (CYDB) se afectan directamente por la cantidad de auxina en la célula, mientras que las ciclinas del tipo D (CYCD) lo hacen de manera indirecta [20, 109].

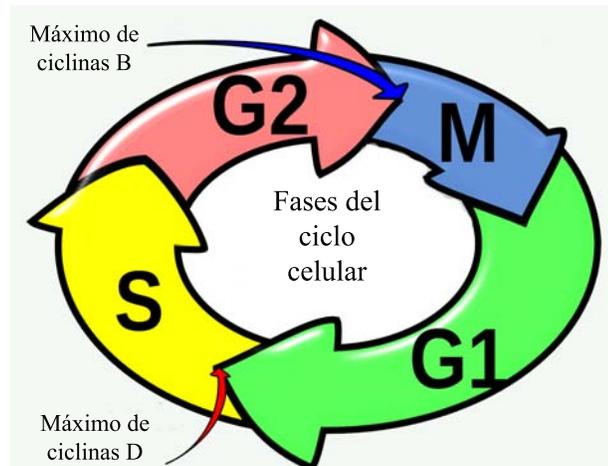


Figura 2.7: Esquema simplificado del ciclo celular donde se observan las cuatro fases del ciclo celular y los dos tipos de ciclinas importantes para que se lleven a cabo los procesos de crecimiento y división celular. En la fase S se llevan los procesos de síntesis del material genético y la célula aumenta de tamaño. En la fase G2 la célula verifica si el proceso de la fase S se hizo correctamente. En la fase M la célula entra en proceso de mitosis y en la fase G1 la célula crece para ser adulta y se comprueba si es candidata para entrar a la fase S. Figura tomada de [20].

Para que ocurra la división celular se requiere que la célula transite por dos procesos que son mutuamente incompatibles. El primer proceso tiene que ver con la replicación del ADN y el segundo proceso incluye la segregación de cromosomas entre las células. Durante el tránsito por estos dos procesos las células tienden a comprobar las operaciones realizadas y con ello generan intervalos (G1 y G2) en los cuales se acumulan o degradan ciclinas [105, 107, 108]. De esta manera, la transición por las fases S, G2, M y G1 por las que transita en una célula en el ciclo celular se hacen de manera ordenada e irreversiblemente. En la primera fase, la fase S, la célula crece y duplica su material genético manteniendo un alto nivel de ciclinas del tipo D. En la fase siguiente, la fase G2, la célula hace un chequeo de la duplicación e incrementa las ciclinas del tipo B mientras degrada las ciclinas del tipo D. Este acontecimiento es sumamente importante para que la célula pueda entrar a la siguiente fase. En la fase M, ocurre la mitosis y con ello la segregación de cromosomas. Por último, en la fase G1 las células crecen y las ciclinas del tipo D se empiezan a transcribir en el interior de la célula para alcanzar un nivel alto de concentración. Como consecuencia de esto, las ciclinas del tipo B presentan una inhibición momentánea y disminuye su actividad. La fase G1 permite que la célula adulta sea un candidato para entrar a la fase S y así reiniciar el ciclo celular. Cabe observar que las ciclinas del tipo D y B en las fases

G1 y G2 representan un mecanismo de activación e inhibición regulado por la auxina, que permite que un conjunto de proteínas CDKs se encarguen de la proliferación celular [106, 109, 110, 111, 112]. Las fases del ciclo celular que hemos mencionado se pueden observar en la figura 2.7. Como es de esperar, la intrincada estructura celular de la raíz es un reflejo de los procesos que ocurren en cada una de sus células y por ello para entender de manera general el comportamiento y la formación de patrones en este sistema biológico es necesario incluir la interacción de las ciclinas, las auxinas y los agentes físicos.

2.4.2. Interacción con campos mecánicos

Como hemos mencionado, el desarrollo de las plantas está sumamente relacionado con propiedades mecánicas y su interacción con fuerzas exteriores de la misma naturaleza. Es decir, existe una interacción entre las propiedades mecánicas de las plantas y las fuerzas mecánicas macroscópicas a las cuales se somete el crecimiento de una planta [76]. De esta manera, las fuerzas mecánicas influyen en el organismo en todos los niveles de organización y el diseño mecánico de la planta.

La retroalimentación mecánica entre el organismo y el ambiente se encuentra principalmente en la organización espacial de las células, la columela, la conservación del SCN y, desde luego, la pared celular de cada célula en la planta [27]. Tomando la pared celular como punto de partida, podemos decir que la fuerza mecánica percibida por la célula a través de su pared puede convertirse en un mensaje bioquímico que altera el metabolismo celular y con ello la proliferación. De esta forma, la señal bioquímica-mecánica influye en las características morfológicas que se relacionan con aumento del tamaño, la geometría y la forma. Así, la posición, la forma de las células, los tejidos y la conservación de los meristemas funciona de forma autoconsistente para mantener la organización espacial en las plantas como un arreglo regular de patrones que se repiten en varios tipos de células. Los patrones que existen en las plantas son entonces cruciales para la comprensión de los mecanismos de interacción y comunicación entre las células durante el desarrollo [113]. Desde luego que la emergencia de un patrón específico depende de la red hormonal en el tejido de la planta, de igual manera como el señalamiento mecánico, por ejemplo el nacimiento de una raíz lateral después de inducir un doblez a la raíz principal [92].

La relación entre la presión de Turgor y la pared celular es también crucial para determinar el crecimiento y el desarrollo de patrones en la planta. Dado que los estímulos mecánicos permiten la expansión de la pared celular y el crecimiento de las células así como los procesos de mitosis [58]. En algunos tejidos, la fuerza hidrostática regula la rigidez, la flexión y torsión de las células y por consiguiente las propiedades mecánicas de la pared [27]. Estudios sobre las propiedades mecánicas de la pared celular muestran que la extensibilidad de la pared cambia durante la expansión y por consiguiente el crecimiento plástico irreversible es necesario [114, 115]. Por ello, el esfuerzo mecánico tiene una función importante en el desarrollo de los órganos de la planta [116].

Estudios recientes demuestran que el aumento de la plasticidad en las paredes celulares está relacionado con el reblandecimiento de la pared [53]. Esta modificación biomecánica incrementa la separación de los microtúbulos que constituyen la pared celular y promueve la síntesis de nuevas cadenas poliméricas de tubulina que se insertan en la pared celular de manera coordinada para la extensión de la pared celular [117]. De esta forma, conforme las paredes celulares van creciendo, ocurre un proceso de orientación de los microtúbulos en las paredes que permiten que la planta controle las propiedades mecánicas de los tejidos, de los órganos y de ella misma en diferentes niveles de organización.

Durante el crecimiento, la acumulación de celulosa en la pared celular puede ajustarse por la tensión que ejercen los tejidos alrededor de una célula y con ello reducir o aumentar el tamaño de la pared celular o bien el tamaño de la propia célula [53]. Así, el surgimiento y la conservación de las propiedades mecánicas de las plantas parece tener su origen en la orientación y el número de microtúbulos, ya que los tejidos en la pared celular con un número menor de microtúbulos revela mayor módulo elástico [53, 76, 117, 118]. Aunque esta descripción microscópica es viable para generar un modelo de desarrollo celular, se sabe que la presión de turgencia, que es una propiedad macroscópica, es la causante de la orientación de los microtúbulos en bandas transversales y la responsable de que la pared celular aumente de forma longitudinal como una forma primaria de expansión [53, 58, 115]. Esta propiedad macroscópica y su retroalimentación con propiedades mecánicas microscópicas sugiere entonces que podemos describir las transiciones elásticas y/o plásticas durante el crecimiento de la raíz como propiedades para la organización y el surgimiento de patrones bioquímicos de las plantas, o bien como propiedades que son importantes para la morfogénesis de una planta.

Además de la presión de turgencia, existen otro tipo de constricciones físicas y químicas que impone el propio organismo. Por ejemplo, la expansión de las células internas en los ejes lateral y axial en la raíz está sujeta a las constricciones que impone la epidermis [53, 71, 74, 75]. En ese sentido, la epidermis juega un papel de estructura tensora similar a la presión de turgencia en cada célula que restringe el potencial de elongación de los tejidos internos. Aunque las propiedades biomecánicas de las paredes celulares de la epidermis son consistentes con su rol de constricción debido a que sus paredes son más rígidas que las paredes de las células internas, la señalización hormonal entre los tejidos epidérmicos y subepidérmicos funciona en un sentido inverso y provocan el crecimiento de raíces laterales [119, 120, 121, 122]. Pese a que esto último no será estudiado en este trabajo, es importante tenerlo en cuenta para un desarrollo en el futuro.

Por otro lado, se ha identificado que el crecimiento de los órganos y la plasticidad de las paredes celulares están regulados por la presencia de auxina [21, 25, 53, 71, 74, 75, 123, 124]. Estos hechos nos sugieren que hay una relación de sinergia entre los esfuerzos mecánicos y los gradientes de auxina que debe ser tomada en cuenta para el planteamiento de un modelo que intente describir los niveles de organización en las plantas. En ese sentido hay que tomar en cuenta que la reorientación del destino celular se ve afectado por la presencia de auxina o que el ciclo celular en el RAM cambia alrededor de un grupo de células cuando se altera su disposición geométrica [76].

Puesto de esta forma, el propósito de este trabajo es generar modelos simples para estudiar las interacciones entre todas las propiedades antes mencionadas haciendo uso de los esfuerzos mecánicos. De esta forma, en los capítulos siguientes identificaremos cómo la dinámica de proliferación celular, la concentración de auxina y su dependencia con los transportadores de auxina (los PINs) se relacionan con el campo elástico que surge del crecimiento dinámico de la raíz. La idea detrás de esto es que nuestro modelo proporcione una herramienta para entender y predecir el surgimiento de patrones celulares. Además de que sea una plataforma para implementar las dinámicas que surgen de las redes de regulación genética.

Capítulo 2. La raíz de *Arabidopsis thaliana*

Modelo del campo elástico

El crecimiento de las plantas y sus órganos se pueden relacionar directamente con la presión de turgencia de cada célula, la duración del ciclo celular y el transporte polarizado de auxinas, por lo que en el presente trabajo se propone entonces la creación de una plataforma que nos permita modelar e investigar de forma general el comportamiento de un conjunto de células bajo ciertas premisas locales. Para ello, consideremos que la estructura tridimensional de la raíz dispuesta en una simetría cilíndrica puede modelarse en una estructura bidimensional si se ignoran los cambios en el crecimiento sobre los planos transversales de la raíz. De esta forma, podemos decir que el confinamiento de las células en el espacio 2D permite visualizar la expansión volumétrica como solamente la elongación celular. Cabe señalar que el crecimiento transversal sólo afecta el ancho de la raíz y con ello podemos ignorar parcialmente una dinámica 3D, no obstante en la comparación experimental hay que tomar en cuenta la dimensión faltante mediante un factor de escala.

Como hemos mencionado, la competencia entre la presión de turgencia y la rigidez de la pared celular generan un campo de esfuerzos que nos puede ayudar a entender el comportamiento colectivo de un grupo de células en desarrollo cuando éstas alcanzan un estado diferenciado o simplemente crecen [31, 35]. También hemos mencionado que este comportamiento no es típico sólo de las células, ya que este campo de esfuerzos está presente en una escala mayor en conjunto de células, tales como la columela y la epidermis que generan fuerzas superficiales y que restringen o favorecen el crecimiento del organismo interno, así con el aumento de volumen requerido por el crecimiento y la división celular [125]. Visto de esta forma, es lógico suponer entonces que este campo de esfuerzos se rige por un efecto de auto-regulación, donde la acumulación de tensión local (o presión) desencadena biomecanismos que impiden (o mejoran) la división celular y el crecimiento. Estas ideas ya se han incorporado en algunos modelos, como por ejemplo: Dupuy y colaboradores [113] utilizan una matriz de rigidez para modelar la relación entre el desplazamiento celular y las fuerzas implicadas; Merks *et al.* [126] por otra parte usan una forma de energía potencial para describir el equilibrio entre la turgencia y la resistencia de la pared celular y por último Mourik *et al.* [44], en su investigación sobre los meristemas florales de *Arabidopsis*, proponen el uso de la energía potencial entre células como medio de regulación del transporte de auxina y con ello el crecimiento. Sin embargo, en ninguno de estos enfoques se ha incorporado el papel de auto-regulación del sistema considerando la dinámica del ciclo celular y el transporte polarizado de auxinas.

Por ello, propondremos utilizar la capacidad mínima de las células para organizarse y generar un trabajo mecánico, es decir usar su energía libre, para que adquieran un tamaño y forma determinada. Para esto, representaremos a las células con un arreglo poligonal usando los diagramas de Voronoi en un dominio 2D determinado. En este esquema, una colección de puntos representa la posición asignada de cada célula y el polígono la célula completa. De esta manera, cada punto en el dominio tiene una coordenada Cartesiana y una interacción newtoniana con sus vecinos que permite que el desplazamiento de la célula y cualquier otra cantidad física que se le atribuya, como por ejemplo que el transporte de auxina se pueda cuantificar mediante técnicas físicas. Bajo estas ideas, el dominio posee una función potencial que ocupa todo el espacio y las fuerzas mecánicas que actúan en el sistema son una función del tiempo y del espacio derivados de los cambios espaciales de dicho potencial. Cabe mencionar que la semejanza entre un polígono de Voronoi y la forma de la célula se ha mostrado bajo diferentes

técnicas de microscopía confocal láser y parece ser efectiva para predecir el destino celular en el SAM de *Arabidopsis* [126, 127, 128] y por ello un buen candidato para nuestro modelo de la raíz.

Con base en disposición espacial de la raíz y la información sobre los patrones espaciales de concentración de auxina que describimos en el capítulo 2 (ver figuras 2.3 y 2.4), podemos proponer que la reproducción celular en las etapas de desarrollo siguen principalmente tres dinámicas correlacionadas, que hacen que la proliferación celular sea consecuencia de la interacción de un campo tensiones y la formación de patrones de auxina, en donde a su vez la distribución de auxina proporciona información espacial necesaria para regular las tasas de proliferación en cada célula a través del ciclo celular y con ello determinar el destino celular de cada célula en la raíz.

Para plantear los modelos involucrados en la proliferación celular proponemos que las dinámicas estén correlacionadas y sigan tres premisas fundamentales:

a) La primera es que el campo físico macroscópico de tensiones, que está en todas las células de la raíz y que surge por el crecimiento y reproducción de los tejidos y por las constricciones que ejercen las células exteriores, se puede expresar como un campo “elástico” tradicional donde las coordenadas y las velocidades se comportan como una función armónica. De esta forma, el campo se caracteriza de manera puntual como una función del esfuerzo mecánico y la presión que ejercen los tejidos de la planta mediante una energía libre armónica. Las fuerzas locales derivadas de la naturaleza simplástica de los tejidos vegetales se puede expresar mediante los estados de energía mínima local que representan un estado de equilibrio donde no hay fuerzas mecánicas aparentes que actúen entre las paredes celulares y otras componentes del sistema. Cabe decir que este esquema local de energía se promueve por la presencia de obstáculos geométricos del propio sistema y que hay fuerzas remanentes que provocan que el campo no sea uniforme de manera relevante. Esta falta de uniformidad es una fuente de información espacial que en nuestro modelo se considera importante. Puesto así, podemos decir que la proliferación celular se interpreta entonces de manera local a través de la dinámica y la relajación del campo elástico en una escala espacio-temporal diferente para cada célula en la raíz.

b) Nuestra segunda premisa consiste en generar una relación directa entre el campo elástico y los estados de producción, degradación y transportación de auxinas mediante un esquema de transporte dirigido o polarizado que retome el comportamiento exhibido en la figura 2.6. Es importante mencionar que este hecho exige que el comportamiento dinámico de la formación del gradiente de auxina sea muy diferente a la dinámica de relajación del campo elástico, ya que ambos actúan en una escala espacio-temporal diferente.

c) Por último, la tercer premisa es que la concentración de auxinas sea el agente regulador del ciclo celular y con ello el período de las cíclicas se modifique como una función que dependa sólo de la cantidad de auxina en cada célula para cambiar las tasas de proliferación celular de manera local. Como es de esperar, cualquier cambio local en la proliferación celular afecta el campo elástico y por consiguiente se forma una correlación entre las tres dinámicas.

En resumen, las tres premisas proponen un ciclo dinámico para delimitar la formación de patrones debidos a la proliferación celular así como la apariencia macroscópica de la forma de la raíz. Es importante mencionar que las relaciones directas que se proponen en las dos últimas premisas están restringidas por las escalas temporales de cada una de las dinámicas. El acoplamiento apropiado de

este tipo de sistemas tiene como punto final el nacimiento de muchas propiedades emergentes que se pueden usar como una función para determinar otros estados del sistema. En el caso de la raíz, pueden usarse estas propiedades emergentes para el acoplamiento de las redes genéticas y con ello darle información espacial y temporal a cada órgano o tejido para que determine su estado de diferenciación. En las siguientes secciones empezaremos a modelar el espacio que ocupa cada célula mediante una descripción de los diagramas de Voronoi. Posteriormente plantearemos el modelo energético del campo elástico y haremos una distinción entre el campo elástico de las células internas de la raíz y las células de la epidermis. La representación gráfica de estas tres premisas se muestran en la figura 3.1.

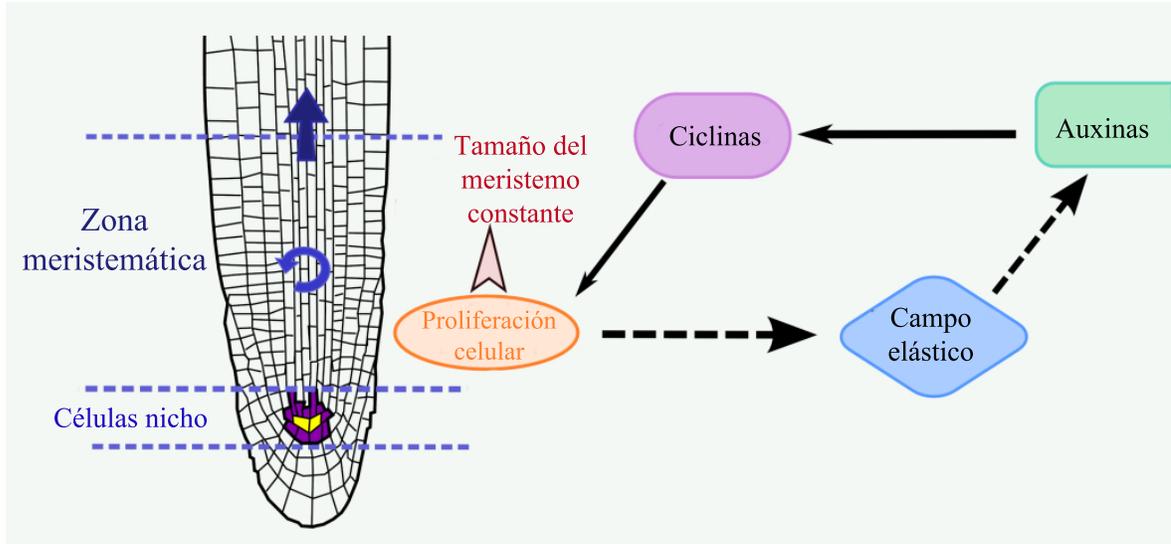


Figura 3.1: Se muestra un esquema del modelo propuesto para el crecimiento de la raíz y las zonas más importantes que contempla el modelo. Las flechas con líneas continuas representa una interacción directa entre las dinámicas y las flechas a trazos representa una interacción indirecta entre las dinámicas. Figura tomada de [20].

3.1. Diagramas de Voronoi

Para hacer la representación geométrica de las células describiremos en esta sección como se genera los diagramas de Voronoi y como los utilizamos para crear la estructura de las células de la raíz. De esta forma consideremos que los diagramas de Voronoi son una teselación generada en un espacio métrico a partir de la división equitativa del espacio entre un conjunto de puntos. Dado un conjunto de puntos $P = \{p_1, p_2, \dots, p_N\}$ con N elementos en 2D, el diagrama de Voronoi es la partición del espacio en N regiones poligonales, donde cada punto p_i del espacio tiene asociado un polígono. Cada polígono en este espacio se llama celda de Voronoi ($Vo(p)$) y los límites entre las celdas son determinados por las mediatrices que unen los puntos. Así, cada punto p_i del conjunto y su correspondiente celda se define solamente por los puntos que están más cercanos a p_i . Las intersecciones de todas las mediatrices asociadas a un punto p_i y que delimitan una celda de Voronoi se les denomina vértices de Voronoi y aquellas mediatrices que no se interceptan se les denomina rayos de Voronoi. Para saber si un celda de Voronoi forma parte de un polígono convexo se utiliza una red dual llamada triangulación de Delaunay. De esta forma se ubica el centro de masa de una celda de Voronoi a través de la circunferencia

circunscrita que existe entre el punto p_i y sus vértices mediante la red triangular. Si el circuncentro existe entonces tenemos una celda de Voronoi, en caso contrario la celda queda abierta y por lo menos posee un rayo de Voronoi. En la figura 3.2 mostramos la construcción de las celdas de Voronoi dado un conjunto de puntos y el papel de la triangulación de Delaunay para determinar si una celda es cerrada o no. Cabe mencionar que la dualidad entre la triangulación de Delaunay y los diagramas de Voronoi nos permiten explorar las propiedades del espacio bajo una forma geométrica y vectorial.

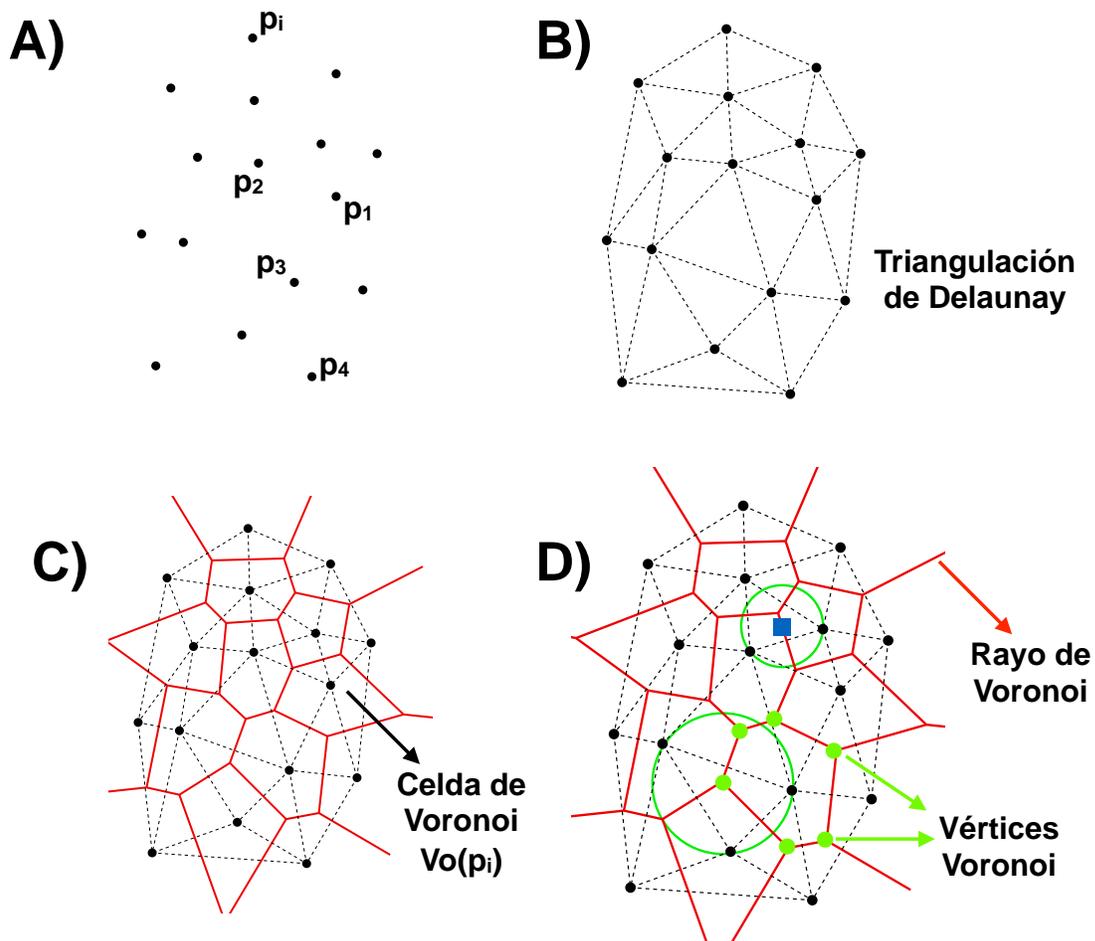


Figura 3.2: Se muestra la forma en que se construye un diagrama de Voronoi a partir de: A) Un conjunto de puntos p_i en un espacio (puntos en color negro). B) La unión de esos puntos a través de una triangulación de Delaunay (líneas punteadas en negro). C) La intersección de las mediatrices que unen dos puntos (líneas rojas) y D) el conjunto de puntos que forman los vértices de una celda de Voronoi (puntos en color verde). También se muestra el circuncentro (en color verde) para dos celdas de Voronoi cerradas. Las mediatrices que no se interceptan se les denomina rayos de Voronoi y generalmente se les asocia un punto al infinito como vértice. Observe que el centro de la circunferencia más pequeña (cuadrado azul) en la figura D) no coincide con un vértice del polígono debido a que no se encuentra en su centro de masa.

3.2. Energía libre como función de la forma y el tamaño

La implementación de los diagramas de Voronoi en nuestro modelo requiere que cada celda de Voronoi represente una célula vegetal y por tanto tenemos que pedir que no existan rayos de Voronoi. Dado esta condición, definimos un dominio como sigue: 1) Construimos una frontera de forma regular lo más parecida a la raíz con puntos fijos en un rectángulo y con puntos fijos en una parábola. Estos puntos delimitan el espacio y garantizan que todos los puntos interiores a ellos generen celdas de Voronoi. 2) Los puntos de la frontera no pueden definir un polígono convexo y por tanto no representan células reales aunque sí representan el efecto de las células de la epidermis y la columela. 3) Creamos N puntos con coordenadas aleatorias en el interior de este dominio y realizamos la teselación de Voronoi mediante una triangulación de Delaunay. Note que para un conjunto arbitrario de puntos, las celdas resultantes no son uniformes ni en su tamaño ni en su forma. Una configuración típica de esta construcción la observamos en la figura 3.3. Observe que el área de cada celda A_i depende del tamaño y la forma de cada polígono además de la cercanía que tiene el punto p_i con sus vecinos. Este hecho hace que la coordenada del punto p_i escrita como \vec{r}_i generalmente no coincida con el centro de masas de polígono (\vec{r}_{0_i}) y por ello que el espacio ocupado por los polígonos no sea uniforme. Un ejemplo de esto se puede observar en la figura 3.2D donde el centro del círculo (cuadrado azul en la figura) de una celda no coincide con el vértice del polígono de Voronoi.

3.2. Energía libre como función de la forma y el tamaño

En muchos modelos se han utilizado potenciales armónicos con resortes para simular las interacciones entre las células [129] y las paredes celulares [127, 130] y también se ha recurrido al uso de algoritmos computacionales para reconstruir los tejidos en un organismo usando los teselados de Voronoi [126, 128]. Ambos parecen tener desconexión entre una dinámica armónica y la forma poligonal. Sin embargo, existe una relación directa entre el tamaño y la forma de cada célula con dichos modelos, ya que las interacciones armónicas de los resortes cambian la forma de la celda y ésta a su vez cambia la interacciones armónicas. Por ello, proponemos en nuestro caso usar de manera explícita un potencial armónico que sea función del tamaño y la forma de cada célula. Para esto usaremos el área promedio en equilibrio \bar{A}_0 del conjunto de celdas de Voronoi como una medida del grado de maduración de las células y el tamaño promedio que pueden obtener. También usaremos el hecho de que los centros de masa de las celdas no coinciden generalmente con la coordenada del punto y que la forma de las celdas tienden a ser isotrópicas cuando las células alcanzan su estado de equilibrio.

Para construir nuestro potencial armónico consideremos que el área promedio $\bar{A}_0 = \sum_{i=1}^N A_i/N$, es área que representa un arreglo regular hexagonal y que la distancia d_i entre el centro de masa del polígono y la coordenada de la célula son cero, es decir, $d_i = |\vec{r}_i - \vec{r}_{0_i}| = 0$ para toda i . De esta forma, cuando una célula tenga una área diferente al promedio y coordenada de la célula no coincida con el centro de masa del polígono, entonces la célula tendrá un tamaño y forma que la mantiene en un estado configuracional alrededor del equilibrio con un potencial mecánico elevado. Independientemente de la forma funcional de la energía potencial, es posible hacer una expansión de Taylor alrededor del estado de equilibrio reteniendo sólo los primeros términos diferentes de cero si se tienen en cuenta pequeñas desviaciones alrededor del equilibrio. Así, las primeras contribuciones no triviales corresponden a una forma cuadrática armónica cuyos coeficientes se puede interpretar como constantes elásticas de fuerza. La energía libre como función del tamaño y la forma para la célula i se puede representar por:

$$V(x_i, y_i, t) = \frac{K_v}{2} (A_i(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2} (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_{0_i}(t))^2, \quad (3.1)$$

donde el primer término uniformiza el tamaño a través del área y el segundo término uniformiza la forma con ayuda del centro de masa del polígono. K_v y K_c representan constantes elásticas de fuerza. $\vec{r}_i(t)$ representa la posición de la celda i y $\vec{r}_{0_i}(t)$ es el centro de masas de la celda de Voronoi.

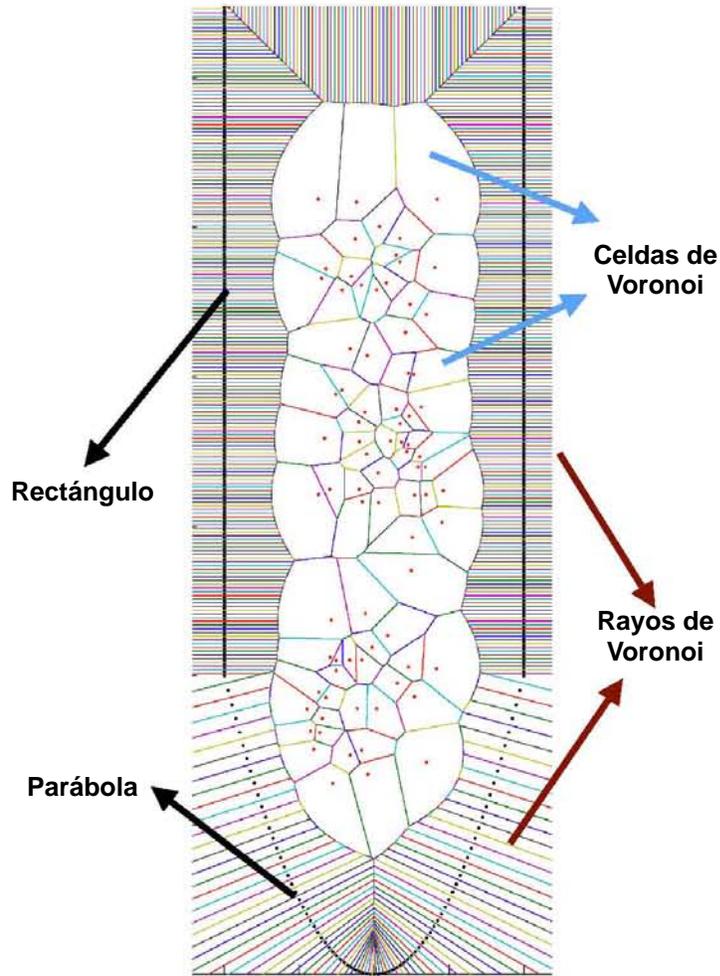


Figura 3.3: Se muestra la construcción del dominio de la raíz con un rectángulo y una parábola (puntos de color negro). Las celdas de Voronoi se generan únicamente en el interior de dominio y están representadas por los N puntos de color rojo. Todos los puntos de la frontera tienen rayos de Voronoi y por tanto no son considerados como celdas.

Dado que el área de un polígono puede ser medida con el producto cruz de sus vectores de coordenadas, entonces la energía libre sólo depende de las coordenadas y por tanto se puede medir de forma puntual el esfuerzo mecánico y la presión que ejerce cada célula en el espacio si tomamos los cambios de la energía libre por unidad de longitud. Esto es, podemos calcular las componentes de la fuerza en el plano cartesiano como:

3.2. Energía libre como función de la forma y el tamaño

$$\begin{aligned}
 F_x(x_i, t) &= -\frac{K_v}{2} \left[\frac{1}{2} \sum_{m=1}^M \frac{(x_i - x_m) \cdot l_{i,m}}{|\vec{r}_i - \vec{r}_m|} (A_i - \tilde{A}_0) \right] \\
 &\quad - K_c(x_i - x_{0_i}), \\
 F_y(y_i, t) &= -\frac{K_v}{2} \left[\frac{1}{2} \sum_{m=1}^M \frac{(y_i - y_m) \cdot l_{i,m}}{|\vec{r}_i - \vec{r}_m|} (A_i - \tilde{A}_0) \right] \\
 &\quad - K_c(y_i - y_{0_i}),
 \end{aligned} \tag{3.2}$$

donde $l_{i,m}$ es el longitud de celda de Voronoi que comparten dos células vecinas, es decir, es un segmento de mediatriz que comparte la celda i con la celda m . Cabe mencionar que para obtener $l_{i,m}$ es necesario hacer la triangulación de cada polígono y obtener el área total A_i de cada célula como una suma del área de los triángulos o bien como la suma del producto cruz de los vectores que están presentes en cada celda de Voronoi. La ventaja de las ecuaciones (3.2) es que todas las cantidades del término de la derecha se obtienen con los diagramas de Voronoi.

Dado que las células tienen un comportamiento simplástico y las ecuaciones (3.2) representan un campo conservativo, proponemos integrar el término simplástico en las ecuaciones como un parámetro disipativo de la forma:

$$\vec{F}_T(x_i, y_i, t) = -\nabla V(x_i, y_i, t) - k_i \vec{v}(x_i, y_i, t), \tag{3.3}$$

donde \vec{v} es la velocidad con la que se mueven los puntos que representan las células y k_i es un parámetro disipativo. Las N ecuaciones de movimiento que representan a las células se pueden integrar fácilmente usando el método de Euler simple ya que:

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial \vec{v}}{\partial t} &= \vec{F}_T \\
 \frac{\partial \vec{r}}{\partial t} &= \vec{v}.
 \end{aligned} \tag{3.4}$$

A manera de ilustración, en la figura 3.4A mostramos la distribución final de las celdas de Voronoi correspondientes a la figura 3.3 después de integrar numéricamente cada celda de Voronoi usando las ecuaciones (3.4). Observe que las celdas se aproximan a un arreglo hexagonal regular. En la figura 3.4B mostramos sólo las celdas de Voronoi cerradas. En la figura 3.4C dibujamos las celdas de Voronoi con la magnitud de la energía potencial usando la ecuación (3.1). La energía potencial asociada a cada celda divide el espacio de todas las celdas en tres regiones: 1) la zona apical del la raíz con un potencial alto debido a que las celdas no alcanzan el equilibrio. 2) La zona intermedia o zona meristemática, en la que casi todas las celdas alcanzan su equilibrio, tienen forma hexagonal y su energía elástica es casi cero. 3) La zona basal, que corresponde a la zona de transición ya que las celdas son más largas y por tanto tienen una energía potencial más grande. En la figura 3.4D mostramos la evolución de las energías cinética (medida como $v_i^2/2$ para cada celda), potencial y total promediadas sobre todas las celdas en cada paso de tiempo como función del número de iteraciones. Observe que la energía cinética promedio tiende a cero conforme aumenta el número de iteraciones ya que las celdas tienden a su estado de equilibrio y dejan de moverse. Sin embargo, la energía potencial promedio no es cero ya que muchas celdas están en equilibrio local. Es importante notar que la magnitud del potencial resulta ser una propiedad emergente que depende de la frontera y por ello su importancia de estudio. También es importante mencionar que dado la construcción de la forma de la raíz dada por la figura 3.3 el

potencial elástico de la ecuación (3.1) representa sólo la interacción de las células internas de las raíz y su uso en el capítulo seis lo haremos considerando esta situación. En la siguiente sección abordaremos el papel de la epidermis en el desarrollo de la raíz y en el capítulo ocho modelaremos la emergencia de la frontera usando el volumen de la raíz y la tensión superficial.

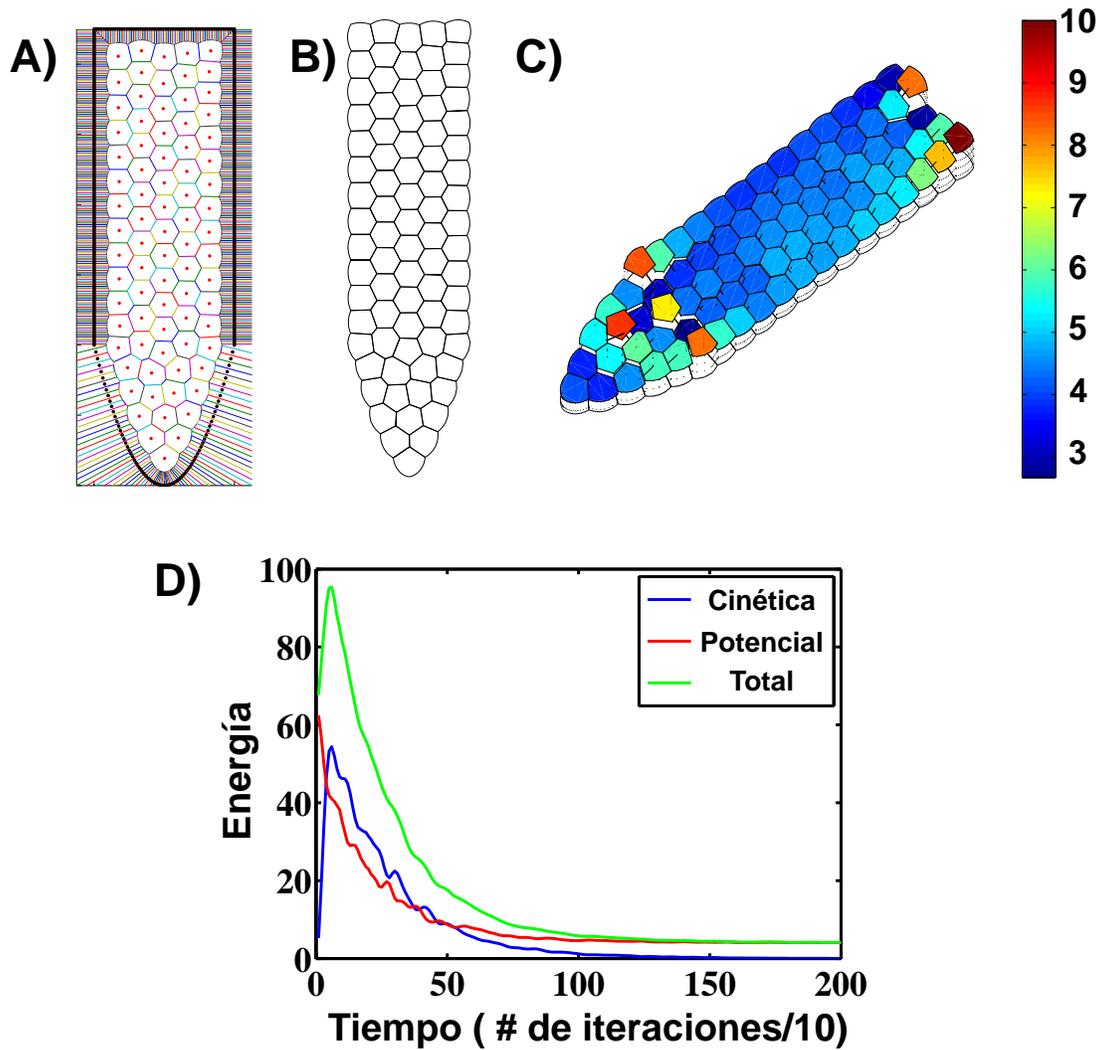


Figura 3.4: A) Se muestra la distribución final de puntos del dominio de la raíz. En color rojo mostramos las células internas y en color negro las células que representan los puntos de la frontera. B) Se muestran sólo las células de Voronoi cerradas. Nótese que las células adquieren una regularidad en su forma y tamaño, lo que indicaría que todas las células son parecidas. C) Se muestra el perfil del campo elástico sobre el dominio de la raíz donde la altura y el color de cada célula representan la magnitud del potencial de la ecuación (3.1). Observe que el potencial no es constante y define tres zonas. D) Se muestran las energías cinética (línea azul), potencial (línea roja) y total (línea verde) promediadas sobre todas las células en cada paso de tiempo. Observe que la energía potencial alcanza un mínimo local que corresponde a estados fuera de equilibrio.

3.3. El campo elástico y formación de la epidermis

Aunque hasta aquí hemos considerado que la representación más simple del crecimiento celular puede ser estudiado en cierta forma por una relación entre la presión de turgencia y la rigidez de la pared celular a través de la relación volumétrica (área promedio) de la ecuación (3.1), existen modelos donde la presión de turgencia, a través de la tensión mecánica en la pared y membrana plasmática, permiten que la pared se relaje y la célula crezca localmente [126, 131, 132]. No obstante, sabemos que cuando una célula aumenta de volumen, su presión de turgencia debe disminuir por conservación energética. Esta acción pone a la célula en riesgo de colapso y otros mecanismos entran en acción, como por ejemplo la creación de expansinas [53, 58] para aumentar el tamaño de la pared celular. Así, la retroalimentación entre la tensión de la pared celular y la presión de turgencia para dar estabilidad a la pared juegan un papel importante. Pues de manera local las fuerzas de tensión y compresión logran un crecimiento celular que compensa la inestabilidad impulsada en toda la célula. Esta visión puede usarse como la propuesta de Lintilhac [132] en su modelo de pérdida de la estabilidad (LOS, "Loss Of Stability") donde la tensión y la presión juegan el papel de sintonizadores de la elasticidad de la pared celular y estudiar no sólo el crecimiento celular sino también el crecimiento completo de la raíz.

Al igual que en el crecimiento celular, el crecimiento de los órganos está acompañado por fuerzas de tensión y compresión, pues algunos tejidos se comprimen mientras que otros se tensan. En un órgano estas fuerzas mecánicas son el resultado dinámico de la proliferación y la elongación celular, ya que cuando crecen nuevas células, éstas ejercen una presión contra los vecinos. De manera similar a lo que ocurre en la estructura celular, donde la tensión de la pared celular se acompaña de la turgencia en la dirección opuesta, los esfuerzos que se ejercen en una cierta dirección sobre los tejidos se acompañan de una compresión [60, 75]. Así, los tejidos exteriores imponen una compresión a los tejidos internos mientras que al mismo tiempo estos están sometidos a una tensión como resultado de la expansión y crecimiento de los tejidos internos. Así, ambas acciones proporcionan la información y fuerza necesarias para impulsar el crecimiento del organismo [71, 75].

En ese sentido podemos pensar en un sistema físico, ya sea sólido o líquido, donde las fuerzas que actúan en la frontera son diferentes a las fuerzas que actúan en la parte interior debido a que en la superficie los componentes no están totalmente rodeados de otros. En nuestro caso, el comportamiento elástico de los tejidos externos no difiere mucho del sistema físico convencional. De hecho, hay pruebas que sugieren que las paredes celulares de los tejidos externos son más gruesas y poseen una composición química diferente [121, 133, 134, 135, 136] que deberían de dar lugar a distintas propiedades elásticas. Haciendo uso de esta información proponemos extender la teoría de pérdida de estabilidad (LOS) de Lintilhac [132] para modelar el crecimiento de la raíz de tal manera que las tasas de división celular y el equilibrio mecánico permitan un crecimiento suave de la raíz. De esta forma, el crecimiento de los órganos cumplen una relación entre el aumento de la presión interna y la liberación de tensión del tejido exterior mediante el aumento elástico. Esto tiene por consecuencia que la relajación de la pared celular de los tejidos externos genere un aumento de las células externas. Desde luego que en este tipo de interacción estamos pensando que el desarrollo de los tejidos externos promueve el desarrollo de los tejidos internos y viceversa.

Como una extensión al modelo propuesto en la sección anterior, incorporamos el papel tensor de los tejidos externos bajo la condición de que existe una diferencia entre los campos elásticos generados por las capas celulares externas (la columela y la epidermis) con respecto a las capas celulares internas

(córtez, endodermis, floema, xilema y sus respectivas zonas como el TD y el SCN) si hay una respuesta elástica diferente. Esto es, el potencial elástico de las células externas (etiquetadas con una e) difiere del potencial original de todas las células internas (ver ecuación (3.1)) sólo por sus constantes elásticas K_v y K_c y el área ocupada mediante:

$$V(x_e, y_e, t) = \frac{K_e}{2}(A_e(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_{ce}}{2}(\vec{r}_e(t) - \vec{r}_{0_e}(t))^2, \quad (3.5)$$

donde K_e y K_{ce} son otras constantes elásticas similares a K_v y K_c , respectivamente. Así, la posición de una célula en la frontera está representada por $\vec{r}_e(t)$ y el centro de masa de la celda exterior por $\vec{r}_{0_e}(t)$. A_e difiere de A_i si se incluye la dirección de crecimiento adecuado (como lo vimos en la sección 2.2.3) para cada célula externa. De esta forma, su relación está dada por:

$$A_e(t) = A_i(t) + \sum_{j \in e} \frac{l_{e,j}}{4} [|y_j(t) - y_e(t)| - |\vec{r}_{e,j}(t)|], \quad (3.6)$$

donde $l_{e,j}$ es la longitud de contacto entre la celda e y su celda vecina externa j . La posición entre las celdas e y j está representado por $\vec{r}_{e,j}(t)$ y la coordenada y representa la posición a lo largo del eje de la raíz. Nótese que si no hacemos distinción para las posiciones de las células interiores y exteriores entonces $|y_j(t) - y_e(t)| = |\vec{r}_{e,j}(t)|$ y para recuperar la dinámica del potencial de la ecuación (3.1) necesitamos también que $K_v = K_e$ y $K_c = K_{ce}$.

Cabe decir que la ecuación (3.6) describe de manera explícita que las células externas sólo pueden moverse en la dirección vertical. Repitiendo los pasos de la sección anterior, podemos decir que la dinámica de las células externas está dada por:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \vec{v}_e}{\partial t} &= -\nabla V(x_e, y_e, t) - k_e \vec{v}_e \\ \frac{\partial \vec{r}_e}{\partial t} &= \vec{v}_e, \end{aligned} \quad (3.7)$$

donde \vec{v}_e es la velocidad de una célula de la frontera, \vec{r}_e es la posición y k_e es el parámetro de fricción correspondiente. Cabe mencionar que para tomar en cuenta la participación de las células externas en el modelo es necesario construir celdas de Voronoi de forma independiente para que siempre sean celdas cerradas. Este punto nos lleva a extender el modelo de frontera planteado en la sección anterior mediante el uso de una doble frontera. Donde la primera frontera representa las células externas y la segunda frontera el límite del dominio (que en este caso ya no representa ninguna célula real y tampoco el efecto de alguna célula). En la figura 3.5 mostramos la construcción de las células externas y la relación de células internas después de algunas iteraciones temporales. La solución de la ecuación (3.7) deben cumplir con la condición de frontera $\nabla V \cdot \hat{n} = 0$ para que las células externas funcionen como una estructura tensora. Aquí \hat{n} representa el vector normal a la superficie exterior del dominio.

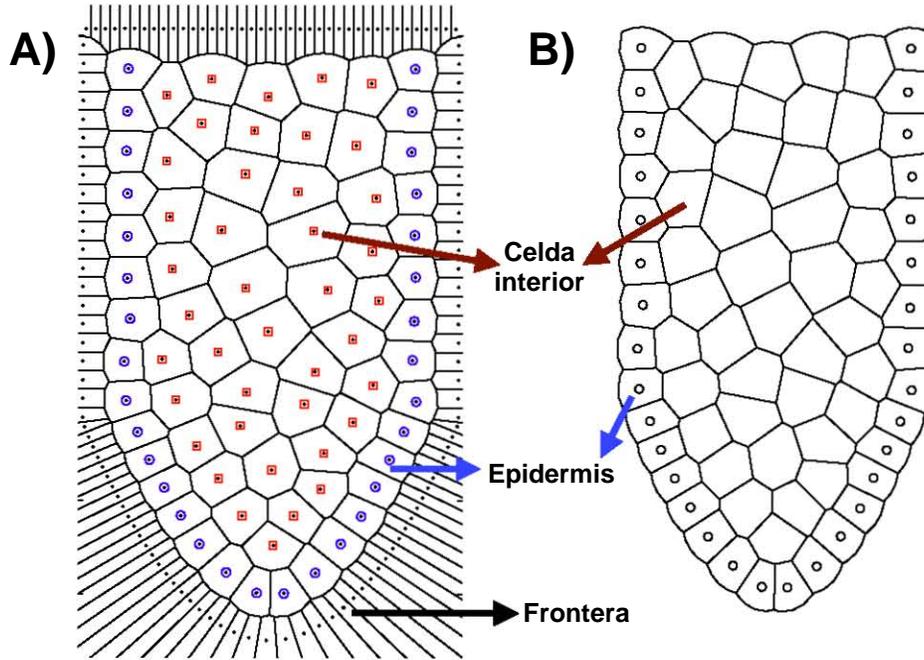


Figura 3.5: A) Se muestra el dominio de la raíz con un conjunto de puntos que representan las células internas (figuras cuadradas en rojo), puntos que representan las células de la epidermis (en círculos azules) y puntos que delimitan nuestro dominio de integración (puntos externos en color negro). B) Mostramos la representación de las células en una raíz usando sólo las celdas de Voronoi cerradas y marcamos con círculos las células de la epidermis.

3.4. Resumen de modelos del campo elástico

Así, los modelos elásticos que usaremos en los siguiente capítulos los podemos clasificar sólo por el potencial elástico. De esta forma tenemos que el potencial general dado por:

$$V(x_i, y_i, t) = \frac{K_v}{2} (A_i(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2} (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_{0_i}(t))^2, \quad (3.8)$$

lo llamaremos el modelo para células internas y el modelo dado por:

$$V(x_e, y_e, t) = \frac{K_e}{2} (A_e(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_{ce}}{2} (\vec{r}_e(t) - \vec{r}_{0_e}(t))^2, \quad (3.9)$$

lo llamaremos el modelo para células de la epidermis. Cabe mencionar que la integración numérica se realiza mediante el método de Euler a través de las ecuaciones dinámicas:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \vec{v}_{i,e}}{\partial t} &= -\nabla V(x_{i,e}, y_{i,e}, t) - k_{i,e} \vec{v}_{i,e} \\ \frac{\partial \vec{r}_{i,e}}{\partial t} &= \vec{v}_{i,e}, \end{aligned} \quad (3.10)$$

donde el índice i representa una célula interna y e representa una célula externa.

Modelo del campo elástico y las auxinas

4.1. Transporte de auxinas

Considerando que los procesos de señalización de estados abióticos de fuerzas de compresión y de esfuerzos mecánicos tienen una relación sinérgica con las auxinas y que la auxina exhibe procesos de auto-organización que dan origen a un gradiente de concentraciones a lo largo del eje longitudinal de la raíz. Entonces, proponemos que la proliferación celular y el campo elástico V , de las ecuaciones (3.8) y (3.9), proporcionan de forma directa el movimiento de la auxinas, considerando que éstas se comportan como un fluido y que siguen las leyes de la hidrostática, en donde los tiempos de síntesis y degradación de la auxina son mayores que los tiempos de transporte. En este sentido, nos interesamos en un carácter conservativo y de distribución de la auxina y no en sus posibles fuentes. De esta manera, consideramos que la auxina (c_i) para la celda i se transporta siguiendo la ecuación de continuidad, es decir, $\partial c_i / \partial t = -\nabla \cdot \vec{J}_i$, donde $\vec{J}_i = \vec{v}_i c_i$ es el flujo. Desde luego, en este esquema el flujo puede funcionar de dos formas básicas en las que el fluido puede moverse en forma activa o mediante procesos difusivos. En el caso de la auxina ambos procesos son importantes y uno de ellos se puede relacionar con la acción de los PINs en donde la transferencia de materia a través de las membranas de las células podría ir en contra del gradiente de concentración de las moléculas de auxina.

Si escribimos el flujo siguiendo la ley de Fick, $\vec{J}_i = -D_i \vec{\nabla} c_i$, con un coeficiente de difusión no constante en el cual incluyamos las fuerzas mecánicas de las paredes celulares y el transporte activo de auxinas, entonces estaríamos simulando los dos flujos. Usando la ley hidrostática de Darcy, proponemos entonces que el coeficiente de difusión para cada celda i sea $D_i = \sum_m A_{i,m} P_{i,m} V_i$. De esta forma, decimos que la auxina de la celda i se transporta a la celda m a través del área de contacto ($A_{i,m}$) con un coeficiente de permeabilidad $P_{i,m}$ variable pesado por la energía potencial elástica V_i de la propia célula. Esto es, hay un juego entre el área de contacto y el potencial elástico para que la auxina se transporte de una célula a otra. De esta forma, la ecuación de transporte se puede escribir como:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha [\nabla D_i \cdot \nabla c_i] + D_i \nabla^2 c_i, \quad (4.1)$$

o bien:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha \left[\sum_m A_{i,m} P_{i,m} \nabla V_i \cdot \nabla c_i \right] + D_0 \nabla^2 c_i, \quad (4.2)$$

donde α es una constante que involucra todos los vecinos m con unidades de distancia cuadrada entre tiempo y D_0 representa la difusión normal si se piensa que en el equilibrio todas las celdas difunden auxina en forma equitativa. El término en paréntesis cuadrado representa la ley de Darcy en donde el volumen transportado por unidad de tiempo es proporcional a la sección transversal de un canal, $A_{i,m}$ en nuestro caso. La caída de presión es proporcional a la diferencia de potencial elástico entre celdas y la viscosidad y longitud del medio están representados por la permeabilidad ($P_{i,m}$).

4.2. Permeabilidad y función de los PINs

Tomando la ecuación (4.2) podemos suponer que la acción de los PINs está relacionada únicamente con la permeabilidad del medio. Así, para incorporar la acción de los PINs y sus reglas (ver sección 2.3.2) podemos considerar dos modelos: 1) Los PINs están fijos y se modelan como compuertas lógicas, 2) los PINs son dinámicos y emergen del propio campo y de las auxinas. De esta forma, en las siguientes secciones mostraremos la forma de implementar estas dos premisas.

4.2.1. Compuertas lógicas

Para modelar la permeabilidad mediante compuertas lógicas proponemos que:

$$P_{i,m} = \mathcal{F}_{i,m}, \quad (4.3)$$

donde $\mathcal{F}_{i,m}$ es la función lógica que regula la acción de los PINs mediante compuertas que se pueden abrir y cerrar. Para ajustar la función $\mathcal{F}_{i,m}$ y reproduzca la acción de las proteínas PIN de la figura 2.6 consideremos S como la representación de las células que están en la frontera (es decir, células que están dentro del dominio de la raíz y que al menos tienen una arista que se comparte con los puntos de la frontera del dominio). Entonces, podemos ordenar el transporte de auxinas en la raíz si se hace que todas las células mantengan sus compuertas siempre cerradas a excepción de:

1. cuando las células i y $m \in S$ y si i está arriba de m ,
2. o si i y $m \notin S$ y la i está debajo de m ,
3. o si $i \notin S$ & $m \in S$ con i arriba de m .

De esta forma, la ecuación dinámica para el transporte de auxinas cuando las compuertas están abierta es:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha \sum_{m=1}^M A_{i,m} (V_m - V_i) (c_m - c_i) + D_0 \nabla^2 c_i, \quad (4.4)$$

donde M representa el número total de vecinos que tiene la célula i , $A_{i,m}$ representa el área de contacto, en este caso la arista de la celda de Voronoi que comparten m e i y hemos escrito el gradiente en forma genérica con una diferencia. Para incluir la acción de los PINs, por ahora en una ilustración, consideremos que el proceso de división y proliferación celular dentro de la simulación numérica es tal que cuando una celda debe de duplicarse (simulando una división celular) aumentamos un punto en el interior del dominio alrededor de esa celda. El resultado de este proceso modifica la disposición de las celdas de Voronoi en forma local y el campo elástico se altera. La demanda de espacio por la nueva célula se obtiene aumentando el dominio en la dirección longitudinal al mover la tapa superior del rectángulo. Los detalles sobre el proceso de división celular se verán en el siguiente capítulo. Por ahora, con esta información presentamos la figura 4.1 donde la acción de los PINs está involucrada. La figura 4.1A muestra la concentración de auxinas cuando las compuertas siempre están abiertas. Observe que el concentración de auxinas no es uniforme a lo largo de la raíz y no se genera el gradiente de auxinas conocido. La figura 4.1B muestra como la acción de las compuertas lógicas es necesaria para recuperar el gradiente de auxinas a lo largo de la raíz (comparar con la figura 2.6).

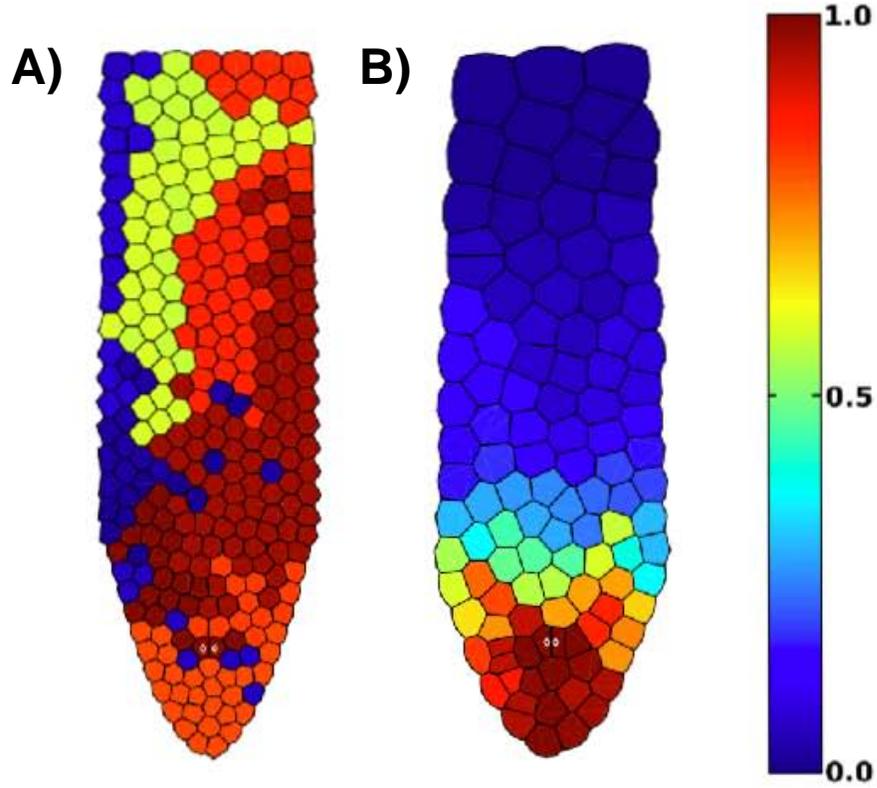


Figura 4.1: Se presenta un resultado numérico típico de reproducción celular y acción de los PINs usando el modelo sin epidermis (ecuación (3.8)) y $D_0 = 0$ para el caso de compuertas lógicas. A) Se muestra el crecimiento de la raíz y la distribución de auxinas cuando todas la compuertas están abiertas. B) Se muestra el crecimiento de la raíz y la distribución de auxinas cuando la compuertas lógicas se incluyen. La escala de color de rojo a azul significa mayor a menor concentración de auxina, respectivamente. Observe que cuando entra la acción de los PINs se recupera un patrón de auxina similar al de los experimentos (ver figura 2.6). Figura tomada de [20].

4.2.2. Modelo dinámico

Para incluir este modelo de la permeabilidad, hemos considerado tres tipos de interacción a nivel celular en los que se destacan aspectos moleculares, genéticos y mecánicos. En el **apéndice A** hemos construido una red de interacciones dinámicas entre estos aspectos y logramos expresar el comportamiento de la polarización de las proteínas PIN y su papel en el transporte de auxinas entre las células. En estas interacciones, las propiedades físicas que coordinan el crecimiento y la proliferación celular que hemos considerado se relacionan con las cantidades del esfuerzo mecánico y la compresión de las paredes celulares a través de la acción de las auxinas. También consideramos los cambios de rigidez en la pared celular con la polarización de las proteínas PIN y los mecanismos que permiten la exocitación y endocitación de proteínas PIN al interior de célula. Así, siguiendo los resultados del **apéndice A** podemos decir que la permeabilidad entre las células puede cambiar como:

$$P_{i,m} = \Theta[\nabla V_i \cdot \nabla c_i] \text{sign}(V_m - \bar{V}), \quad (4.5)$$

donde $\Theta[X]$ es la función de Heaviside, que es cero cuando el argumento es negativo y $\bar{V} = \sum_i V_i/N$ es el valor promedio de potencial elástico sobre las N células de la raíz y $\text{sign}(X)$ es una función que obtiene el signo de su argumento. En esta relación se puede observar que la diferencia de potencial elástico entre células se encarga de regular el transporte activo de auxina, no sólo en favor del gradiente de auxina sino también en contra del gradiente, esto debido a que la dirección del gradiente de V con respecto al gradiente de c hace que la permeabilidad obtenga valores negativos y nulos. Este hecho hace también que la polarización no exista cuando el producto de la diferencia de potencial y la concentración de auxina a través de la pared es negativa, lo que significa que no hay intercambios de auxina entre células si los gradientes son totalmente opuestos. De esta manera, la única forma en la que los PINs transporten auxina es cuando el producto de los gradientes es positivo. Para ejemplificar los estados de polarización de los PINs hemos creado la figura 4.2 donde el segmento de pared celular entre la celda i y la celda m muestran la polarización basal y apical dado el valor del potencial elástico V_m de las celdas vecinas y el valor promedio del potencial \bar{V} , además de tener en cuenta el producto de los gradientes y suponiendo que la celda m está cercana a la parte basal de la raíz y la celda i está próxima a la parte apical. Cabe mencionar que la aplicación de estas reglas son la extensión de la teoría LOS de Lintilhac [132] para tejidos y que la forma de la permeabilidad de las paredes sigue una dinámica en la que la geometría a través del potencial elástico y concentración de auxinas dan origen a la proliferación celular y viceversa.

4.3. Resumen de modelos del transporte de auxina

Se propone que el transporte de auxina sigue una ecuación general de difusión donde el coeficiente depende del potencial elástico y de la permeabilidad de la pared para transportar esta sustancia. Esta propuesta permite que los estados de polarización de los PINs se regule solamente con el coeficiente de permeabilidad $P_{i,m}$ y el área de contacto $A_{i,m}$. La ecuación que rige el transporte de auxina c es:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha \left[\sum_m A_{i,m} P_{i,m} \nabla V_i \cdot \nabla c_i \right] + D_0 \nabla^2 c_i, \quad (4.6)$$

donde D_0 representa la difusión normal, m representa las celdas vecinas de la celda i y α es una constante de proporcionalidad. El transporte activo de auxina dado por los estados de polarización de las proteínas PIN se puede modelar bajo dos condiciones: 1) Usando compuertas lógicas que representan estados abiertos y cerrados en el transporte de auxina a través de las paredes y 2) Estados dinámicos de polarización dados por la retroalimentación entre el transporte de auxina y el potencial elástico.

Así, la permeabilidad escrita como:

$$P_{i,m} = \mathcal{F}_{i,m}, \quad (4.7)$$

la llamaremos el modelo de compuertas de los PINs. La función $\mathcal{F}_{i,m}$ regula la acción de los PINs abriendo y cerrando compuertas. La permeabilidad que involucra la acción dinámica de los PINs escrita como:

$$P_{i,m} = \Theta[\nabla V_i \cdot \nabla c_i] \text{sign}(V_m - \bar{V}), \quad (4.8)$$

la llamaremos el modelo dinámico de los PINs. $\Theta[X]$ es la función de Heaviside, \bar{V} es el valor promedio de potencial elástico y $\text{sign}(X)$ es una función que obtiene el signo de su argumento.

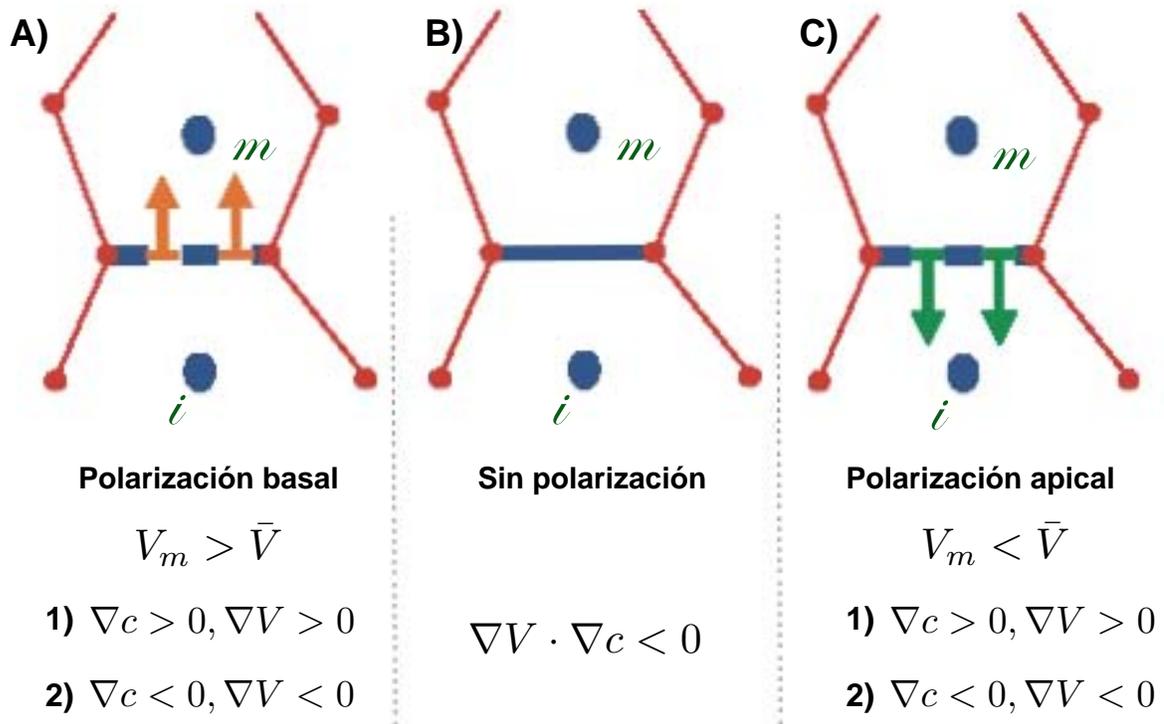


Figura 4.2: Se muestran los estados de polarización basal y apical en un segmento de pared celular para dos células vecinas donde la posición de la celda *m* es cercana a la parte basal de la raíz y la posición de la celda *i* es cercana al ápice de la raíz. Además, hemos calculado el gradiente como $\nabla U_i = \sum_m (U_m - U_i)(\vec{r}_m - \vec{r}_i)/|\vec{r}_m - \vec{r}_i|^2$, donde la suma es sobre todos los vecinos *m* y la función *U* puede ser la auxina o el potencial. A) Se muestra la polarización basal como función de potencial elástico de la celda *m* y el potencial promedio. La polarización basal sólo depende de $V_m > \bar{V}$ siempre y cuando $\nabla V \cdot \nabla c > 0$. Las flechas sobre la pared celular indican entonces que la auxina se transporta de la parte apical a la parte basal. B) Se muestra el segmento de la pared celular sin estados de polarización ya que $\nabla V \cdot \nabla c < 0$. C) Se presenta el estado de polarización apical en el segmento de pared celular. La polarización apical depende sólo de $V_m < \bar{V}$ y el producto de los gradientes positivo. Las flechas en la pared celular indican que el transporte de auxina proviene de la celda *m* que está más cerca de la parte basal de la raíz que la celda *i*.

Modelo del ciclo celular y adaptaciones para la simulación

En este capítulo describiremos un modelo para la acción de las ciclinas en el ciclo celular y con ello cerraremos la propuesta de tres dinámicas acopladas para la proliferación celular que mencionamos en la figura 3.1 del capítulo tres. Una vez concluido la propuesta de modelar el ciclo celular haremos una estimación de los parámetros usados considerando que las dinámicas ya están acopladas. Con este análisis presentaremos dos formas de medir la proliferación celular en los capítulos seis y siete.

5.1. El ciclo celular y el modelo Lotka-Volterra

Suponiendo que el período de división celular está regulado mayormente por la concentración local de auxinas como una simplificación de la dinámica hormonal del ciclo celular [109, 137] y los resultados experimentales que muestran que la auxina es una componente importante y necesaria en dicha regulación [106, 109, 110, 111]. Podemos decir que las oscilaciones de las ciclinas se deben a una interacción con la auxina y con ello el tránsito por las fases del ciclo celular. Para poder describir las oscilaciones de las ciclinas en términos de la auxina, elegimos dos ciclinas características del ciclo celular. En este caso elegimos las ciclinas del tipo B y del tipo D, ya que ambas tienden a oscilar con una antifase y presentan un máximo en fases determinadas del ciclo celular que son importantes para la división. En la figura 5.1 mostramos con líneas y símbolos los resultados experimentales [138] de estas dos ciclinas. Las oscilaciones de la ciclina del tipo D está representada por triángulos y una línea en color morado, mientras que la ciclina del tipo B está dibujada con una línea verde y rombos. Observe que la ciclina tipo B presenta un máximo en la fase M, mientras que la ciclina tipo D alcanza su máximo en la fase S (ver sección 2.4.1). Este papel oscilatorio sugiere entonces que hay una competencia repetitiva entre ambas ciclinas y con ello se puede sugerir algún modelo tipo oscilador no-lineal que represente de manera adecuada las oscilaciones de las ciclinas y que a su vez garantice un modelo robusto para el ciclo celular.

Considerando que las ciclinas CYCD y CYCB regulan el tránsito entre las fases G2-M y G1-S (ver figura 2.7), elegimos entonces un sistema no-lineal como el Lotka-Volterra con dos componentes que asemeja una dinámica depredador-presa entre estas dos ciclinas [139]. Las ecuaciones dinámicas en su forma adimensional para el modelo Lotka-Volterra son [13]:

$$\begin{aligned}\frac{\partial f}{\partial \tau} &= f(1 - g) \\ \frac{\partial g}{\partial \tau} &= \beta g(f - 1),\end{aligned}\tag{5.1}$$

donde f y g representan ahora las ciclinas del tipo D y B, respectivamente. La parte importante de este modelo, es que el período T está representado por un sólo parámetro β , que es la razón entre la tasa de mortalidad del “depredador” g y la tasa de crecimiento de la “presa” f . Así la relación que sigue el período es:

$$T = \frac{2\pi}{\sqrt{\beta}},\tag{5.2}$$

que es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de la razón entre el crecimiento de f y la muerte de g . En la figura 5.1 ilustramos las oscilaciones de las ciclinas y su semejanza con las variables de las ecuaciones (5.1) cuando transitan entre las fases del ciclo celular.

En principio, la forma en la que todas las células se pueden replicar es exactamente la misma y las ecuaciones (5.1) representa el carácter robusto que necesitamos para un modelo de ciclo celular. No obstante, las células en diferentes tejidos de la raíz presentan diferentes tasas de proliferación y esto nos lleva a suponer que el período de división celular puede ser diferente entre las células del RAM, especialmente entre las células internas y las células de la epidermis. Por ello, nombraremos β_e al parámetro que se relaciona con el período de las células de la epidermis y β al parámetro que se relaciona con el período de las células de internas del RAM. Más adelante haremos unos experimentos numéricos para saber la importancia de este parámetro del ciclo celular en diferente tipo de células. De esta forma, la ecuación (5.2) representa los tiempos de división celular y la actividad de las ciclinas en cualquier célula de la raíz. En la siguiente sección veremos como acoplamos el modelo del ciclo celular, el transporte de auxinas y el campo elástico para generar un modelo de proliferación celular que garantice un crecimiento adecuado del meristemo de la raíz.

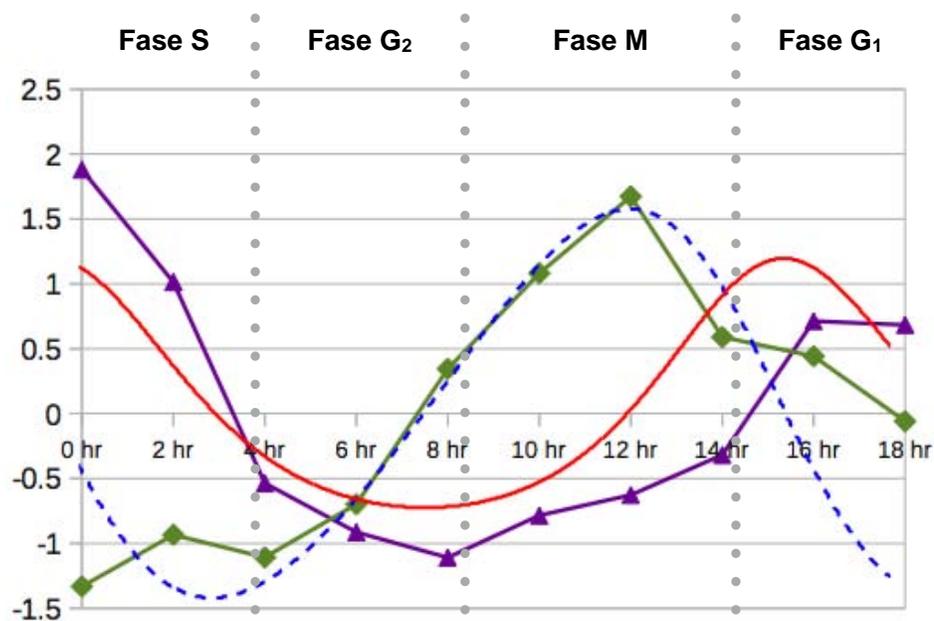


Figura 5.1: Mostramos las oscilaciones de las ciclinas del tipo D (triángulos de color morado) y las ciclinas de tipo B (rombos verdes) tomadas de los perfiles de expresión genética disponibles en la página web Genevestigator [138]. También mostramos las oscilaciones de dos sustancias usando el modelo de Lotka-Volterra adimensional donde la ciclina tipo B está dibujada con la línea a trazos en azul y la ciclina tipo D es la línea roja. En la parte superior mostramos las fases del ciclo celular y con líneas punteas dividimos la duración del ciclo.

5.1.1. Adaptación del ciclo celular y la división celular

Los datos experimentales sugieren que el ciclo celular se detiene en un umbral de concentración de auxina y que el período del ciclo celular está gobernado por la concentración de auxina [140]. Por tanto, podemos suponer que la cantidad de auxina en cada célula genera una respuesta lineal en la dinámica del ciclo celular y por ello proponemos que:

$$\beta = \gamma c_i, \quad (5.3)$$

donde γ es una constante de proporcionalidad relacionada con la escala de reproducción τ . En este sentido, cada célula tiene un reloj interno que corre tan rápido o tan lento como la concentración de auxina en cada célula.

Adaptación en la simulación numérica

De esta forma, podemos decir que el acoplamiento de estas dinámicas (ecuaciones (5.1) y (5.3)) en la simulación numérica tiene como el resultado que la célula i se divida cuando su reloj interno t cumpla un período del ciclo celular, esto es $t = \delta(n\Delta t - T_i[\tau])$, donde δ es la función de Kronecker y $n\Delta t$ es el número de iteraciones en la simulación. El período se relaciona con la escala de reproducción debido a que γ depende de él.

Para implementar la división celular consideramos que:

1. En cada paso de tiempo, el reloj interno de cada célula se incrementa de acuerdo a la concentración de auxina siguiendo la ecuación (5.3).
2. Se detectan las células que han completado un período en cada paso de tiempo y se inicia el proceso de división celular. El reloj de la célula madre y de la célula hija se inician en cero.
3. El proceso de división celular consiste en sustituir la posición \vec{r}_i de la célula que completó el período del ciclo celular por dos puntos que se orientan al azar (si la célula pertenece al meristemo) o en dirección longitudinal (si las células pertenecen a la epidermis) a una distancia cercana a \vec{r}_i . Tomando el área de un círculo como el área equivalente de la célula, entonces la distancia a la que se eligen los puntos respecto a \vec{r}_i es del orden de un cuarto del radio del círculo. Esto con la finalidad de que los tamaños de las células resultantes sea del orden de la mitad de la célula inicial.
4. La energía cinética ($v^2/2$) de la célula madre es repartida por la mitad entre la célula madre y la célula hija y las velocidades que poseen son opuesta. La energía potencial elástica es recalculada.
5. Para garantizar que la célula hija obtendrá el área suficiente cuando alcance su madurez, decidimos aumentar el área del dominio en una parte proporcional al número de células nuevas. Con la finalidad de mantener el dominio en la parte apical sin cambios y simular el tránsito de las células por las zonas de la raíz (ver figura 2.3), decidimos incrementar el área del dominio aumentando la parte superior del rectángulo.
6. La célula madre y la hija conservan la misma concentración de auxina.

Los cambios en el tamaño de dominio y el tamaño de las nuevas células producen una reorganización en todas la células de la raíz y esto afecta de manera local el valor del potencial elástico. Al mismo tiempo estos cambios alteran la concentración de auxina y esto a su vez las tasas de proliferación celular.

De esta manera, el acoplamiento de estas dinámicas sólo está gobernado por las escalas temporales. En ese sentido, para lograr la representación de un sistema real es necesario entonces entonar los parámetros de los modelos con sus respectivos valores experimentales y comprobar que cualquier cambio en las condiciones iniciales mantiene la estructura de la raíz simulada igual.

5.2. Estimación numérica de los parámetros

Los parámetros elegidos para cada modelo deben cumplir con las condiciones experimentales. Para ello consideramos que el número de divisiones celulares por unidad de tiempo es 2.6 eventos/hr, que la tasa de producción celular (número de células que pasan por una posición determinada por unidad de tiempo) es de 0 a 6 células/(mm hr) y que la tasa de proliferación celular está entre 0 y 50 $\mu\text{m/hr}$ en el RAM [141].

Dado que el valor de las constantes elásticas establecen las unidades para las variaciones temporales y el comportamiento dinámico del sistema, entonces iniciaremos con ellas para estimar su valor. Se sabe que la constante K_c está relacionada con el módulo elástico o módulo de Young, E , de cada célula (ver **apéndice B**) y que los resultados experimentales sobre propiedades mecánicas de las paredes celulares y tejidos revelan que $E \sim 10$ MPa [142]. Para establecer una cota en el valor numérico para K_c , supondremos que las células están en equilibrio en un arreglo hexagonal y que la magnitud de la fuerza elástica es $|F_E| = ES_0\Delta L/L_0$, donde S_0 es el área de contacto entre dos células vecinas, $\Delta L = |A - A_0|^{1/2}$ es el cambio en la longitud al que se somete una célula que está creciendo y $A_0 = \sqrt{3}L_0^2$ es el área del hexágono. L_0 representa la distancia entre los centros de dos células continuas o el diámetro de una de ellas. En nuestro modelo, esta magnitud de la fuerza tendría su equivalencia y observaríamos que $|F_{K_c}| = K_c|\vec{r}_i - \vec{r}_{0_i}|$. Si nos situamos en una célula que recién se ha dividido, entonces su área $A = A_0/2$, esto hace que $\Delta L = \sqrt{\sqrt{3}L_0^2/2}$, $|\vec{r}_i - \vec{r}_{0_i}| \simeq L_0/2$ y $S_0 = A_0/6$. Si igualamos las dos magnitudes de la fuerza encontramos que:

$$K_c \simeq \frac{L_0}{\sqrt{2\sqrt{3}}}E. \quad (5.4)$$

Así, si tomamos el diámetro promedio de una célula como $L_0 = 15\mu\text{m}$ [141] y $E = 10$ MPa, entonces $K_c \sim 80$ Pa – m. Del mismo modo podemos considerar la situación de una célula de la epidermis y tomar un módulo elástico $E = 15$ MPa que representa una célula con paredes más rígidas y con ello obtener que $K_{ce} \sim 120$ Pa – m. Si pensamos que K_v y K_e están relacionados con las propiedades mecánicas de la pared y membrana celular, la resistencia a la presión de turgencia y el metabolismo de la célula, entonces resulta difícil poder asociarles sólo una propiedad biológica. Sin embargo, la dinámica de las ecuaciones (3.8) y (3.10) el primer término debería de producir una fuerza restauradora de la misma magnitud que el segundo término si la forma y la geometría del dominio se mantienen durante el crecimiento. Por tanto, podemos considerar que el valor numérico para estas dos cantidades es $K_v \simeq 80$ Pa/m y $K_e \simeq 120$ Pa/m para que el sistema se relaje y el conjunto completo de células mantenga el mismo tamaño y forma. Realizando un simulacro numérico con estos valores obtuvimos que la dinámica de crecimiento es comparable con cantidades experimentales medidas.

Como mencionamos en el capítulo 3, el parámetro k está relacionado con una amortiguamiento viscoso que permite un cambio simplástico en las células. El valor de $k_{i,e}$ para cada célula (i en el meristemo o e en la epidermis) puede ser estimado si se piensa que la amplitud del movimiento armónico $e^{-i\omega t}$, causado por las fuerzas armónicas, se reduce por un factor $1/e$ en un intervalo para

5.2. Estimación numérica de los parámetros

eliminar la oscilación. Pensando que ese intervalo debería de ser el equivalente a un período $\eta = 2\pi/\omega$, entonces $k \geq m/\eta$. Note que la masa m en las ecuaciones (3.10) es igual a la unidad. Por tanto $\omega = 2\sqrt{K_c/m} \approx 18 \text{ sec}^{-1}$ y $k = m\omega/2\pi = 2,84 \text{ Pa} - \text{m} - \text{sec}$.

Los valores usados en la simulación numérica son $K_c = 80$, $K_v = 80$, $K_{ce} = 120$, $K_e = 120$ y $k_{i,e} = 3$. Con este conjunto de valores podemos decir que las escalas de tiempo Δt en la simulación son del orden de 3 min si observamos que el número de células en una raíz de siete días de crecimiento (ver figura 2.1) son alrededor de 350 y que una simulación típica (ver figura 6.2) reproduce esa misma cantidad de células en 3400 iteraciones. Esto significa que $\Delta t = (7 \times 24 \times 60)/3400 = 3 \text{ min}$. Dado que las propiedades tensoras de la epidermis cambian toda la dinámica de las células internas, podemos dividir la otra serie de parámetros en dos casos: 1) cuando no hay celdas de Voronoi que representen las células de la epidermis y 2) cuando sí las hay. En el primer caso, $\alpha = 8$, $\gamma = 100$ y $\beta \approx 50$ en unidades de τ . En el segundo caso, $\alpha = 5$, $\gamma = 250$, $\beta \approx 15$ y $\beta_e \approx 5$ en unidades de τ . En los dos casos $\tau \approx 100 \times \Delta t$ para reproducir un período del ciclo celular del orden de 12 hr, como lo muestra la figura 5.1. El valor de la difusión es $D_0 = 0.08$. Cabe mencionar que el valor numérico de estos parámetros garantiza el tamaño correcto de la zona meristemática [20]. Los programas para crecer los meristemas se encuentran disponibles en la plataforma github para cualquier consulta [143].

Proliferación celular considerando sólo las células internas de la raíz

6.1. Condiciones generales

En este capítulo presentaremos los resultados obtenidos del acoplamiento de los modelos planteados en los capítulos 3, 4 y 5 considerando sólo la acción de las células internas en la proliferación celular. Para ello usaremos la ecuación (3.8) para el potencial elástico y la integración numérica de la ecuación (3.10) mediante el método de Euler. Para el transporte de auxina usaremos la ecuación (4.6) y la acción de los PINs será modelada con compuertas usando la ecuación (4.7). Cabe mencionar que se aprovechó la malla que generan los diagramas de Voronoi y la triangulación de Delaunay para calcular los gradientes en las ecuaciones dinámicas. Los programas para crecer los meristemas se encuentran disponibles en la plataforma github bajo el nombre de Mainroot2012.m para cualquier consulta [143]. En la figura 6.1 mostramos un diagrama de flujo que ilustra un ciclo típico de integración numérica donde se incluyen en forma de módulos las dinámicas del potencial elástico, el transporte de auxinas y del ciclo celular, así como la acción de los PINs, la construcción de los diagramas de Voronoi y los procesos de división celular. El programa se inicializa con $N = 11$ células con posiciones (\vec{r}_i) aleatorias. Las velocidades (\vec{v}_i) y el reloj del ciclo celular se inicia en cero para todas las celdas i . Observe que las flechas indican la dirección en la que se integran las dinámicas y que los círculos en rojo representan decisiones lógicas que se cumplen en determinado tiempo. En los diferentes módulos hemos escrito las ecuaciones que se integran numéricamente. Cabe mencionar que los parámetros usados en este capítulo son $K_c = 80$, $K_v = 80$, $k_i = 3$, $\alpha = 8$, $\gamma = 100$, $\beta = 50$ y $D_0 = 0$.

6.2. Desarrollo de la raíz

6.2.1. Concentración de auxinas y posición del QC

Como mencionamos, nuestro modelo de transporte de auxina sólo se ocupa del flujo de auxina y no de las posibles fuentes de síntesis y degradación de ésta. Así que para que nuestro modelo tome en cuenta estos factores y genere un referencia de hacia donde se mueve la auxina, normalizamos la concentración de auxinas en cada paso de tiempo. De esta forma, la distribución de auxinas ya no depende de las condiciones iniciales y hace más robusto las dinámicas empleadas. La concentración de auxina c_i se inicia con una concentración normal entre cero y uno. Así, usando los resultados experimentales sobre la distribución de auxina en la raíz (ver figura 2.4) proponemos como aproximación dejar la posición del QC fija y asociarle al mismo el valor máximo de la auxina todo el tiempo. Esto con la finalidad de reproducir las características que mencionamos del QC en la sección 2.2.1. En las simulaciones numéricas representamos el QC con dos células ubicadas en la parte apical de la raíz haciendo una analogía con las micrografías tomadas de la raíz de *Arabidopsis*. Esto desde luego es algo puesto *ad hoc* en la dinámica, pero por ahora no estamos preocupados por la emergencia del QC y más bien nos interesa saber como se recuperan las patrones de proliferación celular en el RAM. En el capítulo siguiente abordaremos la emergencia del QC y su importancia para el crecimiento de la raíz.

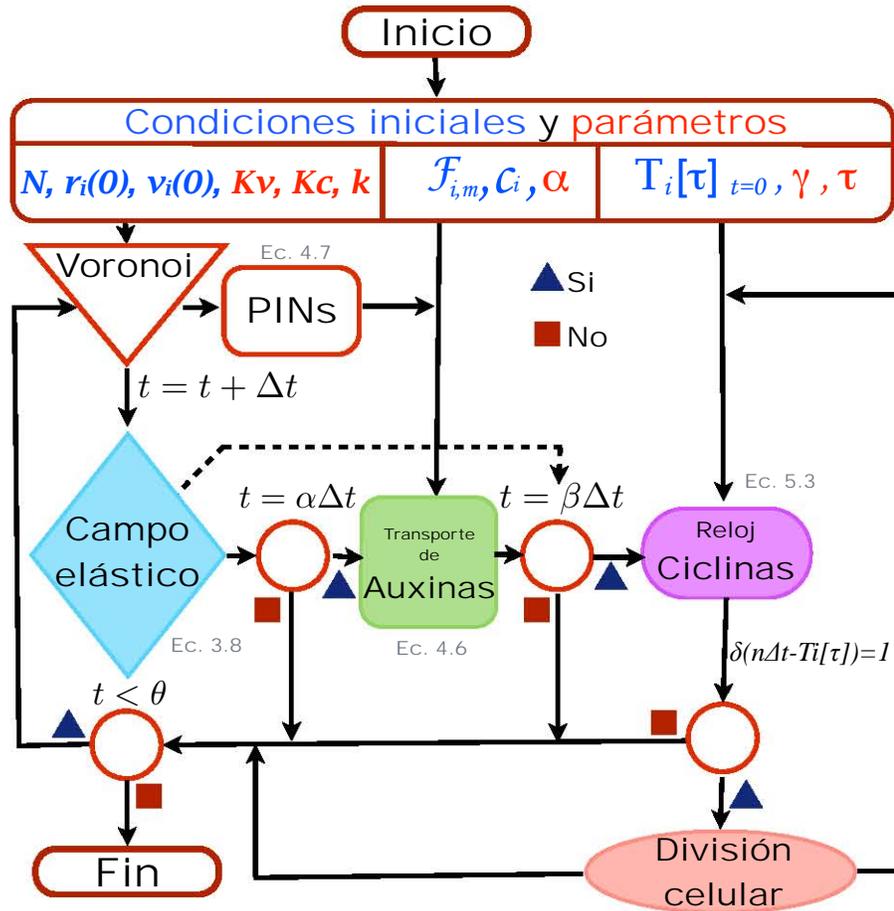


Figura 6.1: Diagrama de flujo que ilustra el algoritmo que utilizamos para la integración numérica de las dinámicas del campo elástico, el transporte de auxinas y del ciclo celular, así como la acción de los PINs, la construcción de los diagramas de Voronoi y los procesos de división celular. Cada módulo tiene asociada la ecuación dinámica que resuelve. En la parte superior escribimos las condiciones iniciales en color azul y los parámetros en color rojo. El código de color de cada módulo ilustra el esquema de interacciones del modelo propuesto en la figura 3.1. Los valores t y Δt son el tiempo de simulación y el tiempo de iteraciones, respectivamente. θ representa el tiempo final de la simulación y $\delta(n\Delta t - T_i[\tau])$ representa la condición temporal para que una célula se divida, cuando esta condición se cumple, el reloj de la célula completó un período del ciclo celular. Los círculos en rojo representan decisiones lógicas que se toman en determinado tiempo.

6.2.2. Proliferación celular

En la figura. 6.2 mostramos el crecimiento de una raíz en diferentes tiempos de la simulación. Iniciamos con once puntos el dominio parabólico y posteriormente aumentamos el tamaño del rectángulo para albergar más células. El QC está marcado con dos rombos blancos. Cabe mencionar que la baja tasa de reproducción del QC se incluyó en la simulación con factor 10:1 en el ciclo celular [46, 50], esto significa que deben ocurrir diez divisiones en la zona meristemática por sólo una en el QC. La concentración

de auxina está representada con una escala de colores donde el rojo significa mayor concentración y el azul menor concentración de auxina. La figura encerrada por el rectángulo en la figura 6.2 muestra un proceso típico en la construcción de los diagramas de Voronoi y la reproducción celular. Observe que a los 400 pasos de tiempo (primera imagen en la figura 6.2) las células ya llegaron a un estado de equilibrio con una forma y tamaño uniforme y donde el gradiente de auxina ya ha formado un patrón espacial similar al mostrado en la figura 2.4. Como es de esperar, este gradiente dicta los tiempos de proliferación celular de forma local y con ello los eventos de división celular crean un aumento repentino del potencial local. Esto a su vez regula el transporte de auxina y ocurre el fenómeno de auto-regulación. Observe que en el dominio de transición (TD) la cantidad de auxina es menor que en el dominio de proliferación (CPD), lo que hace que el CPD mantenga mucho más actividad mitótica (ver figura 6.3).

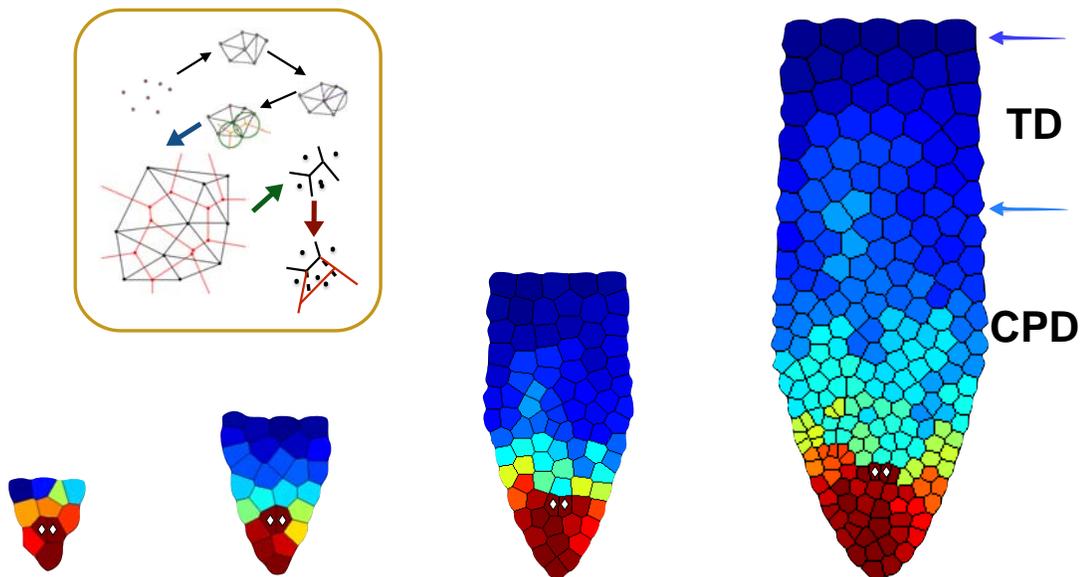


Figura 6.2: Mostramos cuatro imágenes de la raíz que corresponden a 400, 1400, 2400 y 3400 pasos de tiempo de la simulación o 1, 3, 5 y 7 días aproximadamente. La escala de color representa la concentración de auxina siendo el color rojo los sitios con mayor concentración y el color azul los sitios con menor concentración. La figura en el rectángulo muestra la construcción de los diagramas de Voronoi y la división celular. Hemos marcado el dominio de proliferación celular (CPD) y el dominio de transición (TD) como función de sus tasas de reproducción y el valor del potencial. El QC está marcado con rombos blancos.

Aunque las interacciones dinámicas suelen tener un comportamiento no-lineal, el gradiente de la auxina suele conservarse a lo largo de raíz y los procesos de crecimiento y patrones celulares parecen no sufrir alteraciones notables a pesar de iniciar las simulaciones numéricas con diferentes condiciones aleatorias. Esto hace que la complejidad de tales dinámicas y los patrones emergentes posean características robustas que nos permiten seguir explorando otras propiedades en la raíz.

6.2.3. Comparación entre la simulación y el experimento

En la figura 6.3 graficamos las tres dinámicas involucradas en el crecimiento de la raíz como función de la distancia al ápice o punta de la raíz. Lo interesante de esta figura es que nos permiten monitorear la actividad celular alrededor de cualquier intervalo. Por ejemplo, si nos fijamos alrededor de la posición del centro quiescente (observe la estrella alrededor de $100 \mu\text{m}$) notamos que hay una gran concentración de auxina y un mínimo de potencial elástico que imitan las actividades del nicho de células troncales. En la región central por ejemplo, la disminución de auxina y un potencial elástico casi al mínimo imitan la zona meristemática con tasas de proliferación casi constantes. Note que la proliferación celular es una medida del reloj del ciclo celular. Como un ejemplo más, observamos que nuestra simulación imita la zona de transición en los lugares lejanos a la punta. Como recordaremos, la zona de transición se caracteriza por un potencial elástico grande (debido al tamaño celular más grande), una concentración de auxina muy baja y nula actividad mitótica. Desde luego que si se aumenta el tiempo en el que observamos la raíz podemos ver otros efectos que apenas parecen iniciar. Por ejemplo en la parte más alejada de la punta, la figura 6.3 muestra que el potencial elástico crece mucho y que la auxina se ha concentrado en otra zona. Como vimos en el capítulo 2, estas propiedades corresponden al tránsito de las células a la zona de elongación y, por tanto, podemos decir que esa parte de la raíz imita la zona de elongación.

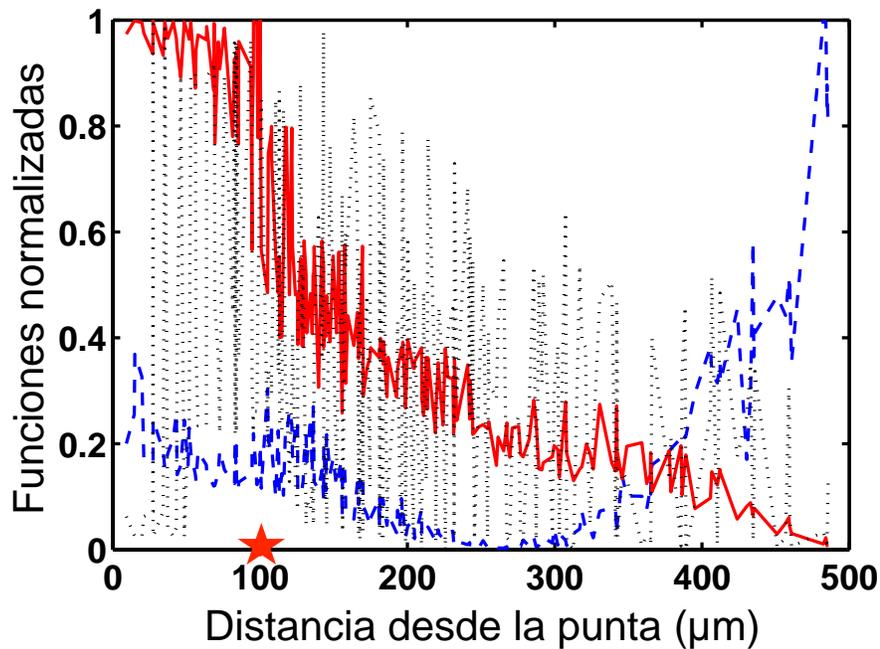


Figura 6.3: Se muestra el potencial elástico (línea azul a trazos), la concentración de auxinas (línea roja) y el reloj del ciclo celular (línea negra punteada) normalizados como función de la distancia al ápice de la raíz. Las cantidades mostradas se tomaron de la raíz con 7 días de crecimiento (3400 tiempos de simulación). La estrella en el eje de las abscisas representa la posición del QC.

Todos estos hechos indican que los patrones que emergen del modelo son similares a las observadas en la raíz e imitan las condiciones observadas tanto para la distribución de auxina [55, 144] como para los patrones de proliferación celular [145]. Asimismo estas concordancias permiten extender nuestros estudios y usar el modelo para explorar diferentes condiciones de crecimiento. Para encaminarnos en esta dirección es necesario seguir validando nuestro modelo con algunas otras mediciones experimentales. Por lo pronto, en la figura 6.4 mostramos un histograma con el número de reproducciones como función de la distancia a la punta en una raíz de siete días. Observe que el número de divisiones restringe los dominios en la raíz y de hecho, nos permite definir la longitud máxima de la zona meristemática, que en este caso está confinada a los $300 \mu\text{m}$. Desde luego que esta medida depende de los parámetros elegidos, en específico del parámetro α que gobiernan el transporte (ver figura 6.9 más adelante), dado que de él depende que las células más alejadas de la punta no se dividan. Es evidente que el acoplamiento dinámico en nuestro modelo genera entonces una forma de explorar la transición entre zonas de la raíz, particularmente las transiciones del dominio de proliferación a los dominios de transición y elongación, así como una forma de cuantificar el tamaño de otros dominios como el nicho de células troncales y el de proliferación. En el siguiente capítulo abordaremos este tipo de pruebas. Observe que el potencial elástico (puntos rojos) en la figura 6.4 también ayuda a identificar la zona meristemática, ya que éste se incrementa cuando las células ya no pertenecen al meristemo.

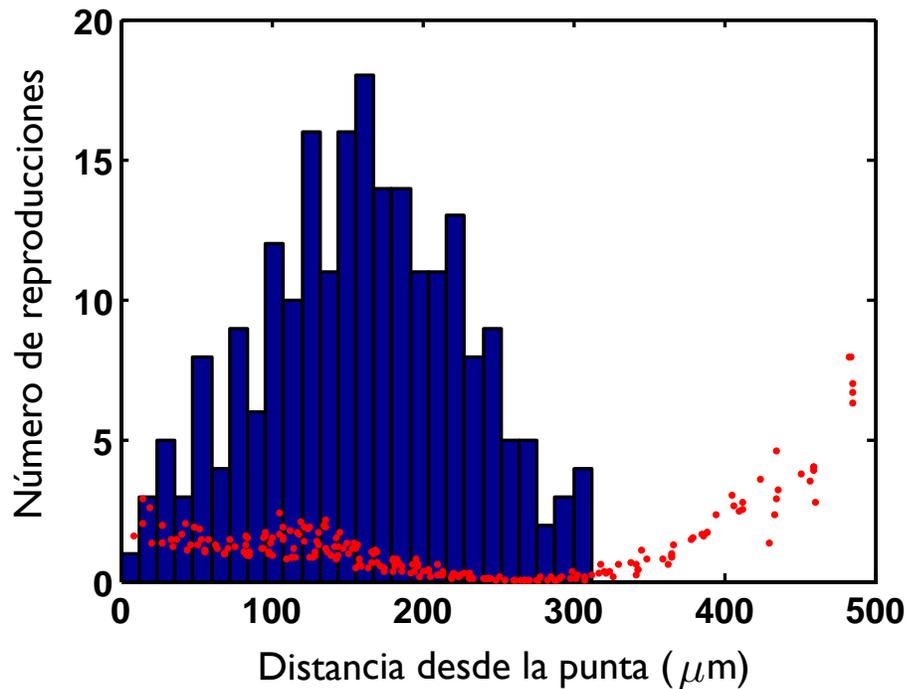


Figura 6.4: Mostramos un histograma del número de divisiones celulares a lo largo de la raíz y sobreponemos el potencial elástico con puntos rojos. Observe que ya no hay división celular después de los $300\mu\text{m}$, lo que significa que el meristemo alcanza una longitud determinada. Note que el potencial refleja también el estado del meristemo al aumentar su magnitud como consecuencia de que las células ya no puedan dividirse.

Con la información experimental recabada y la plataforma de simulación numérica de la raíz podemos examinar ciertas medidas experimentales. En las figuras 6.5-6.8 mostramos estas cantidades después de haber hecho un análisis estadístico del crecimiento de la raíz durante seis días bajo diferentes condiciones iniciales. En la figura 6.5 mostramos la tasa de reproducción a lo largo de la raíz medida desde la posición del QC usando la simulación numérica (línea azul a trazos) y la información experimental (línea roja) reportada por Beemster y Baskin [141]. Cabe mencionar que nuestros resultados numéricos nos dan información desde la punta a la base de la raíz y no desde el centro quiescente, y por ello fue necesario eliminar la información de las células que están por debajo del QC. Nótese que hay una correlación bastante buena entre la simulación y los experimentos (ver figura 6.5).

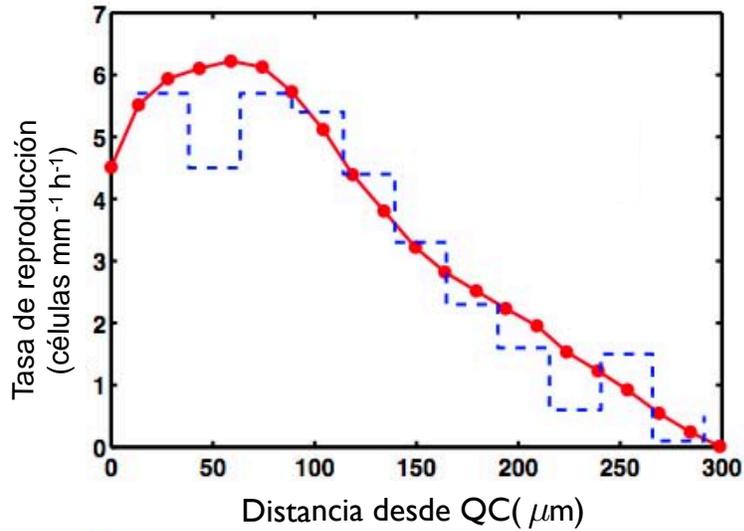


Figura 6.5: Se muestra la tasa de proliferación como función de la distancia al centro quiescente. Los resultados de la simulación (línea azul a trazos) corresponde a una raíz de seis días de crecimiento y los resultados experimentales (línea roja) fueron tomados de Beemster y Baskin [141].

En la figura 6.6 mostramos la distribución de frecuencias para la longitud celular. Cabe mencionar que la longitud l de una célula simulada se mide como el diámetro que representa un círculo con área equivalente al de una célula simulada, esto es $A_i = \pi(l/2)^2$. En la parte experimental, la longitud se mide como la distancia en dirección vertical en cada célula de la micrografía de la figura 2.1. Observe que la naturaleza de la proliferación y el crecimiento celular tienen una dinámica compleja [146] que hace que el histograma no coincida en su totalidad; sin embargo, los resultados numéricos tienen las mismas características cualitativas del experimento, es decir, presenta una distribución unimodal entre ~ 10 y $\sim 35 \mu\text{m}$, con un máximo alrededor de $15 \mu\text{m}$. Otros resultados experimentales avalan este comportamiento unimodal en la distribución [147] y, por tanto, podemos decir que nuestro modelo está preparado para predecir los tamaños celulares.

En la figura 6.7 presentamos la longitud celular (círculos azules) como una función de la distancia al centro quiescente (QC). La curva experimental (línea roja) fue tomada del artículo de Beemster y Baskin [141]. De nuevo fue necesario eliminar la información de las células que están por debajo del QC pues nuestra simulación nos mide la distancia desde el ápice. Note que la correlación entre el experimento y la simulación es muy buena.

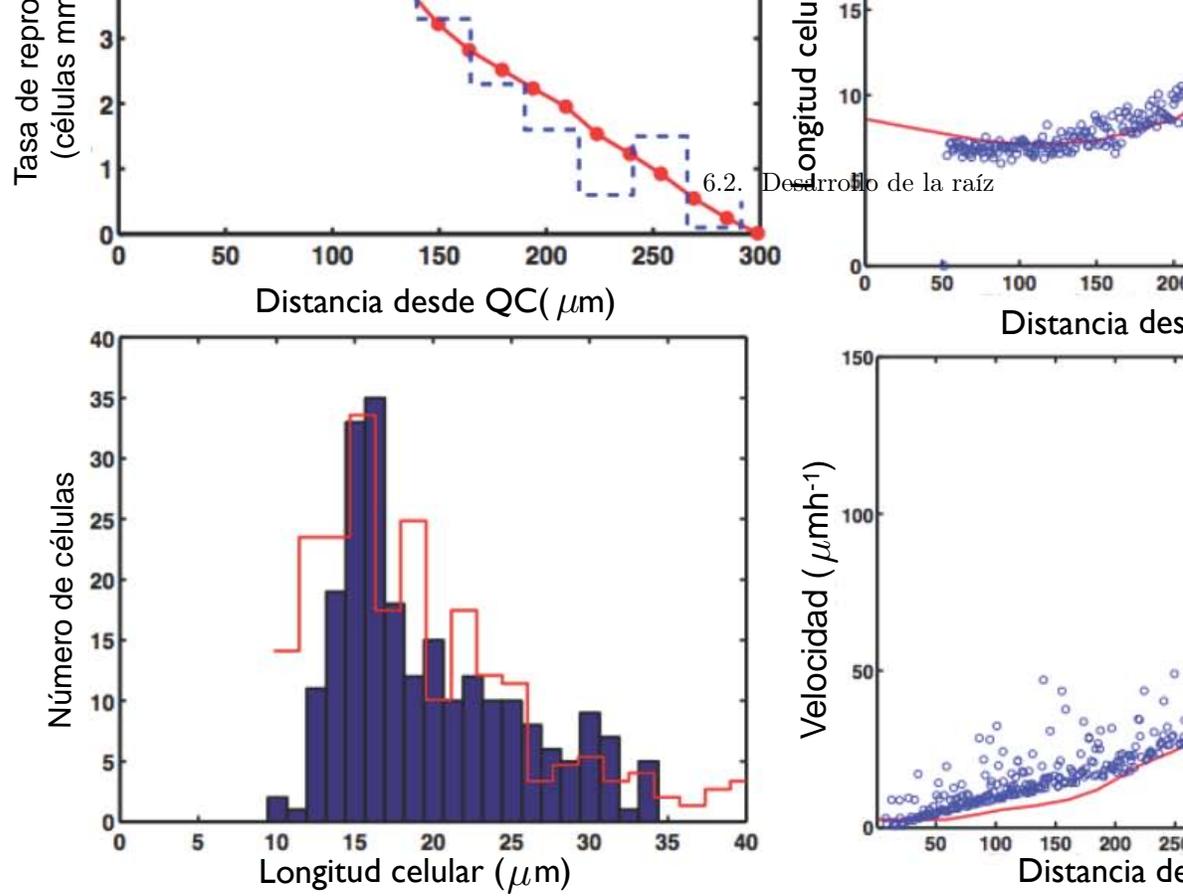


Figura 6.6: Se presenta la distribución de frecuencias de la longitud celular (histograma en azul). Los datos experimentales fueron obtenidos de la figura 2.1.

Resultados

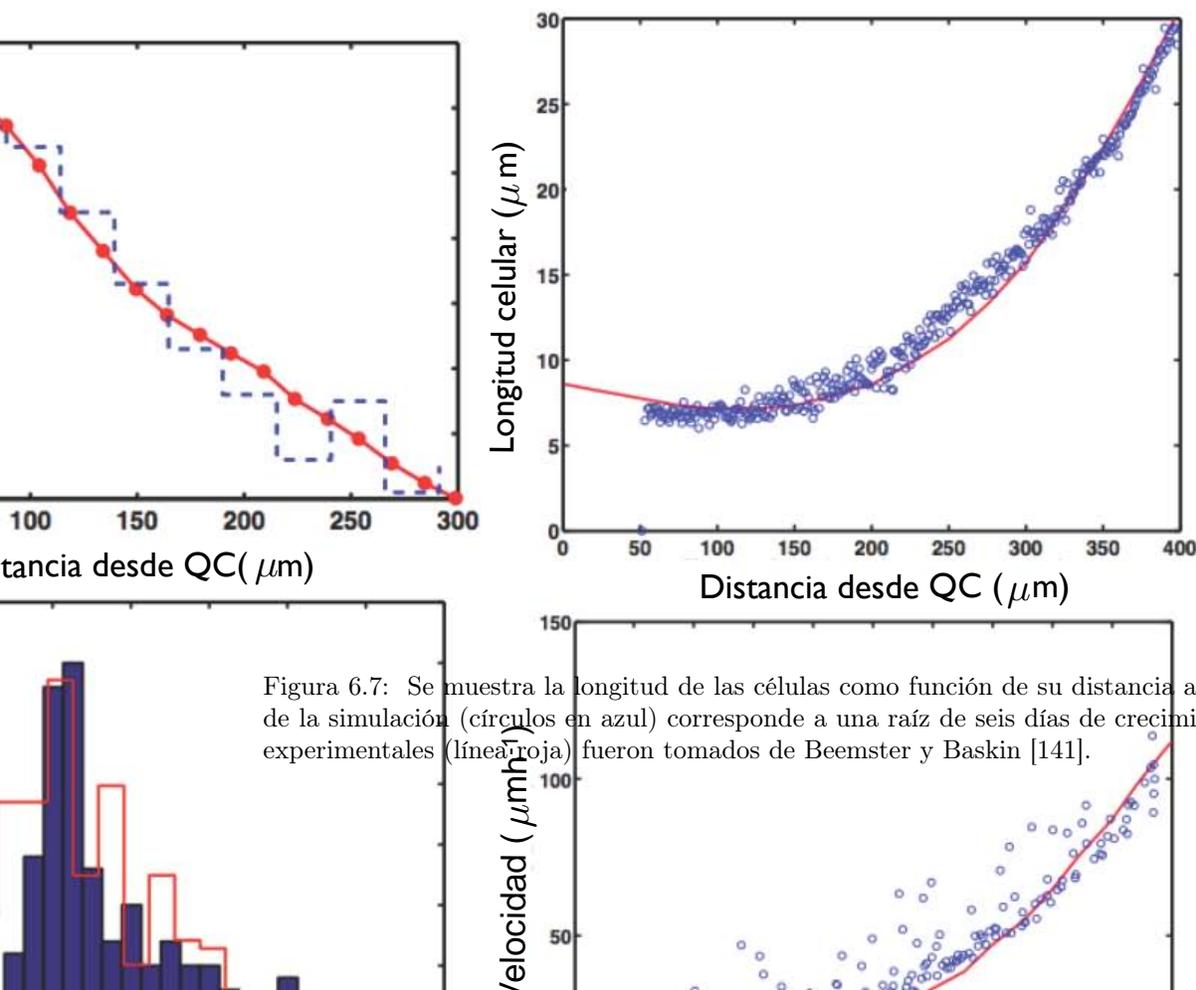


Figura 6.7: Se muestra la longitud de las células como función de su distancia al QC. Los resultados de la simulación (círculos en azul) corresponde a una raíz de seis días de crecimiento y los resultados experimentales (línea roja) fueron tomados de Beemster y Baskin [141].

Finalmente, en la figura 6.8 mostramos la velocidad promedio de proliferación celular v_p definida por Beemster y Baskin [141] en donde se mide la posición de una célula i por unidad de tiempo t como $x_{i,t}$ en un intervalo determinado de la raíz y se promedia temporalmente, es decir, la velocidad para la célula i se escribe como $v_p(x) = (x_{i,t_2} - x_{i,t_1}) / (t_2 - t_1)$ donde $x = 0.5(x_{i,t_1} + x_{i,t_2})$. En la figura 6.8 mostramos las medidas experimentales con un línea roja y los resultados numéricos los presentamos con círculos de color azul. En nuestra simulación monitoreamos la posición de cada células con respecto al ápice de la raíz y posteriormente cambiamos al sistema de referencia al QC. Cabe mencionar que la posición del ápice cambia en cada paso de la simulación debido a las divisiones celulares. La correlación entre los datos experimentales y los simulados de nuevo es muy buena y con ello podemos decir que nuestro modelo y su plataforma de simulación numérica están validados y pueden usarse para realizar otros estudios.

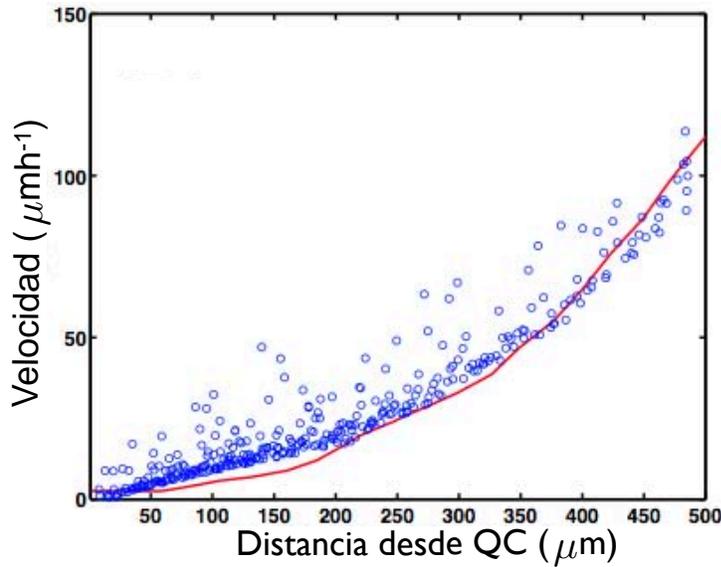


Figura 6.8: Presentamos la velocidad promedio de proliferación como función de la distancia al QC, las condiciones de la simulación y los datos experimentales son igual que en las figuras 6.5 y 6.7.

6.2.4. Discusión y predicciones

Los resultados de las figuras 6.4-6.8 muestran que el modelo sin una epidermis definida por celdas de Voronoi recupera las transiciones entre los diferentes dominios de la raíz. Además, muestran que hay una correlación muy buena entre los datos obtenidos con la simulación numérica y los resultados experimentales. De esta forma, las dinámicas propuestas para el ciclo celular, el transporte de auxina y la fuerza elástica permiten que el modelo funcione como una plataforma numérica teórica para explorar diferentes hipótesis sobre el gradiente de auxinas, la proliferación celular y la inclusión genética a través de redes reguladoras de genes.

Como mencionamos en la sección de resultados, el modelo presenta ventajas para explorar diferentes condiciones de crecimiento. Una de estas ventajas se resume al modificar la constante α que se relaciona con el transporte de auxinas. Algunos estudios [63, 79, 148, 149] sugieren que el tamaño del RAM depende de las condiciones de crecimiento y sus alteraciones por los niveles de auxina presentes,

ya sea de manera interna en la raíz o por condiciones externas. Ya que el parámetro α representa en cierta forma la razón entre las interacciones del potencial elástico y el transporte de auxina, podemos darnos a la tarea de explorar su función en las dinámicas propuestas por nuestro modelo. En la figura 6.9 mostramos la dependencia entre el tamaño de la zona meristemática y el valor de α . Tomamos como medida de la zona meristemática la distancia más alejada donde ocurre una división en la raíz. Para poner un ejemplo, cuando $\alpha = 8$ la zona meristemática tiene un tamaño de $300 \mu\text{m}$ (figura 6.4). Como puede observarse en la figura 6.9 la longitud de la zona meristemática decrece como una ley de potencias conforme el parámetro α se incrementa. Note también que este resultado completa las propuestas encontradas en la literatura [63, 79, 148, 149].

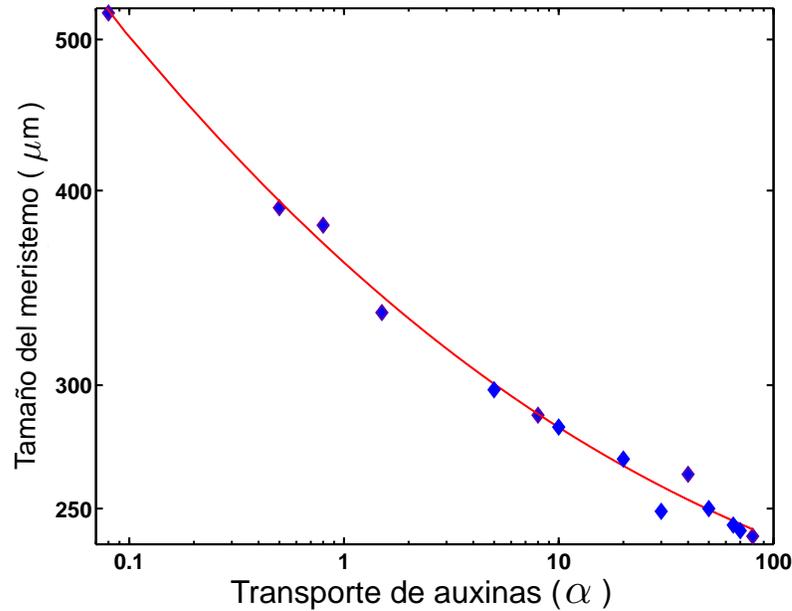


Figura 6.9: Mostramos en una escala semilogarítmica el tamaño de la zona meristemática de la raíz como función de la tasa de transporte de auxina α de forma teórica. Los rombos azules muestran los resultados numéricos y línea roja es un ajuste para la distribución de estos puntos. La función de ajuste sigue una ley de potencias de la forma $f(x) = 1.7x^{-0.26} + 1.88$ con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.993$.

Dado que el crecimiento de plantas es influenciado en cierta proporción por el comportamiento mecánico de la pared celular, las mediciones de las propiedades mecánicas de las paredes celulares se vuelven importantes para entender completamente como es que la organización celular se logra. Como la mayoría de los materiales, las propiedades del material biológico en las paredes celulares dependen de la magnitud de las fuerzas a los que son sometidos, su edad y de las condiciones fisiológicas [27, 142]. Así que hacer mediciones de las propiedades mecánicas de las paredes en las plantas vivas de vuelve complicado y de hecho todo un reto para el desarrollo de instrumentación. El uso del módulo elástico como propiedad mecánica de la pared parece no ser suficiente debido a las anisotropías estructurales de la pared celular. Por ello las comparaciones entre los valores de K_v y K_c de nuestro modelo y los valores reportados, para el módulo de elasticidad de las paredes celulares reales, se vuelven complejos

y tenemos que recurrir a un estado ficticio de equilibrio como las celdas hexagonales. No obstante, el hecho de que el patrón celular, el gradiente de auxinas y las tasa de proliferación se recuperen a lo largo de la raíz sugiere que es probable que sean biológicamente significativos o que la raíz posee un comportamiento robusto muy genérico.

Estos resultados preliminares refuerzan nuestra hipótesis en la que las interacciones entre agentes físicos, químicos y biológicos son suficientes para recuperar patrones morfológicos en la raíz de *Arabidopsis* y de cualquier otra planta. De hecho, muestran una correlación importante con los datos reportados en la literatura [92, 95, 96]. Es interesante notar que un argumento simple sobre la geometría de la raíz que gobierna el tamaño y la forma celular sea suficiente para producir un campo elástico no uniforme que provee la información espacial necesaria para recuperar los patrones de proliferación celular en la raíz. Por tanto, podemos considerar que la modificación de las fuerzas físicas cambiaría el tamaño y forma de las células y con ello el patrón de proliferación. En el capítulo siguiente abordaremos este punto al considerar el papel de las células epidérmicas con celdas de Voronoi y veremos como se modifica la estructura de la raíz al cambiar las condiciones del ciclo celular y las propiedades mecánicas de las paredes celulares.

Debido a que la auxina no responde únicamente al transporte, sino también a las vías de señalización dadas por los transportadores PINs, es entonces notable observar que la localización de auxina no coincide con las respuestas de transporte, sino con muchas interacciones auto-reguladas por la misma auxina y las proteínas PIN. Aunque los resultados mostrados en las figuras 4.1, 6.2 y 6.3 muestran el correcto funcionamiento de la auxina, es importante considerar que el transporte polar dado por los PINs no está fijo y que tiene una propiedad dinámica que hay que tomar en cuenta dadas las observaciones experimentales [90]. Cabe señalar que esta propiedad también será explorada en el capítulo siguiente cambiando la propiedad permeable de las paredes celulares.

Como mencionamos en las condiciones generales, la posición del centro quiescente la tomamos como una propiedad intrínseca de la raíz y no como una propiedad que emerge del sistema. No obstante, sabemos que el nicho de células troncales y el propio centro quiescente están gobernados por una red compleja de interacciones físicas y genéticas que permiten la perpetuación de su estado indiferenciado y de su tamaño [46, 63, 150]. Por ello se vuelve importante explorar como es el surgimiento de este centro organizacional. Debido a que la acción de los PINs está estrechamente relacionada con la formación del nicho de células troncales y el centro quiescente, mostraremos en el capítulo siguiente como emerge el centro quiescente dado los estados de polarización dinámica de los PINs.

6.3. Conclusiones

Como conclusión de este capítulo podemos decir que el acoplamiento dinámico entre la proliferación celular, el transporte de auxinas y un campo físico elástico son suficientes para que la organización celular en la raíz emerja a pesar de las simplificaciones biológicas involucradas. También podemos agregar que la interacción de los modelos propuestos en este capítulo son capaces de recuperar los patrones observados en la raíz, como el gradiente de auxina y los dominios a lo largo de la raíz. Por último podemos decir que los modelos proporcionan una herramienta teórica para explorar algunos rasgos de crecimiento y predecir sus resultados, como lo vimos en el tamaño del meristemo al cambiar la tasa de transporte de auxina (ver figura 6.9).

Proliferación celular considerando las células de la epidermis

7.1. Condiciones generales

En este capítulo extenderemos los resultados del capítulo anterior agregando nuevas condiciones al potencial elástico, al transporte de auxinas vía los PINs y modificaciones al ciclo celular para poder incluir la acción de las células de la epidermis. En ese sentido. En este capítulo modelaremos la proliferación celular en la raíz al incluir las células de la epidermis. Para esto, consideramos que el potencial elástico que gobierna la forma y el tamaño de las células se puede dividir entre las células internas y las células externas de la epidermis. Para las células internas usamos la descripción del potencial dado por la ecuación (3.8) y para las células externas usamos el potencial elástico dado por la ecuación (3.9). Así, la integración numérica para las posiciones y las velocidades la hacemos usando la ecuación (3.10) con el método de Euler. Cabe mencionar que la fuerza para las células de la epidermis difiere de la fuerza de las células internas (en la relación (3.2)) ya que el área de las células de la epidermis toma en cuenta que el desplazamiento de éstas es sólo en dirección longitudinal (ver ecuación (3.6)). Para el transporte de auxina usaremos la ecuación 4.6 y tomaremos la acción de los PINs de forma dinámica usando la ecuación (4.8). Asimismo, consideramos que el ciclo celular de las células de la epidermis es más lento que el de las células internas y usamos un contador diferente para medir su período. Los programas para crecer los meristemas se encuentran disponibles en la plataforma github bajo el nombre de RootMain.m para cualquier consulta [143].

En la figura 7.1 mostramos un diagrama de flujo que ilustra un ciclo típico de integración numérica donde se incluyen los módulos de las dinámicas del potencial elástico, el transporte de auxinas y del ciclo celular, así como la acción de los PINs, la construcción de los diagramas de Voronoi y los procesos de división celular. Observe que este diagrama contiene modificaciones importantes con respecto al diagrama de la figura 6.1. El programa se inicializa con ocho células epidérmicas y diez células externas que representan la cofia. Las posiciones \vec{r}_i y velocidades \vec{v}_i se eligen de forma aleatoria sólo para las células internas. El reloj de todas las células se inicia en cero y la concentración de auxina se elige de forma aleatoria entre cero y uno. Observe que las flechas en la figura 7.1 indican la dirección en la que se integran las dinámicas y que los círculos en rojo representan decisiones lógicas que se cumplen en determinado tiempo y que la acción de auto-regulación entre los PINs y la auxina se ejemplifica con una línea a trazos. También colocamos las ecuaciones que se integran numéricamente en cada módulo que aparece en el diagrama. Los parámetros usados en este capítulo son $K_c = 80$, $K_{ce} = 120$, $K_v = 80$, $K_e = 120$, $k_{i,e} = 3$, $\alpha = 5$, $\gamma = 250$, $\beta = 15$, $\beta_e = 5$ y $D_0 = 0.08$. En algunas figuras estos valores pueden cambiar y en tal caso escribiremos el valor numérico del parámetro en la figura.

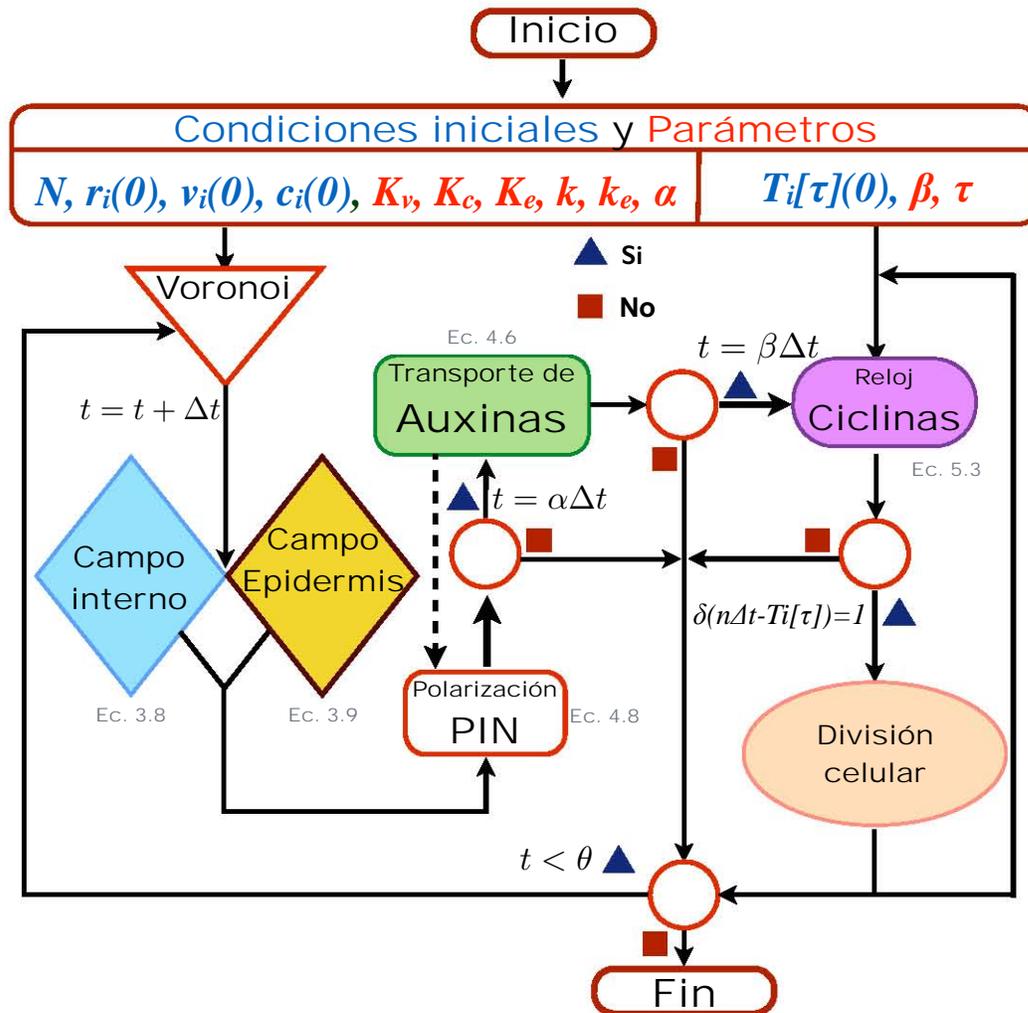


Figura 7.1: Diagrama de flujo que ilustra el algoritmo que utilizamos para la integración numérica de las dinámicas del campo elástico, el transporte de auxinas y del ciclo celular, así como la acción de los PINs, la construcción de los diagramas de Voronoi y los procesos de división celular. Cada módulo tiene asociada la ecuación dinámica que se resuelve. En la parte superior escribimos las condiciones iniciales en color azul y los parámetros en color rojo. El código de color de cada modulo ilustra el esquema de interacciones del modelo propuesto en la figura 3.1 y 6.1. Los valores t y Δt son el tiempo de simulación y el tiempo de iteraciones, respectivamente. θ representa el tiempo final de la simulación y $\delta(n\Delta t - T_i[\tau])$ representa la condición temporal para que una célula se divida, en esta condición el reloj de la célula contempla un período del ciclo celular. Los círculos en rojo representan decisiones lógicas que se toman en determinado tiempo.

7.2. Propiedades emergentes en la proliferación

7.2.1. Gradiente de auxinas y proliferación celular

Debido a que seguimos interesados sólo en la forma en que se transporta la auxina y no en las posibles fuentes de síntesis y degradación de ésta, acotamos el valor numérico de la auxina entre 0 y 1 en cada

paso de la simulación con el fin de monitorear la dirección del transporte. La restricción a estos valores es debido a que algunas células en la frontera pierden auxina y otras células al interior de la raíz quedan con una concentración negativa debido a que la difusión normal es mucho más lenta que el transporte activo dado por los PINs. En este capítulo ya no fijamos el máximo de la concentración de auxina en el QC pero si la posición del QC en algunos casos. De esta forma, el proceso de crecimiento de la raíz sigue el mismo perfil que la figura 6.2.

En la figura 7.2 mostramos una raíz en tres tiempos diferentes de crecimiento en donde comparamos la concentración de auxina y el potencial elástico. En este caso, con fines de hacer una comparación con los modelos del capítulo anterior, dejamos fija la posición del centro quiescente QC muy cerca de la punta y fijamos el máximo de auxina en el QC. Observe que la auxina se concentra en una región cercana al QC y produce un patrón a lo largo de la raíz que se asemeja a las observaciones experimentales en raíces [55] (ver figura 2.4). Note que este patrón es una propiedad que emerge del sistema debido a la acción totalmente dinámica de los PINs. Cabe recordar que en el caso de los PINs estáticos modelados por compuertas lógicas esta emergencia también ocurrió y fue debido a la redirección del flujo en la frontera S de forma obligada y a que la auxina presentaba un máximo en el QC siempre. El potencial elástico mostrado en la parte inferior de la figura 7.2 está normalizado para visualizar su efecto en todas las regiones de la raíz. Note que en la parte basal de la raíz el potencial es grande debido a que las células entraron a la zona de transición. En la parte apical, el potencial elástico también es grande, aquí debido a que las células no son uniformes y están estancadas. En la parte céntrica de la raíz, el potencial es bajo y podemos decir que las células se encuentran en la zona meristemática. Todos estos resultados recuperan lo mostrado en el capítulo 6. Un punto adicional a esto es que el potencial elástico en las células externas (células marcadas con un círculo blanco) tienen en general un potencial mayor que las células internas.

En la figura 7.3 mostramos la distribución de auxina, el potencial y el número de divisiones para una raíz de seis días de crecimiento. Estas cantidades están medidas desde la punta hasta la base de la raíz. El perfil del potencial (línea azul) muestra la división de la raíz en las tres zonas conocidas: el nicho de células troncales, la zona meristemática y la zona de transición, similar a la figura 6.3. La posición del QC (marcada con una estrella roja alrededor de los $50 \mu\text{m}$) presenta un máximo de potencial debido a que esas células están confinadas. Note que el número de divisiones para el QC se mantiene en dos. Observe que el perfil de auxina es máximo en la parte apical y mínimo en la parte basal. Esta configuración genera un gradiente de auxinas a lo largo de la raíz que es similar a lo obtenido con los modelos del capítulo anterior donde no se considero el papel de la epidermis (ver figura 6.3). Aunque el perfil del reloj del ciclo celular no está presente en la figura, cabe señalar que su distribución es muy parecida a la de la figura 6.3. Además, es importante mencionar que la implementación de un potencial diferente en las células de la epidermis y un mecanismo nuevo para el transporte activo de los PINs no altera cualitativamente los resultados del capítulo 6 y por tanto podemos seguir con la exploración de otras propiedades sin recurrir a otra validación completa usando los modelos de este capítulo.

Es importante observar que debido a la incorporación de la epidermis, el dominio ya no puede crecer a la misma velocidad con la que nuevas células aparecen. Esto desde luego hace que el tamaño de la célula más pequeña decrezca o bien que la densidad promedio no se mantenga constante. El hecho aquí es que el volumen de una célula adulta depende de la duración del cálculo numérico y decrece conforme la raíz crece. Debido a que sólo aumentamos el dominio en dirección vertical y dejamos la dimensión horizontal constante, es evidente que la simulación no representará una raíz real. Así que

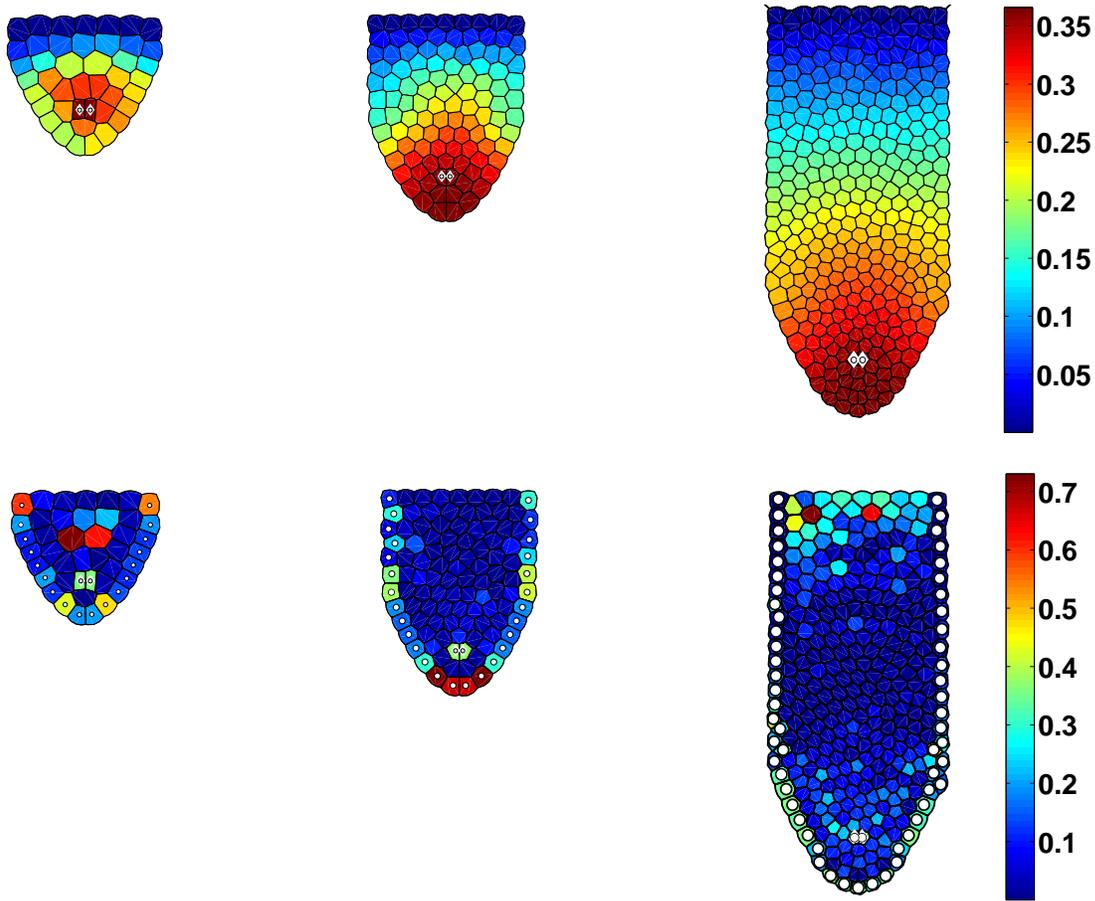


Figura 7.2: Mostramos el crecimiento de la raíz en tres tiempos diferentes. El tiempo de la raíz más pequeña corresponde a 1 día de crecimiento, la raíz siguiente a 3 días y la raíz más grande a 6 días de crecimiento. En la parte de arriba mostramos el perfil de auxinas durante el crecimiento y en la parte de abajo mostramos el potencial elástico. La posición del centro quiescente está fija y marcamos las células que lo representan con un rombo blanco. Las células externas están marcadas con círculos blancos.

para mantener una imitación de una raíz real es necesario considerar que las dimensiones se deben escalar por un factor f . Ya que con $A_0(t)$ podemos saber cuanto a disminuido el volumen de una célula adulta, es entonces viable proponer que $f = A_0(t)/[A_0(t = 0)]$ para así asegurarnos que la densidad de células se mantenga constante. El factor f se vuelve relevante en la validación numérica con los experimentos y más adelante lo usaremos.

7.2.2. El QC como propiedad emergente

Con el fin de probar que los modelos implementados en este capítulo son capaces de reproducir un comportamiento robusto en las células que imitan la posición del QC, decidimos no fijar las posición de las células que representan el QC y con ello probamos si la posición del QC emerge por la acción del potencial elástico y la concentración auxina. En la figura 7.4 mostramos los resultados de esta

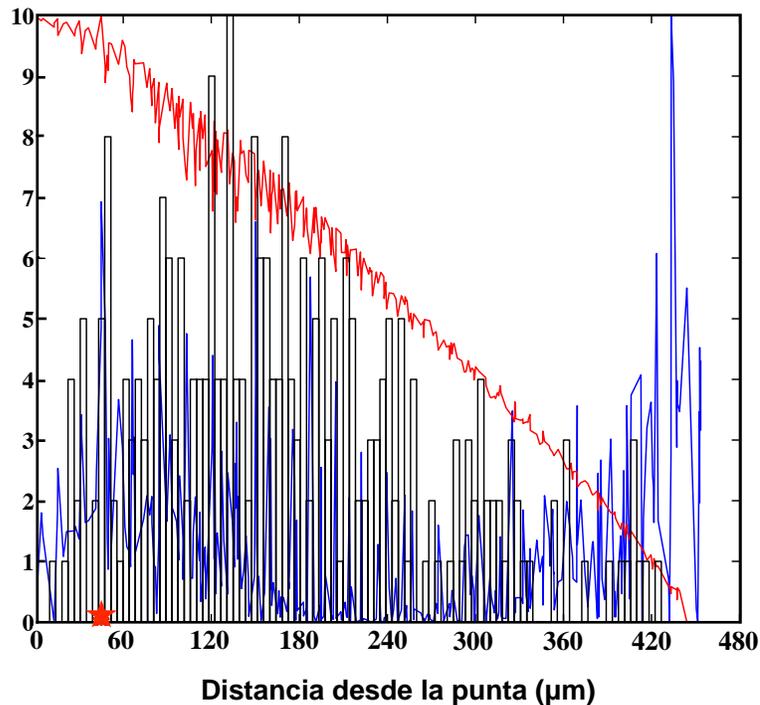


Figura 7.3: Mostramos la concentración de auxinas en color rojo, el potencial elástico en color azul y el número de divisiones en color negro para una raíz de seis días de crecimiento. El centro quiescente está fijo y lo marcamos con una estrella. Las cantidades están ordenadas como función de la distancia a la punta de la raíz.

implementación en donde observamos el crecimiento de la raíz durante seis días y sus respectivos patrones de auxina. La observación más notable, es que las células que representaban al centro quiescente se alejan de la posición original (observe los rombos en la figura 7.4) y en su lugar se posicionan un nuevo grupo de células en la parte apical de la raíz que cumplen con todas las características de una célula quiescente, es decir, presentan poca actividad mitótica y tienen un máximo de concentración de auxina.

Todas estas cualidades muestran que el QC emerge de la dinámica acoplada de los modelos como una acción propia de la permeabilidad de las proteínas PIN. En comparación, podemos observar que el perfil de auxina en la figura 7.2, donde dejamos fijo el QC, se mantiene en la figura 7.4 cuando el QC no está fijo. Estos hechos confirman que la posición del QC es una propiedad robusta que se mantiene en las simulaciones y que además es comparativo con la información experimental [50, 54, 55].

7.2.3. Transporte de auxinas y fuente inversa

En la búsqueda de nuevos vínculos entre las propiedades mecánicas y de transporte encontramos que la polarización de cada célula y su dependencia en la permeabilidad se vuelve suficiente para describir la dirección y patrón de polarización de auxina observada experimentalmente [86, 87]. En la figura 7.5 mostramos esta propiedad emergente de los modelos en la que la permeabilidad es dinámica (ver la ecuación (4.8)) y en la que se representan los estados de polarización apical y basal. Así, en la figura 7.5

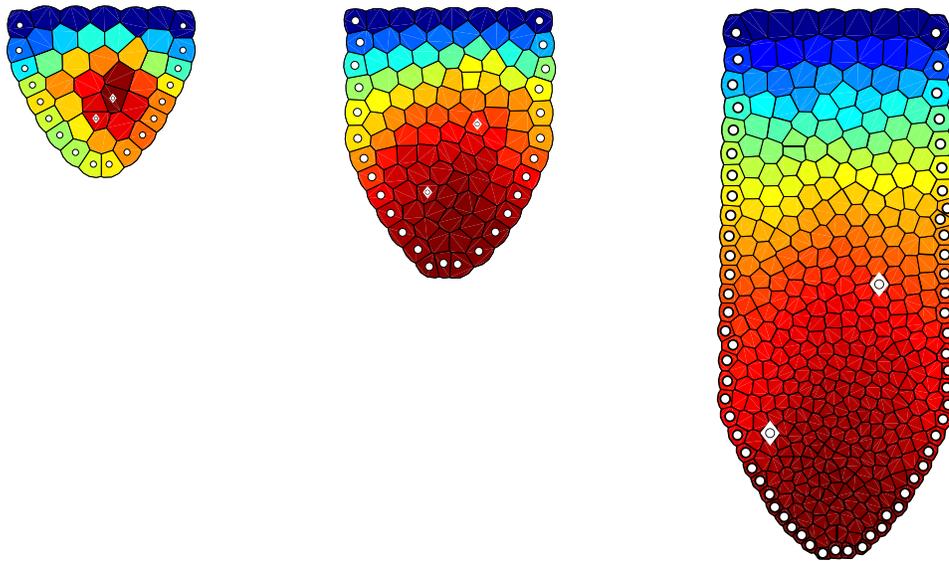


Figura 7.4: Mostramos el crecimiento de la raíz en tres tiempos diferentes. El tiempo de la raíz corresponde a 1, 3 y días de crecimiento (de izquierda a derecha, respectivamente). La escala de colores representa la concentración de auxina. El color rojo significa alta concentración de auxina y el azul poca concentración de auxina. Las células con rombos blancos representarían al QC si lo hubiéramos dejado fijo. Las células externas están marcadas con círculos blancos.

mostramos la dirección de polarización en cada célula en tres etapas de crecimiento de la raíz (las mismas que en la figura 7.4). Como describimos en la figura 4.2 hay una dirección de polarización en cada pared celular y para poder representarla dibujamos una línea entre el centro de la célula y el centro de la pared celular. Cuando la polarización entre células vecinas es en dirección basal dibujamos una línea azul, cuando la polarización es apical dibujamos una línea roja y cuando no hay polarización no dibujamos líneas. Observe que la figura 7.5 representa la simulación numérica donde el QC ya no está fijo. Note también que aunque el patrón de polarización es dinámico, las células del meristemo mantienen una polarización apical la mayor parte del tiempo, no así las células de la epidermis que cambian entre un estado apical y uno basal. La intermitencia de estos estados de la epidermis se pueden ver como la carga de un dispositivo de bombeo en el que dado un cierto tiempo el contenido sale disparado del contenedor. En este caso la polarización apical en la epidermis llena el ápice de la raíz y el estado de polarización basal de la epidermis sirve como disparador de la auxina hacia la parte basal. La conservación del estado de polarización apical de las células centrales de la raíz hace que en algunos momentos se observe un dirección de polarización que se asemeja a una fuente inversa.

Para observar de otra manera la aparición de la fuente inversa usaremos el transporte de auxina como una medida continua de los estados de polarización entre una célula y otra. Así, en la figura 7.6 representamos la dirección del flujo de auxina con una flecha simulando el campo de velocidades de la auxina. La dirección apical está marcada por una flecha roja y la dirección basal con una flecha azul. Observe que el patrón de recirculación entre la parte apical y basal en la raíz más grande de la figura 7.6

ejemplifica un flujo en forma de una fuente inversa, similar a las propuestas de la literatura [69, 86, 87]. Note también que hay una formación de vórtices en la región apical (donde hay un máximo de auxina) que favorece la circulación de la auxina en SCN y la epidermis imitando la función de las proteínas PIN 3 y 7 (ver figura 2.6). Cabe señalar que el papel dinámico de los PINs hace que el patrón de polarización se pierda por algunos instantes cuando los procesos de división ocurren. Aunque la recuperación del patrón de polarización es muy rápido, hay algunas regiones en la raíz que se desconectan y generan máximos de auxina. Esto reorganiza los ciclos de división celular y en algunos ciclos de la simulación la estructura general de la dinámicas toma el control y hace que la raíz se desarrolle de manera adecuada. Como un punto extra, note que las células cercanas a la base de la raíz en la figura 7.6 tienen una dirección de polarización apical y una concentración de auxina muy baja (compare con la figura 7.4) que produce un efecto de contención en donde las células ya no se dividen y sólo crecen.

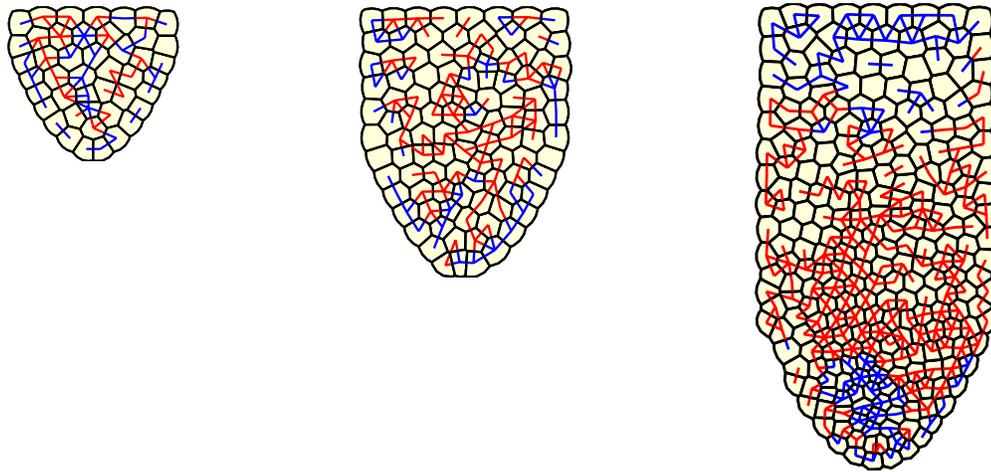


Figura 7.5: Mostramos la dirección de polarización en cada célula usando ecuación (4.8) de la permeabilidad en la que conectamos con una línea el centro de una célula con el centro de la pared celular. Mostramos el desarrollo de la raíz en tres etapas de crecimiento (los mismo que en la figura 7.4). Cuando la polarización entre células vecinas es en dirección basal dibujamos una línea azul, cuando la polarización es apical dibujamos una línea roja y cuando no hay polarización no dibujamos líneas.

7.2.4. Efectos de rigidez en las paredes de la epidermis y cambios en el ciclo celular de las células internas

Como una prueba más a los modelos planteados aquí que incluyen los efectos de la epidermis, realizamos alteraciones a la constante elástica de la epidermis K_e y a la duración del ciclo celular de las células internas β . Esto con la finalidad de medir los efectos de una pared tensora (la epidermis) en el desarrollo de la raíz y los efectos del crecimiento acelerado de las células. En la figura 7.7 mostramos una comparación numérica entre las alteraciones propuestas y la información experimental [141] usando el tamaño celular para raíces con 10 días de crecimiento cuando el QC está fijo y cuando es una propiedad emergente del sistema dinámico. La longitud de las células se calcularon con el factor de escalamiento $f = A_0(t)/[A_0(t=0)]$, que toma en cuenta la forma rectangular de las células y no la forma poligonal dada por los diagramas de Voronoi, además de los efectos de elongación en la dirección longitudinal.

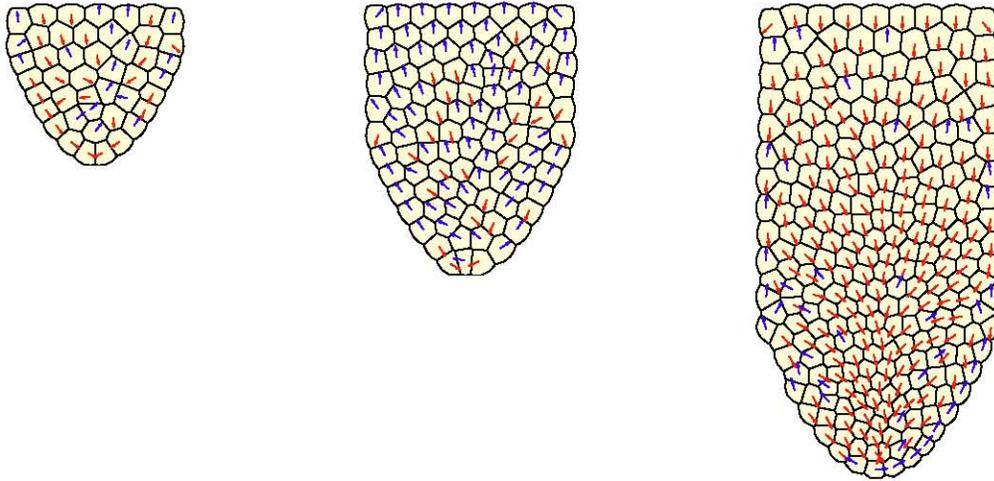


Figura 7.6: Mostramos la circulación de la auxina usando la ecuación (4.6) de transporte en tres etapas de crecimiento de la raíz (los mismo que en la figura 7.4). La dirección apical está marcada por una flecha roja y la dirección basal con una flecha azul. El tamaño de las flechas la fijamos al tamaño de la célula para visualizar sólo las direcciones del transporte, ya que en promedio la magnitud del transporte de auxina entre células es muy pequeño. Observe que se forma un patrón de fuente inversa en la raíz (con mejor definición en la raíz grande) en el que la auxina se transporta basalmente por la epidermis y regresa apicalmente por las células centrales.

En este sentido, calculamos la longitud promedio de la células usando el área de la celda de Voronoi con su respectivo factor de escala y la comparamos con el área de un rectángulo con longitud L y ancho $d \approx 8\mu m$. Esto último basados en que el ancho de una célula, como lo muestra la micrografía de la figura 2.1 y que es de aproximadamente ese tamaño.

Como hemos visto, tanto el potencial elástico como el período del ciclo celular son importantes para la dinámica de crecimiento y los patrones celulares en el RAM. Así que si las paredes de la epidermis se vuelven más rígidas (K_e grandes), la figura 7.7 muestra que el crecimiento de la raíz se reduce pues hay más tensión que vencer. En contraste, si las paredes de la epidermis son menos rígidas (K_e pequeñas), el crecimiento de la raíz aumenta, pues hay menos tensión que vencer y la división celular es favorecida. Por otro lado, las alteraciones en el período del ciclo celular hacen que cuando β se incrementa el tamaño de la raíz aumente y cuando β disminuye la raíz no crece lo suficiente.

Como se observa en la figura 7.7 los efectos antes mencionados son independientes del la posición del QC. Sin embargo, la longitud de las células a lo largo de la raíz sufren diferentes alteraciones con respecto a los resultados experimentales (línea roja). Note que cuando el centro quiescente no está fijo los datos de la simulación tienen una mejor correlación con los datos experimentales que aquellos donde el QC está fijo. Observe que la alteración del ciclo celular (figuras interiores en las figura 7.7) cambia la correlación con los datos experimentales debido a que los tiempos de recuperación o acoplamiento de las dinámicas se comprometen y la intervención del potencial elástico sobre la dinámica de las auxinas ocurren más lento o más rápido según sea el caso. Esto desde luego hace que la estructura tensora de la epidermis en algunos casos sobre-actúe (cuando $\beta=7$) y en otros ni si quiera se sienta su presencia

($\beta=22$). Es interesante notar que el ajuste del crecimiento celular con los parámetros $K_e = 120$ y $\beta = 7$ hacen crecer una raíz a $\approx 250\mu\text{m}$. Si se cambia $\beta = 15$ entonces la raíz crece entre 600 y $700\mu\text{m}$ y si $\beta = 22$ entonces tenemos una raíz de ~ 1 mm.

7.2.5. Discusión y predicciones

Los modelos propuestos en este capítulo sugieren que la información posicional para las células del RAM parece provenir no sólo de las variaciones en el potencial elástico en dirección longitudinal sino también en dirección radial. Esto último debido a que la información elástica de las paredes de la epidermis generan respuestas mecánicas diferentes al interior de la raíz y permiten extender o disminuir la división celular en forma local. Desde luego que esta propuesta en los modelos tiene una retroalimentación dinámica diferente los modelos del capítulo 6, ya que el vínculo entre el potencial elástico y los transportadores PINs es necesario para regular el proceso de proliferación celular al interior de la raíz. Mientras que en los modelos del capítulo anterior la proliferación se debe a la retroalimentación de la auxina y el potencial, ya que los PINs están fijos. Es importante señalar que la acción dinámica de los PINs junto con el campo elástico de la frontera son necesarios para mostrar que la posición del QC es una propiedad emergente y robusta que se encuentra en cualquier raíz (ver figura 7.4).

Las observaciones en la longitud celular al cambiar la constante elástica de la epidermis (ver figura 7.7) sugieren que los campos físicos de tensión son necesarios y suficientes para cambiar las propiedades de proliferación celular y los patrones de auxina [71]. La relación entre el potencial elástico y los patrones de auxina generados por los PINs sugiere que la fuente inversa es una propiedad dinámica del sistema y por ello lo observado en la figura 7.6 difiere de lo propuesto en la literatura [69, 86, 87]. Las posibles causas en esta dinámica es que hemos reducido la acción completa de las proteínas PIN a sólo dos estados de polarización y con ello hemos perdido información importante. No obstante, este hecho nos permite pensar en una extensión del modelo de permeabilidad dinámica de los PINs en el cual posiblemente las redes de regulación genética puedan interactuar con los procesos simulados de una manera más explícita.

Algunos datos experimentales [96] sugieren que un incremento en la tensión mecánica incentiva la acumulación de proteínas PIN en la membrana plasmática. En nuestros modelos, las simulaciones muestran que esta condición se cumple ya que las proteínas PIN se acumulan en áreas en donde el potencial elástico es grande y promueven que la auxina se acumule ahí (ver figuras 7.2 y 7.4). Esto es importante porque los procesos morfogénéticos se ajustan a las respuestas del crecimiento y con ello la forma general de los organismos no se altera considerablemente.

7.3. Conclusiones

Como conclusión de este capítulo podemos decir que el modelo con epidermis sugiere que los patrones morfogénéticos y las formas del organismo durante el desarrollo son propiedades emergentes y robustas que surgen de interacciones complejas entre la proliferación celular y los campos físico-químicos macroscópicos. Desde luego que el enfoque propuesto aquí sugiere la vinculación entre estos agentes debe de ser sistemático y validado con el fin de entender completamente como emergen las formas y los patrones en un organismo.

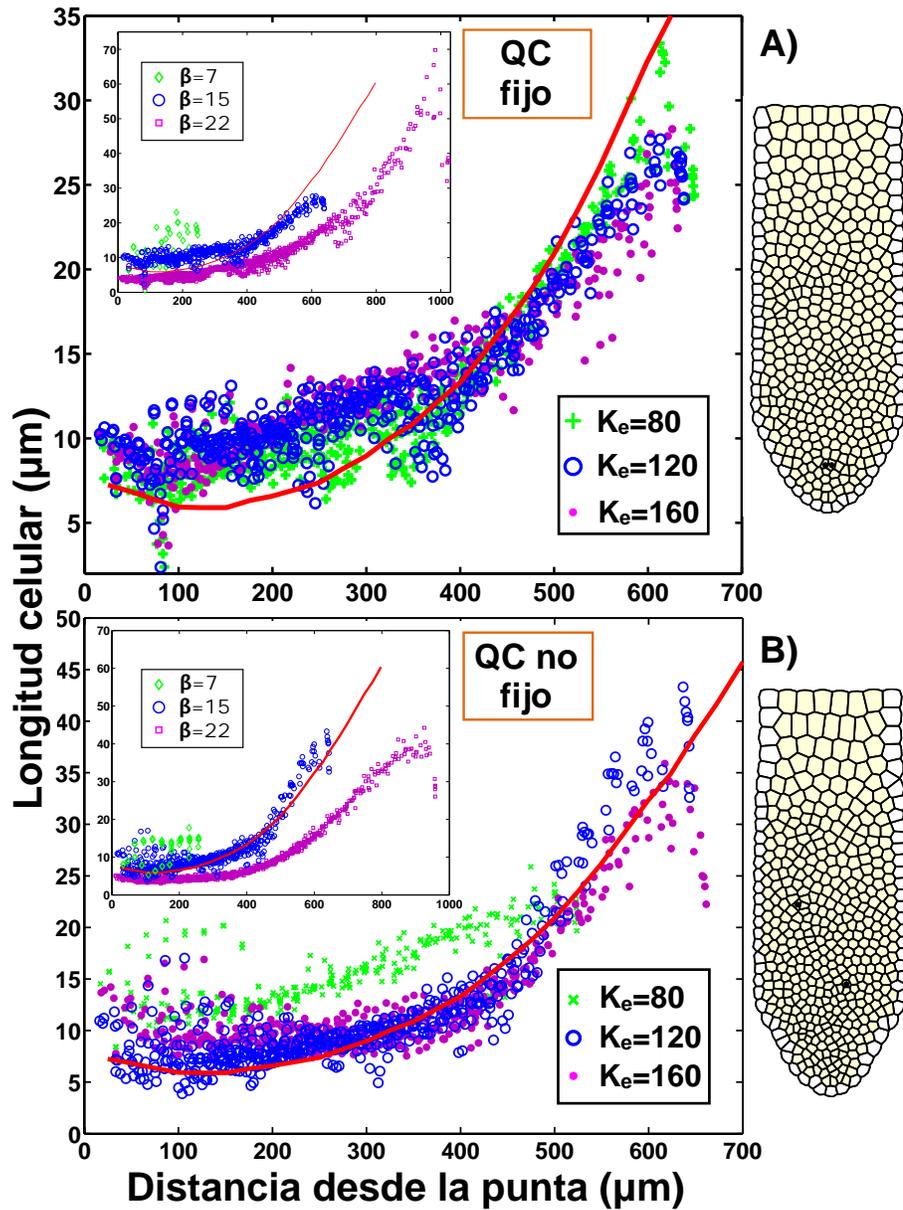


Figura 7.7: Mostramos la longitud celular a lo largo de la raíz como función de la constante elástica K_e de la pared de la epidermis cuando $\beta = 15$. También mostramos en las figuras interiores la longitud celular como función del ciclo celular cuando el valor de la constante elástica de la pared es $K_e = 120$. Repetimos los cálculos para dos casos, el primero y que corresponde a la figuras del panel A) cuando el centro quiescente (QC) está fijo (en una posición y con un máximo de auxina todo el tiempo); y el segundo caso que corresponde al panel B) cuando la dinámica del modelo permite que el QC emerja, esto es cuando el QC no está fijo. La línea continua roja en las figuras corresponde a los datos experimentales tomados por Beemster y Baskin [141]. Las imágenes a la derecha de los paneles corresponden a nuestra raíz de referencia representada por los círculos azules en las figuras donde $\beta = 15$ y $K_e = 120$ a los 10 días de crecimiento.

Discusión general y conclusiones

8.1. Comparación de modelos

Los modelos presentados hasta aquí sugieren que el origen de la variación de los patrones morfogénicos y la forma de los órganos depende en gran medida de las interacciones retroalimentadas de la proliferación celular y los campos físico-químicos de esfuerzo y auxina. Los aspectos más significativos de la auto-organización, como la robustez de los patrones celulares y el desarrollo de la raíz de *Arabidopsis*, se recuperan en nuestra simulación y además los datos obtenidos muestran un acuerdo con el experimento, cuando se analiza el tamaño celular como función de la distancia (ver figuras 6.7 y 7.7) y las tasa de reproducción (ver figuras 6.5 y 6.6). En la tabla 8.1 presentamos una síntesis de los modelos y las mediciones experimentales que recuperan.

Dado que este tipo de dinámicas acopladas dan una explicación al surgimiento de varios dominios en la raíz [33, 34], entonces podemos decir que el modelo con epidermis está preparado para interpretar el comportamiento de las células como el alargamiento, el surgimiento de un nicho de células troncales y el centro quiescente como una característica general de los meristemas de las plantas y tal vez de algunos animales. Por ejemplo se sabe que algunos procesos reversibles en la diferenciación celular pueden ser estudiados con un mecanismo similar al de nuestro modelo para mantener la homeóstasis del nicho de células troncales en las plantas y los animales [151]. De hecho, algunos estudios en criptas de colon de ratón revelan que el comportamiento del nicho de células troncales es similar al comportamiento del nicho de células troncales en las plantas [34, 151, 152, 153], por lo que potencialmente nuestro modelo puede retarse de forma inmediata en estos otros modelos [153].

Como vimos en el capítulo 5, el ciclo celular se redujo en dos componentes básicos de una intrincada red compleja de interacciones [109], ya que uno de nuestros propósitos era mantener las oscilaciones representativas con las ciclinas CYCB y CYCD que dan origen al tránsito de una célula por las diferentes fases del ciclo celular. Por otro lado, tomar como factor principal de regulación a la auxina hace que los detalles de los procesos de regulación conocidos se pierdan, tal es el caso de las citoquininas que hemos dejado fuera y que se encargan de regular la síntesis del ADN en la fase S del ciclo celular [109, 111]. Aunque este y otros factores no afectan directamente los resultados globales de nuestros modelos, es considerable tomar este tipo de detalles cuando se agregue una red de regulación genética que permeee todo el RAM. En la sección 8.5.1 mostraremos una posible implementación de una red de regulación en nuestros modelos actuales con el fin de caracterizar el surgimiento de patrones en raíces mutantes [154, 155] y probar que el acoplamiento dinámico del modelo conserva un carácter robusto.

Debido a que los modelos proporcionan una herramienta formal para explorar los rasgos de la proliferación celular como propiedades emergentes de una dinámica no-lineal genérica entre campos físicos y químicos, podemos entonces usarlos para explorar las condiciones de desarrollo al incorporar diferentes campos elásticos o bien diferentes formas de la raíz y observar si la localización de los transportadores de auxina (PINs) y la acumulación de auxina resultante se asemejan a los resultados experimentales o si son suficientes para predecir cambios estructurales en la raíz. Un ejemplo similar a esto lo realizamos con los modelos que no incluyen el efecto de la epidermis (el capítulo 6), donde alteramos el transporte

de auxina con el parámetro α y observamos que el crecimiento de la raíz depende de una ley de potencias en la concentración de auxina transportada y el cual podemos ver en la figura 6.9. Cabe señalar que la comprobación experimental de este hecho está siendo evaluada por nuestro grupo de trabajo [20]. Para explorar el comportamiento general de los modelos hemos preparado una raíz doblada con epidermis para simular los efectos del campo elástico y los PINs. Esto lo describiremos en la sección siguiente.

Campo elástico	Transporte de auxinas	Permeabilidad	Recupera:
<p>Modelo de células internas</p> <p>Ecuación (3.8)</p>	<p>Hidrodinámico sin difusión</p> <p>Ecuación (4.6)</p>	<p>Compuertas lógicas</p> <p>Ecuación (4.7)</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Longitud celular · Tamaños celulares · Distribución de auxinas · Tamaño del meristemo · Tasas de reproducción
<p>Modelo de células internas y externas</p> <p>Ecuaciones (3.8) y (3.9)</p>	<p>Hidrodinámico completo</p> <p>Ecuación (4.6)</p>	<p>PINs dinámicos</p> <p>Ecuación (4.8)</p>	<ul style="list-style-type: none"> · Longitud celular · Tamaños celulares · Distribución de auxinas · Tamaño del meristemo · Polaridad de los PINs · Formación del QC · Formación del SCN · Flujo de auxinas y fuente inversa · Distribución de auxinas en una raíz curva

Tabla 8.1: Mostramos el uso de los modelos con sus premisas y sus resultados más relevantes.

Como mencionamos al final del capítulo 7, la relación entre el potencial elástico y los patrones de auxina generados por los PINs sugieren que la fuente inversa es una propiedad dinámica del sistema que difiere de lo propuesto en la literatura [69, 86, 87]. Esto debido a la simplicidad que hemos manejado para los estados de polarización apical y basal de las proteínas PIN. No obstante, podemos decir que la implementación dinámica de los PINs ayuda bastante para recuperar otras propiedades en la raíz, como por ejemplo la formación del nicho de células troncales y el propio QC. En este sentido, la permeabilidad de la membrana plasmática dada por una acción retroalimentada con el potencial elástico es mucho mejor (ver figura 6.2) que plantear una función fija de los PINs como compuertas lógicas que modelan la permeabilidad de la membrana (ver figura 7.2).

Aunque los efectos mecánicos en la polarización de las proteínas PIN se han caracterizado por una red de interacciones bioquímicas [88, 156, 157, 158] (ver **apéndice A**) donde los estados de polarización apical o basal depende del estado instantáneo de las tasas de endocitación y exocitación, es importante señalar que los efectos de localización de los PINs son sumamente sensibles a estas tasas [159, 160] y que nuestro modelo no puede implementar de manera inmediata, ya que requiere de más información que el estado mecánico de la célula y su concentración de auxina. Por ello, la extensión del modelo con

redes de regulación genética es un paso inmediato a seguir. Desde luego que esta extensión del modelo también debe considerar que las proteínas PIN tienen un ciclo de expresión y degradación que puede ser importante para el flujo de auxinas. A pesar de estas consideraciones, es importante señalar que la implementación dinámica de los PINs es un gran avance para entender la formación de la fuente inversa, ya que ninguno de los modelos planteados en la literatura que usan transporte de auxina es capaz de reproducirla como una propiedad emergente [86].

Como hemos visto, las raíces simuladas generan un patrón auto-organizado para la acción de las proteínas PIN al tomar en cuenta la topología celular y del RAM. Desde luego que esta acción promueve a su vez estructuras morfogenéticas con un carácter robusto que se pueden usar como una herramienta mecánica importante para obtener información durante los procesos de desarrollo. Sin embargo, hemos pasado de manera un poco desapercibida algunas propiedades elásticas de las paredes celulares que podrían ayudar a que nuestros modelos tuvieran un comportamiento mucho más robusto. Como mencionamos en el capítulo 2, supusimos que el comportamiento elástico de la pared celular se debía sólo a la interacción de la presión de turgencia interna de la célula y la tensión ejercida por la células vecinas. No obstante, se sabe que las variables físicas en las paredes de la célula pueden cambiar por algunos procesos biológicos como la secreción de péptidos y acumulación de microfibras de celulosa que generan microtúbulos y que modifican la elasticidad de la pared. Sin embargo, basados en la evidencia experimental [114], consideramos que la acumulación de microfibras permanece constante y que las propiedades elásticas de las paredes sólo modifican la presión de turgor. Desde luego, este hecho sostiene nuestra hipótesis inicial en la que la pared celular es una superficie difusiva. Por otra parte, podemos decir que la orientación de los microtúbulos y la polaridad de algunas proteínas PIN en la membrana celular también se mantienen constantes ya que la cantidad de microfibras de celulosa y la presión de turgor se encuentra en equilibrio [58, 95]. Esta comparación nos permite estudiar las propiedades elásticas de las paredes celulares asumiendo que todo ocurre en la frontera mediante una celda de Voronoi. Como es de esperar, en esta suposición consideramos que la escala temporal en la que ocurre la orientación de los microtúbulos es mucho más rápida que la escala de relajación del potencial elástico [58]. En términos generales, la simplificación de la orientación de los microtúbulos en un esfuerzo elástico, dado en la celda de Voronoi por el potencial elástico, se compensa con la propiedad difusiva de la pared para lograr que cualquier célula en la raíz aumente de tamaño.

8.2. Flujo de auxinas en una raíz curva

La construcción de nuestros modelos establece una correlación entre los estados de esfuerzo y la concentración de auxina de una forma más intuitiva que en otros modelos [86], pues mientras más esfuerzo o presión de turgencia hay en la raíz, ésta se desarrolla menos (ver figura 7.2) o bien entre más lento es el transporte de auxina mayor es el crecimiento de la raíz (ver figura 6.2). Si bien, estos resultados se presentaron hasta ahora en una raíz recta, la estructura del modelo nos permite explorar más formas de la raíz [161].

A manera de exploración, simulamos una raíz doblada usando una forma de U invertida tratando de imitar una raíz real como la de la figura 2.5. Tomamos en cuenta que la información experimental que se tiene al respecto de una raíz así indica que el gradiente de auxina se modifica cuando la forma de la raíz cambia [84, 92, 122] y que las proteínas PIN sufren una nueva localización alrededor de los dobleces de la raíz [84, 92]. Así, decidimos observar la forma en que aparecen los patrones debidos a la concentración de auxina al dejar relajar el potencial elástico para un conjunto de células que no

se reproducen y que tienen como condiciones iniciales su posición y concentración en forma aleatoria dentro del dominio alterado en forma de U. Con la finalidad de acelerar el proceso del transporte y que la parte activa de los PINs no nos deje células con concentraciones negativas de auxina, aumentamos el parámetro difusivo, en estos casos $D_0 = 10$. Para generar una visión extendida del efecto alterado de la raíz y la aparición de patrones de concentración de auxina decidimos colocar el doblez en forma de U a diferentes distancias del ápice para varias raíces [161].

De esta forma, en la figura 8.1A mostramos los patrones de auxina para tres raíces. Observe que la distancia del doblez al ápice es diferente y que el patrón de auxinas presenta un máximo en las zonas de mayor curvatura de la raíz en todos los casos. Este hecho, nos permite asimilar los efectos que hay reportados en la literatura [84, 92] sobre la inducción mecánica en el transporte de auxina y decir que nuestros modelos están encaminados para entender de forma más puntual cada uno de estos efectos. De hecho, podemos decir que los cambios en la geometría local interrumpen el gradiente de auxina y eso genera la acumulación. Para ejemplificar esto último, en la figura 8.1B mostramos los estados de polarización para las tres raíces y observamos que se generan vórtices en la parte del doblez en U como los que se forman en la parte apical de la raíz. Si regresamos a los resultados de las figuras 7.5 y 7.6 veremos que esos vórtices del flujo genera estados de polarización encontrados en el ápice de la raíz. Esto último, como vimos permite que QC emerja ya que se genera un pico de concentración auxinas en ese lugar. Extendiendo estas ideas, podemos notar que en la parte del doblez en U ocurre algo similar y por ello hay una acumulación de auxina [161]. Estos resultados son consistentes con la literatura, pues se sabe que cuando la raíz sufre un doblez hay acumulación de auxina que puede dar origen a una raíz lateral y a un nuevo nicho de células troncales [84, 92, 122, 133].

Aunque nos hemos concentrado sólo en los patrones de auxina, ahora podemos probar los efectos de proliferación celular. Con el fin de explorar esto último, decidimos incorporar la proliferación celular en el dominio con el doblez y mostrar sus efectos. En la figura 8.2 mostramos como es alterado el patrón de auxina y la polarización dos horas después de que hubo división celular. La figura 8.2A representa la raíz sin reproducción y la figura 8.2B los efectos de la reproducción dos horas después de que tuvieron efecto. Observe que el patrón de auxina es alterado como era de esperarse. Note que en la zona apical la concentración de auxina alrededor del QC sufre un disminución, debido a la demanda de auxina para crecer, mientras que en la zona del doblez esta demanda no es tan fuerte y las células mantienen casi el mismo patrón de auxina. Estos hechos se vuelve relevantes ya que promueven una nueva hipótesis que se puede comprobar experimentalmente. Como punto final de esta sección, notamos que el transporte activo de auxinas o la permeabilidad de las paredes celulares podría verse afectada por la perturbación del doblez. Aunque en los resultados sobre los estados de polarización en las figuras 8.1 y 8.2 muestran que este hecho no les afecta, aun queda por verificar si experimentalmente ocurre.

El modelo multiescala que hemos propuesto permite la exploración de algunos procesos biológicos bajo ciertas premisas para saber con ello su modo de operación. Sin embargo, hay ciertas funciones que hemos dejado atrás que pueden ser de importancia para el desarrollo de la raíz. Una de ellas es saber cómo es que ocurren los procesos de diferenciación y la otra es saber cómo es que la raíz obtiene su forma tan particular. Para tratar de responder estas dos preguntas recurriremos a una herramienta física como el campo-fase para que nos ayude a tratar los procesos que ocurren en la frontera como los cambios infinitesimales de un parámetro de orden que depende del espacio y de algunas variables que modifican la curvatura. En las siguiente dos secciones abordaremos estos temas con el propósito de implementar una plataforma que nos ayude a incorporar la forma del dominio y la acción genética.

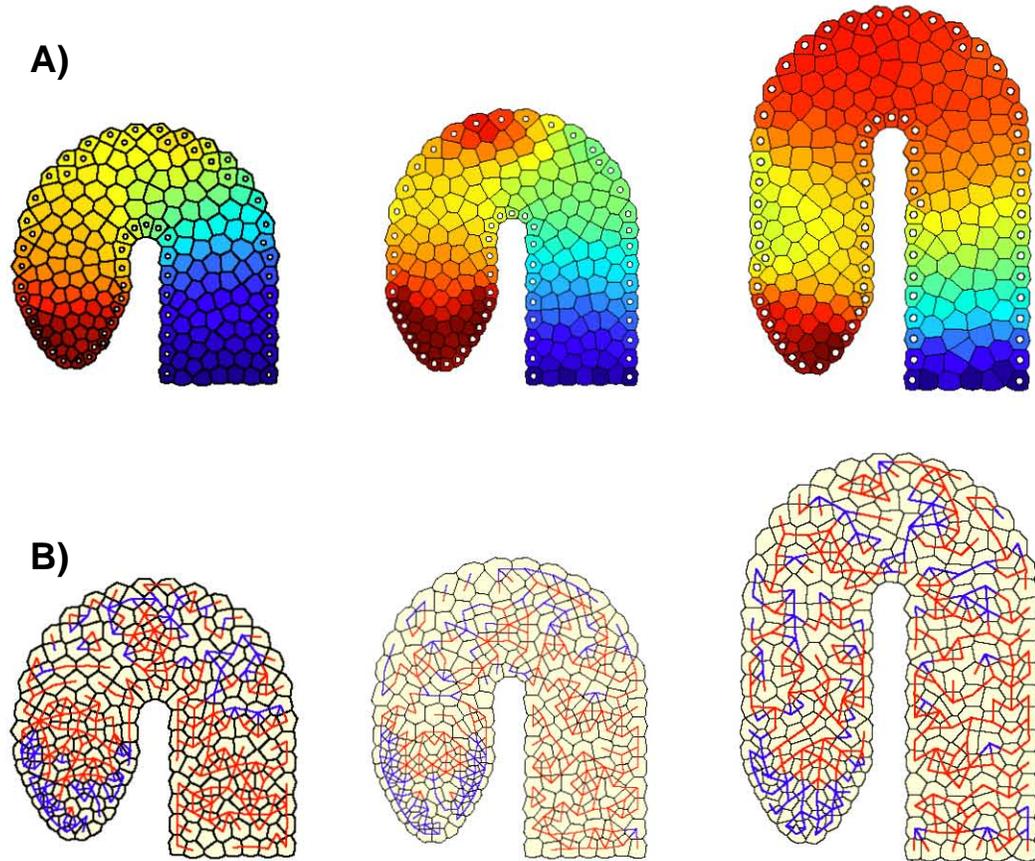


Figura 8.1: Mostramos tres raíces con un doblez en forma de U a diferentes distancias del ápice. De izquierda a derecha la distancia del doblez al ápice se incrementa. A) Se presentan los patrones generados de auxina tras la relajación del potencial elástico y se ha inhibido la proliferación celular. Observe que la mayor parte de la auxina se localiza en las zonas con doblez, es decir, en el ápice y en la forma de U en todos los casos. La escala de color indica mayor concentración de auxina en color rojo y menor concentración de auxina en color azul. Las células externas están marcadas con puntos blancos. B) Mostramos los estados de polarización de los PINs como en la figura 7.5 para las tres raíces. Cuando la polarización entre células vecinas es en dirección basal dibujamos una línea azul, cuando la polarización es apical dibujamos una línea roja y cuando no hay polarización no dibujamos líneas. Observe que la polarización en la parte apical de la raíz es similar a la figura 7.5, mientras que en la parte del doblez en U los PINs generan estados encontrados de polarización debidos a los vórtices del flujo. Esto último tienen como consecuencia la acumulación de la auxina en esa zona.

8.3. Tamaño del dominio

Recordemos que cuando hay reproducción celular, es decir, cuando el número de puntos en el dominio aumenta, propusimos que la parábola del dominio no cambiará y que sólo la base del rectángulo fuera función del área promedio necesaria para que los nuevos puntos o celdas adquieran el mismo tamaño que las demás. De esta forma, la reproducción se modeló aumentando el número de puntos en el dominio y la cantidad de puntos en el rectángulo de la frontera. Aunque esta premisa garantiza que

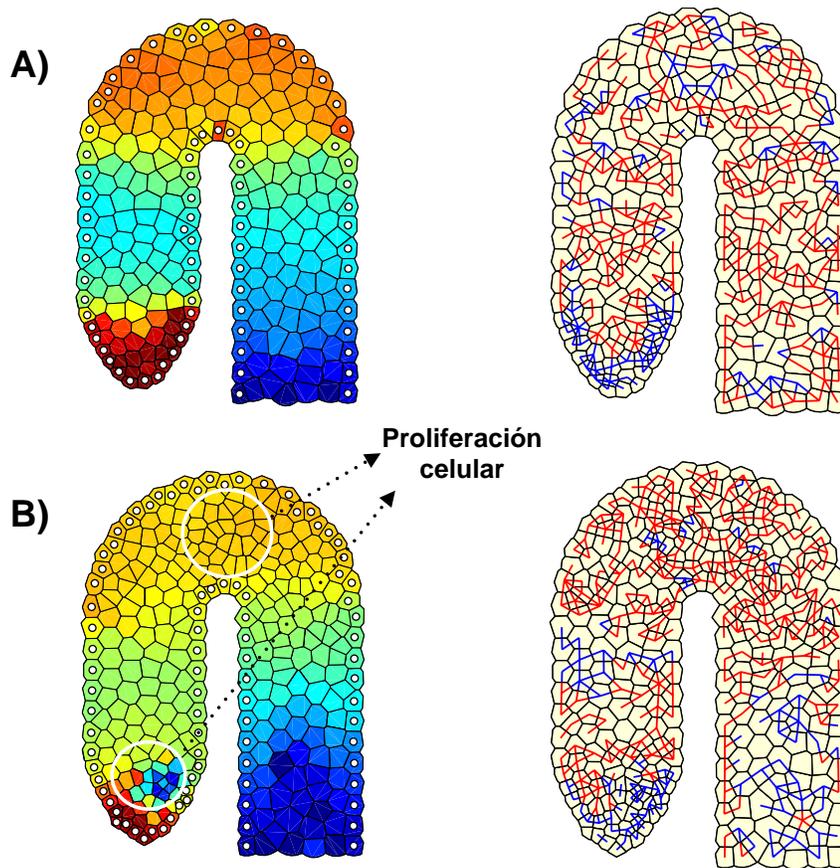


Figura 8.2: Mostramos una raíz con un doblez en forma de U en dos etapas: A) Cuando el potencial de la raíz se ha relajado y forma un patrón de auxinas en el cual no ha ocurrido ningún proceso de división celular y B) El patrón de auxinas dos horas después de que ocurrió el primer proceso de división celular. Note que los procesos de división celular se dan en los lugares de mucha auxina, es decir el ápice y la forma U de la raíz (marcados con un círculo blanco). La escala de color indica mayor concentración de auxina en color rojo y menor concentración de auxina en color azul. Las células externas están marcadas con puntos blancos. Las figuras a la derecha representan los estados de polarización que hemos pintado como en la figura 8.1.

el área promedio de las células sea la misma después de cada reproducción. Nosotros observamos que hay cambios abruptos en el dominio cada vez que una célula se reproduce y algunas veces nuestra simulación numérica falla. Por ello, en esta sección abordaremos la forma en que obtenemos el tamaño del dominio usando un campo-fase y aprovecharemos esta información para presentar un modelo general sobre el crecimiento de un dominio usando el campo-fase y el tensor de esfuerzos.

8.3.1. Campo-fase y celdas Helen-Shaw

La motivación de usar el modelo de campo-fase es para generar otro vínculo entre procesos físicos y biológicos usando la relación entre la energía elástica de doblamiento dada por el campo-fase (que hemos descrito de manera detallada en el **apéndice C**) y el potencial elástico propuesto para las

células. Hacer esto tiene como la finalidad de agregar más información a las dinámicas ya propuestas. De este modo, el campo-fase que usaremos nos permitirá describir los procesos más importantes de un sistema vivo mediante una pequeña interfase difusiva que interacciona con dos estados de un sistema biológico bajo el uso de una cantidad numérica que se conserva llamada parámetro de orden. El uso de este parámetro nos permite escribir los cambios en una frontera de forma dinámica por medio de ecuaciones diferenciales donde se imitan las interacciones del sistema biológico mediante agentes químicos o físicos que pueden cambiar la interfase (ver **apéndice C**).

Crecimiento del dominio

Si consideramos que el parámetro de orden para el crecimiento del dominio imita el crecimiento de la raíz como un flujo viscoso producido como en las celdas de Helen-Shaw [162], entonces podemos suponer que el parámetro $\tilde{\phi}$ se describe como:

$$\tilde{\phi}(x, y) = \begin{cases} 1 & y > y_m \\ -1 - \tilde{\alpha}(y - y_m) & \text{si } y_m - l < y \leq y_m \\ -1 + \tilde{\alpha}l & y \leq y_m - l, \end{cases} \quad (8.1)$$

donde y_m representa el punto donde hay un cambio de fase, l es la distancia que hay entre fases y $\tilde{\alpha}$ representa la velocidad de crecimiento de la segunda fase. En este caso las fases representan las células dentro y fuera del dominio. Siguiendo la idea original de este modelo [162], se propone que existe un valor fijo $\tilde{\phi}_f = -1 + \tilde{\alpha}l$ detrás de toda la interfase hasta el valor l durante la evolución temporal. El perfil de este parámetro se puede observar en la figura 8.3A. El campo-fase que describe al sistema completo se escribe usando la ecuación (C.8) como:

$$\frac{\partial \tilde{\phi}}{\partial t} = \nabla \cdot [M_0 \nabla (-\tilde{\phi} + \tilde{\phi}^3 - \tilde{\epsilon}^2 \nabla^2 \tilde{\phi})], \quad (8.2)$$

donde $\tilde{\epsilon}$ representa la interfase difusiva y M_0 es la función escalón de la forma:

$$M_0 = \begin{cases} 1 & \tilde{\phi} < 0 \\ \text{si} & \\ 0 & \tilde{\phi} \geq 0. \end{cases} \quad (8.3)$$

Debido a que l sólo representa que tanta materia se queda en la interfase, se propone $l = 2$ al inicio de la simulación y después como una función de la longitud de la raíz en el eje vertical. En cuanto al parámetro que mide la velocidad con la que crece el medio, proponemos que sea una función de las células que se reproducen. De esta forma entre más células hay, mayor debe ser la velocidad con la que el dominio aumente. Observe que la curvatura de la punta crece mucho más que las paredes verticales y por ello es necesario cuantificar el crecimiento desde un marco de referencia. En este caso elegimos la base de la raíz como referencia y cuantificamos el crecimiento para mantener el tamaño de las células adultas A_0 constante.

Para obtener el tamaño adecuado de la raíz usamos la tasa de reproducción celular r como variable biológica [141, 163, 164]. De esta forma, cuando una célula se reproduce y divide su material, podemos pensar que la longitud celular crece exponencialmente, es decir, $L_1 = L_0 e^{rt}$ [164]. Por tanto, podemos

decir que la velocidad de crecimiento se comporta como $\tilde{\alpha} = \ln(2)/r$ para que el dominio aumente su tamaño por cada célula dividida y con ello las células divididas alcancen su tamaño adulto. Ya que la tasa de reproducción se puede medir a partir del reloj interno de cada célula usando el período de las ciclinas, entonces podemos escribir $\tilde{\alpha} = \ln(2)/\gamma$. En las figuras 8.3B y 8.3C mostramos como es el dominio al inicio de una simulación de raíz cuando sólo hay ocho células iniciales y después de haber transcurrido seis días de crecimiento. El modelo de campo elástico es el que siguen las células internas y está dado por la ecuación (3.8).

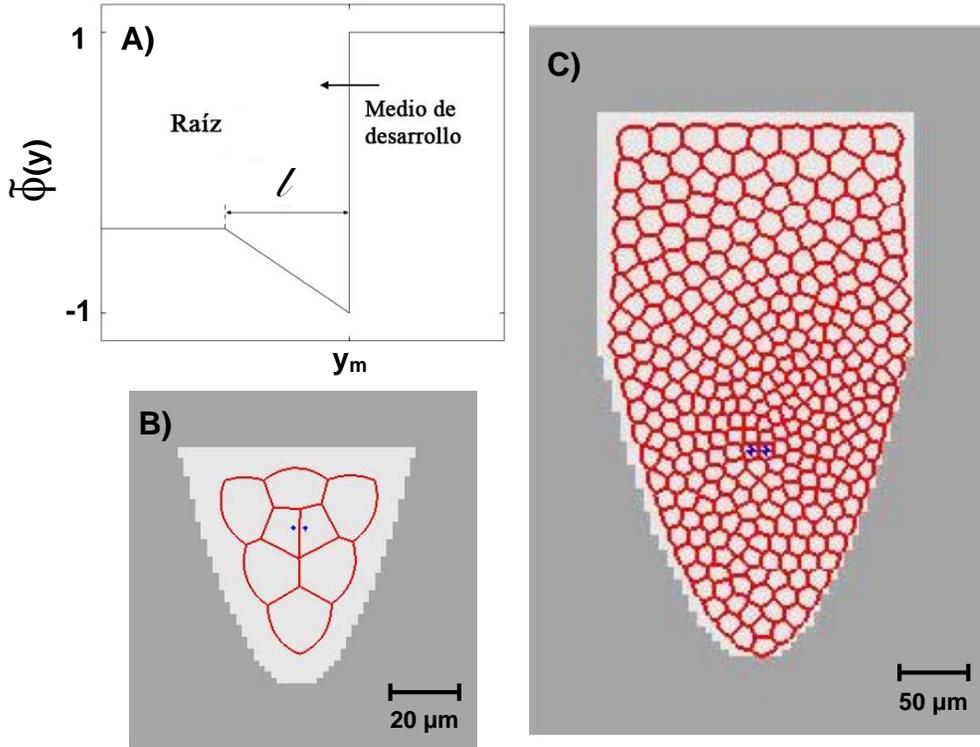


Figura 8.3: A) Perfil del parámetro $\tilde{\phi}$ que sirve para diferenciar la parte exterior y el medio donde se desarrolla la raíz, además de ayudar a crecer el dominio donde se encuentran las células. Figura tomada de [162]. B) Condición inicial del campo $\tilde{\phi}$ con ocho células iniciales. En color blanco el lugar que ocupan las células de la raíz y en color gris oscuro el medio donde se desarrollan. En color rojo los contornos de cada célula, los asteriscos representan las células quiescentes. C) La raíz después de seis días de crecimiento. El código de color es el mismo que en B). Observe que el factor de escalamiento es diferente.

8.4. Ordenamiento de las proteínas PIN y el campo-fase

Ya que las proteínas PIN se adhieren en la membrana plasmática y su localización depende de los estados de endocitación y exocitación, entonces podemos suponer que el ordenamiento de los PINs cambia de manera local la curvatura de cada membrana celular siguiendo algunos resultados de la literatura donde la adherencia de proteínas en las membranas celulares inducen cambios de curvatura [165, 166]. Desde luego que el cambio local de la curvatura debe inducir un cambio en el estado mecánico y con

8.4. Ordenamiento de las proteínas PIN y el campo-fase

ello la retroalimentación dinámica que hemos propuesto (ver última sección del **apéndice B**). Por tanto, (siguiendo las premisas del **apéndice C**) podemos proponer que existe un acoplamiento con el 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 (C.20) para que permita una polaridad 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. Pensando en una aproximación lineal para el término de curvatura espontánea C_0 como función de u , podemos escribir:

$$C_0[u] = C(1 + \beta_f u), \quad (8.4)$$

donde C es la curvatura espontánea local y β_f es un parámetro que mide la fuerza de la interacción. Para que la curvatura obtenga información espacial del sistema usamos un potencial $R(u)$ en la interfase. De esta forma, la densidad de energía que toma las constricciones de la raíz en la frontera, la conservación del campo ϕ y la formación de u queda descrita como [9]:

$$\omega = \mu^2 + R(u) (\phi^2 - 1)^2 + \frac{D_f}{2} |\nabla u|^2 + \frac{\sigma_f}{2} |\nabla \phi|^2, \quad (8.5)$$

donde R representa la energía potencial del campo u , D_f y σ_f 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 (C.19) y (C.22). Por tanto, el nuevo “potencial químico” está dado por:

$$\mu = \phi (\phi^2 - 1) - \epsilon C (\phi^2 - 1) (1 + \beta_f u) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi, \quad (8.6)$$

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

Pensando que la escala espacial donde evolucionan los campos no es constante, ya que el material de la raíz no se conserva, podemos interpretar la cinética de los campos usamos la ecuación (C.9) y por tanto la dinámica del sistema se puede calcular a partir de la variación de la energía total Ω como función de los campos ϕ y u usando la ecuación (C.28). Así obtenemos:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi}{\partial t} &= -M_\phi \frac{\delta \Omega}{\delta \phi} \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= -\frac{\delta \Omega}{\delta u}, \end{aligned} \quad (8.7)$$

donde

$$\begin{aligned} \frac{\delta \Omega}{\delta \phi} &= 2\mu [3\phi^2 - 1 - 2\epsilon C \phi (1 + \beta_f u)] \\ &\quad - \epsilon^2 \nabla^2 \mu + 4R\phi(\phi^2 - 1) - \sigma_f \nabla^2 \phi \\ \frac{\delta \Omega}{\delta u} &= \frac{\partial R}{\partial u} (\phi^2 - 1)^2 - 2\epsilon C \beta_f \mu (\phi^2 - 1) \\ &\quad - D_f \nabla^2 u, \end{aligned} \quad (8.8)$$

donde M_ϕ representa la movilidad del medio en unidades de la escala dinámica de u y $R = (u - 1)^2$ para fijar la curvatura en la frontera con un solo valor. Considerando que la movilidad es la constante de proporcionalidad entre la velocidad y un campo aplicado, entonces $M_\phi \sim v[\phi]$. Usando

las ecuaciones (C.23) y (C.24) obtenemos:

$$M_\phi \sim \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} |\nabla\phi|^2. \quad (8.9)$$

Así, el campo elástico V_i de la célula i , que tiene un valor de la fuerza ∇V_i debe ser proporcional al campo-fase cuyo gradiente $\nabla\phi_i$ define el *locus* de la pared celular de tal forma que $\nabla V_i = \nabla V[\phi_i] \sim \nabla\phi_i$. Para que todo esto tenga sentido, debemos entonces definir un campo-fase en cada pared celular y calcular el valor de u en cada una las paredes. Ya que $\phi = 0$ define la frontera, entonces podemos expresar la ecuación (8.9) como:

$$M_\phi = |\nabla V[\phi]|^2. \quad (8.10)$$

La importancia de este parámetro es porque recientemente se ha demostrado que la magnitud de la fuerza es un factor importante en la orientación de los PINs en el meristemo floral de la *Arabidopsis* [95, 116]. Así, para la simulación de la raíz agregaremos que el dominio completo de la raíz tiene el valor de $\phi = 1$ y que $\phi = -1$ representa la frontera del dominio. Usaremos que el potencial elástico de las células internas está dado por la ecuación (3.8) y el valor máximo de V representa las células de la epidermis simulando lo que observamos en el capítulo 7. Como primera aproximación podemos considerar que u se comporta como la permeabilidad dada por la ecuación (4.7), es decir como compuertas lógicas donde el flujo de auxina siempre esta cerrado para las células j y m , excepto:

- Si $u(j) > 0.5$ y $u(j) > u(m)$ con j arriba de m ,
- Si $u(j) \leq 0.5$ y $u(j) \leq u(m)$ con j arriba de m ,
- Si $u(j) \leq 0.5$ y $u(m) \leq 0.5$ con j debajo de m

En la figura 8.4A mostramos como es el campo u después de seis días de crecimiento. Cabe mencionar, que durante la evolución temporal se mantiene un perfil del campo u similar. El color rojo representa una curvatura mayor y el color azul representa una curvatura menor. En la figura 8.4B mostramos el perfil de auxinas en la raíz en el día seis de crecimiento. El perfil concuerda con los resultados experimentales [69, 97] y con los resultados de la figura 6.4. Las otras cantidades importantes, como el perfil del campo elástico y la tasa de reproducción se mantienen acorde a los resultados experimentales y los mostramos en la figura 8.5. Estos últimos resultados se caracterizan por la división de la raíz en las tres zonas conocidas, es decir, la zona meristemática que es cuando el potencial es alto y la concentración de auxinas también; el dominio de transición que es cuando el potencial es bajo y la concentración de auxinas está alrededor de 0.5 y por último, la zona de elongación que es cuando el potencial es alto y la concentración de auxinas es baja.

Si bien, estos resultados muestran detalles importantes en el desarrollo de la raíz, falta hacer una exploración de algunos parámetros como la difusión del campo u y la tensión superficial σ . Ya que ambos parámetros modulan la superficie directamente y por tanto la orientación de los PINs y toda la dinámica de reproducción celular. Aunque en este punto, estos parámetros no tienen un vínculo directo con la parte biológica, se sabe que hay expresiones genéticas dentro de las células que permiten la orientación de los PINs [55, 84, 167] y por ello consideramos que el trabajo para el futuro es ligar estas y otras variables con las redes de regulación genética y rener un modelo dinámico de las proteínas PIN más completo.

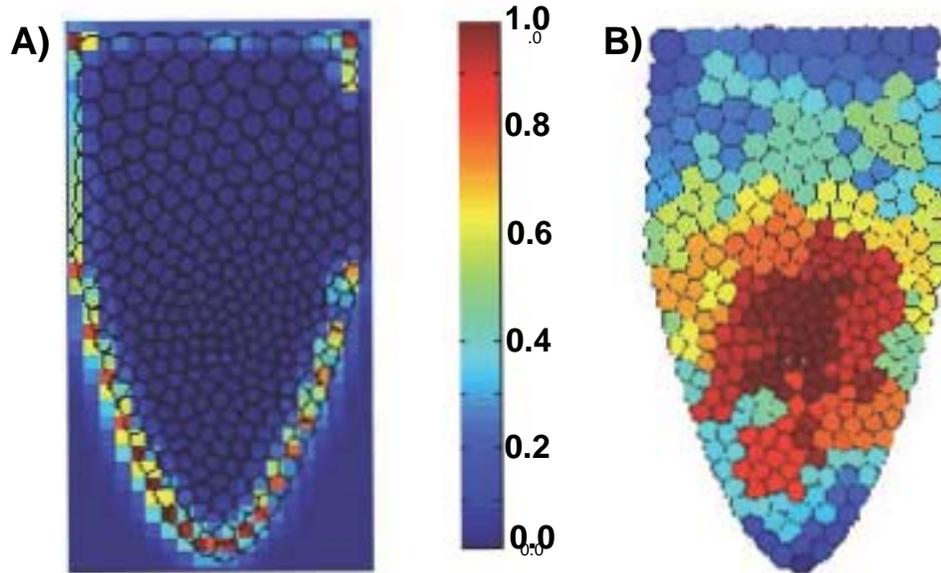


Figura 8.4: A) Perfil de campo u . La barra de color indica la cantidad de curvatura normalizada. B) Perfil de auxinas tras seis días de reproducción. La barra de color indica la concentración de auxina en una escala normalizada. Usamos $\sigma_f = 2.0$, $D_f = 1.0$, $C = 0.5$, $\beta_f = 0.3$ y $\epsilon = 0.01$.

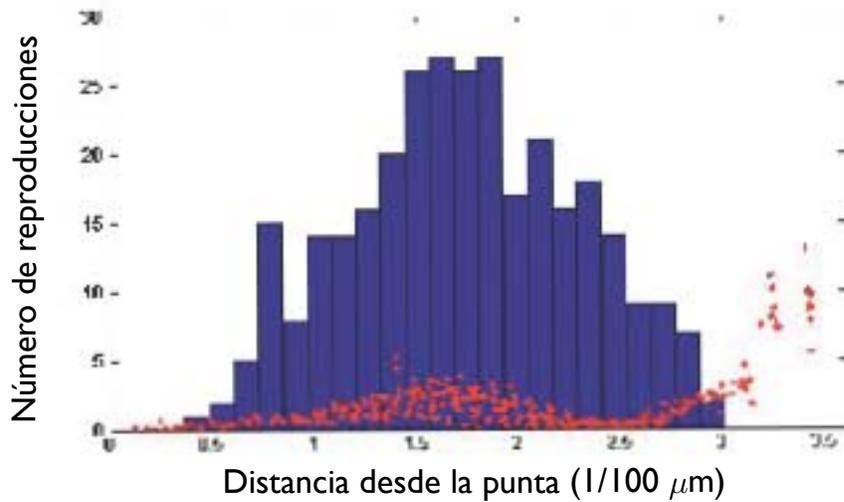


Figura 8.5: Se muestra el número de divisiones celulares a lo largo de la raíz en forma de un histograma y con punto rojos se muestra el perfil del campo elástico como función de la distancia para la raíz de la figura 8.4.

8.5. El campo-fase y el tensor de esfuerzos

A manera de describir los pasos a seguir en un futuro para este trabajo de investigación, planearemos incorporar el ordenamiento de los PINs y la forma de crecimiento de la raíz mediante el campo-fase y la estructura elástica dada por el tensor de esfuerzos. La finalidad de esto es generar, de forma más general, un ambiente mecánico para que las células obtengan información espacial que les ayude a determinar su destino. Cabe señalar que todas estas ideas se basan en el modelo ya planteado y lo único que se busca es extender su función para incorporar el papel genético, pues aunque las fuerzas físicas gobiernan gran parte del desarrollo de las plantas, la interacción genética es fundamental para determinar el destino celular. También es importante señalar que el modelo planteado en esta sección es una síntesis de los modelos planteados para la formación de meristemas que se describe en el trabajo de maestría de Lorena García Iglesias [168], quien es miembro de nuestro grupo de trabajo.

Suponiendo que la información espacial que reciben las células la obtendrán de las fuerzas mecánicas que tienen lugar en el borde de la células, entonces podemos describir el efecto de los cambios de curvatura por dobleces como una medida de información. Con la finalidad de incluir el ordenamiento de los PINs y el crecimiento del dominio, planteamos que la energía de doblamiento incluya un término de curvatura espontánea como función de un campo u . De esta forma, la densidad de energía se puede escribir como [169, 170]:

$$\Omega[\phi] = A_\phi \mu^2 + \frac{\sigma_f}{2} |\nabla \phi|^2 + \frac{D_f}{2} |\nabla u|^2 + \frac{A_s}{2} V_s + \frac{A_f}{2} V_f \quad (8.11)$$

donde μ es el potencial químico dado por la ecuación (C.26) y la curvatura espontánea es $C_0 = \beta_f u^2$ para representar con una función armónica la concentración de sustancias. $V_s = (\phi^2 - 1)^2 (u - u_{min})^2 (u - u_{max})^2$ representa las interacciones de u en la frontera, u_{min} es un valor mínimo para u y u_{max} es un valor máximo. $V_f = \phi^2 (u - u_{far})^2$ representa las interacciones de u lejos de la frontera y u_{far} es un valor determinado de ulejano a la interfase. D_f y σ_f representan la tensión superficial de los campos u y ϕ , respectivamente.

Considerando la dinámica de Cahn-Hilliard para el modelo-B [171] como en la ecuación (C.27), que es de carácter conservativo, podemos encontrar que las ecuaciones dinámicas para ϕ y u son:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi}{\partial t} &= D_\phi \nabla^2 \left(\frac{\delta \Omega[\phi]}{\delta \phi} \right) \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= D_u \nabla^2 \left(\frac{\delta \Omega[\phi]}{\delta u} \right), \end{aligned} \quad (8.12)$$

donde D_ϕ y D_u son los coeficientes de difusión de los campos ϕ y u respectivamente. Cabe señalar que los valores de u en la frontera y lejos de ella son importantes para la dinámica de u y pueden ser usados como los valores de los estados atractores de la expresión genética si pensamos que hay una correspondencia entre el espacio fase de las ecuaciones dinámicas y el espacio epigenético. Un ejemplo de esto lo hemos implementado en la dinámica de la floración de *Arabidopsis* [9].

Con el fin de ilustrar el funcionamiento del campo-fase en nuestro modelo de raíz, simularemos sólo la forma en que se puede obtener la estructura externa de la raíz en tres dimensiones. Así, escogemos $A_s = A_f = 0$ y elegimos el coeficiente de difusión para u de forma no constante en el que se incluye la

tensión como una variable que modifica el transporte, como analogía a nuestros modelos propuestos en el capítulo 7. De esta forma proponemos que:

$$D_u = D_{u_0} \mathbb{1} + \eta \vec{\sigma}, \quad (8.13)$$

donde D_{u_0} es el coeficiente normal de difusión, $\mathbb{1}$ es la matriz identidad y $\vec{\sigma}$ es el tensor de esfuerzos dado por la ecuación (C.34) del apéndice C y η es una constante de proporcionalidad. Como hemos visto, colocar la parte mecánica en la difusión de una sustancia implica que habrá un transporte activo. De esta forma las ecuaciones dinámicas son:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi}{\partial t} &= D_\phi \nabla^2 [A_f(3\phi^2 - 1 - 2\epsilon\phi(\beta_f u^2))\mu - A_f \epsilon \nabla^2 \mu + \sigma_f \nabla^2 \phi] \\ \frac{\partial u}{\partial t} &= \nabla \cdot (D_u \nabla [A_f \epsilon \beta_f u(\phi^2 - 1)\mu + D_f \nabla^2 u]). \end{aligned} \quad (8.14)$$

Dado que u representa la curvatura espontánea y ésta modifica cualquier forma de un objeto al seguir una dinámica determinada, entonces podemos suponer que u representa la auxina en el sistema. Dado que las ecuaciones (8.12) son conservativas, la cantidad de masa en el sistema no cambia. Para lograr que ϕ represente adecuadamente el crecimiento como si fuera una raíz, entonces debemos incluir un término de masa que dependa del aumento de la curvatura en la ecuación para la dinámica de ϕ en las ecuaciones (8.14). La masa que hay que agregar es $\phi \frac{\delta \Omega[\phi]}{\delta u}$ para tener un equilibrio en la ecuación de continuidad. Para describir el crecimiento de la raíz, iniciamos ϕ con un perfil semiesférico para simular un ambiente homogéneo. Para imitar por ahora el funcionamiento de la auxina en el dominio ϕ que crece, elegimos como condición inicial para u un perfil Gaussiano centrado en el dominio de ϕ con un máximo a una distancia l_u de la parte más alta de ϕ . Esto último para hacer una analogía de la posición del QC en nuestra raíz. En la figura 8.6 mostramos la evolución de las ecuaciones (8.14) en el que vemos dos etapas del desarrollo de la raíz. En la figura 8.6A mostramos una raíz con sus condiciones iniciales y en la figura 8.6B mostramos la raíz después de la evolución de los campos. Del lado derecho de las figuras 8.6 mostramos los cambios del esfuerzo en dirección del gradiente que incluye la variación de la energía respecto a la curvatura espontánea, es decir, $\eta \nabla \cdot (\vec{\sigma} \cdot \nabla (\frac{\delta \Omega}{\delta u})) \equiv \mathcal{S}$. Este término es de suma importancia ya que dirige el crecimiento a los lugares donde hay mayor esfuerzo o mayor cambio de curvatura. Observe que los cambios en la forma del dominio se dan cerca de la superficie donde \mathcal{S} es diferente de cero (vea la escala de colores en la figura 8.6). Cabe señalar que la integración numérica de las ecuaciones (8.14) se realizó mediante diferencias finitas para la parte espacial y por el método de Euler para la parte temporal. Estos resultados muestran que la forma en la raíz emerge de la dinámica del campo-fase en una estructura 3D son una forma de validar las hipótesis que hemos planteado para hacer crecer el dominio de nuestra raíz. Otro punto a destacar es que los esfuerzos mecánicos que se encargan de modelar la forma de la raíz y que se localizan en las zonas de mayor cambio de curvatura se semejanza a las condiciones que hemos planteamos para modelar la raíz en los modelos que incluyen los efectos de la epidermis (capítulo 7). Como punto adicional, podemos decir que las dinámicas de las ecuaciones (8.14) se vuelven relevantes para investigar otros aspectos de las raíces que tienen que ver con el tamaño y forma de los meristemos y como los procesos que dan origen a otro tipo de procesos en las plantas como la filotaxis (disposición de las hojas respecto al tallo) o bien para la formación de raíces laterales y ramas en las plantas [168].

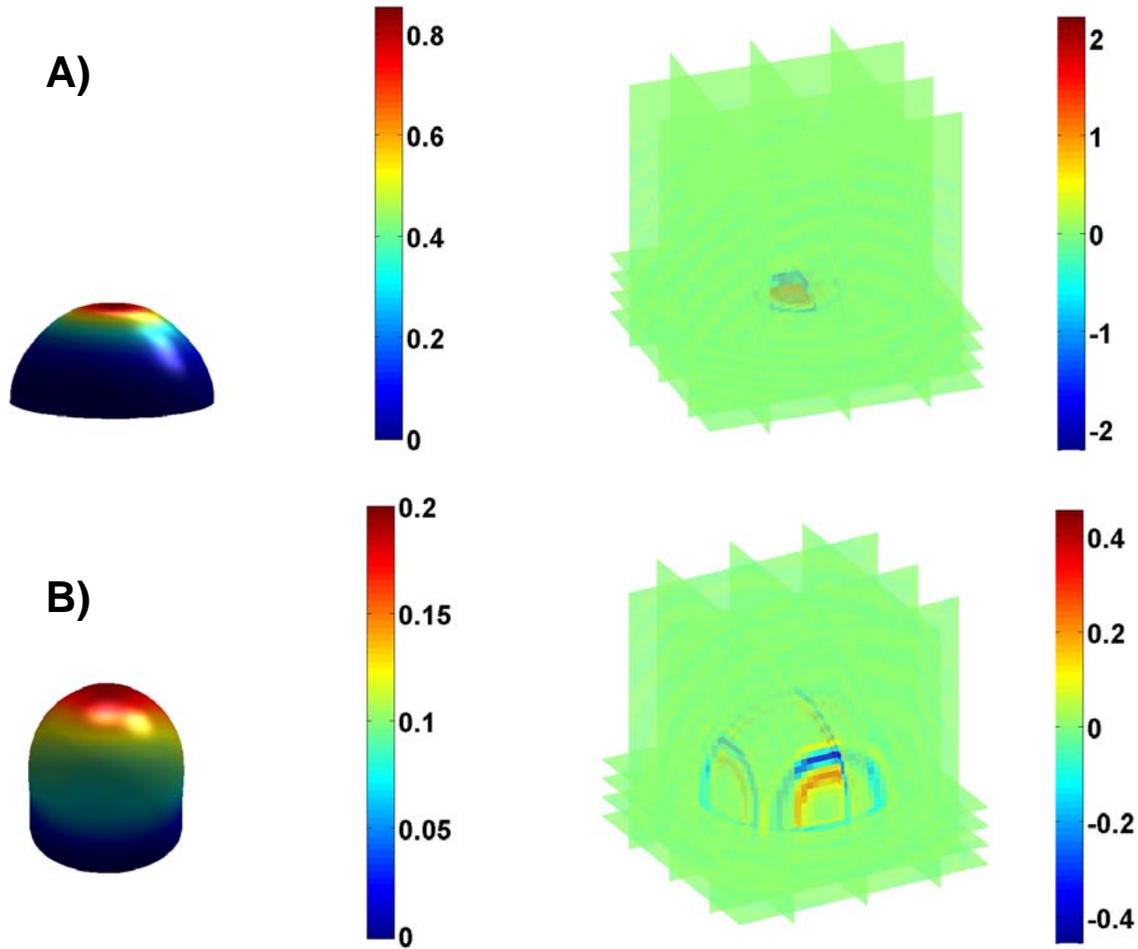


Figura 8.6: Mostramos el crecimiento de una raíz siguiendo el modelo de campo-fase de curvatura espontánea donde ésta última sigue de manera lineal los esfuerzos producidos por el cambio local de curvatura. A) Se muestra como condición inicial un domo semiesférico y la proyección \mathcal{S} del tensor de esfuerzos. B) Se muestra la evolución del domo después de 16000 iteraciones de tiempo y su respectiva proyección \mathcal{S} del tensor de esfuerzos. En los dos casos, las proyecciones de \mathcal{S} se hacen con cuatro planos xy con diferente valor en z , tres planos xz y otros tres planos yz . Los parámetros de la simulación son: $D_\phi = 1.0$, $D_{u_0} = 50.0$, $A_f = 0.5$, $D_f = 0.2$, $\sigma_f = 0.5$, $\beta_f = 0.1$, $\eta = 5.0$, $\epsilon = 2.0$ y $dt = 10^{-5}$. Las ecuaciones (8.14) se integraron en un dominio cúbico de 40 unidades, la Gaussiana para u fue de 20 unidades de ancho y centrada en el dominio y l_u fue de 9 unidades.

Formas de implementar la diferenciación celular

Una vez capturados los esfuerzos mecánicos para modelar la forma de la raíz, podemos ahora usar el modelo para que cada célula en el meristemo se represente con un campo-fase de curvatura espontánea en donde el esfuerzo local contribuya al crecimiento celular y al transporte de auxina. De igual forma, podemos suponer que la acumulación de proteínas en la pared celular o en la membrana plasmática generan cambios en la curvatura local. Esta suposición nos permite abordar otro punto importante como lo es la diferenciación celular y su inclusión en un modelo de forma natural si suponemos que

la curvatura espontánea es una función de múltiples sustancias, de tal forma que el potencial químico dado por la ecuación (C.26) sea [169, 170]:

$$\mu[\phi] = (\phi^2 - 1)(\phi - \epsilon \vec{\beta} \cdot \vec{u}) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi, \quad (8.15)$$

y la curvatura espontánea esté representada por $C_0 = \vec{\beta} \cdot \vec{u}$, donde $\vec{\beta} = (\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n)$ es una familia de interacciones para n sustancias en la curvatura espontánea ($\vec{u} = (u_1, u_2, \dots, u_n)$). Usando la energía como en la ecuación (8.11), entonces:

$$\begin{aligned} V_s &= (\phi^2 - 1)^2 \prod_{\alpha=1}^n \sum_{i=1}^n (u_i - u_{i,\alpha})^2 + \gamma_s \sum_{i,j=1}^n D_{i,j} \nabla u_i \cdot \nabla u_j \\ V_f &= \phi^2 \sum_{i=1}^n (u_i - u_{i, far})^2, \end{aligned} \quad (8.16)$$

donde $u_{i,\alpha}$ son valores fijos de u en la frontera y $u_{i, far}$ es un valores de u lejos de la frontera. La γ_s representa las posibles interacciones entre las sustancias y $D_{i,j}$ son los coeficientes de tensión superficial que pudieran tener. Cabe señalar que todas las sustancias u tiene una relación con el tensor de esfuerzos. La representación de un campo-fase con múltiples sustancias se ha usado para modelar la formación de los anillos-Z en liposomas [170] y para caracterizar la segregación de sustancias en una membrana [169]. De igual forma, hemos usado el campo-fase con una sola sustancia en u y la incorporación de una red genética para explicar el desarrollo temprano de los primordios en la floración de *Arabidopsis* [9].

Por tanto, una vez identificada la actividad genética con la dinámica de alguna sustancia u podemos reforzar los procesos de auto-organización ya propuestos en nuestros modelos. Desde luego que es un trabajo arduo en el que se necesita conocer las redes de regulación genética en la raíz y por ahora solo existen para una de ellas que se encargan de caracterizar la actividad del nicho de células troncales. Dado este punto, el modelo de campo-fase de múltiples sustancias que cambian la curvatura espontánea de un sistema como la raíz quedará para trabajos en el futuro.

8.6. Conclusiones

A manera de concluir, podemos decir que los modelos presentados para la proliferación celular sugieren que el origen y la variación de los patrones morfogenéticos se deben a las interacción auto-organizadas entre campos elásticos físicos y sustancias químicas que se transportan. También hemos mostrado que estas interacciones se pueden estudiar sistemáticamente con el fin de entender cómo surgen las formas y los patrones biológicos en la raíz. Por ejemplo, logramos describir como se altera el crecimiento de una raíz al cambiar la rigidez de las paredes de la epidermis (ver figura 7.7). De igual forma, encontramos una relación entre la acumulación de auxina y la curvatura en la raíz (ver figura 8.1), dando como resultado que los máximos de auxina se localizan en los puntos con más curvatura. Esta situación permite describir el origen del nicho de células troncales y el centro quiescente como una propiedad emergente que se mantiene con un carácter robusto durante todas las simulaciones.

Por otra parte, nuestra propuesta de modelar el transporte de auxina nos permite definir los estados de polarización de las proteínas PIN e identificar los ciclos de recirculación de auxina en toda la raíz. De esta forma, logramos identificar que la polarización dinámica de los PINs genera una circulación

Capítulo 8. Discusión general y conclusiones

en forma de fuente inversa que surge de manera natural y que no se ha logrado reproducir de forma emergente con ningún modelo [86].

Dada las comparaciones entre los datos experimentales y los datos de las simulaciones numéricas, podemos decir que el acoplamiento dinámico entre la proliferación celular, el transporte de auxinas y un campo físico elástico son suficientes para que la organización celular en la raíz emerja. Bajo esta perspectiva, podemos decir que los modelos proporcionan una herramienta formal teórica para explorar algunos rasgos del crecimiento y predecir comportamientos como el tamaño del meristemo como función de las tasa de transporte de auxina (ver figura 6.9).

Como puntos adicionales hemos abordado la forma del dominio y la expresión genética en la raíz como una extensión de nuestros modelos usando un campo-fase con múltiples sustancias que gobiernan la curvatura espontánea. Nuestras perspectivas en esta extensión se limitan a la identificación de una red regulación genética y las interacciones mecánicas que pudieran darse entre las sustancias. No obstante, nuestra propuesta nos permite concluir que las propiedades mecánicas son un factor importante para el desarrollo de una célula y de la propia raíz.

Modelo dinámico de los PINs

En este apéndice abordaremos el comportamiento dinámico de las proteínas PIN y su papel en la polarización en el flujo de auxina. Para ello describiremos la interacción de las proteínas PIN con la tensión de la membrana celular y con los mecanismos que se llevan a cabo en las células para su síntesis. Aunque recurriremos a la idea de construir una red de interacciones entre estos aspectos y validaremos su importancia con ayuda de una interacción Booleana, la finalidad de este apéndice es mostrar que de forma dinámica hay una correlación entre los estados de polarización de las proteínas PIN, el campo elástico y la concentración de auxina y con ello podemos representar de manera simple un modelo de permeabilidad de las paredes celulares que permitan el flujo de auxina en ciertas direcciones.

Tomando en cuenta que la polarización de sustancias es importante para la diferenciación celular, el transporte de sustancias entre células y para marcar mecanismos de señalización en tejidos y órganos de la raíz [172]. La cantidad de proteínas PIN localizadas en las membranas plasmáticas generan una polarización suficiente para que el transporte de auxinas genere un gradiente a lo largo del eje longitudinal de la raíz y que la auxina fluya de forma diferente en las células internas, la epidermis y la parte apical de la raíz [53, 68, 83, 84, 85, 86].

Desde luego, estudiar los mecanismos a los que están sujetas las proteínas PIN en las membranas se vuelve relevante, pues de ellos emergen algunas propiedades morfológicas en la raíz. Por ello a lo largo de este apéndice haremos una revisión de los aspectos más importantes de las proteínas PIN y expresaremos su acción en un modelo compacto. Las ideas que tomaremos en cuenta para realizar esto se basan en la relación que hay entre las propiedades moleculares y fuerzas físicas de tensión en las células [21, 173].

Las propiedades moleculares contemplan la acción de los filamentos de actina ROP (específicamente la ROP6), las quinasas serina/treonina PINOID (PID) y la expresión del genética del gen *GNOM*. Las ROP están consideradas como los interruptores moleculares que regulan la polaridad celular, el movimiento de células y la organización estructural de los microtúbulos en las paredes celulares como funciones principales [174, 175]. La actividad de ROP6 está gobernada por la cantidad de auxina en las células y promueven la polarización de las proteínas PIN en la membrana plasmática. Además se sabe que las ROP inhiben la endocitación de PIN 2 [160, 174, 176]. Las PID generan un factor molecular que permite la fosforilación de las proteínas PIN y con ello determina su ubicación en la parte apical de cualquier membrana [177]. También existe la contraparte de este proceso mediante una desfosforilación que permite a las proteínas ubicarse en la parte basal de las membranas [178, 177]. Los estados de las proteínas PIN 1 y PIN 2 están relacionados con las PID [178, 179]. La expresión del gen *GNOM* permite que ciertas proteínas intercambien nucleótidos y se inicie un proceso de reclutamiento de vesículas que puede inhibir o activar el transporte de proteínas hacia la parte apical o basal de las membranas. De esta forma la expresión de *GNOM* está relacionado con la polarización basal y apical de las proteínas PIN 1 [178, 179]. Los resultados de varios estudios muestran que aunque las PID y la expresión de *GNOM* permiten la polarización apical y basal, la relación entre ellas tiene efectos antagónicos, ya que cuando la expresión de *GNOM* permite la polarización basal de PIN 1, el efecto de las PID es generar una polarización apical de PIN 1 [178, 177, 179]. Dado estos efectos se ha propuesto que las rutas de las PID y la expresión de *GNOM* permiten una reubicación de proteínas PIN como me-

didada adicional a los estados de endocitación y exocitación de proteínas PIN en las membranas [85, 180].

Como hemos venido mencionando, las propiedades físicas que coordinan el crecimiento y la proliferación celular son las propiedades que se relacionan las cantidades del esfuerzo mecánico y compresión de las paredes y membranas celulares. En este caso consideraremos que la presión de turgencia y la rigidez de las paredes son suficientes para interactuar con la membrana plasmática y que los cambios que ocurran en ella sólo son una consecuencia de los cambios mecánicos de ambas componentes. De esta forma suponemos que existe una relación directa entre la pared celular y la tensión de la membrana a través de la acción de las auxinas.

Dado que las células están dentro de una pared rígida, los procesos de morfogénesis se basan principalmente en la división y el alargamiento de las células y por ello se requieren un control sobre la rigidez y la extensibilidad de la pared [59]. Estudios recientes sugieren que la polarización de las proteínas PIN es afectada por competencia mecánica en los tejidos [31, 95] o bien por los cambios de las propiedades mecánicas de la membrana plasmática y la pared celular [181, 96, 123]. Sin embargo es posible que no sólo los cambios en la rigidez de la pared afecten la polarización de las proteínas PIN y por ello algunos trabajos [61, 156] han sugerido que el aumento de la tensión en la membrana plasmática afecta positivamente los estados de exocitosis y negativamente los estados de endocitosis. Dado esto, la tensión de la membrana regula la localización de las proteínas PIN a través de procesos de endocitosis y exocitosis. Cabe mencionar que la exocitación de proteínas favorece notablemente el estado de tensión de la membrana y por ello hay una retroalimentación entre ambas propiedades [85].

Red Booleana para la polarización de los PINs

Una vez expuestas las propiedades más relevantes sobre los estados de polarización y su interacción, planteamos como primera aproximación que los estados de las proteínas PIN se modifique mediante una red de interacciones Booleana, en donde los agentes moleculares y físicos se encienda o apaguen. Así, la cantidad de auxina afecta directamente los estados de tensión de la membrana y de las ROP6. Los estados de endocitación y exocitación se inhiben y activan respectivamente por la tensión de membrana. El estado de ROP6 inhibe la polarización de ciertas proteínas y la polarización apical o basal de las proteínas PIN se debe a los estados de endocitosis y exocitosis, si pensamos en una generalización para la acción de todas las proteínas PIN. De esta forma, la exocitosis promueve ambas polarizaciones y la endocitosis las inhibe.

Dado que las acciones de las PID y la expresión de *GNOM* juegan un papel antagónico en los estados de polarización, hemos decidido simplificar su acción en un sólo modulo llamado GPID. Este modulo permite que la polarización apical se inhiba y la polarización basal se favorezca. Desde luego que la acción de GPID es independiente de las auxinas (IAA), la tensión de la membrana (Mem), de ROP6 y los estados de endocitosis (Endo) y exocitosis (Exo). Como punto final, cabe señalar que los efectos de polarización apical (PA) y basal (PB) tienen una retroalimentación hacia la auxina y con ello una forma de autoregulación. Para ejemplificar las acciones que hemos descrito, creamos la figura A.1 en la que representamos las propiedades moleculares y físicas como nodos en una red Booleana y sus interacciones activas con una liga en forma de flecha y sus interacciones negativas o de inhibición con una barra.

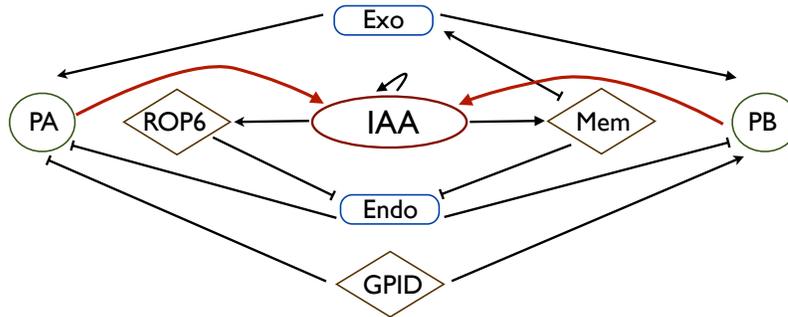


Figura A.1: Mostramos las propiedades moleculares y físicas relacionadas con la polarización apical y basal de las proteínas PIN en forma de una red Booleana. La IAA representa la cantidad de auxinas en una célula, Mem representa la tensión de la membrana, Endo y Exo representan los estados de endocitosis y la exocitosis de las proteínas PIN. PA y PB son los estados de polarización apical y basal respectivamente. GPID es la interacción de las PIN y la expresión del *GNOM*. Las ligaduras entre los agentes representan estados de activación (punta de la flecha) y estados de inhibición (barra o cola de la flecha).

En su conjunto, la red de interacciones tiene como finalidad determinar los estados de polarización de las proteínas PIN a través de pequeñas contribuciones. Para poder obtener información de estas pequeñas contribuciones haremos un análisis sobre las variables y sobre la probabilidad de un conjunto de éstas, o una sola, genere un estado atractor o de equilibrio. Para ello, construimos una serie de reglas que se basan en el arreglo Booleano de la figura A.1. La tabla A.1 muestra estas reglas lógicas.

Después de realizar un análisis estadístico con diferentes condiciones iniciales se puede observar que las reglas lógicas de la tabla A.1 dan como resultado cuatro estados atractores que se vinculan directamente con los estados silvestres de la raíz de *Arabidopsis*, esto es, que hay cuatro estados donde las variables representan los procesos que se observan en una raíz común de dicha planta. Los cuatro atractores se pueden caracterizar en dos conjuntos: los que tienen un punto fijo y los que tienen una periodicidad. Los estados fueron obtenidos usando el lenguaje de programación R y se muestran en las tablas A.2 y A.3. La parte inferior de las tablas muestra la frecuencia con la que puede obtenerse el estado. La tabla A.2 muestra dos atractores de punto fijo mientras que la tabla A.3 presenta dos atractores con periodicidad cuatro.

Polarización dinámica de los PINs

Se sabe que los estados silvestres de la raíz son muy robustos y casi no cambian. Sin embargo, los atractores de punto fijo parecen no reflejar este hecho pues tienen frecuencia muy baja. Así que con el fin de explorar la robustez de la red Booleana y encontrar otros estados transitorios que no dependan sólo del encendido y apagado de las variables decidimos reescribir las reglas lógicas de la tabla A.1 en un conjunto dinámico de ecuaciones donde las variables Booleanas se comportan como variables continuas. Para esto colocamos las interacciones de activación e inhibición con signos más o menos respectivamente seguidas con algún coeficiente a determinar. Las ecuaciones diferenciales que corresponden a las interacciones Booleanas para cada célula las podemos escribir como:

Apéndice A. Modelo dinámico de los PINs

Variable	Condición
IAA (x)	IAA & (PA PB)
ROP6	IAA
Mem (w)	IAA !Exo
Endo (v)	!Mem & !ROP6
Exo (u)	Mem
PA (y_a)	!Endo & Exo & !GPID
PB (y_b)	!Endo & Exo & GPID
GPID	GPID

Tabla A.1: Mostramos las reglas lógicas de la red Booleana. También escribimos un símbolo extra a cada variable de la red Booleana con la finalidad de extender su estudio.

	Atractor 1	Atractor 2
IAA	1	1
ROP6	1	1
Mem	1	1
Endo	0	0
Exo	1	1
PA	1	0
PB	0	1
GPID	0	1
Freq.	3.12 %	3.12 %

Tabla A.2: Se muestran dos atractores con punto fijo. El 1 representa un estado activo y el 0 un estado inhibido. Observe que la frecuencia para estar en un estado de estos es baja.

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial x}{\partial t} &= ax + bx(u + v) + \frac{c}{2}y - f_x \\
 \frac{\partial w}{\partial t} &= -bx^2(u + v - 1) - du(1 - u) \\
 \frac{\partial u}{\partial t} &= f_u w + g(1 - w) + d(1 - u)u \\
 \frac{\partial v}{\partial t} &= -f_v x^2 - g(1 - w) \\
 \frac{\partial y}{\partial t} &= -ry(1 - y)(u - v),
 \end{aligned} \tag{A.1}$$

donde las variables x, w, u, v, y representan los parámetros de la tabla A.1. x representa la concentración de auxina, w es la tensión de la membrana, u se refiere a la excitación de proteínas PIN, v representa los estados de edocitación de proteínas PIN y la parte que corresponde a la polarización apical y basal la escribimos con una sola ecuación donde $y = y_a + y_b$, ya que los estados de polarización y_a y y_b son antagónicos. Los parámetros f_x, f_u y f_v representan las fuentes de auxina, excitación y endocitación respectivamente.

	Atractor 3				Atractor 4			
IAA	0	0	0	0	0	0	0	0
ROP6	0	0	0	0	0	0	0	0
Mem	1	1	0	0	1	1	0	0
Endo	1	0	0	1	1	0	0	1
Exo	0	1	1	0	0	1	1	0
PA	0	0	1	1	0	0	0	0
PB	0	0	0	0	0	0	1	1
GPID	0	0	0	0	1	1	1	1
Freq.	46.88 %				46.88 %			

Tabla A.3: Se muestran dos atractores con período cuatro. El 1 representa un estado activo y el 0 un estado inhibido. Estos atractores tienen una frecuencia mayor y por tanto son más visitados por las variables de la red.

Para determinar el valor de cada coeficiente realizamos un análisis de punto fijo para cada célula. Esto es tratamos las ecuaciones diferenciales parciales (A.1) como derivadas totales en cada célula. Con ello, encontramos que los cuatro estados de las tablas A.2 y A.3 son función lineal de los coeficientes de la ecuación (A.1). Así, para poder obtener los estados atractores representados en las tablas A.2 y A.3 fijamos los valores a los coeficientes. La primera solución la representamos en la tabla A.4.

Coeficiente	Valor
b	1
d	1
g	1
f_u	0
f_v	$\rightarrow 0$
r	c
c	$\rightarrow 2(1 - a + f_x)$

Tabla A.4: Solución para los valores de los coeficientes de las ecuaciones (A.1). Las flechas indican que los coeficientes tienden al valor señalado.

De esta forma los estados de las variables, dados los coeficientes de la tabla A.4, están representados en la tabla A.5.

De aquí que la frecuencia con la que oscila la polarización de los PINs sólo sea función de f_x/c que representa la fuente de la auxinas f_x y acción polar para el transporte c en la ecuación para x en las ecuaciones (A.1). Como se puede observar, el valor f_x/c es una constante y por ello podemos reescribir las ecuaciones (A.1) sin ninguna restricción y luego colocar la solución para los estados de polarización y determinar el estado de polarización apical o basal. De esta forma al hacer de nuevo el análisis de punto fijo para cada célula obtenemos la tabla A.6

Apéndice A. Modelo dinámico de los PINs

		$r = c$	$r = \pm c$	$r = -c$
x	0	$\rightarrow 1$	0	$\rightarrow 1$
w	1	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 1$
v	1	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 0$
u	1	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 1$
y	$\frac{2f_x}{c}$	$\rightarrow 1$	$\rightarrow \frac{2f_x}{c}$	$\rightarrow 0$
y_a	$\frac{f_x}{c}$	$\rightarrow 0$	$\rightarrow \frac{f_x}{c}$	$\rightarrow 0$
y_b	y_a	$\rightarrow 1$	y_a	$\rightarrow 0$

Tabla A.5: Representación del estado de las variables de la red Booleana con los coeficientes de la tabla A.4. Las flechas indican que se tiende al valor señalado.

Coficiente	Valor
b	1
d	1
g	1
f_u	0
f_v	$\rightarrow 0$
r	c
c	$\rightarrow 2(1 - a + f_x)$ o $2f_x$

Tabla A.6: Solución sin restricciones para los valores de los coeficientes de las ecuaciones (A.1). Las flechas indican que los coeficientes tiende al valor señalado.

Así los estados de las variables quedan registrados en la tabla A.7.

	$c = 2f_x$	$c = 2(1 - a + f_x)$	$c = 2f_x$
x	0	$\rightarrow 1$	0
w	1	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 1$
v	1	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 0$
u	1	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 0$
y	1	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 1$

Tabla A.7: Representación del estado de las variables con los coeficientes de la tabla A.6. Las flechas indican que se tiende al valor señalado.

De esta forma las ecuaciones (A.1) se pueden reescribir como:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial x}{\partial t} &= ax + x(u + v) + \frac{c}{2}y \\
\frac{\partial w}{\partial t} &= -x^2(u + v - 1) - u(1 - u) \\
\frac{\partial u}{\partial t} &= (1 - w) + u(1 - u) \\
\frac{\partial v}{\partial t} &= -(1 - w) \\
\frac{\partial y}{\partial t} &= c(u - v)y(1 - y),
\end{aligned} \tag{A.2}$$

donde el resultado para la expresión de la polarización ápicar y basal se escribe como:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial y_a}{\partial t} &= ry_a(1 - y) \\
\frac{\partial y_b}{\partial t} &= ry_b(1 - y),
\end{aligned} \tag{A.3}$$

que no es otra cosa que una representación de la función logística para dos especies que compiten y donde la tasa de crecimiento de ambas está dada por $r = c(u - v)$. Esta representación muestra que las tasas de endocitosis y exocitosis generan una competencia para el posicionamiento de las proteínas PIN. Ya que la función logística alcanza un estado de equilibrio de manera exponencial y que la polarización apical y basal son estados opuestos, entonces el resultado de las ecuaciones (A.2) y (A.3) indican que el estado de polarización depende de manera indirecta de la tensión de la membrana como condición inicial. De esta forma, la tensión de la membrana es un indicador de la dirección de polarización y un sistema de referencia local para el transporte activo de auxina. Cabe señalar que estos resultados son un complemento a las interacciones de la red Booleana y por tanto la descripción de los estados de los atractores de las tablas A.2 y A.3 son totalmente compatibles con los resultados de las ecuaciones dinámicas (A.2). En la figura A.2 mostramos los estados finales de las variables involucradas en las ecuaciones (A.2). El resultado más sobresaliente es que la polarización apical PA y basal PB son sumamente sensibles a las condiciones iniciales de la polarización total y por ello con las mismas condiciones iniciales obtenemos los dos estados de polarización. Ambos resultados representan los estados atractores de la tabla A.2.

Permeabilidad y dinámica de los PINs

Ahora bien, si tomamos en cuenta que la dinámica molecular que ocurre en el interior de la células es mucho más rápida que la dinámica del potencial elástico que da origen a la tensión de la membrana, entonces podemos decir que la ubicación apical o basal de las proteínas PIN sólo dependerá del valor del potencial y de la concentración de auxina, ya que ésta influye en la tensión. Siguiendo con la idea de que la tensión de la membrana tiene una relación proporcional con la tensión de la pared celular, entonces podemos concluir que los estados de polarización son función sólo del potencial elástico y de la concentración de auxina.

Para incluir todas estas ideas en un modelo de transporte como el que estamos construyendo, debemos considerar que la permeabilidad tendrá las propiedades más sobresalientes. Por lo pronto,

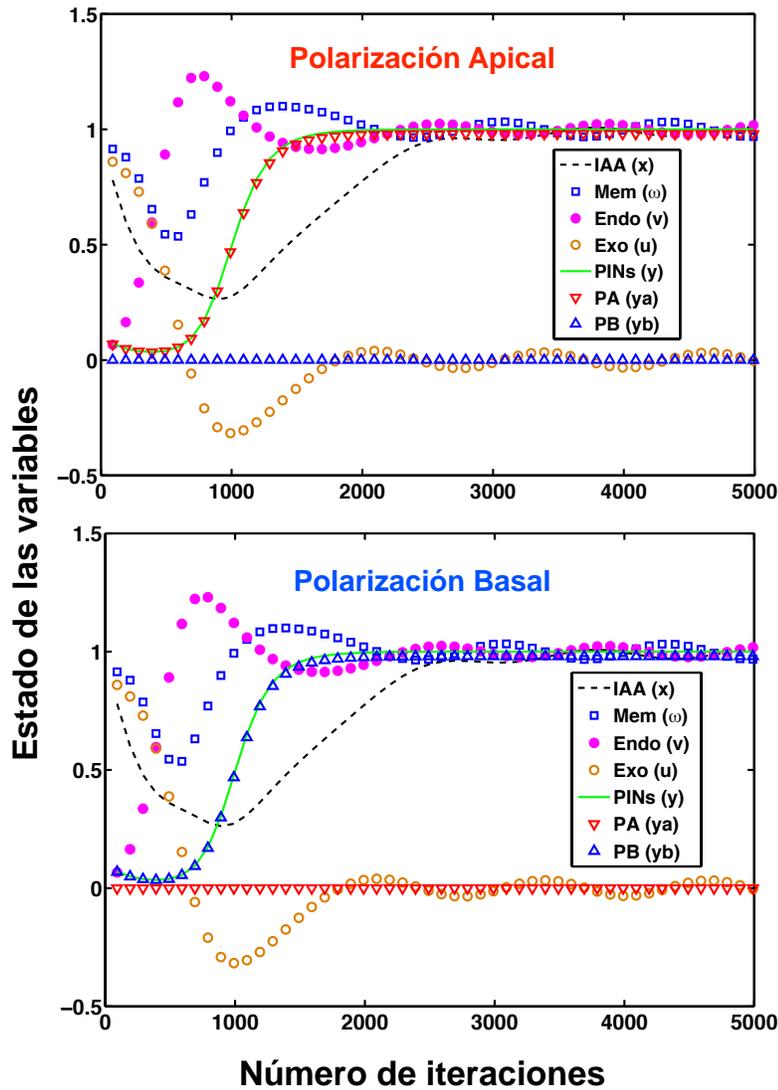


Figura A.2: Mostramos los estados de las variables de las ecuaciones (A.2) como función del número de iteraciones, donde x representa la concentración de auxina (línea negra a trazos), w es la tensión de la membrana (cuadrados azules), v representa la endocitación de proteínas PIN (puntos en magenta), u son los estados excitados de proteínas PIN (círculos en naranja), y es el estado general de la polarización de los PINs (línea verde). La y_a y y_b representan los estados de polarización apical (triángulos rojos) y basal (triángulos azules) de las proteínas PIN respectivamente. Las condiciones iniciales son $x(0) = 1.0$, $w(0) = 0.9$, $v(0) = 0.9$, $u(0) = 0.01$ y $y(0) = 0.1$. En el panel de la polarización apical la condición inicial para los estados de polarización son $y_a(0) = 0.1$ y $y_b(0) = 0.0$, mientras que en el otro panel las condiciones son $y_a(0) = 0.0$ y $y_b(0) = 0.1$. Los coeficientes de las ecuaciones (A.2) son $a = -1.5$ y $c = 1.0$.

dado el papel que tiene la tensión de la membrana como sistema de referencia local para los estados de polarización, proponemos que la dirección de polarización sea hacia donde hay mayor potencial. De esta forma, si tomamos la celda i como referencia y como marco comparativo el potencial promedio \bar{V} , entonces podemos decir que la dirección de polarización de la celda i dependerá del signo del potencial de la celda vecina m con respecto al potencial promedio; esto es, habrá una dirección de polarización entre la celda i y la celda m según el signo de $(V_m - \bar{V})$. Por otro lado, sabemos que generalmente hay una acción auto-regulada entre la auxina y el potencial que favorece el crecimiento de la raíz y por ello también una relación estrecha entre sus gradientes, ya que la difusión de la auxina afecta el estado mecánico de la pared y la tensión de la pared afecta el transporte de auxina. Dicho esto, proponemos entonces que la permeabilidad se encienda o se apague como función de la dirección de los gradientes, esto es:

$$P_{i,m} \propto \Theta[\nabla V_i \cdot \nabla c_i], \quad (\text{A.4})$$

donde $P_{i,m}$ es la permeabilidad entre la celda i y la celda m , $\Theta[X]$ es la función de Heaviside, que es cero cuando el argumento es negativo (un estado apagado) y uno cuando el argumento es positivo (un estado encendido). Incluyendo la otra característica como la única información extra para la permeabilidad, obtenemos que:

$$P_{i,m} = \Theta[\nabla V_i \cdot \nabla c_i] \text{sign}(V_m - \bar{V}), \quad (\text{A.5})$$

donde $\text{sign}(X)$ es una función que obtiene el signo de su argumento. Así, esta propiedad representa todos los estados de polarización de las proteínas PIN y la dirección del transporte de auxina entre células de la raíz.

Interpretación del potencial elástico

El potencial elástico definido por la ecuaciones (3.8) y (3.9) se puede interpretar desde la teoría elástica y con ello conectar algunos procesos biológicos con una interpretación física adecuada. Para desarrollar este punto de vista, describiremos lo que le pasa a un objeto cuando es sometido a fuerzas externas.

Cuando un objeto es sometido a fuerzas externas su primer reacción es cambiar de dimensiones para preservar el equilibrio de sus fuerzas internas. No obstante, si la fuerza externa es excesiva o permanente puede inducir que el cuerpo se fracture. De esta forma, las fuerzas internas pueden ayudarnos para clasificar la deformación del cuerpo si consideramos que éstas se pueden dividir en las fuerzas que interactúan en el cuerpo y las fuerzas que interactúan en la superficie. Las fuerzas en el cuerpo (llamados esfuerzos normales) están relacionadas con la masa y el volumen del objeto mientras que las fuerzas superficiales (llamados esfuerzos de corte) son el resultado del contacto físico entre el objeto y sus alrededores.

Así, las fuerzas que actúan en un cuerpo puede orientarse en dirección normal σ y en dirección tangencial τ a la superficie. Esta última puede descomponerse en dos partes vectoriales que se relacionan con la deformación del objeto. En un análisis lineal, podemos considerar que la deformación es proporcional al esfuerzo. Así, las deformaciones en el cuerpo de un objeto hace que los lados de éste cambien y giren uno respecto a otro. Para ejemplificar esto último usaremos las deformaciones normales y de corte con el esfuerzo asociado. Las deformaciones normales ϵ en una cierta dirección se definen como el cambio de la longitud de un segmento del objeto con respecto a su longitud original y las deformaciones de corte γ se definen como el cambio angular θ entre dos lados del cuerpo. Haciendo referencia a la figura B.1, podemos mostrar que las componentes de la deformación son:

$$\begin{aligned}\epsilon_x &= \frac{A'B' - AB}{AB} \\ \epsilon_y &= \frac{A'D' - AD}{AD} \\ \gamma_{xy} &= \theta - \theta',\end{aligned}\tag{B.1}$$

donde x e y se refieren al dirección en un sistema de coordenadas cartesianas.

Como es usual, las relaciones de esfuerzo-deformación se pueden escribir como [182]:

$$\begin{aligned}\sigma_x &= E\epsilon_x \\ \sigma_y &= E\epsilon_y \\ \gamma_{xy} &= \frac{1}{G}\tau_{xy},\end{aligned}\tag{B.2}$$

donde E es el módulo de Young y G es la constante elástica o el módulo de rigidez del objeto. Dado que la deformación en dirección x también deforma al cuerpo de dirección y , es posible encontrar una relación entre ϵ_x y ϵ_y como:

Apéndice B. Interpretación del potencial elástico

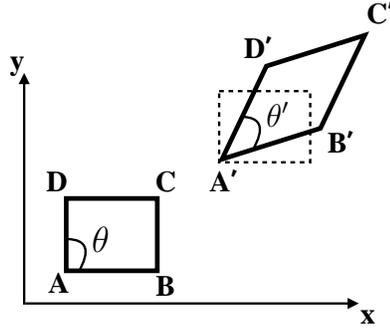


Figura B.1: Mostramos una representación de las deformaciones que sufre un cuerpo en dos dimensiones.

$$\epsilon_y = -\nu \frac{\sigma_x}{E}, \quad (\text{B.3})$$

donde ν es la razón de Poisson. Esta proporción se relaciona con propiedades importantes del objeto, como la habilidad de cambiar su volumen y tamaño contra su habilidad de cambiar su forma.

Cuando un objeto cambia su forma, realiza un trabajo. De esta forma, la densidad de energía de deformación U_0 que absorbe un objeto se puede definir como:

$$U_0 = \frac{1}{2}[\lambda\epsilon^2 + 2G(\epsilon_x^2 + \epsilon_y^2) + G\gamma_{xy}^2], \quad (\text{B.4})$$

donde λ es la constante de Lamé. Esta constante es proporcional al módulo de Young y se puede escribir como: $\lambda = \nu E / (1 + \nu)(1 - 2\nu)$, $\epsilon = \epsilon_x + \epsilon_y$ en 2D. En un paso más, la relaciones de esfuerzo-deformación de las ecuaciones (B.2) y la densidad energética se relacionan como:

$$\frac{\partial U_0}{\partial \epsilon_{(x,y)}} = \sigma_{(x,y)} \quad (\text{B.5})$$

$$\frac{\partial U_0}{\partial \sigma_{(x,y)}} = \epsilon_{(x,y)}. \quad (\text{B.6})$$

Ya que la constante de Lamé y el módulo de rigidez son proporcionales al módulo de Young, podemos decir que en nuestro modelo de potencial elástico, dado por las ecuaciones (3.8) y (3.9), las constantes elásticas siguen la relación $K_v \sim K_e \sim E$ y $K_c \sim G \sim E$, donde el módulo de rigidez está dado por $G = E/2(1 + \nu)$. Cabe señalar que los dos primeros términos de la ecuación (B.4) modifican el tamaño del objeto y el tercer término modifica la forma del objeto. En analogía, nuestro modelo de potencial elástico se comporta como la densidad de energía de deformación y por ello las relaciones antes mencionadas. De esta forma, el esfuerzo en una dirección específica está entonces relacionado con el gradiente del potencial si consideramos que $U_0 \equiv V_i/A_i$, donde A_i es el área de la celda i . La deformación $\epsilon_{(x,y)}$ por otra parte modifica el centro de masa y para que el potencial V_i en una célula mantenga la magnitud del área entonces debe de ocurrir que:

$$\frac{\partial U_0}{\partial \epsilon_{(x,y)}} = \frac{\partial V_i}{A_i \partial(x,y)} \quad (\text{B.7})$$

$$\nabla V_i = A_i \cdot \vec{\sigma}_i. \quad (\text{B.8})$$

Esto significa que el esfuerzo en una célula i puede modelarse con las interacciones de todos sus vecinos y que la situación física del transporte de auxinas se puede relacionar con los estados de tensión en la membrana plasmática si se combinan los estados de deformación en las células.

Apéndice B. Interpretación del potencial elástico

Campo-fase

El primer modelo de campo-fase fue realizado por Ginzburg y Landau [183] para describir el fenómeno de solidificación mediante una transición de fase. El modelo enseña como una representación macroscópica puede entenderse con ayuda de la solidificación microscópica libre de fronteras. Años después, se incorporó el campo-fase para explicar la formación de los glóbulos rojos [184] y la forma en que las membranas celulares pueden generar superficies de mínima energía usando su proporción área-volumen [165]. Si bien, ésta fue una de las primeras incursiones del campo-fase en la biología, hay que resaltar que no sólo el campo-fase es capaz de modelar las superficies de las membranas, sino hay que incluir otras propiedades físicas a partir de un campo auxiliar. El modelo más antiguo para describir las superficies en las membranas fue introducido por Helfrich [185] usando una densidad energética de doblamiento ligada a las curvaturas media y Gaussiana de la membrana más un término de cambio de curvatura conocido como curvatura espontánea que permite a la superficie de la membrana obtener formas diferentes a cambio de tener una menor energía. Así, todo el formalismo de Helfrich se puede poner en términos del campo-fase para explicar no sólo como se minimiza la superficie de una célula, sino como lo hace una superficie en general, como la superficie formada por un grupo de células, un tejido, un órgano, una flor, una raíz, o bien para la descripción las propiedades superficiales de la membrana usando la curvatura [9].

C.1. Caracterización del campo-fase

El campo-fase consiste en un parámetro $\phi(\mathbf{r})$ que depende de la posición que asigna un valor o “fase” a cada punto de su dominio. Esta elección se hace de tal forma que se generan dos mesetas en las que se representan las fronteras de cada agente. La separación de las fases se hace mediante una interfase difusiva para que la separación no sea discontinua. 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 C.1 mostramos un perfil cualitativo del campo-fase.

Pensando 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 $\phi(\pm\infty) = \pm 1$ [171]. De esta forma el perfil es:

$$\phi(\mathbf{r}) = \tanh \frac{d(\mathbf{r})}{\sqrt{2}\epsilon}. \quad (\text{C.1})$$

C.1.1. 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 [171, 186]. 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:

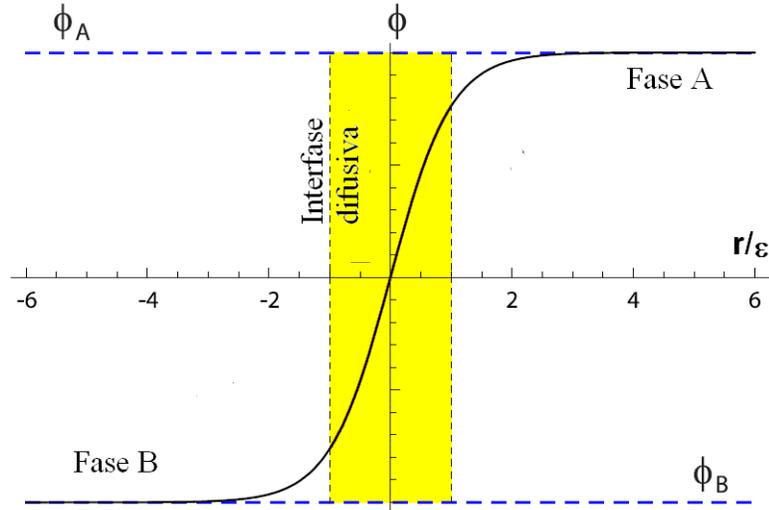


Figura C.1: Perfil de tangente hiperbólica de la ecuación (C.1). Fases del campo ϕ según el signo de la función e interfase difusiva entre las fases. Imagen tomada y modificada de la tesis de doctorado de Félix Campelo [171].

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\nabla \cdot J_\phi, \quad (\text{C.2})$$

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.

Pensando que la energía libre total Ω_f está descrita por alguna densidad de energía $\omega_f(\mathbf{r})$ como [186]:

$$\Omega_f = \int_V \omega_f(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (\text{C.3})$$

donde $d\mathbf{r}$ es el diferencial volumen. Suponiendo que ω_f 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:

$$\omega_f = g(\phi) + \frac{\epsilon^2}{2} |\nabla \phi|^2. \quad (\text{C.4})$$

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

$$\mu[\phi] = \frac{\delta \Omega_f}{\delta \phi} = \frac{\partial}{\partial \phi} g(\phi) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (\text{C.5})$$

Si se considera que la parte homogénea es biestable, entonces podemos escribir que:

$$g[\phi] = -\frac{\phi^2}{2} + \frac{\phi^4}{4}, \quad (\text{C.6})$$

y por tanto

$$\mu[\phi] = -\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (\text{C.7})$$

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 (C.2) y (C.7) se puede representar en el caso de una difusión o movilidad homogénea por la ecuación dinámica:

$$\frac{\partial\phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \frac{\delta\Omega_f}{\delta\phi} = D_\phi \nabla^2 [-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi]. \quad (\text{C.8})$$

En el caso que la concentración no sea una cantidad conservada, la ecuación dinámica sigue el modelo A [171] y se escribe como:

$$\frac{\partial\phi}{\partial t} = -D_\phi \frac{\delta\Omega_f}{\delta\phi} = -D_\phi [-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi]. \quad (\text{C.9})$$

C.1.2. El campo-fase en el modelo de Canham-Helfrich

Retomando las ideas de Helfrich [165, 185] para el doblamiento de membranas en una superficie cerrada con una densidad de energía elástica, nos damos cuenta que la curvatura Gaussiana se convierte en una invariante topológica según el teorema de 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 de “doblamiento”, Ω , del sistema a través de su densidad de energía queda como [171]:

$$\Omega = \frac{\kappa}{2} \int_S (J - c_0)^2 ds, \quad (\text{C.10})$$

donde J es la curvatura media, κ es una constante de restauración y ds es el elemento de área. Cabe mencionar que la curvatura espontánea c_0 en general puede depender de la posición o bien de la concentración de sustancias que delimitan la frontera. Si bien, no haremos un análisis para describir la curvatura espontánea en términos de un campo por ahora, sí consideraremos que la curvatura media al igual que la energía dependen de cada punto de la superficie S . Como el campo ϕ delimita las fases y la interfase está en $\phi = 0$, 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:

$$ds = \delta(d(\mathbf{r})) d\mathbf{r}. \quad (\text{C.11})$$

Viendo el perfil de tangente hiperbólica como una función escalón cuando $\epsilon \rightarrow 0$. Es entonces conveniente usar la definición de la delta de Dirac como la derivada de la ecuación (C.1) respecto a su argumento, esto es:

$$\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} \operatorname{sech}^4 \frac{d(\mathbf{r})}{\sqrt{2}\epsilon} = \delta(d(\mathbf{r})). \quad (\text{C.12})$$

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

$$ds = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} (1 - \phi^2)^2 d\mathbf{r}. \quad (\text{C.13})$$

Por otro lado, las derivadas del campo-fase respecto a las coordenadas son [165]:

$$\partial_i \phi = \frac{1}{\sqrt{2\epsilon}} \phi' \partial_i d, \quad (\text{C.14})$$

y

$$\partial_{ij}^2 \phi = \frac{1}{2\epsilon^2} \phi'' \partial_i d \partial_j d + \frac{1}{\sqrt{2\epsilon}} \phi' \partial_{ij}^2 d, \quad (\text{C.15})$$

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 $d(r)/\sqrt{2\epsilon}$. Si usamos las ecuaciones anteriores, podemos escribir la distancia a la interfase como función del campo de la siguiente forma:

$$\partial_{ij}^2 d = \frac{\sqrt{2\epsilon}}{1-\phi^2} [\partial_{ij}^2 \phi + \frac{2\phi}{1-\phi^2} \partial_i \phi \partial_j \phi] \equiv Q_{ij}, \quad (\text{C.16})$$

donde a Q_{ij} se le conoce como el tensor de curvatura. Considerando que la curvatura media es una invariante ante transformaciones de coordenadas, ésta puede escribirse como [165]:

$$J = \frac{1}{2} \text{tr}[\partial_{ij}^2 d]. \quad (\text{C.17})$$

Usando la ecuación C.16 y la derivada de la tangente hiperbólica obtenemos la curvatura media en términos del campo-fase como:

$$J[\phi] = -\frac{\sqrt{2}}{2\epsilon(1-\phi^2)} (-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi). \quad (\text{C.18})$$

Tomando las ecuaciones (C.13) y (C.18), la ecuación (C.10) queda descrita en términos del campo-fase como [165]:

$$\Omega[\phi(\mathbf{r})] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_V (\omega[\phi(\mathbf{r})])^2 d\mathbf{r}, \quad (\text{C.19})$$

donde

$$\omega[\phi] = -\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi - \epsilon C_0 (1 - \phi^2), \quad (\text{C.20})$$

y

$$\bar{\kappa} = \frac{3\sqrt{2}}{4\epsilon^3} \kappa. \quad (\text{C.21})$$

La curvatura espontánea $C_0 = c_0/\sqrt{2}$. V representa el volumen donde se encuentra la interfase. Cabe mencionar que el propósito del campo-fase queda explícito en la ecuación (C.19) ya que no hay que preocuparse por saber cómo cambia la interfase sino saber como se ubica en el volumen. Los primeros tres términos de la ecuación (C.20) no son más que el potencial químico del modelo de Cahn-Hilliard [186]. Por tanto,

$$\omega[\phi] = \mu[\phi] - \epsilon C_0 (1 - \phi^2). \quad (\text{C.22})$$

C.1.3. 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:

$$\Omega_{ef}[\phi] = \Omega[\phi] + \sigma_f \int_V a[\phi] d\mathbf{r}, \quad (\text{C.23})$$

donde σ_f es el multiplicador de Lagrange que asegura la conservación del área total a través de la funcional de área $a[\phi]$. Teniendo en cuenta que $a(\mathbf{r}) = \delta(d(\mathbf{r}))$ y el perfil del campo dado por la ecuación (C.1), entonces [171]:

$$a[\phi] = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} |\nabla\phi|^2. \quad (\text{C.24})$$

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

$$\int_S ds = \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \int_V a[\phi] d\mathbf{r}. \quad (\text{C.25})$$

De esta forma, podemos definir un nuevo potencial químico μ para que representa la densidad de energía como:

$$\mu[\phi] = (\phi^2 - 1)(\phi - \epsilon C_0) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (\text{C.26})$$

C.1.4. 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:

$$\frac{\partial\phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \left(\frac{\delta\Omega[\phi]}{\delta\phi} \right), \quad (\text{C.27})$$

donde D_ϕ es el coeficiente de difusión y

$$\frac{\delta\Omega[\phi]}{\delta\phi} = \frac{\partial\omega}{\partial\phi} - \nabla \frac{\partial\omega}{\partial(\nabla\phi)} + \nabla^2 \frac{\partial\omega}{\partial(\nabla^2\phi)}, \quad (\text{C.28})$$

es la derivada funcional de la energía libre considerando a ω como la densidad de energía. Si tomamos $D_\phi = 1$, la dinámica que rige el campo-fase ϕ de curvatura espontánea es:

$$\frac{\partial\phi}{\partial t} = \bar{\kappa} \nabla^2 \{ (3\phi^2 - 1 - 2\epsilon C_0(\mathbf{r})\phi) \Phi[\phi] - \epsilon^2 \nabla^2 \Phi[\phi] + \epsilon^2 \bar{\sigma}_f \nabla^2 \phi \}, \quad (\text{C.29})$$

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

C.2. Tensor de esfuerzos

Con el fin de comprender los procesos elásticos en las membranas celulares se han explorado las propiedades elásticas de objetos casi planos cuyos espesores comparados con sus superficies y volumen son pequeños [187]. La representación de la membrana como un objeto genérico que sufre procesos de deformación por doblez se puede describir por un tensor de esfuerzos σ a través de la densidad de energía elástica U_0 usando la ecuación (B.5) en forma general como:

$$\frac{\partial U_0}{\partial u_{\alpha\beta}(\vec{r})} = \sigma_{\alpha\beta}(\vec{r}), \quad (\text{C.30})$$

donde

$$u_{\alpha\beta} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_\alpha}{\partial \beta} + \frac{\partial u_\beta}{\partial \alpha} \right) \quad (\text{C.31})$$

es el tensor de deformaciones en dirección \vec{r} y u son los desplazamientos. α y β pueden tomar valores x , y y z . Con esta forma general las ecuaciones (B.1), que corresponde a las deformaciones, están representadas como:

$$\begin{aligned} \epsilon_\alpha &= u_{\alpha\alpha} \\ \gamma_{\alpha\beta} &= (1 - \delta_{\alpha\beta})u_{\alpha\beta}, \end{aligned} \quad (\text{C.32})$$

donde ϵ representa las deformaciones normales y γ representa las deformaciones de corte.

Tomando en cuenta que la teoría de Helfrich [185] proporciona las bases elásticas para la caracterización de las membranas celulares y que en la teoría de campo-fase la densidad de energía de Helfrich está descrita por las ecuaciones (C.19) y (C.22), entonces podemos reescribir el tensor de esfuerzos en equilibrio como [187]:

$$\sigma_{\alpha\beta} = \left(\Omega - \phi \frac{\delta \Omega}{\delta \phi} \right) \delta_{\alpha\beta} - \nabla_\alpha \phi \frac{\partial \Omega}{\partial (\nabla_\beta \phi)} + \nabla_\alpha \phi \nabla_\beta \frac{\partial \Omega}{\partial (\nabla^2 \phi)} + \nabla_\alpha \nabla_\beta \phi \frac{\partial \Omega}{\partial (\nabla^2 \phi)}, \quad (\text{C.33})$$

Lo importante de esta notación es que ahora el comportamiento mecánico local de las membranas se define sólo con la dinámica de ϕ . Por otra parte, los cambios del esfuerzo en dirección normal debidos a la reorganización de la membrana se relaciona con la presión \vec{P} , ya que el tensor de esfuerzos normales y la presión siguen que $P_{\alpha\beta} = -\sigma_{\alpha\beta}$. Por tanto cualquier densidad de fuerza local se puede medir y extraer información sobre la evolución mecánica de la membrana si se toma en cuenta que [187]:

$$\nabla_\beta \sigma_{\alpha\beta} = -\phi \nabla_\alpha \Omega[\phi]; \quad (\text{C.34})$$

esto es, la divergencia del tensor de esfuerzos se relaciona con la fuerza a través del gradiente de la energía libre del campo-fase. Cabe señalar que incluso las propiedades elásticas de la membrana quedan determinadas por el parámetro ϕ y por ello la importancia de usar el modelo de campo-fase para describir propiedades biológicas que se relacionen con cambios en la curvatura.

Artículos publicados

Los artículos publicados con las ideas de este trabajo se anexan en las páginas finales. A continuación se enlistan los artículos.

1. [20] Barrio RA, Romero-Arias JR, Noguez MA, Azpeitia E, Ortiz-Gutiérrez E, et al. (2013) Cell Patterns Emerge from Coupled Chemical and Physical Fields with Cell Proliferation Dynamics: The Arabidopsis thaliana Root as a Study System. *PLoS Comput Biol* 9(5). doi:10.1371/journal.pcbi.1003026
2. [153] R. A. Barrio, S. Orozco-Fuentes, R. Romero-Arias. *Modelling the Early Growth of Stem Cell Tissues*. World Scientific, 2016
3. [161] Romero-Arias JR, Hernández-Hernández V, Benítez M, Álvarez-Buylla E, Barrio RA. A model of polar auxin transport coupled to mechanical forces retrieves robust morphogenesis along the arabidopsis root. *Int J Dev Biol* 2016. (Artículo en revisión y pronto a publicarse.)

Apéndice D. Artículos publicados

Bibliografía

- [1] Lorena Caballero. *Emergencia de las formas de vida: aspectos dinámicos de la biología evolutiva*. CopIt ArXives, 2008.
- [2] Mariana Benítez Keinrad. *Desarrollo. La odisea del organismo*. CopIt ArXives, 2011.
- [3] Nanne Nanninga. Morphogenesis of escherichia coli. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62:110–129, 1998.
- [4] Dianne Fristrom. The mechanism of evagination of imaginal discs of drosophila melanogaster; iii. evidence for cell rearrangement. *Developmental Biology*, 54(2):163–171, 1976.
- [5] Mary Jane Shimell, Edwin L. Ferguson, Steven R. Childs, and Michael B. O'Connor. The drosophila dorsal-ventral patterning gene tolloid is related to human bone morphogenetic protein 1. *Cell*, 67(3):469–481, 1991.
- [6] E. D. Levin and J. J. Buccafusco, editors. *Animal Models of Cognitive Impairment*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2006.
- [7] John L Bowman, David R. Smyth, and Elliot M. Meyerowitz. Genetic interactions among floral homeotic genes of arabidopsis. *Development*, 112, 1991.
- [8] Elena R. Álvarez-Buylla, Eugenio Azpeitia, Rafael Barrio, Mariana Benitez, and Pablo 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.
- [9] Rafael Ángel Barrio, Aurora Hernández-Machado, Carmen Varea, José Roberto Romero-Arias, and Elena Álvarez-Buylla. Flower development as an interplay between dynamical physical fields and genetic networks. *PLoS ONE*, 5(10):e13523, 10 2010.
- [10] Carlos Villarreal, Pablo Padilla-Longoria, and Elena R. Álvarez-Buylla. General theory of genotype to phenotype mapping: Derivation of epigenetic landscapes from n-node complex gene regulatory networks. *Phys. Rev. Lett.*, 109(11), Sep 2012.
- [11] D. W. Thompson. *On Growth and Form*. Cambridge University Press, 1917.
- [12] A. M. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Biological Science B*, 237:37–72, 1952.
- [13] J.D. Murray. *Mathematical Biology I*. Springer, 2001.
- [14] Elena R. Alvarez-Bullya, Alvaro Chaos, Maximino Aldana, Mariana Benítez, Yuriria Cortés-Poza, Carlos Espinosa-Soto, Diego A. Hartasánchez, R. Beau Lotto, Davis Malking, Gerardo J. Escalera Santos, and Pablo Padilla-Longoria. Floral morphogenesis: Stochastic explorations of gene network epigenetic landscape. *PloS ONE*, 2008.
- [15] Alvaro Chaos, Max Aldana, Carlos Espinosa-Soto, Berenice García Ponce de León, Adriana 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.
- [16] L Caballero, M Benítez, ER Álvarez-Buylla, S. Hernández, AV Arzola, and G. Cocho. An epigenetic model for pigment patterning based on mechanical and cellular interactions. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 318:209—223, 2012.

Bibliografía

- [17] Robert Sablowski. Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? *Trends in Cell Biology*, 14(11):605–6011, 2004.
- [18] Alan C. Newell, Patrick D. Shipman, and Zhiying Sun. Phyllotaxis: cooperation and competition between mechanical and biochemical processes. *J. Theor. Biol.*, 251(3):421–39, April 2008.
- [19] A. Mammoto, T. Mammoto, and D. E. Ingber. Mechanosensitive mechanisms in transcriptional regulation, 2012.
- [20] R. A. Barrio, José Roberto Romero-Arias, M. A. Noguez, Eugenio Azpeitia, Elizabeth Ortiz-Gutierrez, Valeria Hernández, Yuriria Cortés-Poza, and Elena R. Álvarez-Buylla. Cell patterns emerge from coupled chemical and physical fields with cell proliferation dynamics: The arabidopsis thaliana root as a study system. *PLoS Comput. Biol.*, 9, 2013.
- [21] Valeria Hernández-Hernández, Denisse Rueda, Lorena Caballero, Elena R. Álvarez-Buylla, and Mariana Benítez. Mechanical forces as information: an integrated approach to plant and animal development. *Frontiers in Plant Science*, 5(265), 2014.
- [22] Arun Sampathkumar, An Yan, Pawel Krupinski, and Elliot M Meyerowitz. Physical forces regulate plant development and morphogenesis. *Curr. Biol.*, 24(10):R475–R483, May 2014.
- [23] Johannes Jaeger and John Reinitz. On the dynamic nature of positional information. *BioEssays*, 28(11):1102–1111, 2006.
- [24] J. D. Amack and M. L. Manning. Knowing the boundaries: Extending the differential adhesion hypothesis in embryonic cell sorting, 2012.
- [25] Olivier Hamant. Widespread mechanosensing controls the structure behind the architecture in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 16:654–660, 2013.
- [26] Behurz Bozorg, Pavel Krupinski, and Henrik Jönsson. Stress and strain provide positional and directional cues in development. *PLoS Comput. Biol.*, 10(1):e1003410, 2014.
- [27] K.J. Niklas and H.C. Spatz. *Plant Physics*. University of Chicago Press, 2012.
- [28] Bert De Rybel, Milad Adibi, Alice S. Breda, Jos R. Wendrich, Margot E. Smit, Ondřej Novák, Nobutoshi Yamaguchi, Saiko Yoshida, Gert Van Isterdael, Joakim Palovaara, Bart Nijse, Mark V. Boekschoten, Guido Hooiveld, Tom Beeckman, Doris Wagner, Karin Ljung, Christian Fleck, and Dolf Weijers. Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in arabidopsis. *Science*, 345(6197), 2014.
- [29] David R. Smyth, John L. Bowman, and Elliot M. Meyerowitz. Early flower development in arabidopsis. *The Plant Cell*, 2:755–767, 1990.
- [30] E. S. Coen and E. M. Meyerowitz. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 353:31–37, 1991.
- [31] Olivier Hamant, Marcus G. Heisler, Henrik Jönsson, Pawel Krupinski, Magalie Uyttewaal, Plamen Bokov, Francis Corson, Patrik Sahlin, Arezki Boudaoud, Elliot M. Meyerowitz, Yves Couder, and Jan Traas. Developmental patterning by mechanical signals in arabidopsis. *Science*, 322(5908):1650–1655, 2008.

- [32] Ben Scheres. Plant cell identity. the role of position and lineage. *Plant Physiol*, 135:112–114, 2001.
- [33] Ben Scheres. Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8(5):345–54, 5 2007.
- [34] Linheng Li and Ting Xie. Stem cell niche: structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 21:605–31, 2005.
- [35] Olivier Hamant, Jan Traas, and Arezki Boudaoud. Regulation of shape and patterning in plant development. *Curr Opin Genet Dev*, 20(4):454–9, 8 2010.
- [36] Serena Perilli, Riccardo Di Mambro, and Sabrina Sabatini. Growth and development of the root apical meristem. *Curr Opin Plant Biol*, 15(1):17–23, 2 2012.
- [37] Sui Huang. The molecular and mathematical basis of Waddington’s epigenetic landscape: A framework for post-Darwinian biology? *BioEssays*, 34(2):149–157, February 2012.
- [38] SA Newman and R Bhat. Dynamical patterning modules: physico-genetic determinants of morphological development and evolution. *Phys Biol.*, 5(1), 2008.
- [39] Stuart A. Newman and Ramray Bhat. Dynamical patterning modules: a “pattern language” for development and evolution of multicellular form. *Int. J. Dev. Biol.*, 53:693–705, 2009.
- [40] Fernandes AN, X Chen, Scotchford CA, J Walker, Wells DM, Roberts CJ, and Everitt NM. Mechanical properties of epidermal cells of whole living roots of *Arabidopsis thaliana*: An atomic force microscopy study. *Phys. Rev. E*, 85:21916, 2012.
- [41] Dorota 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.
- [42] Dorota Kwiatkowska. Flowering and apical meristem growth dynamics. *Journal of Experimental Botany*, 59:187–201, 2008.
- [43] Jones Russell, Helen Ougham, Howard Thomas, and Susan Waaland. *The Molecular Life of Plants*. Wiley-Blackwell, John Wiley & Sons, www.wiley.com/go/jones/molecularlifefplants, 2013.
- [44] Simon van Mourik, Kerstin Kaufmann, Aalt D. J. van Dijk, Gerco C. Angenent, Roeland M. H. Merks, and Jaap Molenaar. Simulation of organ patterning on the floral meristem using a polar auxin transport model. *PLoS ONE*, 7(1):e28762, 01 2012.
- [45] S.D. Hester, J.M. Belmonte, . Gens, J.S, . Clendenon, S.G, and J.A. Glazier. A multi-cell, multi-scale model of vertebrate segmentation and somite formation. *PLoS Comput Biol.*, 7(10):e1002155, doi:10.1371/journal.pcbi.1002155, 2011.
- [46] Eugenio Azpeitia, Mariana Benítez, Iliusi Vega, Carlos Villareal, and Elena R Alvarez-Buylla. Single-cell and coupled grn models of cell patterning in the *arabidopsis thaliana* root stem cell niche. *BMC Systems Biology*, 4(134), 2010.
- [47] John L. Bowman, Gary N. Drews, and Elliot M. Meyerowitz. Expression of the *arabidopsis* floral homeotic gene *agamous* is restricted to specific cell types late in flower development. *The Plant Cell*, 3:749–758, 1991.

Bibliografia

- [48] The Arabidopsis Genome Initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408:796–815, 2000.
- [49] Keni Jiang and Lewis J. Feldman. Regulation of root apical meristem development. *The Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21:485–509, 2005.
- [50] F.A.L. Clowes. *Apical Meristems*. Blackwell Science, Oxford, U.K., 1961.
- [51] S. Shishkova, T.L. Rost, and J. G. Dubrovsky. Determinate root growth and meristem maintenance in angiosperms. *Annals of Botany*, 101:319–340, 2008.
- [52] B. Scheres, HI McKhann, and C Van Den Berg. Roots redefined: Anatomical and genetic analysis of root development. *Plant Physiol*, 111:959–964, 1996.
- [53] Amram Eshel and Tom Beeckman, editors. *Plant Roots. The Hidden Half*. Taylor & Francis Group, LLC, fourth edition edition, 2013.
- [54] S Sabatini, D Beis, H Wolkenfelt, J Murfett, T Guilfoyle, J Malamy, P Benfey, O Leyser, N Bechtold, P Weisbeek, and B Scheres. An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. *Cell*, 99:463–472, 1999.
- [55] Sara V. Petersson, Annika I. Johansson, Mariusz Kowalczyk, Alexander Makoveychuk, Jean Y. Wang, Thomas Moritz, Markus Grebe, Philip N. Benfey, Göran Sandberg, and Karin Ljung. An auxin gradient and maximum in the arabidopsis root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of *iaa* distribution and synthesis. *Plant Cell*, 21:1659–1668, 2009.
- [56] P Overvoorde, H Fukaki, and T. Beeckman. Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 2(6), 2010.
- [57] Victor B. Ivanov and Joseph G. Dubrovsky. Longitudinal zonation pattern in plant roots: Conflicts and solutions, 2013.
- [58] Lincoln Taiz and Eduardo Zeiger. *Plant Physiology*. Sinauer, 4th edition, 2006.
- [59] Daniel J. Cosgrove. Growth of the plant cell wall. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 6(11):850–861, 2005.
- [60] Przemyslaw Wojtaszek. Mechanical integration of plant cells and plants. *Mech. Integr. Plant Cells Plants*, 9:53–90, 2011.
- [61] Ulrike Homann. Fusion and fission of plasma-membrane material accommodates for osmotically induced changes in the surface area of guard-cell protoplasts. *Planta*, 206:329–333, 1998.
- [62] L. Dolan, K. Janmaat, V. Willemsen, P. Linstead, S. Poethig, K. Roberts, and B. Scheres. Cellular organisation of the *arabidopsis thaliana* root. *Development*, 119(1):71–84, 1993.
- [63] Z Ding and J L Friml. Auxin regulates distal stem cell differentiation in arabidopsis roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26):12046–51, 2010.
- [64] L. Di Laurenzio, J. Wysocka-Diller, J.E. Malamy, L. Pysh, Y. Helariutta, G. Freshour, M.G. Hahn, K.A. Feldmann, and P.N. Benfey. The scarecrow gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the arabidopsis root. *Cell*, 86:423–433, 1996.

- [65] J.E. Malamy and P.N. Benfey. Analysis of scarecrow expression using a rapid system for assessing transgene expression in arabidopsis roots. *Plant J*, 12:957–963, 1997.
- [66] S. Sabatini, R. Heidstra, and M. Wildwater. Scarecrow is involved in positioning the stem cell niche in the arabidopsis root meristem. *Gen Dev*, 17:354–358, 2003.
- [67] J. Xu, H. Hofhuis, R. Heidstra, M. Sauer, J. Friml, and B. Scheres. A molecular framework for plant regeneration. *Science*, 311:385–388, 2006.
- [68] Ikram Blilou, Jian Xu, Marjolein Wildwater, Viola Willemsen, Ivan Paponov, Jiří Friml, Renze Heidstra, Mitsuhiro Aida, Klaus Palme, and Ben Scheres. The pin auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in arabidopsis roots. *Nature*, 433:39–44, 2005.
- [69] VA Grieneisen, J Xu, P Marée, AFand Hogeweg, and B. Scheres. Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. *Nature*, 449:1008–1013., 2007.
- [70] S. Guimil and C. Dunand. Patterning of arabidopsis epidermal cells: epigenetic factors regulate the complex epidermal cell fate pathway. *Trends Plant Sci*, 11:601–609, 2006.
- [71] U. Kutschera and K. J. Niklas. The epidermal growth control theory of stem elongation: an old and a new perspective. *J. Plant Physiol.*, 164(11):1395–409, 2007.
- [72] M. Benítez, C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, and E.R. Alvarez-Buylla. Interlinked nonlinear subnetworks underlie the formation of robust cellular patterns in arabidopsis epidermis: a dynamic spatial model. *bmc. Syst. Biol.*, 2:98, 2008.
- [73] J. Schiefelbein, S-H. Kwak, Y. Wieckowski, C. Barron, and A. Bruex. The gene regulatory network for root epidermal cell-type pattern formation in arabidopsis. *J Exp Bot*, 60:1515–1521, 2009.
- [74] C. M. Duckett, C. Grierson, P. Linstead, K. Schneider, E. Lawson, C. Dean, S. Poethig, and K. Roberts. Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of arabidopsis. *Development*, 120(9):2465–2474, 1994.
- [75] U Kutschera. The role of the epidermis in the control of elongation growth in stems and coleoptiles. *Bot. Acta*, 105:246–252, 1992.
- [76] Silvia Perotto and František Baluška, editors. *Signaling and Communication in Plant Symbiosis*. 11. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1 edition, 2012.
- [77] Eva Zažímalová, Jan Petršsek, and Eva Benková, editors. *Auxin and Its Role in Plant Development*. Springer-Verlag Wien, 1 edition, 2014.
- [78] Takashi Ishida, Sumiko Adachi, Mika Yoshimura, Kohei Shimizu, Masaaki Umeda, and Keiko Sugimoto. Auxin modulates the transition from the mitotic cycle to the endocycle in arabidopsis. *Development*, 137(1):63–71, 2010.
- [79] Raffaele Dello Ioio, Kinu Nakamura, Laila Moubayidin, Serena Perilli, Masatoshi Taniguchi, Miyo T. Morita, Takashi Aoyama, Paolo Costantino, and Sabrina Sabatini. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science*, 322(5906):1380–1384, 2008.

Bibliografia

- [80] S Vanneste and J. Friml. Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136(6):1005–1016., 2009.
- [81] TJ Guilfoyle and G. Hagen. Auxin response factors. *Curr Opin Plant Biol.*, 10:453–460, 2007.
- [82] K Mockaitis and M Estelle. Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 24:55–80, 2008.
- [83] Roni Aloni, Erez Aloni, Markus Langhans, and Cornelia I. Ullrich. Role of auxin in regulating arabidopsis ower development. *Planta*, 223:315–328, 2006.
- [84] Marta Laskowski, Verônica A. Grieneisen, Hugo Hofhuis, Colette A. Ten Hove, Paulien Hogeweg, Athanasius F. M. Marée, and Ben Scheres. Root system architecture from coupling cell shape to auxin transport. *PLoS Biol.*, 6:2721–2735, 2008.
- [85] Pankaj Dhonukshe. Cell polarity in plants: Linking pin polarity generation mechanisms to morphogenic auxin gradients. *Commun. Integr. Biol.*, 2(2):184–90, March 2009.
- [86] Klaartje van Berkel, Rob J de Boer, Ben Scheres, and Kirsten ten Tusscher. Polar auxin transport: models and mechanisms. *Development*, 140:2253–68, 2013.
- [87] R Swarup and M Bennett. Auxin transport: the fountain of life in plants? *Dev Cell*, 5(6):824–826, 2003.
- [88] Anne Vieten, Steffen Vanneste, Justyna Wisniewska, Eva Benková, René Benjamins, Tom Beeckman, Christian Luschnig, and Jirí Friml. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development*, 132:4521–4531, 2005.
- [89] J Petrásek, J Mravec, R Bouchard, JJ Blakeslee, M Abas, D Seifertová, J Wisniewska, Z Tadele, M Kubes, M Covanová, P Dhonukshe, and Skupa P. Pin proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. *Science*, 312:914–918., 2006.
- [90] VV Mironova, NA Omelyanchuk, G Yosiphon, SI Fadeev, NA Kolchanov, E Mjolsness, and VA Likhoshvai. A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root. *BMC Syst Biol.*, 4(98), 2010.
- [91] Franck Anicet Ditengou, William D. Teale, Philip Kochersperger, Karl Andreas Flittner, Irina Kneuper, Eric van der Graaff, Hugues Nziengui, Francesco Pinoso, Xugang Li, Roland Nitschke, Thomas Laux, and Klaus Palme. Mechanical induction of lateral root initiation in arabidopsis thaliana. *PNAS*, 105(48):18818–18823, December 2008.
- [92] Franck Anicet Ditengou, William D. Teale, Philip Kochersperger, Karl Andreas Flittner, Irina Kneuper, Eric van der Graaff, Hugues Nziengui, Francesco Pinoso, Xugang Li, Roland Nitschke, Thomas Laux, and Klaus Palme. Mechanical induction of lateral root initiation in arabidopsis thaliana. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105:18818–18823, 2008.
- [93] K Palme, A Dovzhenko, and Ditengou FA. Auxin transport and gravitational research: perspectives. *Protoplasma.*, 229:175–181., 2006.
- [94] J Kleine-Vehn, Z Ding, AR Jones, M Tasaka, MT Morita, and J Friml. Gravity-induced pin transcytosis for polarization of auxin fluxes in gravity-sensing root cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(51):22344–22349., 2010.

- [95] Marcus G. Heisler, Olivier Hamant, Pawel Krupinski, Magalie Uyttewaal, Carolyn Ohno, Henrik Jönsson, Jan Traas, and Elliot M. Meyerowitz. Alignment between pin1 polarity and microtubule orientation in the shoot apical meristem reveals a tight coupling between morphogenesis and auxin transport. *PLoS Biol*, 8(10):e1000516, 10 2010.
- [96] Naomi Nakayama, Richard S. Smith, Therese Mandel, Sarah Robinson, Seisuke Kimura, Arezki Boudaoud, and Cris Kuhlemeier. Mechanical regulation of auxin-mediated growth. *Curr. Biol.*, 22:1468–1476, 2012.
- [97] Veronica A. Grieneisen, Jian Xu, Athanasius F. M. Marée, Paulien Howeweg, and Ben Scheres. Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. *Nature*, 449, October 2007.
- [98] Elena Feraru and Jiří Friml. Pin polar targeting. *Plant. Physiol.*, 147(4):1553–1559, 2008.
- [99] Justyna Wisniewska, Jian Xu, Daniela Seifertová, Philip B. Brewer, Kamil Ruzicka, Ikram Blilou, David Rouquié, Eva Benková, Ben Scheres, and Jiří Friml. Polar pin localization directs auxin flow in plants. *Science*, 312:883, 2006.
- [100] J Kleine-Vehn and J Friml. Polar targeting and endocytic recycling in auxin-dependent plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 24:447–473, 2008.
- [101] V B Ivanov. Relationship between cell proliferation and transition to elongation in plant roots. *Int J Dev Biol*, 41(6):907–15, 12 1997.
- [102] Lieven De Veylder, Tom Beeckman, and Dirk Inzé. The ins and outs of the plant cell cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8(8):655–65, 8 2007.
- [103] Laila Moubayidin, Serena Perilli, Raffaele Dello Ioio, Riccardo Di Mambro, Paolo Costantino, and Sabrina Sabatini. The rate of cell differentiation controls the Arabidopsis root meristem growth phase. *Curr Biol*, 20(12):1138–43, 6 2010.
- [104] AW Woodward and B. Bartel. Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot.*, 95(5):707–735., 2005.
- [105] W. Dewitte and J. a H. Murray. The plant cell cycle. *Annual review of plant biology*, 54:235–264, 2003.
- [106] D. Inzé and L. De Veylder. Cell cycle regulation in plant development. *Annual review of genetics*, 40:77–105, 2006.
- [107] R.P. Huntley and J. a Murray. The plant cell cycle. *Current opinion in plant biology*, 2:440–446, 2009.
- [108] C Gutierrez. The arabidopsis cell division cycle. the arabidopsis book. *American Society of Plant Biologists*, pages 1–19, 2009.
- [109] E. Ortiz-Gutiérrez, K. García-Cruz, E. Azpeitia, A. Castillo, MdlP Sánchez, and ER Álvarez-Buylla. A dynamic gene regulatory network model that recovers the cyclic behavior of arabidopsis thaliana cell cycle. *PLoS Comput Biol.*, 11(9), 2015.
- [110] J.C. del Pozo, S. Diaz-Trivino, N. Cisneros, and C. Gutierrez. The e2fc-dpb transcription factor controls cell division, endoreplication and lateral root formation in a scf-skp2a-dependent manner. *The Plant cell*, 18:2224–2235, 2006.

Bibliografia

- [111] S. Planchais, A.K. Samland, and J.A.H. Murray. Differential stability of arabidopsis d-type cyclins: *Cycd3;1* is a highly unstable protein degraded by a proteasome-dependent mechanism. *The Plant Journal*, 38:616–625, 2004.
- [112] Franck Ditengou William D. Teale, Ivan A. Paponov and Klaus Palme. Auxin and the developing root of arabidopsis thaliana. *Physiologia Plantarum*, 123:130–138, 2005.
- [113] Lionel Dupuy, Jonathan Mackenzie, and Jim Haseloff. Coordination of plant cell division and expansion in a simple morphogenetic system. *PNAS*, 107(6):2711–2716, February 2010.
- [114] Peter Schopfer. Biomechanics of plant growth. *American Journal of Botany*, 93(10):1415–1425, 2006.
- [115] Vincent Mirabet, Pradeep Das, Arezki Boudaoud, and Olivier Hamant. The role of mechanical forces in plant morphogenesis. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 62:365–385, 2011.
- [116] Bela Mulder. On growth and force. *Science*, 322:1643–1644, 2008.
- [117] G. M. Cooper. *The Cell: A Molecular Approach*. Sinauer Associates, 2nd edition, 2000.
- [118] Alexander R. Paredez, Christopher R. Somerville, and David W. Ehrhardt. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, 312:1491–1495, 2006.
- [119] Gabriele B. Monshausen and Simon Gilroy. Feeling green: mechanosensing in plants. *Trends in Cell Biology*, 19(5):228–235, 2009.
- [120] C. Jay-Allemand M. Lucas, C. Godin and L. Laplaze. Auxin fluxes in the root apex co-regulate gravitropism and lateral root initiation. *Journal of Experimental Botany*, 59(1):55–66, 2008.
- [121] Mikael Lucas, Kim Kenobi, Daniel von Wangenheim, Ute Voß, Kamal Swarup, Ive De Smet, Daniël Van Damme, Tara Lawrence, Benjamin Péret, Eric Moscardi, Daniel Barbeau, Christophe Godin, David Salt, Soazig Guyomarc’h, Ernst H K Stelzer, Alexis Maizel, Laurent Laplaze, and Malcolm J Bennett. Lateral root morphogenesis is dependent on the mechanical properties of the overlaying tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 110:5229–34, 2013.
- [122] Gregory L. Richter, Gabriele B. Monshausen, Alexandra Krol, and Simon Gilroy. Mechanical stimuli modulate lateral root organogenesis. *Plant Physiol.*, 151:1855–1866, 2009.
- [123] Siobhan A. Braybrook and Alexis Peaucelle. Mechano-chemical aspects of organ formation in arabidopsis thaliana: The relationship between auxin and pectin. *PLoS One*, 8, 2013.
- [124] Lothar Köhler and Hanns Christof Spatz. Micromechanics of plant tissues beyond the linear-elastic range. *Planta*, 215:33–40, 2002.
- [125] U. Kutschera and K. J. Niklas. The epidermal-growth-control theory of stem elongation: An old and a new perspective, 2007.
- [126] Roeland M.H. Merks, Michael Guravage, Dirk Inzé, and Gerrit T.S. Beemster. Virtualleaf: An open-source framework for cell-based modeling of plant tissue growth and development. *Plant Physiology*, 155:656–666, February 2011.
- [127] B E Shapiro, H Jönsson, P Sahlin, M Heisler, A Roeder, M Bulr, E M Meyerowitz, and ED Mjolsness. Tessellations and pattern formation in plant growth and development. *arXiv*, 2011.

- [128] Hisao Honda. Description of cellular patterns by dirichlet domains: the two-dimensional case. *Journal of Theoretical Biology*, 72:523–543, 1978.
- [129] Przemyslaw Prusinkiewicz and Aristid Lindenmayer, editors. *The algorithmic beauty of plants*. Springer Verlag, electronic edition, 1990.
- [130] Tim Rudge and Jim Haseloff. A computational model of cellular morphogenesis in plants. In M. Capcarrere et al., editor, *LNAI*, volume 3630, pages 78–87. ECAL 2005, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2005.
- [131] J. Nieuwland, S. Scofield, and J. A. H. Murray. Control of division and differentiation of plant stem cells and their derivatives. *Seminars in cell & developmental biology*, 20:1134–1142, 2009.
- [132] Philip M. Lintilhac. The problem of morphogenesis: Unscripted biophysical control systems in plants, 2013.
- [133] Joop E M Vermeer, Daniel von Wangenheim, Marie Barberon, Yuree Lee, Ernst H K Stelzer, Alexis Maizel, and Niko Geldner. A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in Arabidopsis. *Science*, 343:178–83, 2014.
- [134] Glenn Freshour, Christopher P. Bonin, Wolf-Dieter Reiter, Peter Albersheim, Alan G. Darvill, and Michael G. Hahn. Distribution of fucose-containing xyloglucans in cell walls of the mur1 mutant of arabidopsis. *Plant Physiol.*, 131:1602–1612, 2003.
- [135] Yulia Fridman, Liron Elkouby, Neta Holland, Kristina Vragović, Rivka Elbaum, and Sigal Savaldi-Goldstein. Root growth is modulated by differential hormonal sensitivity in neighboring cells. *Genes Dev.*, 28:912–20, 2014.
- [136] P.B. Green. Mechanism for plant celular morphogenesis. *Science*, 138(3548):1404–1405, 1962.
- [137] Margit Menges, Sarah M. De Jager, Wilhelm Gruissem, and James A.H. Murray. Global analysis of the core cell cycle regulators of Arabidopsis identifies novel genes, reveals multiple and highly specific profiles of expression and provides a coherent model for plant cell cycle control. *Plant Cell*, 41:546–566, 2005.
- [138] Margit Menges, Lars Hennig, Wilhelm Gruissem, and James A H Murray. Genome-wide gene expression in an Arabidopsis cell suspension. *Plant molecular biology*, 53(4):423–42, 11 2003.
- [139] M. Menges, A.K. Samland, and J.A.H. Murray. The d-type cyclin *cycd3:1* is limiting for the g1-to-s-phase transition in arabidopsis. *The Plant cell*, 18:893–906, 2006.
- [140] Catherine Perrot-Rechenmann. Cellular responses to auxin: division versus expansion. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2(5):a001446, 5 2010.
- [141] Gerrit T.S. Beemster and Tobias I. Baskin. Analysis of cell division and elongation underlying the developmental acceleration of root growth in arabidopsis thaliana. *Plant Physiol*, 116:1515–1526, 1998.
- [142] Vincent Mirabet, Das Pradeep, Arezki Boudaoud, and Olivier Hamant. The role of mechanical forces in plant morphogenesis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 62:365–385, 2011.
- [143] José Roberto Romero-Arias. Programas para crecer los meristemos de la raíz. 2015.

Bibliografia

- [144] Geraldine Brunoud, Darren M. Wells, Marina Oliva, Antoine Larrieu, Vincent Mirabet, Amy H. Burrow, Tom Beeckman, Stefan Kepinski, Jan Traas, Malcolm J. Bennett, and Teva Vernoux. A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution. *Nature*, 482(7383):103–106, 02 2012.
- [145] Tobias I. Baskin. On the constancy of cell division rate in the root meristem. *Plant Molecular Biology*, 43:545–554, 2000.
- [146] Viktor B. Ivanov, Alexander E. Dobrochaev, and Tobias I. Baskin. What the distribution of cell lengths in the root meristem does and does not reveal about cell division. *J. Plant Growth Regul.*, 21:60–67, 2002.
- [147] Jean-Pierre Verbelen, Tinne De Cnodder, Jie Le, Kris Vissenberg, and Frantisek Baluska. The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities. *Plant Signaling & Behavior*, 1(6):296–304, November/December 2006.
- [148] Hiroto Takatsuka and Masaaki Umeda. Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in roots. *J. Exp. Bot.*, 65:2633–2643, 2014.
- [149] Nathanaël Prunet, Patrice Morel, Ioan Negrutiu, and Christophe Trehin. Time to stop: Flower meristem termination. *Plant Physiol*, 150:1764–1772, 2009.
- [150] A.K. Sarkar, M. Luijten, S. Miyashima, M. Lenhard, T. Hashimoto, K. Nakajima, B. Scheres, R. Heidstra, and T. Laux. Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers. *Nature*, 446(7137):811–814, april 2007.
- [151] Renze Heidstra and Sabrina Sabatini. Plant and animal stem cells: similar yet different. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15(5):301–312, 05 2014.
- [152] S-J Dun, PL Appleton, SA Nelson, IS N’athke, DJ Gavaghan, and JM Osborne. A two-dimensional model of the colonic crypt accounting for the role of the basement membrane and pericryptal fibroblast sheath. *PLoS Comput Biol*, 8(5):1–20, 05 2012.
- [153] R. A. Barrio, S. Orozco-Fuentes, and R. Romero-Arias. *Modelling the Early Growth of Stem Cell Tissues*. World Scientific, 2016.
- [154] Verônica A. Grieneisen, Ben Scheres, Paulien Hogeweg, and Athanasius F. M. Marée. Morphogen engineering roots: comparing mechanisms of morphogen gradient formation. *BMC System Biology*, 6(37), 2012.
- [155] KH Ten Tusscher and P Hogeweg. Evolution of networks for body plan patterning; interplay of modularity, robustness and evolvability. *PLoS Comput Biol.*, 7(10), 2011.
- [156] Tomasz Paciorek, Eva Zazimalová, Nadia Ruthardt, Jan Petrásek, York-Dieter Stierhof, Jürgen Kleine-Vehn, David a Morris, Neil Emans, Gerd Jürgens, Niko Geldner, and Jiri Friml. Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. *Nature*, 435(7046):1251–6, June 2005.
- [157] Stéphanie Robert, Jürgen Kleine-Vehn, Elke Barbez, Michael Sauer, Tomasz Paciorek, Pawel Baster, Steffen Vanneste, Jing Zhang, Sibin Simon, Milada Čovanová, Kenichiro Hayashi, Pankaj Dhonukshe, Zhenbiao Yang, Sebastian Y Bednarek, Alan M Jones, Christian Luschnig, Fernando Aniento, Eva Zazimalová, and Jiří Friml. ABP1 mediates auxin inhibition of clathrin-dependent endocytosis in *Arabidopsis*. *Cell*, 143(1):111–21, October 2010.

- [158] Krzysztof Wabnick, Jürgen Kleine-Vehn, Jozef Balla, Michael Sauer, Satoshi Naramoto, Vilém Reinöhl, Roeland M H Merks, Willy Govaerts, and Jiří Friml. Emergence of tissue polarization from synergy of intracellular and extracellular auxin signaling. *Mol. Syst. Biol.*, 6(447):447, December 2010.
- [159] Pankaj Dhonukshe, Ilya Grigoriev, Rainer Fischer, Motoki Tominaga, David G Robinson, Jiri Hasek, Tomasz Paciorek, Jan Petrásek, Daniela Seifertová, Ricardo Tejos, Lee a Meisel, Eva Zazímalová, Theodorus W. J. Gadella, York-Dieter Stierhof, Takashi Ueda, Kazuhiro Oiwa, Anna Akhmanova, Roland Brock, Anne Spang, and Jiří Friml. Auxin transport inhibitors impair vesicle motility and actin cytoskeleton dynamics in diverse eukaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105(11):4489–94, March 2008.
- [160] Xu Chen, Satoshi Naramoto, Stephanie Robert, Ricardo Tejos, Christian Löffke, Deshu Lin, Zhenbiao Yang, and Jiří Friml. Abp1 and rop6 gtpase signaling regulate clathrin-mediated endocytosis in arabidopsis roots. *Curr. Biol.*, 22:1326–1332, 2012.
- [161] José Roberto Romero-Arias, Valeria Hernández-Hernández, Mariana Benítez, Elena Álvarez-Buylla, and R. A. Barrio. A model of polar auxin transport coupled to mechanical forces retrieves robust morphogenesis along the arabidopsis root. 2016.
- [162] A. Hernández-Machado, A. M. Lacasta, E. Mayoral, and E. Corvera Poiré. Phase-field model of hele-shaw flows in the high-viscosity contrast regime. *Physics Reports E*, 68, 2003.
- [163] V.B. Ivanov. Maintenance and cessation of cell proliferation (a review). *Russian Journal of Plant Physiology*, 51(6):834–847, 2004.
- [164] Paul B. Green. Growth and cell pattern formation on an axis: critique of concepts, terminology, and modes of study. *Bot. Gaz*, 137(3):187–202, 1976.
- [165] Félix Campelo and Aurora Hernández-Machado. Dynamic model and stationary shapes of fluid vesicles. *Eur. Phys. J. E.*, 20(1):37–45, 2006.
- [166] Félix Campelo and Aurora Hernández-Machado. Shape instabilities in vesicles: A phase-field model. *Eur. Phys. J. Special Topics*, 143:101, 2007.
- [167] B. Scheres. Roots repond to an inner calling. *Nature*, 465:299–300, 2010.
- [168] Lorena Marisol García Iglesias. Modelos de campo fase en el estudio de los meristemas. Master’s thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.
- [169] Carmen Varea, Rafael Angel Barrio, and Aurora Hernández-Machado. Curvature multiphase filed model for phase separation on membrane. *Phys. Rev. E*, 84(6), 2011.
- [170] C. B. Picallo, R. A. Barrio, C. Varea, T. Alarcón, and A. Hernandez-Machado. Phase-field modelling of the dynamics of z-ring formation in liposomes: Onset of constriction and coarsening. *The European Physical Journal E*, 38(6):1–6, 2015.
- [171] Félix Campelo. *Shapes in Cells*. PhD thesis, Universitat de Barcelona, 2008.
- [172] X Gao, S. Nagawa, J. Wang, and Z. Yang. Cell polarity signaling: focus on polar auxin transport. *Molecular Plant*, 1(16):899–909, 2008.

Bibliografía

- [173] Valeria Hernández-Hernández, Karl J Niklas, Stuart a Newman, and Mariana Benítez. Dynamical patterning modules in plant development and evolution. *Int. J. Dev. Biol.*, 56:661–74, 2012.
- [174] Shingo Nagawa, Tongda Xu, Deshu Lin, Pankaj Dhonukshe, Xingxing Zhang, Jiri Friml, Ben Scheres, Ying Fu, and Zhenbiao Yang. ROP GTPase-dependent actin microfilaments promote PIN1 polarization by localized inhibition of clathrin-dependent endocytosis. *PLoS Biol.*, 10, 2012.
- [175] S. Etienne-Manneville and A. Hall. Rho gtpases in cell biology. *Nature*, 420(6916):629–635, 2002.
- [176] Deshu Lin, Lingyan Cao, Zhenzhen Zhou, Lei Zhu, David Ehrhardt, Zhenbiao Yang, and Ying Fu. Rho GTPase signaling activates microtubule severing to promote microtubule ordering in arabidopsis. *Curr. Biol.*, 23:290–297, 2013.
- [177] Elena Feraru and Jiří Friml. Pin polar targeting. *Plant physiology*, 147(4):1553–1559, 2008.
- [178] J. Kleine-Vehn, F. Huang, S. Naramoto, J. Zhang, M. Michniewicz, R. Offringa, and J. Friml. Pin auxin efflux carrier polarity is regulated by pinoid kinase-mediated recruitment into gnom-independent trafficking in arabidopsis. *The Plant Cell*, 21(12):3839–3849, 2009.
- [179] H. Wolters, N. Anders, N. Geldner, R. Gavidia, and G. Jürgens. Coordination of apical and basal embryo development revealed by tissue specific gnom functions. *Development*, 138(1):117–126, 2011.
- [180] Pankaj Dhonukshe. Mechanistic framework for establishment, maintenance, and alteration of cell polarity in plants. *The Scientific World Journal*, 2012:981658.
- [181] Elena Feraru, Mugurel Ioan Feraru, Jürgen Kleine-Vehn, Alexandre Martinière, Grégory Mouille, Steffen Vanneste, Samantha Vernhettes, John Runions, and Jiří Friml. PIN polarity maintenance by the cell wall in Arabidopsis. *Curr. Biol.*, 21(4):338–43, February 2011.
- [182] E.M. LIFSHITZ, A.M. KOSEVICH, and L.P. PITAEVSKII. *Theory of Elasticity (Third Edition)*. Butterworth-Heinemann, Oxford, third edition edition, 1986.
- [183] L D Landau and E M Lifshitz. *Statistical Physics*, volume 5. Butterworth-Heinemann, 3 edition, 1980.
- [184] P. A. Canham. The minimum energy of bending as a possible explanation of the bincocave shape of the human red blood cell. *J. Theor. Biol*, 26(1):61–81, 1970.
- [185] Helfrich W. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforsch*, 28:693–703, 1973.
- [186] J. W. Cahn and Hilliard J. E. Free energy of a nonuniform system. interfacial energy. *J. Chem. Phys.*, 28:258, 1958.
- [187] Guillermo R. Lázaro, Ignacio Pagonabarraga, and Aurora Hernández-Machado. Phase-field theories for mathematical modeling of biological membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 185:46–60, 2015.

Artículos publicados

Cell Patterns Emerge from Coupled Chemical and Physical Fields with Cell Proliferation Dynamics: The *Arabidopsis thaliana* Root as a Study System

Rafael A. Barrio^{1*}, José Roberto Romero-Arias¹, Marco A. Noguez², Eugenio Azpeitia^{3,4}, Elizabeth Ortiz-Gutiérrez^{3,4}, Valeria Hernández-Hernández^{3,4}, Yuriria Cortes-Poza⁴, Elena R. Álvarez-Buylla^{3,4*}

1 Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, Distrito Federal, México, **2** Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Mexico, Distrito Federal, México, **3** Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, Distrito Federal, México, **4** Centro de Ciencias de la Complejidad-C3, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México

Abstract

A central issue in developmental biology is to uncover the mechanisms by which stem cells maintain their capacity to regenerate, yet at the same time produce daughter cells that differentiate and attain their ultimate fate as a functional part of a tissue or an organ. In this paper we propose that, during development, cells within growing organs obtain positional information from a macroscopic physical field that is produced in space while cells are proliferating. This dynamical interaction triggers and responds to chemical and genetic processes that are specific to each biological system. We chose the root apical meristem of *Arabidopsis thaliana* to develop our dynamical model because this system is well studied at the molecular, genetic and cellular levels and has the key traits of multicellular stem-cell niches. We built a dynamical model that couples fundamental molecular mechanisms of the cell cycle to a tension physical field and to auxin dynamics, both of which are known to play a role in root development. We perform extensive numerical calculations that allow for quantitative comparison with experimental measurements that consider the cellular patterns at the root tip. Our model recovers, as an emergent pattern, the transition from proliferative to transition and elongation domains, characteristic of stem-cell niches in multicellular organisms. In addition, we successfully predict altered cellular patterns that are expected under various applied auxin treatments or modified physical growth conditions. Our modeling platform may be extended to explicitly consider gene regulatory networks or to treat other developmental systems.

Citation: Barrio RA, Romero-Arias JR, Noguez MA, Azpeitia E, Ortiz-Gutiérrez E, et al. (2013) Cell Patterns Emerge from Coupled Chemical and Physical Fields with Cell Proliferation Dynamics: The *Arabidopsis thaliana* Root as a Study System. PLoS Comput Biol 9(5): e1003026. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026

Editor: Anand R. Asthagiri, Northeastern University, United States of America

Received: August 2, 2012; **Accepted:** February 25, 2013; **Published:** May 2, 2013

Copyright: © 2013 Barrio et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: JRRR, EA and EOG were supported by scholarships from CONACYT and Universidad Nacional Autónoma de México Graduate Programmes. ERAB was funded by CONACYT 81542, 180380, 180098 and PAPIIT IN229009-3 grants, and by the Miller Institute for Basic Research in Science, University of California, Berkeley (UCB). RAB acknowledges financial support from CONACYT through project No. 179616. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: barrio.rafael@gmail.com (RAB); eabuylla@gmail.com (ERAB)

Introduction

The study of stem-cell niche patterns, and specifically how stem cells can maintain their totipotent state while simultaneously giving rise to daughter cells that obtain distinct fates to form differentiated tissues and organs, is fundamental to understanding the development of multicellular organisms [1]. Although plants and animals have key differences in their development (e.g. lack of cell migration in plant development), the cellular organization of stem-cell niches in both lineages reveals striking similarities [1,2]. In both plants and animals, stem-cell niches are formed by an organizer group of cells with low rates of division, surrounded by stem cells with slightly higher division rates. Moving distally from the organizer and stem cells, cells proliferate at high rates. This proliferation domain (also called amplification domain) is bordered by the elongation and then the differentiation domains where proliferation stops and expansion and differentiation, respectively, take place [1,3].

Gene interactions within intracellular complex regulatory networks (GRN) [4,5] or from morphogen dynamics at supracellular scales (see [6,7]) are fundamental for proper growth and development. Indeed

organ and tissue development, as well as stem cell maintenance relies to a great extent on complex transcriptional regulatory networks and chemical fields. However, these are not the only components of pattern formation. It is now recognized that physical fields are also critical to explain developmental patterns, as they may provide positional information that modifies cell behavior and differentiation (see [6,7]). At the cellular level, the simplest physical constraint is space. Cell expansion is driven by turgidity, which is an important force acting on the cell wall [8]. The cell wall is a network of rigid cellulose microfibrils cross-linked by polysaccharides and proteins, that confer stiffness to the wall and allows it to resist turgidity [9]. Expansion of the cell is opposed by the rigidity of the cell wall, producing a real stress field. Recent evidence shows that these kind of mechanical cues are transmitted to the nucleus and, directly or indirectly, regulate transcription factors (see for instance [10] and references therein).

Given the complexity of the processes involved in the coupling of developmental restrictions, mathematical and computational tools have become indispensable in our efforts to understand the network of interactions involved in cellular differentiation and

Author Summary

The emergence of tumors results from altered cell differentiation and proliferation during organ and tissue development. Understanding how such altered or normal patterns are established is still a challenge. Molecular genetic approaches to understanding pattern formation have searched for key central genetic controllers. However, biological patterns emerge as a consequence of coupled complex genetic and non-genetic sub-systems operating at various spatial and temporal scales and levels of organization. We present a two-dimensional model and simulation benchmark that considers the integrated dynamics of physical and chemical fields that result from cell proliferation. We aim at understanding how the cellular patterns of stem-cell niches emerge. In these, organizer cells with very low rates of proliferation are surrounded by stem cells with slightly higher proliferation rates that transit to a domain of active proliferation and then of elongation and differentiation. We quantified such cellular patterns in the *Arabidopsis thaliana* root to test our theoretical propositions. The results of our simulations closely mimic observed root cellular patterns, thus providing a proof of principle that coupled physical fields and chemical processes under active cell proliferation give rise to stem-cell patterns. Our framework may be extended to other developmental systems and to consider gene regulatory networks.

organ development. Previously [11] we demonstrated that a simplified version of the originally proposed GRN [12,13] involved in floral development, could be coupled with a mesoscopic physical field. This provides positional information to cells in the floral meristem which is required to produce the overall spatial pattern of cells observed during early flower development. This and other similar studies [14] suggest that robust morphogenetic patterns in multicellular organisms emerge from complex interconnected dynamical processes, acting at different levels of organization and spatio-temporal scales. However, models that include such dynamical processes into the dynamics of pattern formation in multicellular organs are in their infancy [15,16]. Here we use the *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) root apical meristem as a study system to propose a model that couples cell proliferation and growth with chemical-physical dynamical processes to predict the emergence of patterns in a multicellular and multi-scale system.

The *A. thaliana* root has become an important experimental model for understanding the molecular, cellular and biophysical basis of morphogenesis in complex organs. This is due to its relatively simple cellular structure and its indeterminate growth, which gives rise to a multicellular structure with distinct cell proliferation and elongation domains. Importantly, the root apical meristem exhibits the typical cellular organization of stem cells described above (see Fig. 1). At the tip of roots stem cells are located surrounding the quiescent centre cells or the organizer cells (green cells in Fig. 1); together, they constitute the stem-cell niche (SCN) of the *Arabidopsis* root. Towards the base of the plant, the stem cells transit to a cell proliferation domain (CPD) where cells have high rates of cell division (also called proximal meristem by some authors, for example: [17]), then they enter a transition domain (TD), where cells have low or no probability of dividing, but they have not started to elongate [18]. The SCN, the CPD and the TD comprise the root apical meristem (RAM). More distally from the organizer center, cells cease to proliferate and start to grow in the elongation domain (EZ). Upon expanding to

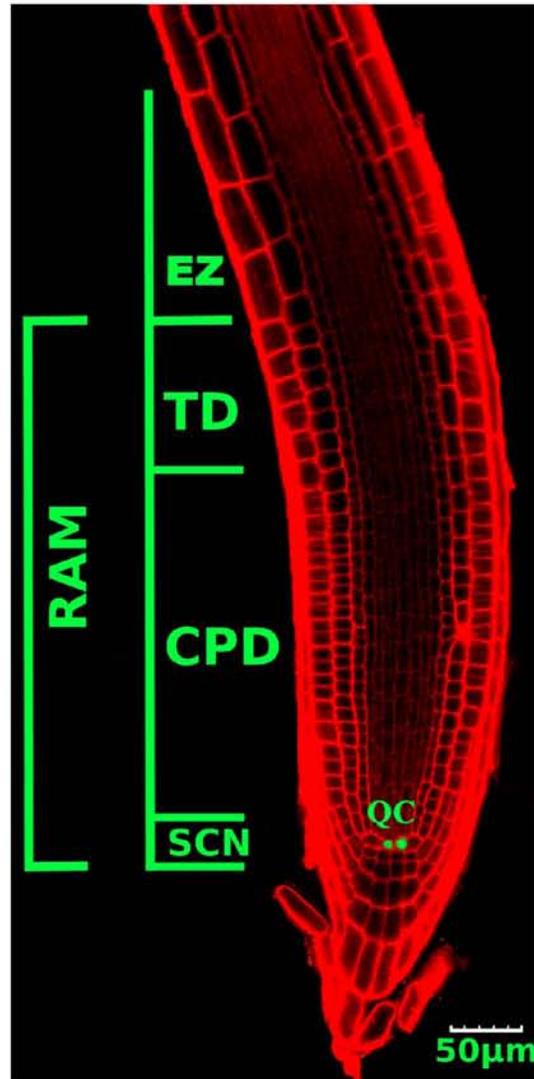


Figure 1. Confocal microscopy image of the *A. thaliana* root tip. The stem-cell niche (SCN) with the quiescent cells (QC, in green) and surrounding stem cells, the cell proliferation domain (CPD) with actively proliferating cells, the transition domain (TD) and the elongation zone (EZ), where cells do not proliferate, are indicated. The SCN, CPD and TD comprise the RAM.

doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g001

their maximum length, cells attain their final fate in the differentiation domain and produce the different tissues of the root.

Key experimental data on cell cycle regulation and auxin behavior in the root are used to develop our model. Patterns of cell proliferation along the root longitudinal (apical-basal) axis are greatly affected by the dynamics of the cell cycle itself and by the concentration of several plant hormones, including auxin [19–23]. Cells in the root proliferation domain of the RAM undergo several

rounds of division before starting to elongate in the elongation domain. A complex network of regulatory interactions controls the cell cycle, in which cyclin proteins are key regulators. As their name suggests, the expression of cyclins oscillates during each cell cycle. At the beginning of each cell cycle, D-type cyclins (CYCD) induce the expression of the RETINOBLASTOMA-RELATED (RBR) gene through E2F-RBR pathway. RBR is a negative regulator of E2F transcription factors, which activate the transcription of mitotic cyclin CYCB. Later, CYCB cyclins are degraded by the Anaphase-promoting complex/cyclosome, thus completing the cycle and returning to the beginning of the cell cycle (see reviews in: [24,25]). For the present study, the oscillatory and time differential expressions of CYCD and CYCB are sufficient to represent the cell cycle dynamics. The cell cycle phases and main regulators are illustrated in Fig. 2.

Auxin is a phytohormone involved in almost every aspect of plant development (see [26–32]). Auxin is a key regulator of cell proliferation and cell elongation, and also modulates cell cycle progression and cyclins [33–35]. Auxin has been shown to upregulate mitotic cyclin (CYCA and CYCB) expression, and the over-expression of CYCA can partially recover the phenotype caused by low auxin levels, thus suggesting that auxin promotes cell cycle progression [35]. It is also well-documented that auxin gradients correlate with apical-basal patterns of cell proliferation and elongation along the root (see [35–41]). There is an auxin concentration gradient along the longitudinal axis of the root, with the maximum concentration detected at the stem-cell niche, specifically in the quiescent center [41,42]. While other hormones are important in root growth and development, we exclusively consider auxin due to its clear role in regulating cell cycle dynamics and its measurable concentration gradient that correlates with root developmental patterning [26].

Theoretical and experimental studies suggest that such auxin gradients depend critically on the polar localization of the auxin efflux transporter proteins, belonging to the *PINFORMED* gene family (*PIN*) (see [43–47]). Five *PIN* members are expressed throughout the root, namely *PIN1*, 2, 3, 4 and 7. The proteins *PIN1*, 3, 4, and 7 maintain a continuous auxin flow from the base to the apex along the central tissues of the root. At the most apical zone, below the QC, auxin is laterally redistributed to the peripheral tissues by *PIN3*, 4, and 7. Finally, *PIN2* directs flow from the root apex to the base in addition to lateral auxin flow in

peripheral tissues. In conjunction, all *PIN* proteins create a reverse fountain mechanism that maintains an auxin gradient along the root [43,46,48].

Physical signals have been shown to affect auxin distribution, for instance auxin gradients can be modified by mechanically-induced root bending [49,50], or by changes in gravitational fields [51,52]. Polar auxin transport and microtubule orientation also respond to mechanical forces in the shoot apical meristem [53,54]. Such evidence suggests that auxin transport is affected by and tightly coupled to physical forces. Furthermore, there is increasing evidence that mechanical stress is extremely important for plant morphogenesis; for instance, experiments show that differentiation of mesenchymal cells is influenced by the rigidity of the intracellular matrix [55].

In this paper we propose a simple model to study the interaction between cell proliferation dynamics, local auxin concentration (that in turn depends on the polar localization of *PIN* transporters in the cell membranes), and an elastic physical field arising from the inherent growth dynamics of the root. Our model provides a formal tool that can be used to understand and predict the emergence of the cellular patterns in the root tip. This type of model can be extended to explore similarities in stem-cell niche organization and subsequent cellular behaviors (proliferation, elongation and differentiation) of plants and animals, and to predict if such cellular organization might be explained by the coupling of generic non-linear physical and chemical fields relevant to cell proliferation dynamics. Our model is validated with experimental measurements on cell size and proliferation patterns along *A. thaliana* root, and sets the stage for developing similar approaches in other systems.

Model

Roots are three-dimensional structures. However, the root tip presents a consistent cylindrical symmetry that allows one to ignore changes in the transverse plane of the root when considering growth models. It is therefore possible to use a two-dimensional domain consisting of undifferentiated cells to represent the shape of the root tip. This approximation allows for numerical analysis of the model in 2D space. The model can be validated by comparing the patterns obtained with those observed experimentally in longitudinal histological or optical sections as the ones readily used in experimental assays done with *A. thaliana* roots. In some cases we have also compared our results obtained from 3D roots.

Based on the shape and spatial arrangement of the root, we conclude that cell reproduction in the early stages of root development involves mainly three chained dynamics of cell proliferation and resulting elastic field, and of the pattern of auxin concentration, whose co-occurrence provides the spatial information necessary to regulate the proliferation rate of each cell and to ultimately determine its future fate during differentiation (see Fig. 3 for a schematic summary of the processes to be modeled and the region of the root in which they take place).

Our first hypothesis is that a macroscopic physical field along the root tip results from cell growth and proliferation within this tissue in addition to constrained conditions imposed by the root cap and the epidermal cells surrounding the root. We propose that this field is elastic in nature and can be characterized by point functions of stress, pressure, or local mechanical forces that stem from the symplastic nature of plant tissues that are formed by interconnected cells surrounded by cellulose cell walls. Perfect equilibrium represents a state in which there are no mechanical forces acting anywhere in the system. In practice, this equilibrium

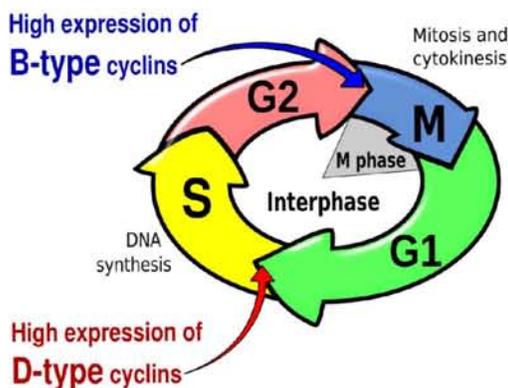


Figure 2. Simplified scheme of the cell cycle. The four main phases and the expression of two key cyclins are indicated. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g002

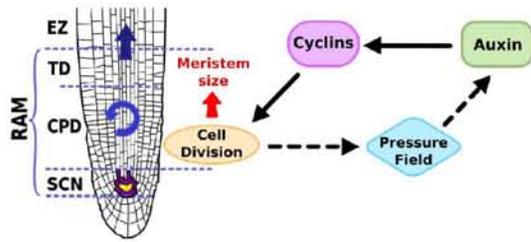


Figure 3. Histological drawing of the *A. thaliana* root tip. Here we show the SCN and the same domains as shown in Fig. 1 are indicated along the root apical-basal axis, as well as an schematic representation of the processes that are included in the cellular model and their interactions.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g003

cannot be completely achieved because of the geometric hindrances that impede the macroscopic system to reach a global minimum in the energy landscape, trapping it in a local minimum. In this situation there are remnant forces, and consequently the field is not uniform. Our model considers this lack of uniformity as a source of spatial information.

Our second hypothesis is that the synthesis, degradation and transportation of auxin respond to the local elastic field in a direct way, producing a dynamic pattern of auxin concentration along the longitudinal axis of the root tip. This is important, since the dynamical behavior of the formation of an auxin gradient should be very different from the relaxation dynamics of the elastic field, and it should occur at a different spatio-temporal scale.

Our third hypothesis proposes a direct relationship between auxin concentration and cell cycle regulation that determines cell proliferation rate. In the locations where cells divide and expand, the elastic field is greatly modified and, in fact, it is reinforced locally. This, in turn, affects the cell proliferation dynamics.

In short, we propose that the interaction among three different coupled dynamics (the relaxation of the physical field, the transport and concentration gradient of auxins and the oscillations of the cell cycle regulators, i.e., the cyclins) capture the key aspects underlying the overall emergent patterns of cell proliferation/elongation, as well as the macroscopic appearance and overall shape of the root. Our model includes the three dynamical processes (cell proliferation, auxin spatio-temporal concentration patterns and the elastic field) and their couplings in a two-dimensional domain that represents a longitudinal section of the root.

Cell dynamics and physical fields

We start by modeling the space occupied by a cell. Expansion of the cell volume, whether by turgidity or growth, is opposed by the rigidity of the cell wall producing a real stress field [9,56]. This field is also present at the larger scale of a group of cells, such as within the root apical meristem, since the increase in volume required by cell growth and division is opposed by the surface forces exerted by the root cap and epidermal cells surrounding it [57]. From this perspective, it is logical to assume that this stress field is self-regulated, that is, the accumulation of local stress (or pressure) triggers mechanisms that prevent (or enhance) cell division and growth. This assumption of self-regulation has been incorporated into previous models of cellular interactions: Dupuy and collaborators [58] used a rigidity matrix to model the relationship between cell displacement and implied forces. A form of potential energy has likewise been proposed as a way of

describing the equilibrium between turgor and cell wall resistance [59]. Finally, in a recent paper investigating the floral meristem of *A. thaliana*, potential energy was proposed as the means of regulating auxin transport [15].

In our model for the root apex, we define a spatial domain in which a potential function acts. The spatial derivatives of this function render the mechanical force as a function of time and space. Taking advantage of the radial symmetry of the region of the root tip, we consider a two-dimensional space and divide it into cells. We simulate cells by a Voronoi diagram obtained from a collection of generating points that represent the position assigned to each cell.

Voronoi diagrams

A Voronoi diagram, or tessellation, associated with a collection of points assigns to each point a limited region of space in the form of a convex polygon (polyhedron in three dimensions). Voronoi cells are used nowadays in many fields of science, however it was Honda [60] who first proposed the use of 2D Voronoi to model cells in a biological context.

Our domain is defined as follows: 1) We construct a regular shape with points on a rectangle and a parabolic tip. The exterior points are fixed and represent the epidermal cells surrounding the ground tissue of the root (See Videos S1 and S2). 2) These points in the border cannot define a convex polygon, so the corresponding cells have a point at infinity. 3) We create N points with random coordinates in the interior of this domain and perform a Voronoi tessellation using a Delaunay triangulation algorithm.

A typical configuration is shown in Fig. 4. Observe that the areas of the cells (A_i) vary in size and shape, and that the generating points shown in the figure (\vec{r}_i) do not correspond, in general, to the centre of mass of the cells (\vec{r}_0).

The average $\bar{A}_0 = \sum_{i=1}^N A_i/N$ is the space that each cell would occupy in a regular hexagonal lattice. Analogously, the distance is $d_i = |\vec{r}_i - \vec{r}_0| = 0\forall i$ in the regular array. In two dimensions the array of cells with minimal surface energy is the hexagonal lattice, and we use this fact to define a potential function around this equilibrium configuration.

Elastic fields

Previous studies have used springs to simulate the interactions among cells [61], and the elements of the cellular walls [62,63]. In our case the equilibrium area \bar{A}_0 could be used to fix the size of mature cells, so deviations from this value would represent immature cells. If the cells in the tissue tend to be isotropic in shape, then a value of d_i different from zero would represent cells with the wrong shape and, consequently, largely stressed.

Regardless of the actual functional form of the energy potential, it is possible to make a Taylor expansion around the equilibrium state retaining only the first non-zero terms, provided one considers small deviations from equilibrium. The first non-trivial contributions correspond to a quadratic form, whose coefficients can be interpreted as force constants.

Therefore, we propose a harmonic potential acting on each cell i

$$V(x_i, y_i, t) = \frac{K_v}{2} (A_i(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2} (\vec{r}_i(t) - \vec{r}_0(t))^2 \quad (1)$$

where the first term tends to uniformize the size, and the second term is related with the shape of the cells. K_v and K_c are elastic constants.

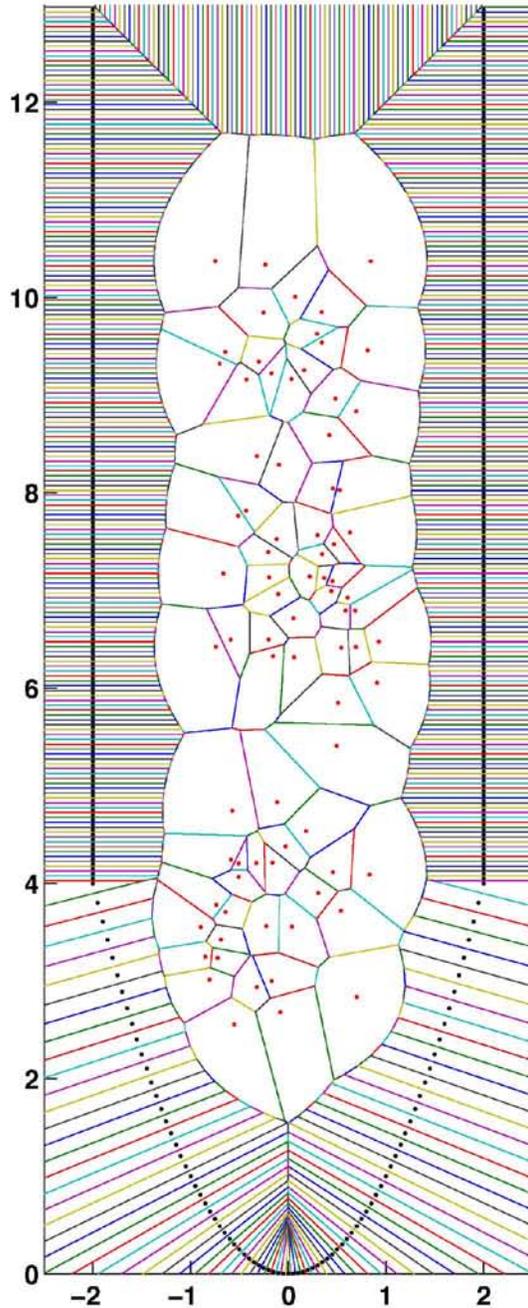


Figure 4. Typical initial configuration of cells after the Voronoi tessellation of random generating points.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g004

The expressions for the components of the force are:

$$F_x(x_i, t) = -\frac{K_v}{2} \left[\frac{1}{2} \sum_{m=1}^M \frac{(x_i - x_m) l_{i,m}}{|\vec{r}_i - \vec{r}_m|} \{A_i - \tilde{A}_0\} \right] - K_c(x_i - x_{0_i})$$

$$F_y(y_i, t) = -\frac{K_v}{2} \left[\frac{1}{2} \sum_{m=1}^M \frac{(y_i - y_m) l_{i,m}}{|\vec{r}_i - \vec{r}_m|} \{A_i - \tilde{A}_0\} \right] - K_c(y_i - y_{0_i})$$
(2)

where $l_{i,m}$ is the length of the edge shared between neighboring cells, and we have omitted the time dependence of the variables on the right hand side. All quantities in Eqs. 1 and 2 can be readily calculated with the algorithm used to define the Voronoi diagram.

Since this is a conservative system, and there is no reason to assume conservation in the root system, we include dissipation in the form of friction that simulates losses due to the inability of cells to make drastic elastic changes of shape or size. Therefore, the total force should be:

$$\vec{F}_T(x_i, y_i, t) = -\nabla V(x_i, y_i, t) - k\vec{v}(x_i, y_i, t)$$
(3)

where \vec{v} is the velocity and k is a friction coefficient. The N coupled dynamical equations of this newtonian system

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} = \vec{F}_T$$

$$\frac{\partial \vec{r}}{\partial t} = \vec{v}$$
(4)

can be integrated numerically by using a simple Euler method, imposing fixed boundary conditions on the fixed surface points.

As an example of the relaxation process with this scheme, in Fig. 5 we show the configuration of points in Fig. 4 after 2000 time iterations. The numerical calculation was stopped when the relative changes of the positions and velocities was less than 10^{-10} . The magnitude of the constants K_c , K_v and k sets the units of the time variations of the dynamical behavior of the system, and should be adjusted to physical units when modeling the growth of the RAM. One should consider the number of cell divisions per unit time (2.6 events/hr), the cell production rate (between 0 and 6 cells \times mm⁻¹ hr⁻¹) and the cell proliferation rate distribution (between 0 and 50 μ m/hr) in the RAM [64]. The final form of the relaxed field suggests that it could be used to transfer positional information to the cells in the meristem. In order to achieve the latter, the auxin concentration must be coupled to the local value of the potential.

We introduced the process of cell division and proliferation into the simulation by defining two points inside a cell when it undergoes mitosis. The resulting Voronoi cells then locally alter the field, and the extra space needed for the two daughter cells is obtained by moving the upper border of the domain a proper distance to provide the exact extra space required. We show details of this process below.

Auxin transport

It is assumed that the field V is involved in the processes of auxin transport. In any transport equation there are basically two aspects to be considered: the hydrodynamic forces compelling a fluid to move, and the diffusion phenomena. Both are important for the case of auxins. Furthermore, the process of auxin transport

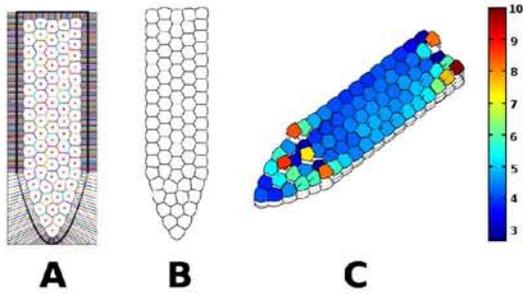


Figure 5. Configuration of cells after 2000 time iterations. (A) The points in Fig. 4 once they have attained equilibrium using the potential (See Video S3). (B) Final configuration of the cells in the RAM. Observe the regularity of the shapes and sizes of the cells. (C) 2D profile of the field after relaxation. Observe that it is not constant, but there are three well defined sections (See Video S4). doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g005

is recognized to be active, meaning that the transfer of matter through the cell membranes could go against the concentration gradient of auxin molecules due to the action of PIN proteins. We propose that the amount of matter Q transported per unit time from cell i to a neighbor cell m is proportional to the gradient of the field V :

$$Q_{i,m} = -P_{i,m} \cdot A_{i,m} \cdot |V_i - V_m|, \quad (5)$$

where $P_{i,m}$ represents the permeability of the membrane and $A_{i,m}$ is the contact surface between the cells i and m (the line $l_{i,m}$ in 2D).

Observe that if the values of the $P_{i,m}$'s were constant, this equation would reduce to the well known Darcy's Law in hydraulics, which is analogous to Fourier's law in heat conduction, or Ohm's law in electrical networks. However this is not the case, because of the action of the PIN proteins which are critical. Therefore, the permeability is:

$$P_{i,m} = \alpha(c_i - c_m) \mathcal{F}_{i,m}, \quad (6)$$

where α is a constant related with the time scale of the dynamics, and the direction of the flux with respect to the concentration gradient ($c_i - c_m$) (diffusion term) is given by the logical function $\mathcal{F}_{i,m}$. This latter function mimics the action of the PIN molecules, which attach to the membrane according to orientation and position in the domain.

We can simplify this action by considering "gates", which could be opened (1) or closed (0) according to specified simple rules. Let \mathcal{S} be the set of cells at the surface, i.e. in contact with the immobile epidermal cells. We have set the following rules: All gates are closed, except

1. when $i, m \in \mathcal{S}$ and i is above m ,
2. or if $i, m \notin \mathcal{S}$ and i is below m ,
3. or if $i \notin \mathcal{S}$ and $m \in \mathcal{S}$ and i is above m .

The dynamical equation for the concentration of auxins in cell i is then:

$$\frac{1}{\alpha} \frac{\partial c_i}{\partial t} = \sum_{m=1}^M l_{im} (c_i - c_m) |V_i - V_m|, \quad (7)$$

where the sum is over all neighboring cells. This expression can be

readily integrated numerically in parallel with Eq. 4, once the parameter α has been properly adjusted.

In Fig. 6 we show the effect of the logical rules on the formation of auxin gradients. On the left we show a calculation without these rules, that is, maintaining all the membranes permeable. In (B) we incorporate the PIN action into the model. Observe that the distribution of the concentration of auxins (normalized with its maximum value) is similar to the one observed in real roots [42].

Cell division cycle

We shall assume that the period of the cell division cycle is regulated by the local concentration of auxins c_i . We are aware that this is an oversimplification of the complex hormonal regulation of the cell cycle in plants, but auxin has been shown to be an important component of such regulation [65]. We therefore need a model for the oscillations of cyclin concentrations. The robustness of these oscillations suggests that a non-linear oscillator would be a good model. We consider a two-component system for simplicity, considering CYCD and CYCB as the two key players. Since both undergo regular out-of phase oscillations with maxima related to the transitions between the G1-S and G2-M phases, respectively (See Fig. 2), we choose a simple Lotka-Volterra non-linear system with two components, generally used in ecology to model the predator-prey dynamics. This system presents all characteristics required for the observed time behavior of the concentration of cyclins [66]. The adimensional activator-inhibitor dynamical equations are:

$$\begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial \tau} &= u(1-v) \\ \frac{\partial v}{\partial \tau} &= \beta v(u-1), \end{aligned} \quad (8)$$

where u and v represent CYCD and CYCB, respectively. This system presents an oscillatory behavior, provided β is within a certain range, whose period (T) and wave shape depend only on β and on the boundary conditions. It is easily shown that the period is:

$$T = \frac{2\pi}{\sqrt{\beta}}, \quad (9)$$

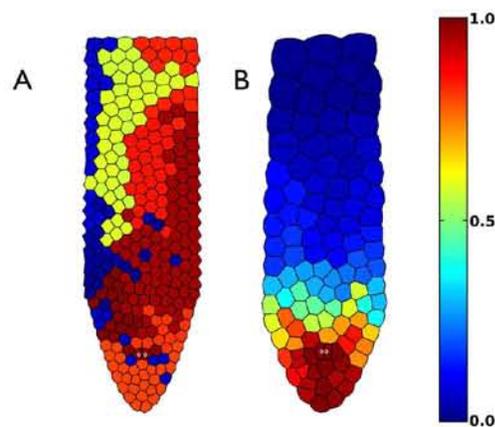


Figure 6. Typical numerical integration of Eq. 7 showing the formation of auxin gradients. (A) All gates are open (no PIN action). (B) Including the logical rules to open the gates to model the PIN action. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g006

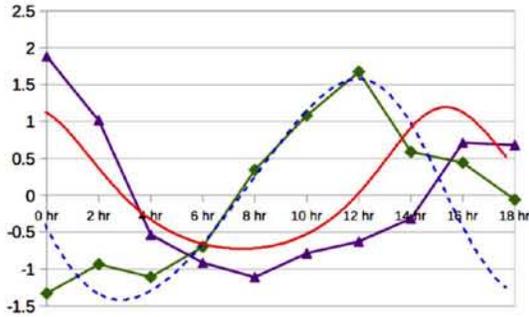


Figure 7. Variation of two-type cyclins concentrations and typical oscillations from the Lotka-Volterra model. Relative expression data of D-type cyclins (purple triangles) and B-type cyclins (green rhombuses) were taken from analysis of gene expression profiles using aphidicolin synchronization on Ref. [76], and are available on GENEVESTIGATOR web page. The oscillations from the Lotka-Volterra model of the inhibitor (blue dashed line) and the activator (red line) are also shown.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g007

which is inversely proportional to the square root of the ratio of the linear growth rate of the “prey” (u) to the death rate of the “predator” (v). In Fig. 7 we illustrate the oscillations of both variables.

Experimental data has shown that the cell cycle is arrested if the auxin concentration is below or above certain threshold values, and that the cycle period increases with auxin concentration [65]. Therefore, we simply assume that the auxin concentration is linearly related to the only parameter of this dynamical system: $\beta = \gamma c(i)$. Hence, each cell has its individual clock, which runs faster or slower depending on the auxin concentration in the model under consideration. We couple this dynamical feature into the numerical calculation of the model by performing a division of cell i when $t = \delta(n\Delta t - T_i[\tau])$ (where the δ -function is one when the number of iterations $n\Delta t$, used in the Euler integration, surpasses the period). Therefore, γ is another constant that relates the time scale of reproduction (τ) to the time step used for relaxation dynamics. Parameters α and γ should be fitted according to the observed time scales for each of the three dynamics. Time step Δt (in seconds) should be obtained as well.

In practice, the act of cellular division is performed in the following manner:

1. At each time step, advance the internal clock of all cells according to the value of the local auxin concentration given by the cell life-cycle model.
2. Detect the cells in which the internal clock completes one period (a single division event occurs every cycle), and set the clock of these cells to zero.
3. In each one of these cells, \vec{r}_i is substituted by two points, oriented at random and at equal distances of \vec{r}_i . This distance is typically of the order of a quarter of the radius of the cell.
4. The kinetic energy ($v_i^2/2$) of the mother cell is equally divided between mother and daughter cells.
5. The upper boundary of the domain is shifted upwards to increase the area by the exact amount required by these new cells to grow eventually to adult size.

The changes in the domain size and the size of the new cells produce a rearrangement of all cells, and this changes the local

value of the elastic field, which, at the same time, drives the auxin concentration that, in turn, regulates the division rate of all cells. We hypothesize that coupling among such three dynamics at different time scales is sufficient to produce the growth of the root with cellular patterns that mimic those of real systems in a wide region of the parameter space. We verified that the process is extremely robust against changes of initial conditions.

Results

In Fig. 8 we show the dynamical loop that integrates the dynamical equations with an Euler method. The program is initiated by choosing the values of the number of cells (N), the position of each cell (r_i), their proliferation rate (v_i), the gates given by the PIN action between two cells ($\mathcal{F}_{i,m}$) and the concentration of auxins (c_i) at time $t = 0$.

It is important to note that we normalize the auxin concentration function c with its maximum value at every time step. This allows our model to take into account the role of possible sources and sinks of auxin, since c is not a conserved quantity. The final distribution of auxin is insensitive to the initial conditions, but we start with a random distribution of auxin with a maximum at the quiescent centre in accordance with experimental observations. We recovered the same results if auxin concentrations were random at initial conditions (data not shown). The cycle clocks of each cell are set to zero at $t = 0$ and reset after a successful cell division.

The shape and color of the boxes (Fig. 8) represent the action of the different dynamics as described in experimental systems (see Fig. 3). The red square indicates a subroutine that includes the logical rules $\mathcal{F}_{i,m}$ of the PIN action and the red circles represent points of logical decisions at appropriate times. Black arrows represent the direction of flux of the simulation and the black-dash arrow indicates a decision related to the time condition for the dynamics of the cyclins. Eq. 4 is implemented in the blue diamond

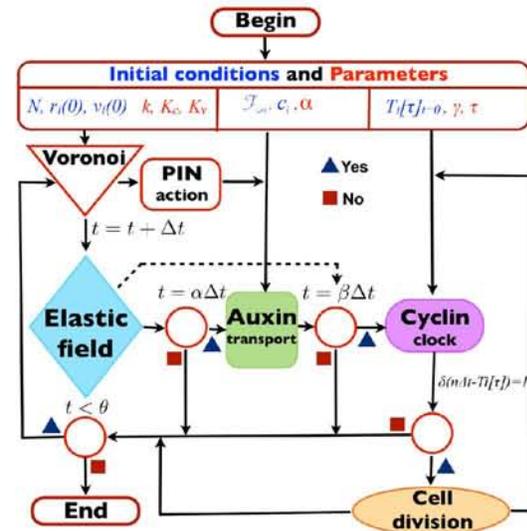


Figure 8. Flow-chart diagram of the program used for the numerical simulations. We show the parameters in red and the initial conditions in blue at the top of the diagram.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g008

block that represents the elastic field with time scale Δt . The loop is performed while the time t is less than the final time θ . Eq. 7 is implemented in the green block. The cyclin period is calculated for each cell at the violet block using Eqs. 8 and 9 and the threshold $\beta = \gamma c(t)$. Cellular divisions are performed as a subroutine represented by the orange block, and cell proliferation alters the conditions of all three dynamics.

The first step is to estimate the values of the parameters of the system. The adjustable parameters are the quantities indicated in red in Fig. 8. We start with the kinematical parameters. The constant K_c is related to the elastic modulus E of the cells. This quantity is measured when studying the mechanics of walls, cells, and tissues and is of the order of $E \sim 10\text{MPa}$, as reported in [67].

For simplicity let us consider hexagonal cells in equilibrium. The magnitude of the elastic force is $|F_E| = ES_0\Delta L/L_0$, where S_0 is the contact area between two cells, $\Delta L = |A - A_0|^{1/2}$ is the change in length just after division, where $A_0 = \sqrt{3}L_0^2$ is the area of the hexagon, if L_0 is the distance between centroids of two contiguous cells. This should be equal to the corresponding force magnitude in our model $|F_K| = K_c|\bar{r}_i - \bar{r}_0|$. Just after a cell division, $A = A_0/2$, thus $\Delta L = \sqrt{\sqrt{3}L_0^2/2}$, $|\bar{r}_i - \bar{r}_0| \simeq L_0/2$ and $S_0 = A_0/6$. Equating the two forces we obtain

$$K_c \simeq \frac{L_0}{\sqrt{2\sqrt{3}}} E.$$

Taking the average diameter of a mature cell as $L_0 = 15 \mu\text{m}$ [64] and the experimental value $E = 10 \text{MPa}$ we obtain $K_c \sim 80 \text{Pa} \cdot \text{m}$.

At this stage, K_v should be related to the properties of the cell membrane, the metabolism of cell growth and the turgor pressure. It is difficult to associate the action of the first term of Eq.(1) to a single biological property. However, the dynamics of this term should produce a restoring force of the same order of magnitude as the second term, if the form and geometry of the domain are to be maintained during the growth dynamics. Therefore, if we use a value of $K_v = 80 \text{Pa}/\text{m}$ the system should relax to a set of cells with roughly the same size and shape, as shown in the calculation of Fig. 5B. We found numerically that this produces results for the dynamics of growth that are comparable to the experimental quantities measured.

Parameter k is related to the viscous damping of the cell motion. The dynamical friction constant k can be estimated by observing that the amplitude of the oscillatory motion $e^{-i\omega t}$, caused by the harmonic forces should be reduced, to avoid oscillations, by a factor of $1/e$ in a lapse of at most one period $T = 2\pi/\omega$, that is $k \geq m/T$. Note that in Eq. (4) the mass of the cell (m) is considered to be one. This gives $\omega = 2\sqrt{K_c/m} \approx 18 \text{sec}^{-1}$, and $k = m\omega/2\pi = 2.84 \text{Pa} \cdot \text{m} \cdot \text{sec}$.

The values used in the calculations are $K_c = 80$, $K_v = 80$ and $k = 3$. With these values we obtain the real time scale of an iteration step Δt in the numerical calculations, by finding the number of iterations needed to obtain the experimental number of cell divisions in that lapse. In seven days, our observations showed (see Fig. 1) that the number of cells in the meristem is about 350. In averaged calculations we reproduce this number in 3400 iterations by using $\gamma = 100$ and $\alpha = 8$. This means that the lapse representing one iteration is the number of minutes in 7 days over the number of iterations, that is $\Delta t = (7 \times 24 \times 60)/3400 = 3 \text{min}$. Considering that the average auxin concentration is $\langle c \rangle = 0.5$, the value of β is ≈ 50 in units of τ , which is about 100 times Δt . These values produce a single cell cycle period on the order of 12 hr, as shown in Fig. 7 [66].

In Fig. 9 (and Video S5) we provide an example of the growth of the system. We start with eight points at random in the parabolic tip of the domain, and fix the position of two additional points that represent the quiescent cells in the centre of the domain, marked with a white symbol. These cells reproduce at a rate ten times lower than the others; they divide after ten divisions per cell on average (in the right panel of the figure these quiescent cells have just divided). The auxin concentration in these cells is set to the maximum initially, and this is represented by a dark red color in the figure. The cell's position, shape, and proliferation rate are calculated every time step and the auxin is transported between cells. After 400 time steps the cells are attaining a uniform shape and size (Fig. 9), and the auxin gradient is already formed. This gradient will dictate the time in which a complete cell proliferation cycle is accomplished locally, followed by a cell division event that produces a sudden increase of the local potential that, in turn, governs auxin transport.

Despite these complicated dynamical interactions, the auxin gradient is preserved throughout and the process of growth and cell patterning is by no means random. This can be seen in Fig. 10. The overall pattern that emerges after some cycles of coupled dynamics is very similar to the apical-basal pattern of cell proliferation and elongation observed in RAM and along the length of the root tip. Such dynamics and emergent pattern are robust to initial conditions.

It is interesting to note that the region around the quiescent center in the stem-cell niche shows the greatest concentration of auxin, and a maximum in the potential. Also, the cell division cycle is minimum at this location. An intermediate region in which the auxin concentration diminishes and the potential is very small, but the cell proliferation rate is roughly constant, surrounds the quiescent cells. Finally, the most distal part from the tip (towards the base of the plant) is characterized by a very small concentration of auxin, causing the cell proliferation rate to be very small, and the potential to increase enormously. The combination of these effects results in the arrest of cell proliferation and in the formation of the elongation zone at a defined distance from the root tip. The emergent patterns recovered in the model are similar to those observed for the distribution of auxin as reported in Ref. [68], and the pattern of cell proliferation along the root longitudinal axis reported in Ref. [69]. Our results are also in agreement with the qualitative patterns of cell proliferation and elongation that are observed along the apical-basal, longitudinal axis of the growing *A. thaliana* root.

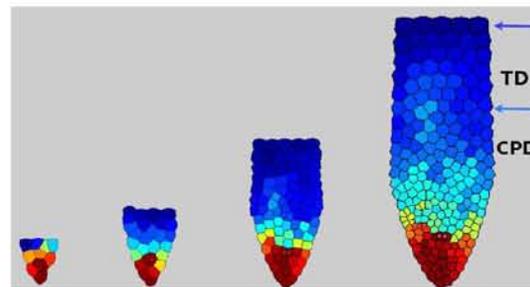


Figure 9. Typical calculation of the dynamical growth of the root using the model described. We show four snapshots of the configuration at 400, 1400, 2400 and 3400 time steps. The color code represents the concentration of auxins, red for the maximum and blue for the minimum. See Video S5. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g009

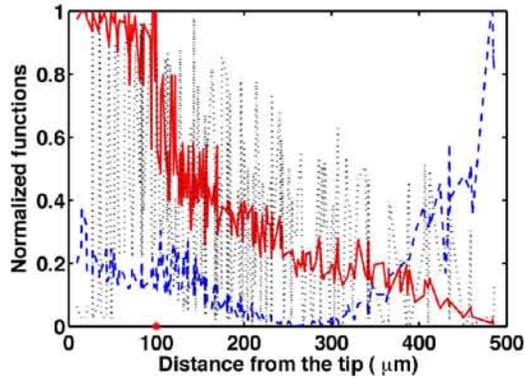


Figure 10. Plots of local potential, auxin concentration and cell cycle, after coupling dynamics. The normalized local potential (dashed-blue), the auxin concentration (red) and the advance of the cycle clock (dotted-black) as functions of the distance from the tip (μm), at $t = 3400$ time steps, corresponding to seven days. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g010

We can use this model to predict what patterns are expected under different growth conditions. In Fig. 11 we show a histogram of the number of cell divisions occurring at a given distance from tip, as obtained from an example calculation in which we fixed the parameter $\alpha = 8$. Interestingly, we observe that the length of the RAM does not surpass a certain value, which depends on α , because the modeled coupled dynamics prevents cells far from the tip to divide. Such types of coupled dynamics could explain the emergence of the transition from proliferation to the elongation cellular states in real roots, as well as the limited ranges or domain sizes of actively proliferating cells in stem-cell niches of plants and animals [1,3].

Hence, our model can be used to generate novel predictions concerning the role of the parameters considered in the model, and in determining RAM size and cell proliferation and elongation patterns along the root apical-basal axis for *A. thaliana* under different environmental or growth conditions. Our general model

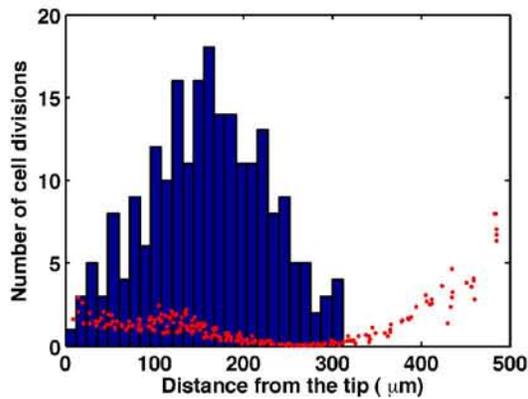


Figure 11. Histogram of the number of cell divisions obtained along the root when $\alpha = 8$. The potential profile is shown as red dots. Observe that there are no cell divisions beyond $\sim 300 \mu\text{m}$, meaning that the meristem has attained a stationary length. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g011

could eventually be adjusted to model stem-cell niches in other plants and animal systems, as well as modeling growth and differentiation in communities of unicellular organisms if similar physical fields can be postulated in such latter cases.

In order to examine the quantitative behavior of the model and validate it with published experimental data, we compared our model's predictions to measurements of the proliferation rates along the axis of the *A. thaliana* root as a function of the distance from the quiescent centre [64]. We ran numerous iterations of the model in order to obtain a reasonable statistical sample. We show a typical result from the simulations run to the experimental data in Fig. 12. Panel (A) shows the available experimental results for cell proliferation rates along the apical-basal axis of the root reported in Ref. [64] as a continuous red curve. The numerical results from our model are shown in blue. These results were obtained using the estimated parameter values that give the time in hours and the sizes in μm . We shifted the origin to account for the fact that all quantities in our calculations were measured from the tip of the domain and not from the quiescent centre. Notice that the simulated and experimentally generated curves are very similar.

In Fig. 12(B) we show an histogram of the frequency distribution of cell size. This histogram varies with different iterations because of the stochastic nature of cell proliferation and growth dynamics [70]. However, all calculations share the same qualitative characteristics; namely an unimodal distribution between ~ 10 and $\sim 35 \mu\text{m}$, with a maximum around $15 \mu\text{m}$. This result was already recovered by Verbelen and collaborators Ref. [71]. The red curve was obtained by measuring the cell size in an Arabidopsis root Fig. 1. Similar curves have been obtained for many different plant species, including wheat [70].

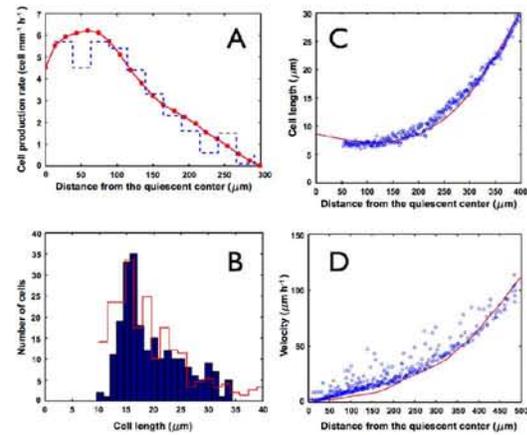


Figure 12. Comparisons between results obtained with the model and experimental data. (A) Cell proliferation rate as a function of the distance from the quiescent centre; calculation from Fig. 9 after six days of growth. The red line and dots are the experimental points reported in Ref. [64]. (B) Frequency distribution for cell length. Experimental data were taken from our laser microscope image of Fig. 1. (C) Average cell length as a function of the distance from the quiescent centre; calculation from Fig. 9 after six days of growth. The red line is the experimental result reported in Ref. [64]. (D) Average cell proliferation velocity as a function of the distance from the quiescent centre; calculation from Fig. 9 after six days of growth. The red line is the experimental result reported in Ref. [64]. doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g012

In Fig. 12(C) we show the variation of cell length along the longitudinal axis of the root. The red curve is the experimental result from Ref. [64]. It should be pointed out that the experiment was obtained by measuring the cell flux in a fixed point and by counting along the axis of the root in two dimensions, which is very convenient when comparing with our two-dimensional model. In order to mimic the experimental procedures, our numerical results were obtained by spotting the centroids of the Voronoi cells in the final time, which corresponds to six days. We calculated the length (l) by assigning an area of $A_i = \pi(l/2)^2$ to each cell. Again, a shift of $10 \mu\text{m}$ in the horizontal axis was needed to account for the difference in the origin, and the results for each cell are displayed as blue dots in the figure. Once again, the agreement between our simulated results and the experimental data are clear.

Finally, in Fig. 12(D) we show the average cell proliferation velocity, as defined in Ref. [64], as a function of the distance from the quiescent centre (red line), and compare it with our results (blue dots). In the experiment, Beemster and collaborators measured the difference in position of each cell for two subsequent times, averaged over time. In our calculation we measured the difference in position of each cell with respect to the apex of the root, which is itself being displaced every time a cell division takes place. By changing the frame of reference, we can compare the reported experiment with our results. The agreement is also remarkable when one compares the simulation results recovered with our model and the experimental data. This is more significant than the previous validations, since this result reflects the totality of the dynamical behavior in time and not only in a frozen snapshot, as in the previous cases.

Discussion

We present a dynamical model that couples auxin concentration gradients, cell proliferation and a physical tension field in a two-dimensional spatial domain that mimics the *A. thaliana* root tip. We have validated our model with both static and dynamic cellular empirical data, and have shown that our model recovers the pattern of rates of cell proliferation observed in the apical-basal axis of roots. The model also recovers the discrete transition from the proliferative to the elongation domains. Thus, our model puts forward a novel theoretical framework to test hypothesis concerning the coupled roles of auxin, cell proliferation, and physical fields dynamics in the emergence of the cellular pattern observed along the *A. thaliana* root tip. Ultimately, we have postulated a complex system in which the main emergent property of the coupled dynamics is at the appropriate spatial and cellular structure for the intracellular genetic networks to express differentially along the root. However, the explicit consideration of complex gene regulatory networks is out of the scope of this paper.

Our model and analysis suggest that the size of the RAM depends on the value of the parameter α (Fig. 13) in a rather defined manner. This parameter represents the ratio between the time scales of the potential relaxation and the auxin transport mechanisms. The length of the RAM decreases as the auxin transport parameter α increases as a power law. Therefore, this quantitative prediction can be verified experimentally, as auxin concentrations and transport along the root can be modified by manipulating the conditions of root growth (e.g. adding NPA to the growth medium to block auxin transport). Previous experimental work has suggested that the size of the RAM varies depending on growth conditions and is altered with external supplementation of auxin [39].

Given that plant growth is influenced by the mechanical behavior of the cell wall, measurements of the mechanical

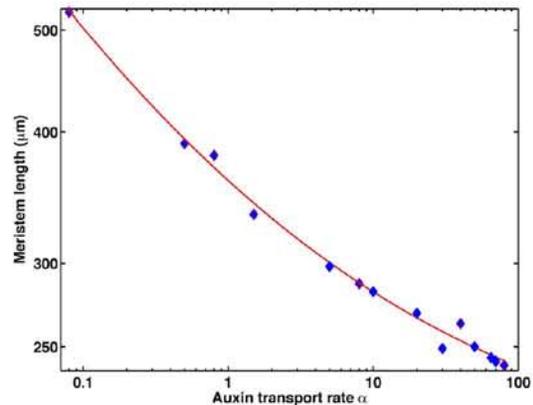


Figure 13. Log-log plot of the maximum RAM as a function of the parameter α . Numerical results are blue rhombuses, and the red line is the best fit with a function of the form $f(x) = 1.7x^{-0.26} + 1.88$ with $R^2 = .993$.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003026.g013

properties of living cell walls are important to fully understand how cellular organization is achieved. Like most biological materials, material properties of cell walls change as a function of age, the magnitude of forces they are subjected to, and immediate physiological conditions [67,72]. This confers spatial and temporal heterogeneity on cell wall constituents, complicating measurements of the mechanical properties of plant living walls even with present-day instrumentation. Furthermore, a single modulus of elasticity is not sufficient because of the structural anisotropy of the cell wall [67]. Therefore, comparisons between the predicted values of K_v and K_c of our model and the values reported for the modulus of elasticity of real cell walls are far from being straightforward. However, the fact that we reproduced the root tip pattern with the selected values suggests that they are likely to be biologically meaningful.

More generally, our work reinforces conclusions from recent studies that experimentally demonstrate the importance of physical forces in the regulation of root apical-basal patterning [49,53], such as the mechanical induction of lateral roots or the coordination between auxin concentration and microtubule orientation [49,53,54]. It is remarkable that simple arguments concerning uniform size, shape and geometry of cell disposition is sufficient to produce a non-uniform field that provides sufficient spatial information to recover the overall dynamical growth pattern observed along the root. It is thus predicted that modification of physical forces would change the size and the pattern of these zones, an issue that could in principle be further explored theoretically and experimentally.

Auxin response is modulated not only by auxin concentration, but also by the auxin signaling pathway, which includes many components of different gene families, and which interact through several feedback loops, creating non-linear behaviors. Consequently, auxin concentration at any location does not necessarily coincide with auxin response. Even if this is not the case in the root [68], it could be important to include an explicit model of the auxin signaling pathway in future extensions of our model. In addition, in our model we considered the polar PIN configuration as fixed, as in Ref. [46]. However, in reality a more robust dynamic auxin transport is observed when the PIN expression is regulated by auxin [73].

In our model we fixed the position and number of the quiescent cells. We are aware that the root stem-cell niches are regulated by a complex regulatory network [74]. WUSCHEL RELATED HOMEBOX5 (WOX5) is a Quiescent Center identity gene indispensable for the maintenance of the undifferentiated state of stem cells and niche size regulation, and it is part of the proposed root stem-cell niche regulatory network [74,75]. Recent theoretical and experimental work has suggested that WOX5 regulates and is regulated by auxin [36,74]. In our calculations we input several initial conditions for auxin concentration, and demonstrated that the model is fairly robust to these changes. However, as shown in Fig. 6, neglecting the action of PIN polarization destroys the auxin gradient along the root. Including these and other regulatory interactions in a future model would enable us to explicitly consider intracellular complex gene regulatory networks, which are likely coupled among cells by physical and hormone fields.

The complex network underlying the cell cycle was also reduced to consider two basic components, because for our purposes, only the phases of the oscillations of the concentrations matter. Since CYCA and CYCB oscillate in phase, we consider them as a single variable; and because CYCD oscillates in anti phase, we take this to mean that there is an activator-inhibitor interaction between these two groups of proteins. In our model we stressed the importance of the relationship between auxin concentration and the regulation of cell proliferation, and we neglected the details of the known regulatory processes of the cell cycle, which although important, do not directly affect the overall results of our simulation. Nonetheless, such details of the gene regulatory network underlying the cell cycle, cell differentiation and auxin dynamics should be incorporated in future developments of the model.

In conclusion, we have put forward a minimal mathematical model that considers the essential dynamical coupling of cell proliferation with a physical field and chemical (hormone) gradients, in order to explore if such processes are sufficient to obtain the emergence of cellular organization during stem-cell niche patterning and organ growth. We have used the *A. thaliana* root as our study system.

Despite the simplification of many biological details, our model is able to recover patterns that greatly resemble those observed in stem-cell niches of plants and animals, and particularly those in the *A. thaliana* root tip. The remarkable coincidence between the

simulated cellular characteristics along the model root apical-basal axis (shown in Fig. 12), with those that have been observed and quantified in actual roots, validates the qualitative features and utility of our model for understanding the emergence of cellular patterns in such a multicellular organ. Furthermore, the cellular patterns of stem-cells among multicellular plants and animals have generic traits. Our model provides a formal tool to explore if such traits may be explained by the generic non-linear coupling of relevant physical and chemical fields to discover emergent properties of cell proliferation dynamics across biological systems.

Supporting Information

Video S1 Dynamical growth and proliferation of cells and boundary.

(MP4)

Video S2 Dynamical behavior of stem cells only.

(MP4)

Video S3 Relaxation process for a fixed number of cells.

(MP4)

Video S4 Dynamical changes of the local cell potential.

(MP4)

Video S5 Dynamical development of auxin concentration.

(MP4)

Acknowledgments

Technical assistance from Mariana Benitez, Adriana Garay, Juan Carlos Martínez-García, Rigoberto Vicencio Pérez Ruiz, Diana Romo and Karina Jiménez Durán is appreciated, and Chelsea Spetch for overall support while at University of California, Berkeley, as well as meaningful discussions and careful revisions of previous versions of this paper.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: RAB EA EOG ERAB. Performed the experiments: RAB JRRA MAN YCP. Analyzed the data: RAB JRRA MAN EA EOG VHH YCP ERAB. Contributed reagents/materials/analysis tools: RAB JRRA MAN EA YCP ERAB. Wrote the paper: RAB JRRA MAN EA EOG ERAB.

References

- Scheres B (2007) Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 345–54.
- Sablowski R (2004) Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? *Trends Cell Biol* 14: 605–11.
- Li L, Xie T (2005) Stem cell niche: structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol* 21: 605–31.
- Huang S (2012) The molecular and mathematical basis of Waddington's epigenetic landscape: A framework for post-Darwinian biology? *Bio Essays* 34: 149–157.
- Álvarez-Buylla E, Chaos A, Aldana M, Benítez M, Cortes-Poza Y, et al. (2008) Floral morphogenesis: Stochastic explorations of a gene network epigenetic landscape. *PLoS ONE* 3: e3626.
- Newman S, Bhat R (2008) Dynamical patterning modules: physico-genetic determinants of morphological development and evolution. *Phys Biol* 5: 015008.
- Newman S, Bhat R (2009) Dynamical patterning modules: a “pattern language” for development and evolution of multicellular form. *Int J Dev Biol* 53: 693–705.
- Fernandes AN, Chen X, Scotchford CA, Walker J, Wells DM, et al. (2012) Mechanical properties of epidermal cells of whole living roots of *Arabidopsis thaliana*: An atomic force microscopy study. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 85: 021916.
- Hamant O, Traas J, Boudaoud A (2010) Regulation of shape and patterning in plant development. *Curr Opin Genet Dev* 20: 454–9.
- Mammoto A, Mammoto T, Ingber DE (2012) Mechanosensitive mechanisms in transcriptional regulation. *J Cell Sci* 125: 3061–73.
- Barrio RA, Hernández-Machado A, Varea C, Romero-Arias JR, Álvarez-Buylla E (2010) Flower development as an interplay between dynamical physical fields and genetic networks. *PLoS ONE* 5: e13523.
- Espinosa-Soto C, Padilla-Longoria P, Alvarez-Buylla ER (2004) A gene regulatory network model for cell-fate determination during *Arabidopsis thaliana* over development that is robust and recovers experimental gene expression profiles. *Plant Cell* 16: 2923–2939.
- Álvarez-Buylla ER, Azpeitia E, Barrio R, Benítez M, Padilla-Longoria P (2010) From ABC genes to regulatory networks, epigenetic landscapes and over morphogenesis: Making biological sense of theoretical approaches. *Semin Cell Dev Biol* 21: 108–117.
- Kwiatkowska D (2008) Flowering and apical meristem growth dynamics. *J Exp Bot* 59: 187–201.
- van Mourik S, Kaufmann K, van Dijk ADJ, Angenent GC, Merks RMH, et al. (2012) Simulation of organ patterning on the oral meristem using a polar auxin transport model. *PLoS ONE* 7: e28762.
- Hester S, Belmonte J, Gens JS, Clendenen SG, Glazier J (2011) A multi-cell, multi-scale model of vertebrate segmentation and somite formation. *PLoS Comput Biol* 7: e1002155, doi:10.1371/journal.pcbi.1002155.
- Perilli S, Mambro RD, Sabatini S (2012) Growth and development of the root apical meristem. *Curr Opin Plant Biol* 15: 17–23.
- Ivanov VB, Dubrovsky JG (2012) Longitudinal zonation pattern in plant roots: conics and solutions. *Trends Plant Sci* 00219-1: S1360–1385.
- Benková E, Hejátko J (2009) Hormone interactions at the root apical meristem. *Plant Mol Biol* 69: 383–96.

20. Garay-Arroyo A, De La Paz Sánchez M, García-Ponce B, Azpeitia E, Álvarez Buyla ER (2012) Hormone symphony during root growth and development. *Dev Dyn* 241: 1867–1885.
21. Sanz L, Murray JA, Dewitte W (2012) To divide and to rule; regulating cell division in roots during post-embryonic growth. In: Lüttge U, Beyschlag W, Büdel B, Francis D, editors. *Progress in Botany*. Volume 73. Berlin Heidelberg: Springer. pp. 57–80.
22. Moubayidin L, Perilli S, Ioio RD, Mambro RD, Costantino P, et al. (2010) The rate of cell differentiation controls the Arabidopsis root meristem growth phase. *Curr Biol* 20: 1138–43.
23. Ivanov VB (1997) Relationship between cell proliferation and transition to elongation in plant roots. *Int J Dev Biol* 41: 907–15.
24. Inzé D, De Veylder L (2006) Cell cycle regulation in plant development. *Annu Rev Genet* 40: 77–105.
25. De Veylder L, Beekman T, Inzé D (2007) The ins and outs of the plant cell cycle. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 655–65.
26. Overvoorde P, Fukaki H, Beekman T (2010) Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2: a001537.
27. Woodward A, Bartel B (2005) Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot* 95: 707–735.
28. Guilfoyle T, Hagen G (2007) Auxin response factors. *Curr Opin Plant Biol* 10: 453–460.
29. Kleine-Vehn J, Friml J (2008) Polar targeting and endocytic recycling in auxin-dependent plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 24: 447–473.
30. Mockaitis K, Estelle M (2008) Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. *Annu Rev Cell Dev Biol* 24: 55–80.
31. Lau S, Jürgens G, De Smet I (2008) The evolving complexity of the auxin pathway. *Plant Cell* 20: 1738–1746.
32. Vanneste S, Friml J (2009) Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell* 136: 1005–1016.
33. Himanen K, Boucheron E, Vanneste S, de Almeida Engler J, Inzé D, et al. (2002) Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation. *Plant Cell* 14: 2339–51.
34. Oakenfull EA, Riou-Khamlich C, Murray JAH (2002) Plant D-type cyclins and the control of G1 progression. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 357: 749–60.
35. Ishida T, Adachi S, Yoshimura M, Shimizu K, Umeda M, et al. (2010) Auxin modulates the transition from the mitotic cycle to the endocycle in Arabidopsis. *Development* 137: 63–71.
36. Ding Z, Friml JL (2010) Auxin regulates distal stem cell differentiation in Arabidopsis roots. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 12046–51.
37. Jurado S, Abraham X, Manzano C, López-Torrejón G, Pacios L, et al. (2010) The Arabidopsis cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin. *Plant Cell* 22: 3891–904.
38. Tromas A, Braun N, Muller P, Khodus T, Paponov IA, et al. (2009) The AUXIN BINDING PROTEIN 1 is required for differential auxin responses mediating root growth. *PLoS ONE* 4: e6648.
39. Ioio RD, Nakamura K, Moubayidin L, Perilli S, Taniguchi M, et al. (2008) A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science* 322: 1380–1384.
40. Friml J, Benková E, Bilou I, Wisniewska J, Hamant T, et al. (2002) AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in Arabidopsis. *Cell* 108: 661–673.
41. Sabatini S, Beis D, Wolkenfelt H, Murfett J, Guilfoyle T, et al. (1999) An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. *Cell* 99: 463–472.
42. Petersson S, Johansson A, Kowalczyk M, Makoveychuk A, Wang J, et al. (2009) An auxin gradient and maximum in the Arabidopsis root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *Plant Cell* 21: 1659–1668.
43. Bilou I, Xu J, Wildwater M, Willemsen V, Paponov I, et al. (2005) The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature* 433: 39–44.
44. Vieten A, Vanneste S, Wisniewska J, Benková E, Benjamins R, et al. (2005) Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development* 132: 4521–4531.
45. Petrásek J, Mravec J, Bouchard R, Blakeslee J, Abas M, et al. (2006) PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. *Science* 312: 914–918.
46. Grieneisen V, Xu J, Marée P, Hogeweg P, Scheres B (2007) Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth. *Nature* 449: 1008–1013.
47. Mironova V, Omelyanchuk N, Yosiphon G, Fadeev S, Kolchanov N, et al. (2010) A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root. *BMC Syst Biol* 4: 98.
48. Swarup R, Bennett M (2003) Auxin transport: the fountain of life in plants? *Dev Cell* 5: 824–826.
49. Ditegou FA, Teale WD, Kochersperger P, Flittner KA, Kneuper I, et al. (2008) Mechanical induction of lateral root initiation in Arabidopsis thaliana. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 18818–18823.
50. Laskowski M, Grieneisen V, Hohluis H, Hove C, Hogeweg P, et al. (2008) Root system architecture from coupling cell shape to auxin transport. *PLoS Biol* 16: e307.
51. Kleine-Vehn J, Ding Z, Jones A, Tasaka M, Morita M, et al. (2010) Gravity-induced PIN transcytosis for polarization of auxin uxers in gravity-sensing root cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 22344–22349.
52. Palme K, Dovzhenko A, Ditegou F (2006) Auxin transport and gravitational research: perspectives. *Protoplasma* 229: 175–181.
53. Heisler M, Hamant O, Krupinski P, Uyttewaal M, Ohno C, et al. (2010) Alignment between PIN1 polarity and microtubule orientation in the shoot apical meristem reveals a tight coupling between morphogenesis and auxin transport. *PLoS Biol* 8: e1000516.
54. Nakayama N, Smith RS, Mandel T, Robinson S, Kimura S, et al. (2012) Mechanical regulation of auxin-mediated growth. *Curr Biol* 22: 1468–76.
55. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Disher DE (2006) Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 126: 677–689.
56. Hamant O, Heisler MG, Jonsson H, Krupinski P, Uyttewaal M, et al. (2008) Developmental patterning by mechanical signals in Arabidopsis. *Science* 322: 1650–1655.
57. Kutschera U, Niklas KJ (2007) The epidermal-growth-control theory of stem elongation: an old and a new perspective. *J Plant Physiol* 164: 1395–409.
58. Dupuy L, Mackenzie J, Haseloff J (2010) Coordination of plant cell division and expansion in a simple morphogenetic system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 2711–2716.
59. Merks RM, Guravage M, Inzé D, Beemster GT (2011) VirtualLeaf: An open-source framework for cell-based modeling of plant tissue growth and development. *Plant Physiol* 155: 656–666.
60. Honda H (1978) Description of cellular patterns by Dirichlet domains: the two-dimensional case. *J Theor Biol* 72: 523–543.
61. Prusinkiewicz P, Lindenmayer A (1990) The algorithmic beauty of plants. New York: Springer-Verlag.
62. Jonsson H, Heisler MG, Shapiro BE, Meyerowitz EM, Mjolsness E (2006) An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 1633–1638.
63. Rudge T, Haseloff J (2005) A computational model of cellular morphogenesis in plants. *Lect Notes Comput Sci* 3630: 78–87.
64. Beemster GT, Baskin TI (1998) Analysis of cell division and elongation underlying the developmental acceleration of root growth in Arabidopsis thaliana. *Plant Physiol* 116: 1515–1526.
65. Perrot-Rechenmann C (2010) Cellular responses to auxin: division versus expansion. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2: a001446.
66. Menges M, De Jager SM, Gruissem W, Murray JA (2005) Global analysis of the core cell cycle regulators of Arabidopsis identifies novel genes, reveals multiple and highly specific profiles of expression and provides a coherent model for plant cell cycle control. *Plant Cell* 17: 546–566.
67. Mirabet V, Das P, Boudaoud A, Hamant O (2011) The role of mechanical forces in plant morphogenesis. *Annu Rev Plant Biol* 62: 365–85.
68. Brunoud G, Wells D, Oliva M, Larrieu A, Mirabet V, et al. (2012) A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution. *Nature* 482: 103–106.
69. Baskin TI (2000) On the constancy of cell division rate in the root meristem. *Plant Mol Biol* 43: 545–554.
70. Ivanov VB, Dobrochaev AE, Baskin TI (2002) What the distribution of cell lengths in the root meristem does and does not reveal about cell division. *J Plant Growth Regul* 21: 60–67.
71. Verbelen JP, Cnodder TD, Le J, Vissenberg K, Baluska F (2006) The root apex of Arabidopsis thaliana consists of four distinct zones of growth activities. *Plant Signal Behav* 1: 296–304.
72. Niklas K, Spatz H (2012) *Plant physics*. Chicago: University of Chicago Press. 447 pp.
73. Mironova V, Omelyanchuk N, Novoselova E, Doroshkov A, Kazantsev F, et al. (2012) Combined in silico/in vivo analysis of mechanisms providing for root apical meristem self-organization and maintenance. *Ann Bot* 110:349–360.
74. Azpeitia E, Benitez M, Vega I, Villarreal C, Alvarez-Buylla E (2010) Single-cell and coupled GRN models of cell patterning in the Arabidopsis thaliana root stem cell niche. *BMC Syst Biol* 4: 134.
75. Sarkar A, Luijten M, Miyashima S, Lenhard M, Hashimoto T, et al. (2007) Conserved factors regulate signalling in Arabidopsis thaliana shoot and root stem cell organizers. *Nature* 446: 811–814.
76. Menges M, Hennig L, Gruissem W, Murray JAH (2003) Genome-wide gene expression in an Arabidopsis cell suspension. *Plant molecular biology* 53: 423–442.

MODELLING THE EARLY GROWTH OF STEM CELL TISSUES*

R. A. BARRIO, S. OROZCO-FUENTES, R. ROMERO-ARIAS

*Instituto de Física Universidad Nacional Autónoma de México
México 01000, D.F., México
E-mail: barrio@fisica.unam.mx*

In developmental biology, molecular genetic components have been considered as key in regulating the developmental mechanisms of plants and animals. Stem cells divide at a different rate depending on their position in the tissue, and eventually differentiate to form a recognisable anatomic entity. How this process happens if stem cells are identical sharing the same composition, DNA, genes and genetic networks? We propose that cells collect positional information on their environment by sensing mechanical and chemical fields. We propose a dynamical model to describe the early development of stem cells in a tissue. We choose the root meristem of *Arabidopsis thaliana* to explore the emergence of cellular patterns through a cooperative dynamics, as this system is well studied at the molecular, genetic and cellular levels and presents the key features of multicellular stem-cell niches. We successfully predict the variations of cell life cycle seen in the actual root meristem. Our model could be applied to other systems of interest, as the emergence of colorectal cancer. We also give a brief description of the dynamics of stem cells in the colonic crypts.

1. Introduction

A central question in developmental biology is to unravel the mechanisms by which stem cells develop and eventually differentiate to form tissues with specific functions. Ideal models to investigate this issue are the meristems of plants, which are groups of undifferentiated stem cells that are present throughout the whole life of the plant. During the early stages of cell reproduction, the domain in which they are confined, either in the floral meristem, or the root meristem, acquires a particular shape, being almost spherical in the case of the flower, and in a form of a tube in the case of the root.

*This work is supported by Conacyt, México, through project 179616.

It is seen that all 250000 species of angiosperms presents a unique configuration of the organelles consisting of a series of concentric circles where sepals are on the outside layer, followed by petals, stamens and finally carpels in the central layer of the domain. In a former paper¹ we were able to explain this universal disposition by assuming that stem cells acquire positional information within the domain from a physical field that senses the local curvature of the domain, which in turn couples to the regulatory genetic networks involved in flower development. The local curvature was introduced by an energy density functional defining a phase field model that was coupled to a field u acting directly on the genes. Numerical calculations with this model were able not only to recover the geometrical disposition of the organelles in wild type flowers, but to predict the geometry of flowers with mutated genes.

The central point of this work is that cells obtain positional information from chemical and physical fields that allow them to choose their final fate when genes act during differentiation. This hypothesis can be applied and tested in various scenarios concerning stem cells, namely the root meristem in plants and the groups of stem cells in colonic crypts in the intestine of animals, with little modifications². In what follows we shall describe the modelling of these systems based on this key hypothesis. Our aim is to develop a dynamical model in which the known experimental facts are taken into account.

2. The root meristem

The root meristem is an ideal model to test our hypothesis. Here the situation is more complicated than in the flowers, because the regulatory genetic networks involved in the early development of the root are not known completely. However, the root meristem in the early stages of development presents distinguishable zones along the apical basal axis of the root. At the tip of the root there is the stem cell niche (SCN), consisting of stem cells surrounding the quiescent centre cells or the organiser cells (QC). Towards the base of the plant, one encounters a cell proliferation domain (CPD) where cells have high rates of cell division, then they enter a transition domain (TD), where cells have low division rates, but they preserve their length. The SCN, the CPD and the TD comprise the root apical meristem (RAM). More distally from the organiser centre, cells cease to proliferate and start to grow in the elongation domain (EZ). This situation suggests that the geometry of the tip of the root produces a physical field that is

able to distinguish between the different zones of the domain and consequently translate this positional information to the mechanisms responsible of regulating cell division.

2.1. *Dynamical Model*

Taking advantage of the cylindrical symmetry of the domain we can reduce our study to two dimensions, that is a cylinder with a parabolic cap simulating the tip, in which stem cells are defined by points r_i that produce a Voronoi tessellation of the inner space. The outer layer consists of a row of epithelial cells. These cells produce an elastic field due to the fact that they tend to have a uniform size in adulthood, and a similar spherical shape. A key process that has been tested experimentally is the important role that auxins play in regulating the concentration of cyclins that ultimately dictate the period of the life cycle of stem cells. Therefore, we propose that a complex coupled dynamics takes place between the three key processes, namely: 1) The physical elastic field dictated by the geometry, 2) The sensitivity of auxins to this field, which allows them to be transported actively along the root, producing a concentration gradient that is able to define the sections of the root along the axis, and 3) The direct dependence of the period of the cell cycle on the local concentration of auxins. A detailed description of the model that integrates the three key dynamical processes considered to explore the emergence of cellular patterns during *A. thaliana* root development can be found in Ref. ³.

Elastic fields

The elastic field regulates the form and shape of every root cell and has the form

$$V(x_i, y_i, t) = \frac{K_v}{2}(A_i(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2}(\vec{r}_i(t) - \vec{r}_{0_i}(t))^2, \quad (1)$$

where A_i is the volume of cell i and A_0 represents the volume of an adult cell. The instantaneous position of the cell i is $\vec{r}_i(t)$ and the centre of mass position is $\vec{r}_{0_i}(t)$. The first term helps cells to grow to the adult cell size, and the second term favours an isotropic cell shape. K_v and K_c are elastic constants that can be associated to the elastic moduli of the cell wall. The elastic potential of the outer cells (labeled e) is different, but should be analogous to the original potential for the internal cells, with the condition that outer cells have different elastic response and their displacement should

be along the outer surface. Therefore, the potential for cells in the outer surface is

$$V(x_e, y_e, t) = \frac{K_e}{2}(A_e(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_e}{2}(\vec{r}_e(t) - \vec{r}_{0_e}(t))^2, \quad (2)$$

where K_e is an elastic constant, in principle different from K_v , and A_e differs from A_i . Thus, the dynamics of any cell (i, e) is

$$\frac{d\vec{v}_{(i,e)}}{dt} = -\nabla V(x_{(i,e)}, y_{(i,e)}, t) - k\vec{v}_{(i,e)}, \quad (3)$$

where k is a friction coefficient. This equation can be solved with the boundary condition $\nabla V \cdot \hat{n} = 0$ for the outer cells, where \hat{n} is a unit vector normal to the surface at each point.

Auxin transport dynamics

The mechanism by which the mechanical forces participate in the transport of auxins can be modelled by proposing an active transport of auxins through the membrane that follows D'Arcy's law, in which the permeability (P) of the membrane is modified by the PIN polarisation. Let us examine the general transport equations. Conservation of mass implies the continuity equation $\partial c / \partial t = -\nabla \cdot \vec{J}$, where $\vec{J} = \vec{v}c$ is the the flux. Normal diffusion means that the flux is proportional to the gradient of c , with the diffusion coefficient D_0 being the proportionality term. Therefore, the exchange of auxins per unit area per unit time for cell i can be written as,

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha \left[\sum_m A_{i,m} P_{im} (V_m - V_i) (c_m - c_i) \right] + D_0 \nabla^2 c_i, \quad (4)$$

where α is a constant with proper physical units and the summation is over all m neighbours of cell i . The term in square brackets represents the active hydrodynamic transport given by D'Arcy's law and the second term on the right is diffusion through the intercellular medium. Active transport should be proportional to the contact area between cells $A_{i,m}$, the permeability of the membrane $P_{i,m}$, the "pressure drop", proportional to the local potential difference, and the auxin concentration difference between adjacent cells.

PIN polarization dynamics

The term in square brackets in Eq. 4 could enhance or deplete normal diffusion depending if it is positive or negative, respectively. If P_{im} is constant, this term is proportional to $\nabla V_i \cdot \nabla c_i$. Thus, the key quantity that regulates the active transport against the concentration gradient is precisely the elastic potential difference between cells and PIN polarisation, which could make the permeability zero or negative. In order to model PIN polarisation we have constructed a boolean network that takes into account the experimental information of the process, which involve the elastic potential, auxin interactions with proteins that regulate the kinases which produce the polarisation states. Once the attractors that define the two PIN polarisation states we can translate the boolean network into a set of ordinary differential equations which allows us to represent the permeability of the membrane as,

$$P_{i,m} = \Theta[(V_m - V_i)(c_m - c_i)]\text{sign}(V_m - \bar{V}), \quad (5)$$

where $\Theta[\dots]$ is the Heaviside function, being zero when the argument is negative, and $\bar{V} = \sum_i V_i/N$ is the average value of the potential over the N cells in the meristem.

The way in which epidermal cells divide is exactly the same as the meristematic cells, except that division always occurs horizontally, that is, the mother cell lies exactly below the daughter, and the parameter β , that regulates the period of the cell cycle³ could, in principle, be different. In order to clarify the way in which the different dynamics occur and interact in our model, we show in Fig. 1 a flow diagram of the computational platform to integrate the model.

2.2. Results

In Fig. 2 we show typical results of our calculations. In (A) we show the profile of the auxin's concentration along the longitudinal axis of the root (dashed line). We also show the normalised potential (continuous grey line), and the number of cell divisions (black continuous line). These profiles are very similar to our published results³ and follow the experimental data very closely. In (B) we show three snapshots taken at different times of the growth process. In the upper part the auxin concentration and in the lower part the elastic potential values.

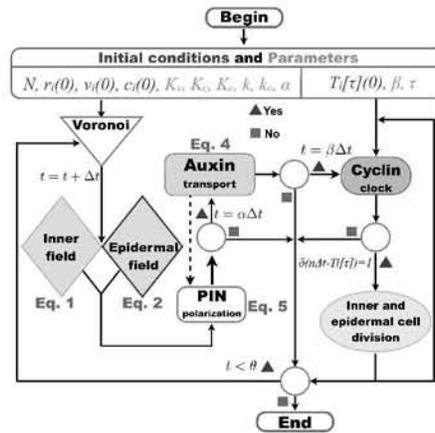


Figure 1. Flow diagram of the platform built for numerical calculations of the root growth.

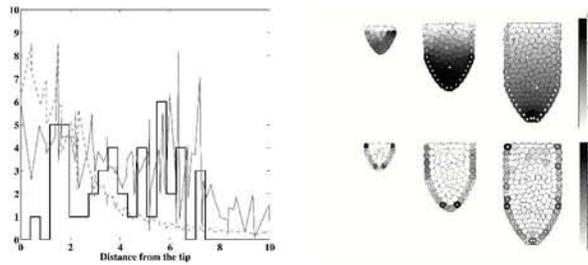


Figure 2. (A) Profile of the auxin's concentration along the longitudinal axis of the root (dashed line). We also show the normalised potential (continuous grey line), and the number of cell divisions (black continuous line). (B) Three snapshots taken at different times of the growth process. In the upper part the auxin concentration and in the lower part the elastic potential values.

3. Modelling Colonic Crypts

3.1. The problem

Morphogenesis is a process that takes place during embryonic development where it controls the spatial distribution of cells, and inside a mature or-

ganism with cell renewal or regeneration¹⁶. This process is driven by substances present in the tissue, known as morphogens, which diffuse through the tissue and specifies *via* concentration gradients, positioning and differentiation of stem cells. Recent discoveries have pointed out that this biological process plays a significant role during many pathological processes, such as the formation of tumour cell masses and carcinogenesis¹⁷.

Therefore, the study of how stem cells can maintain their ability to divide (multipotency) and give rise to daughter cells that differentiate into tissues and organs is fundamental to understanding the development of multicellular organisms and the formation of tumours and cancer. Particularly, it has been shown that carcinogenesis occurs due to modifications of gene expression, related to changes in the environment which trigger cellular response, signalling and chemotaxis^{4,8}. A model system to study carcinogenesis is the structure of the lining of the intestine.

The epithelial layer of the human intestine tract is the body's largest mucosal surface, divided into two segments, the small and the large intestine or colon. The small intestine mucosa is composed with a single layer of cells organised into finger-like protrusions, also known as *villi*, and invaginations or crypts of Lieberkün. The large intestine, on the other side, is only composed with a single layer of cells organised in crypts and lacks of villi. Cells lining the intestinal epithelium are replaced every 2-3 days in the mice and every 3-5 days in humans²⁴, making it the most rapidly renewing tissue in the mammalian body and a suitable model for studying adult mammalian stem cells. Since, this tissue is formed by about 2×10^7 crypts, which are "test-tube" shaped invaginations in the epithelium of the colon, they provide a huge surface area for the absorption of water and nutrients while forming a protective barrier from harmful substances entering the lamina propia²³.

Colonic crypts are tightly packed cylindrical tubes which are evenly distributed with a central hole down the length of crypt, also known as the crypt lumen, see Fig. 3(A). A human colonic crypt contains approximately 2000 cells, with about 75-110 cells long and an average crypt circumference of 23 cells²⁰. Experimental studies indicate an ordering along the crypt where proliferative cells are located at the base of the crypt and mature cells at the crypt orifice (lumen). Observations of cell proliferation markers suggest a sharp boundary between the proliferative and mature regions, where the proliferative cells occupy the lower third of the crypt²⁵.

A healthy human colonic crypt contains a population of 5 to 6 stem-cells that reside at or near the base of the crypt²⁰. These stem cells

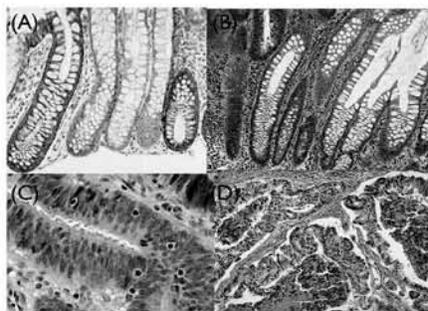


Figure 3. Neoplasia in a colonic crypt: (A) normal tissue, (B) early adenoma, (C) late adenoma and (D) adenocarcinoma. (Taken from Wikipedia)

divide to produce transit amplifying (TA) cells which proliferate rapidly and mature as they migrate up the crypt. These TA cells perform several symmetric divisions before terminally differentiating. Since only the cells located at the base of the crypt proliferate (due to mitotic activity), this process creates a cell migration up the crypt, resulting in a pressure driven cell flow. When differentiated epithelial cells reach the crypt collar, they undergo apoptosis and/or are shed into the lumen. In addition to this, a process of programmed cell death, known as *anoikis*, is triggered when there is inadequate adhesion of the epithelial cells to the extracellular matrix¹⁸. This detachment induce apoptosis (cell death) and under healthy circumstances all these processes combined maintain tissue homeostasis by restricting proliferation to a monolayer and by preventing cells from reattaching and resuming growth in another location. The establishment of an upward migration and removal of cells inside the crypt gives a defence mechanism against mutated cells, via renewing the epithelial layer every few days. The balance disruption in these regulatory processes is linked to the formation of adenomas and carcinomas, see Fig. 3. Transit from the crypt base to the surface takes 5-6 days in humans. In the rat's small intestine, experiments have showed that cell velocity increases linearly with the crypt height and exhibits circadian variation¹⁹: Cells move at $13\mu\text{m}/\text{hr}$ at the upper crypt and $34\mu\text{m}/\text{hr}$ in the base of the *villus*, with this velocity increasing to $51.8\mu\text{m}/\text{hr}$ in the upper villus (where cells are continuously enlarged)²¹.

Colorectal Cancer (CRC) is one of the most frequent cancer disease in

the population with one million of new cases every year (worldwide) and with 33% of mortality rate. CRC is thought to originate due to genetic and epigenetic alterations that affect the cellular dynamics of the crypts lining the large intestine. When these genetic mutations occur, cells can accumulate and this alter the cell migration flow velocity, then such cells acquire the ability to persist and multiply inside the crypts^{5,9}. It is generally believed that formation of tumours in the colon start as disease connected with mutations in stem cells, that continuously produce (*via* proliferation) more progenitor tumor cells²². Experimental studies and computational models have been developed to study the clonal conversion of the colonic crypt due to the competition between wild-type (healthy cells) and mutant cells at the base of the crypt^{6,10,7,11}.

Therefore, understanding how cells organise inside the crypts is important to gain insight into the origins of adenomas (see Fig. 3(B) and (C)). Disorganisation of crypt dynamics increase stress on the walls of the crypts and if some stem cell acquire a mutation that increases proliferation, inhibits apoptosis or alter cell-cell adhesion in its progeny, this mutant clone can colonise the entire crypt and replace the non-mutant cell population.

There are many biochemical pathways, whose dysfunction leads to genetic mutations in the crypt and their study are of particular importance to assess the origin of colorectal cancer^{7,12}. The Wnt signalling pathways have an important role in many biological processes in animals, regulating embryonic development, cell fate determination (canonical), cell movement and tissue polarity (non-canonical) and carcinogenesis (see Fig. 3(D)). In the normal intestinal epithelium Wnt signalling pathways maintains self-renewal of intestinal stem cells and progenitor cells via proliferation and differentiation. Wnt's are a large family of secreted proteins that acts as morphogens and activate receptors on the cell surface which triggers a myriad of events inside the cell *via* modulating the expression of target genes¹⁴. In particular, the canonical Wnt signalling has been implicated in the regulation of intestinal stem cells and crypt dynamics. Mutations and aberrant regulation of the Wnt/ β -catenin pathway and APC (adenomatous polyposis coli) gene leads to the onset and progression of CRC¹³.

3.2. Numerical calculations

The geometry of the colonic crypts allows us to simplify the problem domain by using a quasi-one dimensional model. Following reference³, we construct a crypt as a regular shape with points lying along the boundaries

of two semi-circles patched at both open ends with two parallel walls. These boundary points are fixed in space, the interior ones define the crypt lumen, while the exterior ones represent the basement membrane which maintains the integrity and structure of the epithelial layer, gives mechanical support and acts as a physical barrier between the epithelial cells and the connective tissue.

We propose that the cells in the crypt obtain positional information from a physical elastic field obtained from a potential function exactly the same as in the case of the root. We assume that the transcription of this information to the mechanisms regulating the life cycle period is performed by the Wnt signalling pathway, similar to the role of auxins in plants, that is, the period of the life cycle regulated by cyclins is inversely proportional to the square root of the concentration of Wnt, which in turn depends linearly on the value of the potential energy in each cell.

Numerical calculations were performed in several domains with different geometrical proportions. In Fig. 4 we show a snapshot of the calculation in which only the cells at the bottom of the crypt reproduce. The cells at the extremes of the quasi one dimensional domain migrate out of it as the space in the crypt is occupied by the newly born cells.



Figure 4. Numerical calculation representing a healthy crypt. The colour code represents the value of the potential in each cell and the white cells at the bottom of the crypt are the ones that divide.

The parameters used in Fig. 4 were $k_V = k_c = 120$, $k = 5$, $\beta = 8$, $D_o = 0$ and $\alpha = 1$. The region of parameters where homeostasis is achieved is quite reduced, and also depends very much on the geometric proportions of the domain.

In Fig. 5 we show calculations made in domains with several shapes, with the same set of parameters $k_V = 1$, $k_c = 4$, $k = 3$, $\beta = 25$, $D_o = 0$

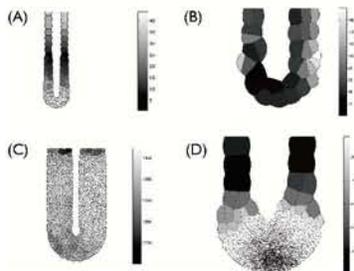


Figure 5. Effect of the geometry of the domain. (A) Healthy crypt. (B) Stem cells migrate in a wide crypt. (C) Migrated stem cells reproduce rapidly before mature cells migrate. Observe that mature cells are situated in the vicinity of the lumen only, this allows cancer cells to abandon the crypt and presumably this represents metastasis of a cancerous tumour. (D) anomalies in a wider cell in which uncontrolled reproduction takes place only at the bottom of the crypt, resulting in a localised tumour. The colour code represents the value of the potential in each cell and the white cells at the bottom of the crypt are the ones that divide.

and $\alpha = 1$. We notice that anomalies on morphology are seen.

4. Conclusions

We have presented a model involving coupled dynamics of three different processes, that combined result in a functional dynamical development of a set of stem cells that allow the subsequent differentiation promoted by genes. This model is simple, from the point of view of Biology, but shows some universal mechanisms that should be present in many biological systems. The key idea is that functional differentiation takes place because stems cells interact with their environment through physical and chemical fields that provide them with spacial and temporal information. The universality of this approach is demonstrated by recovering the developmental dynamics seen in three rather different stem cell systems, namely, the flower meristem, the root meristem and the renewal of cells in colonic crypts.

References

1. R.A. Barrio, A. Hernández-Machado, C. Varea and J. R. Romero-rias and E.R. Álvarez-Buylla, *PLoS One*, **5**, 10,(2010).
2. R. Heidstra and S. Sabatini. *Nature Reviews / Molecular Cell Biology*, **15**, 301 (2014).

3. R. A. Barrio and J. R. Romero-Arias and M. A. Noguez and E. Azpeitia and E. Ortiz-Gutiérrez and V. Hernández-Hernández and Y. Cortes-Poza and E. R. Álvarez-Buylla, *PLoS: Computational Biology* **9**(5), (2013).
4. A. d'Onofrio and I. P. M. Tomlinson, *Journal of Theoretical Biology* **244**, 367 (2007).
5. D. Cunningham and W. Atkin and H. J. Lenz and H. T. Lynch and B. Minsky and B. Nordlinger and N. Starling, *The Lancet* **375**, 1030 (2010).
6. A. Humphries and N. A. Wright, *Nature Reviews: Cancer* **8**, 415 (2008).
7. S. K. Kershaw and H. M. Byrne and D. J. Gavaghan and J. M. Osborne, *IET Syst. Biol.* **7**(3), 57 (2013).
8. I. P. M. Tomlinson and W. F. Bodmer, *PNAS* **92**, 11130 (1995).
9. X. Liu and M. Jakubowski and J.L. Hunt, *Am. J. Clin. Pathol.* **135**(2), 245 (2011).
10. G. R. Mirams and A. G. Fletcher and P. K. Maini and H. M. Byrne, *Journal of Theoretical Biology* **312**, 143 (2012).
11. Y. Kagawa and N. Horita and H. Taniguchi and S. Tsuneda, *J. Gastroentero.* **49**, 263 (2014).
12. A. G. Fletcher and P. J. Murray and P. K. Maini, *arXiv:1506.05019v1 [q-bio.TO]* 26 (2015).
13. P. Polakis, *Genes & Dev.* **14**, 1837 (2000).
14. O. Voloshanenko and G. Erdmann and T. D. Dubash and I. Augustin and M. Metzger and G. Moffa and C. Hundsruker and G. Kerr and T. Sandmann and B. Anchang and K. Demir and C. Boehm and S. Leible and C. R. Ball and H. Glimm and R. Spang and M. Boutros, *Nature Communications*, **4**, 13 (2013).
15. C.H.F. Chan and P. Camacho-Leal and C.P. Stanners, *PLoS One* **2**, e1353 (2007).
16. E. F. Rossomando and S. Alexander, *Morphogenesis: An Analysis of the Development of Biological Form*, CRC Press (1992).
17. N. Barker and R. A. Ridgway and J. H. van Es and M. van Wetering and H. Begthel and M. van den Born and E. Danenberg and A. R. Clarke and O. J. Sansom and H. Clevers, *Nature* **457**, 608 (2009).
18. S. Frisch and H. Francis, *J. Cell. Biol.* **124**(4), 619 (1994).
19. P. Kaur and C. S. Potten, *Cell Tissue Kinet.* **19**(6), 591 (1986).
20. A.M. Baker, B. Cereser, S. Meltonand, A. G. Fletcher, M. Rodriguez-Justo, P. J. Tadrousand , A. Humphries, G. Elia, S. A. McDonald, N. A. Wright, B. D. Simons, M. Jansen and T. A. Graham , *Cell Rep.* **8**(4), 940 (2014).
21. S. Tsubouchi, *Cell Tissue Kinet.* **16**(5), 441 (1983).
22. P. A. Beachy and S. S. Karhadkar and D. M. Berman, *Nature* **432**, 324 (2004).
23. L. W. Peterson and D. Artis, *Nature Reviews: Immunology* **14**, 141 (2014).
24. B. Creamer and R.G. Shorter and J. Bamforth, *Gut* **2**, 110 (1961).
25. S.J. Leedham and P. Rodenas-Cuadrado and K. Howarth and A. Lewis and S. Mallappa and S. Segditsas and H. Davis and R. Jeffery and M. Rodriguez-Justo and S. Keshav and S.P.L. Travis and T.A. Graham and J. East and S. Clark and I.P.M. Tomlinson, *Gut* **62**, 83 (2013).

A model of polar auxin transport coupled to mechanical forces retrieves robust morphogenesis along the *Arabidopsis* root

José Roberto Romero-Arias^{1,*}, Valeria Hernández-Hernández²,

Mariana Benítez^{2,3}, Elena R. Alvarez-Buylla^{2,3}, Rafael A. Barrio^{1,3}.

¹ Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., Mexico.

² Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., Mexico

³ Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., Mexico.

(Dated: June 30, 2016)

Stem cells are identical in many scales, they share the same molecular composition, DNA, genes and genetic networks, yet they should acquire different properties to form a functional tissue. Therefore, they must get some external information from their environment, either spatial (dynamical fields) or temporal (lineage). In this work we propose that the spatial information provided by chemical and physical fields is sufficient to explain the changes that stem cells experiment during the early stages of development. We choose the root apical meristem of *Arabidopsis thaliana* to model the emergence of cellular patterns. We built a dynamical model to study the dynamics and interactions between the cell division dynamics, the local auxin concentration and physical elastic fields. Our model recovers important aspects of the self-organized and resilient behavior of the observed cellular patterns in the *Arabidopsis* root. In particular, the reverse fountain pattern observed in the auxin transport, the PIN polarization pattern and the accumulation of auxin near the region of maximum curvature in a bent root. Our model may be extended to predict altered cellular patterns that are expected under various applied auxin treatments or modified physical growth conditions.

KEYWORDS: *Arabidopsis*; root meristem; auxin transport; physical fields.

* Corresponding Author: arias@fisica.unam.mx

I. INTRODUCTION

The field of developmental biology has been focusing for decades on molecular genetic components as key in regulating the developmental mechanisms of plants and animals. Only recently scientists started considering the role of physical forces and their feedback together with the dynamics of chemical fields, cell proliferation and regulatory networks as important components of the mechanisms underlying the emergence of positional information during morphogenesis (Barrio et al. 2013, Hernández-Hernández et al. 2014, Mammoto et al. 2012, Newell et al. 2008). Importantly, the mechanical elastic forces experienced by cells, not only guide cell fate determination and patterning during development, but are also affected and generated by cellular processes themselves, in turn affecting some chemical fields (Barrio et al. 2013, Bozorg et al. 2014, Jaeger and Reinitz 2006).

Plants are becoming useful experimental systems to uncover the role of physical forces in morphogenesis (Barrio et al. 2013, Heisler et al. 2010). In particular, the root of *A. thaliana* is being used to integrate the interplay among genetic, biochemical, physical and environmental factors acting during development (Barrio et al. 2013, De Rybel et al. 2014, Hernández-Hernández et al. 2014). In the apical-basal axis of this organ, different developmental stages can be clearly distinguished: the root apical meristem (RAM) in which cells exhibit a high division rate and at which tip the stem-cell niche is found; towards the base of the plant, the transition domain (TD), where

the cell division rate diminishes, and then the elongation zone (EZ), where the cells cease to divide and start to grow until they attain a maximum length and start to differentiate in the differentiation zone (DZ) at the distal part of the root with respect to its apex (Ivanov and Dubrovsky 2013) (see Fig. 1).

Auxins are key hormones that act during various stages and aspects of plant development and, among other processes, they promote cell proliferation (Zažímalová et al. 2014). In the root, the highest concentration of auxin is found at the quiescent centre (QC) of the RAM and then a clear gradient of auxin concentrations along the root longitudinal axis correlates with contrasting cell proliferation (Pettersson et al. 2009, Zažímalová et al. 2014). Auxin patterns are formed mainly by the active transport of this hormone from the inside of cells towards the intercellular spaces, mainly by the PIN-FORMED (PIN) efflux carriers which are located anisotropically in the plasma membrane (*i.e.*, they are polarized) and present peculiar patterns in the radial and longitudinal axis of roots (Blilou et al. 2005, Wisniewska et al. 2006). In the RAM and root primordia PINs polarize away from the auxin maximum in outer tissues whereas they locate towards the maximum in the inner cell rows. The flux of auxin correlates with these patterns of PIN polarization (Wisniewska et al. 2006) forming a reverse fountain pattern, according to Blilou *et al.* (Blilou et al. 2005) where it has been reported that PIN mutants affect auxin patterns in the root and the size of the RAM as well as other aspects of its organization.

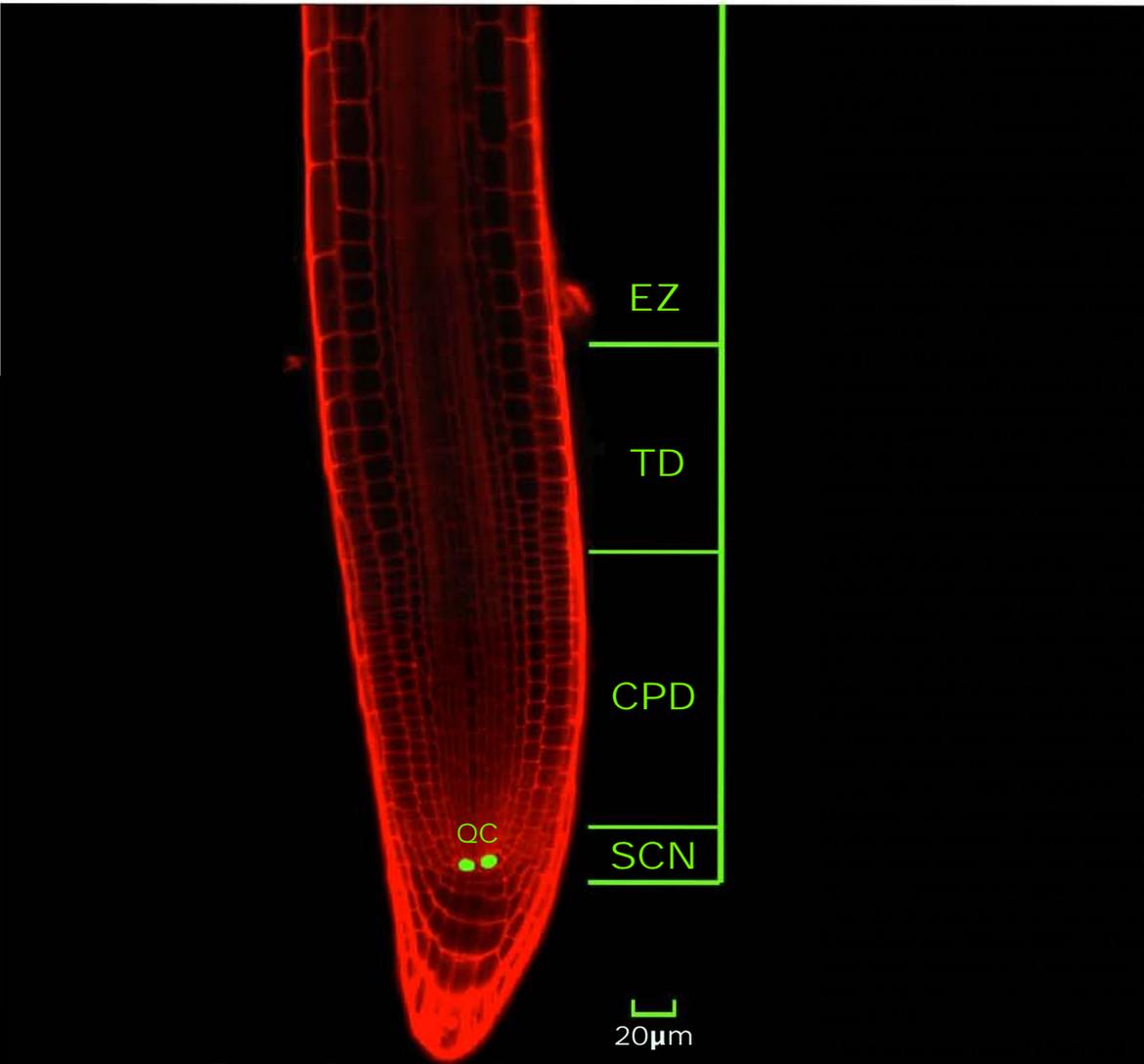


FIG. 1: **Confocal microscopy image of the *Arabidopsis thaliana* root tip.** The stem-cell niche (SCN) with the quiescent cells (QC, in green) and surrounding stem cells, the cell proliferation domain (CPD) with actively proliferating cells, the transition domain (TD) and the elongation zone (EZ), where cells do not proliferate, are indicated. The SCN, CPD and TD comprise the root apical meristem (RAM).

The localization of the PIN transporters is dynamic, their density and position in the plasma membrane depend on the rates of endo- and exocytosis. Given their key role in establishing auxin gradients and patterns of cell proliferation, the study of the mechanisms underlying their organization and polarization has attracted

components regulate transcripts (Garay-Arroyo polarization of these see Kleine-Vehn and studies have shown to participate in such the mechanical proper cell wall (Feraru et al. a et al. 2012).

dynamics of PIN polar- el and can be divided ation- and flux-based see (Van Berkel et al. aspects of PIN po- ner, they are unable ain-like pattern of the ns at the tissue level models that have in- t into a polar auxin . 2010, Newell et al. different properties of or its interactions with cs to explain cellular c (Lintilhac 2013) has wth that involves the

In the organ scale, result of the dynamics when new cells grow neighbors, and tissue are accompanied by 92, Wojtaszek 2011). e a compressive stress d Niklas 2007) while, ed to tension as a re- ner tissues that pro- wth (Kutschera 1992, e stresses emerge from e.g., differences in cell erential growth (Woj-

. 2013) we postulated a cooperative dynamics of cell division and physicochemical fields to explore their role in the emergence of cellular patterns in the *Arabidopsis* root. In that model the key point is the assumption that cell division dynamics is mainly regulated by auxin concentration, whose gradient is produced by differences in the local elastic field. The cell life cycle was modeled by considering that the oscillations of cyclins D and B are coupled to the local auxin concentration. We used a fixed polar localization of PIN transporters and also considered a fixed QC with low division rate. While this model was successful at reproducing and partially explaining the main qualitative aspects of root apical-basal patterns of cell division and size, as well as of auxin concentration, it has important limitations. For instance, it cannot be used to understand the dynamical response of root development to perturbations such as changes in the plant orientation or environmental

stimuli. On the other hand, this model makes no distinction between different tissues which present important differences in the orientation of the PIN transporters and their mechanical properties, among others (Lucas et al. 2013, Vermeer et al. 2014, Wisniewska et al. 2006).

Based on the evidence that mechanical forces are important sources of positional information during plant development (Hernández-Hernández et al. 2014) and that they seem to participate in the polarization of PIN transporters, we now present a modified version of the model in which we explicitly consider the polarization dynamics as a response to elastic fields. Our aim is to generate a qualitative model that allows us to study how mechanical and biochemical fields interact, to make general proofs of principle and to render testable predictions. In the search for generality and simplicity, we sacrifice precision in features such as the actual shape of individual cells.

The explicit dynamics of PIN polarization and elastic fields enables simulations of plastic responses to environmental and internal stimuli that alter elastic fields. In this new model we distinguish between outer and internal tissues, each one subjected to different forces. In contrast to our previous model, the patterns of cellular organization, auxin accumulation and polarization of PIN transporters emerge naturally from the feedbacks between the different dynamics taken into account.

The model suggests that the origin and variation of morphogenetic patterns and organ shapes during development largely depend on the complex interactions among cell proliferation dynamics, and physicochemical fields. Our model recovers important aspects of the self-organized, robust cellular patterns in *Arabidopsis* root development and the results of numerical simulations are validated with experimental measurements on cell size and division patterns along root. We further validate the model by simulating root bending using an altered U-shaped domain and evaluating if, under such conditions, auxin and cell dynamics present features resembling those observed in real roots.

II. MODEL

In considering the extension of the model by Barrio *et al.* (Ref. Barrio et al. (2013)) we now add two key features: 1) the differences between the elastic fields generated in the external cell layers (lateral root cap and epidermis) with respect to the internal cells (corresponding to the cortex, endodermis and central cylinder cells), and 2) an explicit dynamics for the polarization of PIN transporters that responds to these elastic fields.

Elastic fields

We explain first the rationale for feature 1). The growth of stems and roots, is constrained by outer tissues

and involves a stress-strain dynamics among different adjoining tissues (Kutschera and Niklas 2007, Wojtaszek 2011). As it has been proposed (Green 1962, Kutschera 1992, Kutschera and Niklas 2007), the “epidermal growth control theory” states that organ growth is a matter of increase in internal pressure and the release of tissue tension (elasticity increase) by means of cell wall loosening of outer tissues.

In any physical system, solid or liquid, the forces acting on the border are different to those in the inside. The surface energy could be defined as the excess energy at the surface as compared to the bulk. Although, to the best of our knowledge, the elastic moduli of outer and internal tissues has not been measured, there is evidence that suggests that the cell walls of the tissues of the root differ in their chemical composition and that outer tissues have thicker walls that impose a mechanical constraint (Freshour et al. 2003, Fridman et al. 2014, Lucas et al. 2013, Vermeer et al. 2014) that should result in distinct elastic properties. With this information we could use the LOS principle of Lintilhac (Lintilhac 2013) to model the growth of the root, in such a way that there is an equilibrium between the rates of cellular division in order to keep the balance between them and allow a smooth growth of the root.

As in our previous model (Barrio et al. 2013), we assume a cylindrical symmetry of the root to model the dynamics in two dimensions. If we also assume that the cells present an equilibrium state regarding their size and shape, and we can approximate the energy potential by a Taylor expansion of an arbitrary function around this equilibrium state up to second order. The harmonic potential felt at cell i is,

$$V_i(x_i, y_i, t) = \frac{K_v}{2}(A_i(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2}(\vec{r}_i(t) - \vec{r}_{0_i}(t))^2, \quad (1)$$

where A_i is the volume of cell i and \bar{A}_0 represents the average volume of adult cells. The instantaneous position of the cell i is $\vec{r}_i(t) = (x_i(t), y_i(t))$ in two dimensions and the center of mass position is $\vec{r}_{0_i}(t)$. The first term keeps the size of cells around \bar{A}_0 , and the second term favors a spherical, isotropic cell shape. K_v and K_c are constants that can be associated to the elastic moduli of the cell wall. With this potential we can calculate the local forces as $\vec{F}_i = -\nabla V_i(x_i, y_i, t)$ which give the Newtonian coupled dynamical equations,

$$\begin{aligned} \frac{\partial \vec{v}_i}{\partial t} &= \vec{F}_i - k\vec{v}_i \\ \frac{\partial \vec{r}_i}{\partial t} &= \vec{v}_i \end{aligned}$$

where k is a friction coefficient. From now on we should refer to Eq. 1 as the one defining an “elastic” field, in analogy to the true elastic field produced by a harmonic function of the coordinates.

The elastic potential of the outer cells (labeled e) is different, but should be analogous to the original potential for the internal cells, with the condition that outer cells have different elastic response and their displacement should be along the outer surface. Therefore, the potential for cells in the outer surface is

$$V_e(x_e, y_e, t) = \frac{K_e}{2}(A_e(t) - \bar{A}_0(t))^2 + \frac{K_c}{2}(\vec{r}_e(t) - \vec{r}_{0_e}(t))^2, \quad (2)$$

where K_e is an elastic constant, in principle different from K_v , and A_e differs from A_i by an amount,

$$A_e(t) - A_i(t) = \sum_{j \in e} \frac{l_{ej}}{4} [|y_j(t) - y_e(t)| - |\vec{r}_{ej}(t)|], \quad (3)$$

where l_{ej} is the contact area between two neighboring epidermal cells e and j , \vec{r}_{ej} is the distance between these cells and y is the coordinate along the root axis. Thus, the dynamics of an epidermal cell e is given by

$$\frac{d\vec{v}_e}{dt} = -\nabla V_e(x_e, y_e, t) - k_e \vec{v}_e, \quad (4)$$

where k_e is the corresponding friction coefficient. Note that the discrete gradient on the network is $\nabla V_e = \sum_m (V_m - V_e)(\vec{r}_m - \vec{r}_e)/|\vec{r}_m - \vec{r}_e|^2$, and involves a summation over all m neighbors of cell e , which means that the acceleration of an epidermal cell could be in any direction, not only along the longitudinal axis. The equations can be solved using zero flux boundary conditions or the outer cells, $\nabla V_e \cdot \hat{n} = 0$ where \hat{n} is a unit vector normal to the outer surface of the domain. This ensures that the acceleration is always transverse to the domain boundary.

Auxin transport dynamics

The mechanism by which the mechanical forces participate in the polarization of PIN auxin efflux transporters can be modeled by proposing an active transport of auxins through the membrane that follows Darcy's law, in which the permeability (P) of the membrane is modified by the PIN polarization. In our former model (Barrio et al. 2013) this action was simply taken to be a gate that could be opened or closed following some simple binary rules \mathcal{F} . Let us examine carefully the general transport equations. Conservation of mass implies the continuity equation $\partial c/\partial t = -\nabla \cdot \vec{J}$, where $\vec{J} = \vec{v}c$ is the flux. Fickian diffusion means that the flux is $-D_0 \nabla c$, with diffusion coefficient D_0 . Therefore, the exchange of auxins per unit area per unit time for cell i can be written as,

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \alpha \left[\sum_m A_{i,m} P_{i,m} (V_m - V_i)(c_m - c_i) \right] + D_0 \nabla^2 c_i, \quad (5)$$

where α is a constant with proper physical units and the summation is over all m neighbors of cell i , $A_{i,m}$ is the contact area between cells (in our 2 dimensional approximation this is the length of the segment between neighboring cells), and $P_{i,m}$ is the permeability of the interface.

The term in square brackets represents the active hydrodynamic transport given by Darcy's law, which simply states that the volume transported per unit time is proportional to the cross sectional area of the channel ($A_{i,m}$ in our case), the pressure drop (proportional to the potential difference in our case) and the permeability of the medium, in which we absorb the viscosity and the length of the channel. The form of the square brackets in Eq. 5 is obtained by using the Stokes equation for incompressible, stationary flows. The second term on the right arises from the assumption that fickian diffusion of auxins between neighboring cells is inevitable, even in the absence of the PIN action, although D_0 should be very small, according to experimental observations. Notice that the term in square brackets is exactly the same as in Eq.7 of Ref. Barrio et al. (2013), except that the dimensionless quantity $P_{i,m}$ should be a modeled as a function of the PIN polarization state of the membranes between any pair of cells. The dynamical equation 5 should be integrated using the same zero flux boundary conditions, as Eq. 4 for the velocity.

PIN polarization dynamics

We now address feature 2) mentioned at the beginning of the Model section. The term in square brackets in Eq. 5 could enhance or deplete normal diffusion when it is positive or negative, respectively. If P_{im} is constant, this term is proportional to $\nabla V_i \cdot \nabla c_i$. Thus, the key quantity that regulates the active transport against the concentration gradient is precisely the elastic potential difference between cells and PIN polarization, which could make the permeability zero or negative.

This observation is further reinforced by statements suggesting that the polarized state of PIN transporters (either apical or basal) depends on the membrane's mechanical tension that regulates the rates of endo- and exocytosis (Homann 1998, Nakayama et al. 2012), and by preliminary studies (Hernández-Hernández et al. 2014) that integrate the available experimental data (Blilou et al. 2005, Chen et al. 2012, Kleine-Vehn et al. 2009, Zwiewka et al. 2015).

The assumption that the epidermal cells have stronger walls, surely produces a potential gradient transverse to the axis of the root, suggesting a very simple dependence of PIN polarization states on the potential differences between neighboring cells. Therefore we propose that P_{im} is,

$$P_{i,m} = \Theta[(V_m - V_i)(c_m - c_i)] \text{sign}(V_m - \bar{V}), \quad (6)$$

where $\Theta[\dots]$ is the Heaviside function, being zero when the argument is negative, and $\bar{V} = \sum_i V_i/N$ is the average value of the potential over the N cells in the meristem. This expression sets up the rule that the PIN transporters are not polarized when the product of the differences of potential and auxin concentration across the wall is negative, meaning that there is no auxin exchange through the wall under these conditions.

PIN polarization allows auxin transport across the wall and occurs when the sign of the product is positive. Then, the rule allowing transport is that if at a given time $V_m > \bar{V}$, the segment of wall between cell i and cell m should polarize PIN transporters basally, favoring the flux of auxins from bottom to top (towards the top in Fig. 1), otherwise PIN polarization is apical (towards the tip of the root). It follows that the higher potential sensed by the epidermal cells favors an upwards flux of auxins, but the definite direction of the flux for all cells is regulated by the lateral interactions between them, and it is not trivial to assume that in the inner cells a downwards flux is favored.

These rules take in account the principles of Lintilhac's model (Lintilhac 2013) at the tissue level and set the form of the permeability of the membranes in the dynamical model, in which the local potential depends on the geometry of the domain and, importantly, on cell proliferation due to auxin concentration.

The cell life cycle was modeled by considering a Lotka-Volterra set of dynamical equations in which the B-type cyclin and D-type cyclin play the role of predator and prey, respectively. The period of the limit cycle of the dynamical system depends on the only parameter β , which is the ratio between the predator death rate and the prey growth rate. This parameter is assumed to be proportional to the auxin concentration in each cell ($\beta_i = \gamma c_i$), and a cell i is divided by defining a new internal wall randomly oriented when the life time of the cell Δt attains the value $T_i = 2\pi/\sqrt{\gamma c_i}$ in units of a time scale for reproduction τ . The time Δt represents the iteration step in a numerical integration, and the relationship between the parameters α , β , γ and τ allows to calculate Δt in minutes. A detailed explanation of the cell cycle model can be found in Ref. Barrio et al. (2013).

The way in which epidermal cells divide is exactly the same as the meristematic cells, except that division always occurs horizontally, that is, the mother cell lies exactly below the daughter, and the strength of the parameter β , that regulates the period of the cell cycle could, in principle, be different.

In summary, our hydrodynamical transport model captures the reported effect of membrane tension and auxin gradient due to PIN localization and it can be used to prove that different gradients of elastic potentials modify the directions of auxin efflux, as it occurs in the epidermis of shoots (Heisler et al. 2010, Nakayama et al. 2012).

In order to clarify the way in which the different dynamics occur and interact in our model, we show in Fig. 2 a flow diagram of the computational platform to integrate

the model. As in Ref. Barrio et al. (2013) we represent cells as Voronoi polygons that are continuously relaxed according to the newtonian dynamics. The dynamical equations were integrated using a simple Euler method and the initial conditions for cell position and auxin concentration were set randomly. The inner cells obey the potential of Eq. 1, which in turn modifies the local concentration of auxins (see Eq 5). Cell division takes place whenever the cell cycle is completed, whose period depends on the local auxin concentration. The outer or epidermal cells follow the potential of Eq. 2 and their proliferation time depends on the parameter β_e .

As discussed by Barrio et al. (2013), this simple platform gives reliable results and enables large computations.

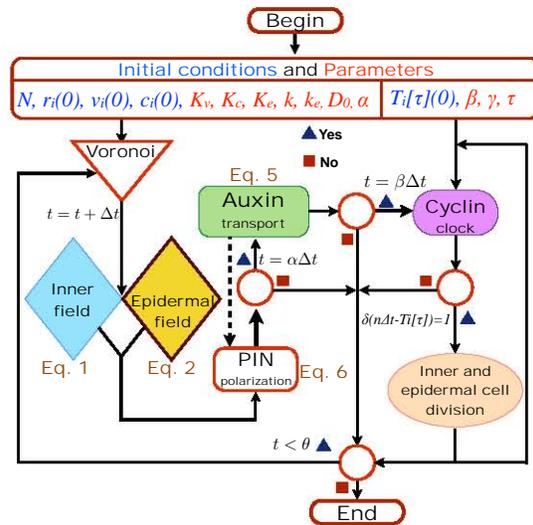


FIG. 2: Flow diagram of the platform built for numerical calculations of the root growth. The parameters of the model are in red and the initial conditions in blue.

III. RESULTS

We have performed numerical simulations using the computational platform described in Fig. 2 (compare with the one shown in Barrio et al. (2013)) with the introduction of a layer of epidermal cells with their modified potential functions according to Eqs. 2 and 4, as well as auxin transport (Eq. 5) and PIN polarization dynamically coupled to the elastic potentials (Eq. 6), as described in the last section.

The values of the elastic constants set the units of the time variations in the dynamical behavior of the system, and were adjusted to obtain the correct times when modeling the RAM development. We consider the number of

cell divisions per unit time to be 2.6 events/hr, the cell production rate (number of cells that cross a given position per unit time) was between 0 and 6 cells/(mm hr) and the cell proliferation rate distribution was between 0 and 50 $\mu\text{m/hr}$ in the RAM (Beemster and Baskin 1998). The values used in the calculations were $K_c = 80 \text{ Pa-m}$, $K_v = 80 \text{ Pa/m}$, $K_e = 120 \text{ Pa-m}$, and $k_e = k = 3 \text{ Pa-m-s}$. With these values we obtain the real time scale of an iteration step Δt in the numerical calculations, by finding the number of iterations needed to obtain the experimental number of cell divisions in that lapse, that is $\Delta t \sim 3 \text{ min}$ (Barrio et al. 2013). Moreover, these values give the Young's elastic moduli for the walls and cells of the order of $E \sim 10 \text{ MPa}$, in agreement with the ones reported in (Fernandes et al. 2012, Köhler and Spatz 2002). The normalized total auxin concentration is 1, the value of $\beta = 15$ in units of the reproduction rate, $\tau \approx 100 \times \Delta t$. These values produce a single cell cycle period on the order of 12 hr (Menges et al. 2006). We found that the values $\alpha = 5$ and $\gamma = 250$ preserve the correct size of the meristem zone in the root (Barrio et al. 2013). The parameter D_0 was set to a small value of the order of 0.08 and $\beta_e = 5$ in all calculations.

Auxin gradient and elastic fields with the position of the QC fixed

In Figure 3 we show three snapshots of the growing root, on the top we observe that the initial random distribution of auxin concentrations converges to an auxin gradient with a maximum near the QC, where a maximum concentration of auxins is set, and whose position is kept fixed near the tip throughout the whole dynamical calculation, as Barrio et al. (2013). Notice that auxin concentrates in the region around the QC, producing emergent patterns of auxin concentration that resemble those observed in actual RAMs by Petersson et al. (2009). At the bottom we show the same three snapshots for the potential.

In Fig. 4 we show the concentration of auxins, the potential distribution, and the number of cell divisions as a function of distance from the root apex at the largest time in Fig. 3. The potential profile in the apical-basal axis attains a maximum at the position corresponding to the QC (marked in red) and a valley in the meristematic zone. Notice that the number of QC divisions is 2. Also, the cell division rate presents a distribution similar to the one previously observed (Barrio et al. 2013), thus the inclusion of a different potential for the epidermal cells and the mechanism for auxin transport coupled to the mechano-elastic field, proposed here, does not alter the qualitative results recovered by Barrio et al. (2013).

Observe that the minimum size of the cells decreases as the domain grows, due to the fact that we are maintaining the horizontal dimensions constant. This is the reason why the average volume of an adult cell depends on time during the calculation and decreases as the root

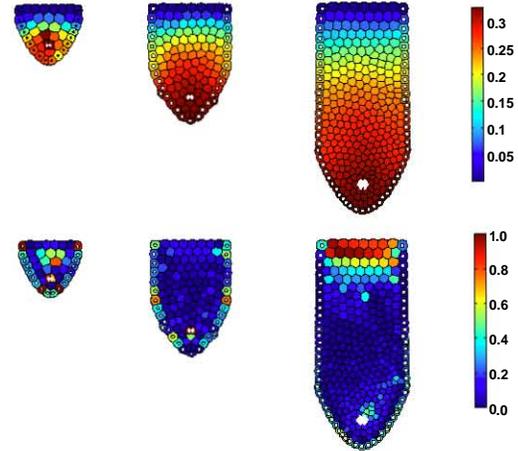


FIG. 3: Numerical calculation of the root growth. We show snapshots of the auxin concentration (top) and the potential (bottom) for an early time (left), a time when many proliferation events have taken place (right), and a time between the two (middle). The QC is indicated with white diamonds and the epidermal cells are indicated with white dots.

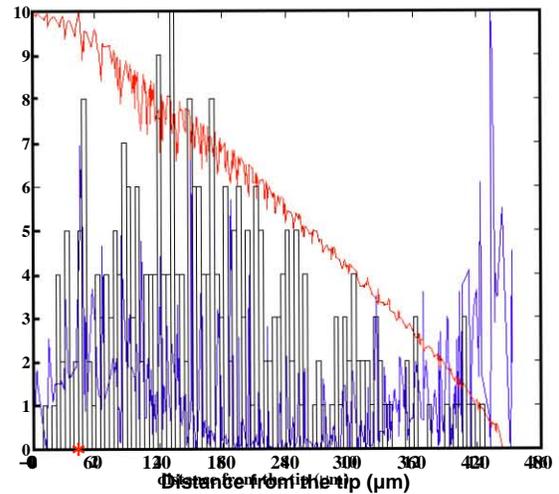


FIG. 4: Numerical results for the positional distributions of various quantities. We show the auxins (red line), the potential (blue) and the number of cell divisions (black) along the apical-basal axis of the root.

grows. This is evidently not the case in a real root, so we keep track of $\bar{A}_0(t)$ and correct the scale of the dimensions of the root by a factor $f = \bar{A}_0(t)/\bar{A}_0(t=0)$ in order to maintain the density of cells constant. This

is important when comparing the numerical results with the experimental measurements.

Emergence of QC and reverse auxin fountain dynamics.

In contrast to our previous work, here we are able to retrieve the emergence of the QC. We first test if the present implementation of the RAM model is able to yield a robust emergence of cells with a behavior that mimics that of the QC, and contrast the observed dynamics when the position of the QC are fixed near the tip of the root. In Fig. 5 we show results for auxin gradients for the case in which the QC emerges from the simulated dynamics. In Fig. 3 we fixed two stationary cells near the tip of the root and we set in them the maximum auxin concentration during the complete simulation. In the present case, we observe that the QC with a maximum auxin concentration and low proliferation rate emerges near the apical zone and is robustly maintained during the complete course of the simulation.

NE

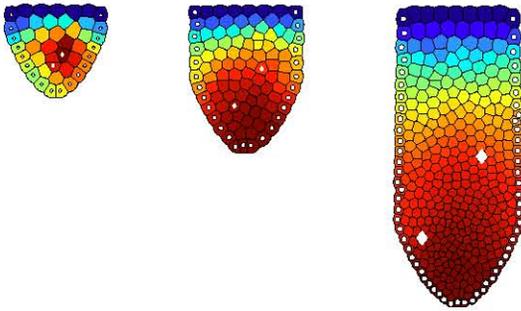


FIG. 5: **Snapshots of auxin distributions.** The times correspond to the ones in Fig. 3 and represent the root growth dynamics when the position QC is not fixed. The epidermal cells are indicated with white dots. The simulation was made for $K_e = 120$ and $\beta = 15$ in both cases.

Previous models of auxin transport and gradient emergence in the *Arabidopsis* root have not been able to reproduce the reverse fountain pattern observed experimentally (Van Berkel et al. 2013). We use the present implementation of our model to address this. In Fig. 6 we show the PIN polarization direction in every cell wall as a segment of line from the center of the cell to the center of the wall. When there is no polarization there is no line, basal polarization is indicated with blue lines and red lines indicate apical polarization. Observe that the pattern changes in time during RAM development, although most of the time the epidermal cells are polarized up, and the meristematic cells are down, except when there is a local increase in the potential due to proliferation.

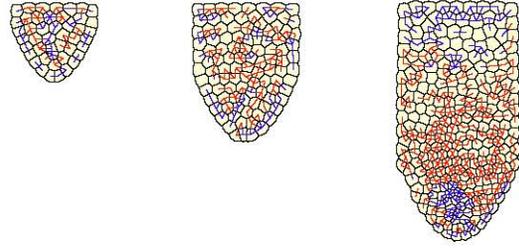


FIG. 6: **Snapshots of PIN polarization direction.** The calculation corresponds to the one shown in Fig. 5 (QC not fixed). The blue segments represent basal polarization, and the red ones apical polarization. Black lines without decoration represent unpolarized walls. In the case where two segments of different color meet, diffusion through the wall is increased.

PIN polarization promotes auxin efflux from one cell to the contiguous one. This is similar to the observed pattern of pin polarization in the different regions of the RAM, although experiments showing how this polarization changes in time at the cellular level are still lacking. Thus, the arrow pattern in Fig 7 represents the direction of auxin transport. As it has been observed in actual roots, our simulations recover an auxin recirculation pattern, in which auxin efflux goes from the root apex to the basal portion of the root along the epidermal cell-layer and from the basal to the apical zone along the inner cells. Our results show that such reverse fountain pattern is observed at times when cell proliferation is not occurring. In the EZ the arrows point downwards and the auxin concentration becomes very small, producing the effect that these cells do not divide anymore and become larger than those in the meristematic zone.

Furthermore, we tested the robustness of the above results to alterations of the elastic constant (K_e) and cell-cycle duration (β). In Fig. 8 we show experimental data on roots after 10 days of growth from Ref. (Beemster and Baskin 1998), and numerical simulations for the same period, when the QC is fixed and when it is not fixed. The cell length was calculated taking into account the scale factor f , the fact that the shape of the cells is rectangular, not hexagonal as the Voronoi tessellation gives, and that elongation affects mostly the vertical dimension. Therefore, we calculated the average cell length by using the area of the scaled Voronoi cell and equating it with the area of a rectangular cell of length L and width $d \approx 8\mu m$. Both, the elastic potential along the epidermis and the cell-cycle duration are important for root growth dynamics and cellular patterns at the RAM. If the epidermal cell-walls are made more rigid (large K_e), root growth is depleted as expected. In contrast, when epidermal cells are softened (small K_e), root growth is

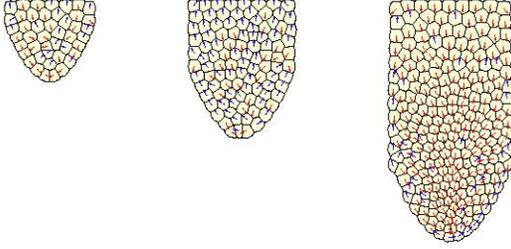


FIG. 7: **Auxin flux.** The calculation also corresponds to the one shown in Fig. 5 (QC not fixed). The blue arrows represent auxin flowing upwards, and downward flux are red ones. The size of the arrows is fixed to help the eye, but the real amount of auxins being transported is very small in most cells. Observe the reverse fountain pattern in which the auxin in the outer cells flow upwards while in the center mostly downwards, particularly on the CPD. Notice also the formation of vortices in the region of maximum auxin concentration near the SCN.

clearly enhanced. Alterations in cell-cycle duration also modify growth. As β increases the period of the cell cycle decreases and the root growth larger. Notice in Fig. 8 that the cell lengths along the root longitudinal axis are better adjusted to experimental data in the QC not fixed case (lower panel), meaning that the present model is able to agree with the experimental findings more accurately than the model of Barrio et al. (2013).

Observe that the agreement with experimental findings is fairly good in all numerical calculations, showing the robustness of the model to changes in the precise values of elastic constants and cell cycle periods. It is interesting to note that the spread of the numerical data is smaller when one does not fix the QC. Notice also that the size of the root after 10 days of growth depends on the value of the parameter β . For $K_e = 120$ (see the insets) the root size is $\approx 250\mu\text{m}$ when $\beta = 7$, and it is from 600 to $700\mu\text{m}$ when $\beta = 15$ and $\sim 1\text{ mm}$ for $\beta = 22$.

Dynamical cellular responses under altered root growth

In contrast to the modeling platform put forward in Barrio et al. (2013), the present formulation enables us to predict auxin gradients under contrasting growth conditions. Experimental evidence has shown that auxin gradients can be modified by altering the shape of the root (Ditengou et al. 2008, Laskowski et al. 2008, Richter et al. 2009). For example, bending the primary root causes PIN transporters to relocate, and in turn auxin concentrates around the bend where a new lateral root eventually emerges (Ditengou et al. 2008, Laskowski et al. 2008). In order to validate our model we simulated such an altered root growth. We built a U-shaped domain in

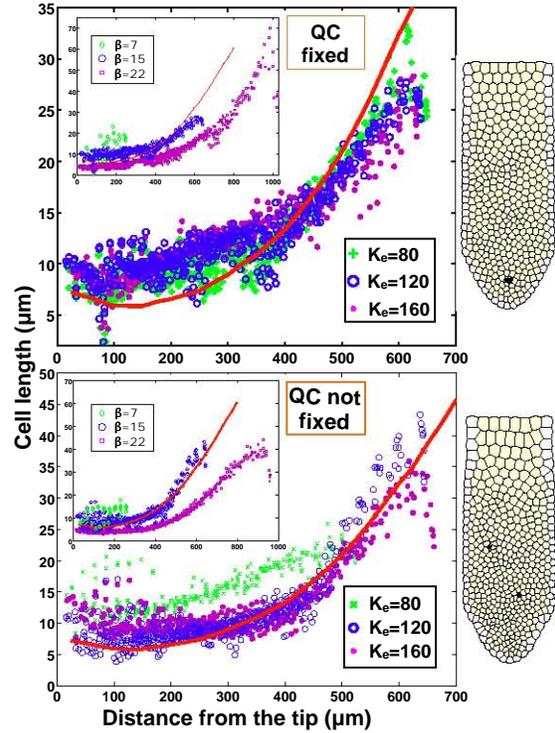


FIG. 8: **Comparison between experimental data and numerical simulations for the length of the cells along the apico-basal axis of the root.** We show the cell length obtained with three values of the elastic constant of the epidermal cells, using $\beta = 15$, for two cases, first when the QC is fixed (top) and the other one when the QC is not fixed (bottom). The continuous red lines correspond to the experimental data reported by Beemster and Baskin (1998). In the insets we show the effect of altering the cell-cycle duration (inner graphs), keeping the elastic constant $K_e = 120$. The images on the right correspond to the final state of the root with $\beta = 15$ and $K_e = 120$ (blue circles).

which we have relaxed the potential with an initial random distribution of auxins and no cellular divisions. The results of these simulations show that auxins concentrate on the bend. Fig. 9 shows the results of simulations in U-shaped domains where the curve occurs at different distances from the tip.

Observe that there is a high concentration of auxin in the bent region, and in the tip of the root, these maxima are more apparent when the bend occurs far from the tip. In order to get these patterns, the diffusion constant D_0 had to be increased. This could be due to the fact that the bend changes the local geometry and disrupts the auxin gradient in the right side of the bend. If D_0 is kept at the same value as in Fig. 5, some cells are eventually totally deprived of auxin due to the action of the PIN

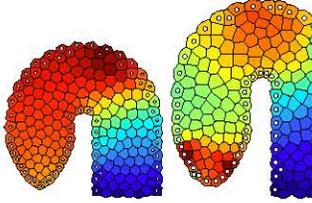


FIG. 9: **Distribution of auxins for a U-shape root bent away from QC.** We show three cases, when the bend is near the tip of the root (left), when it is far from the tip (right) and an intermediate case. The figures show the distribution of the relaxed quantities before cell proliferation takes place at the same time of the dynamics. Observe that auxins mainly concentrate near the curved region in all configurations. Epidermal cells are indicated with white dots. The color scale is the same as in former figures.

polarization rules. It remains to test experimentally if the active transport of auxins is affected by the bending perturbation.

We have performed calculations long enough to allow cells to divide and we observe the emergence of a region on the outer side of the bend where cells proliferate at a higher rate than normal, due to the high local concentration of auxin. In order to illustrate this in Fig. 10 we show the number of cell divisions along the axis of the root for two cases: (A) for a straight root and (B) for a bend root. The calculations for cell divisions in the straight root correspond to Fig. 3 and the cell divisions for the bend root correspond to the right hand side plot of Fig. 9, *i.e.* when the bend is far from the tip. Note that Fig. 10(A) shows a single maximum in the meristematic zone, while Fig. 10(B) shows two maxima, one corresponding to the meristematic zone, and the other situated on the bent region. All these phenomena have been suggested by experimental data (Ditengou et al. 2008, Laskowski et al. 2008, Richter et al. 2009, Vermeer et al. 2014).

IV. DISCUSSION

In our former study (Barrio et al. 2013), we proposed that positional information emerges from the cooperative cell proliferation and physico-chemical field dynamics. Here we further propose that an additional source of positional information could come from variations of the elastic field along the radial axis of the root, due to the different mechanical response of the epidermal cells. Interestingly, the addition of this extra physical field and the feedback of PIN polarization are sufficient to recover, as an emergent property, the location and behavior of the QC, that had to be pre-fixed in our previous model.

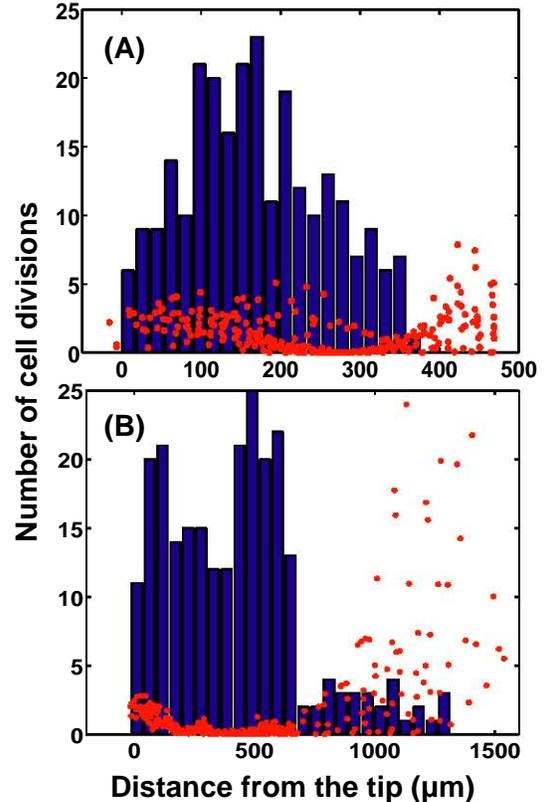


FIG. 10: **Histogram of the number of cell divisions as a function of the distance from the tip of the root.** (A) In a the straight root shown in Fig. 3 . (B) In the bent root shown on the right of Fig. 9. In both figures the potential profile is shown as red dots. Observe the different horizontal scale.

Importantly, with this model we have been able to test how patterns are altered in cases in which the QC cells are pre-fixed or not. In simulations of the latter, the retrieved cellular patterns along the apical-basal axis of the root are more similar to those observed in actual roots (see Fig. 5 and Fig. 7).

The model further predicts that the observed patterns will change according to alterations of the outer tissues (see Fig. 8). For example, if these tissues are dissected in ways similar to those used in experiments by Kutschera and Niklas (Kutschera and Niklas 2007) we expect changes in the growth dynamics. Furthermore, the calculations presented here suggest that the incorporation different elastic fields is essential not only for the emergence of the quiescent cells, localization of PIN transporters and the resulting auxin accumulation, but also for reproducing patterns that greatly resemble the

altered cell proliferation patterns observed in bent roots. Indeed, it has also been shown that the mechanical state of outer tissues determines lateral root formation (Lucas et al. 2013, Vermeer et al. 2014).

The longitudinal patterns of PINs that have been experimentally reported (Blilou et al. 2005), correspond to snapshots and they have not yet been dynamically measured. The polarization PIN patterns presented here change dynamically in response to the gradient of the elastic potentials simulated. It will be interesting to test experimentally whether these patterns remain the same throughout root development. Although the average pattern of PIN polarization that the model predicts resembles roughly the pattern associated to the reverse fountain, the exact behavior observed pattern looks somewhat different. A possible reason of why our model does not fully reproduce PIN polarization patterns might be related to the fact that the genetic networks that underlie and interact with the simulated processes are not explicitly considered in this model yet. Complex molecular regulatory networks underlie cell-cycle dynamics and also PIN polarization, auxin transport, among others (Bitoni and Chiappetta 2011, Hamant et al. 2008). Future implementations should now couple such regulatory GRN modules into platforms that consider physico-chemical and cell proliferation cooperative dynamics, in order to address altered dynamics and patterns in mutants of these networks and also recover further robustness in the simulated cellular dynamics (Grieneisen et al. 2012, Ten Tusscher and Hogeweg 2011).

Besides the mechanical effect on PIN polarization, auxin can also inhibit PIN endocytosis through the ABP1-ROP GTPase signaling pathway (Paciorek et al. 2005, Robert et al. 2010) and could promote PIN transcription (Vieten et al. 2005). Furthermore, the effects of the elastic potentials on PIN polarization are instantaneous, while the processes of endo- and exocytosis, on which the location of PIN transporters at the plasma membrane depend, are not. Indeed, it has been previously suggested that PIN transporters are highly sensitive to changes in the rates of endo- and exocytosis (Chen et al. 2012, Dhonukshe et al. 2008, Zwiewka et al. 2015). Further elaboration of our platform, should also incorporate such components.

Available experimental data (Nakayama et al. 2012,

Zwiewka et al. 2015) suggests that increased mechanical forces leads to PIN protein accumulation at the plasma membrane. Interestingly, our simulations suggest that the PIN proteins do accumulate in areas of maximum mechanical forces, leading to auxin accumulation as shown in Fig. 3, Fig. 5 and in Fig. 9, that in turn, promotes cell proliferation and growth. These are important processes underlying plant morphogenetic adjustments in response to alterations in growth conditions.

Summarizing, the model presented here suggests that the origin and variation of morphogenetic patterns and organ shapes during development largely depend on the complex interactions among cell proliferation dynamics, and physico-chemical fields. These interactions should be studied systematically in order to fully understand how biological forms and patterns emerge. For example, in Fig. 8 we show that alterations in the elastic constant K_e affects root length. It does so via, at least, the cooperative dynamics considered in the present model. It will be interesting to use, for example, cellulose synthesis mutants (Wiedemeier et al. 2002), or chemical treatments (Braybrook and Peaucelle 2013, Feraru et al. 2011) to relax or otherwise alter the rigidity of the cell-wall and measure how such alterations of the elastic constants alter apico-basal cellular patterns during root development. Further investigations concerning the GRN modules that could underly and articulate the processes modeled here should be pursued to obtain predictions on how mutations in such GRN modules may alter cellular patterns during root development.

Acknowledgments

RAB and JRRA acknowledge financial support from Conacyt (Mexico) through grant No. 179616. JRRA and VHH are grateful for scholarship from Conacyt. VHH acknowledges the graduate program “Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México”. MB is supported by PAPIIT-UNAM IA200714, IN113013, and Conacyt 22134. ERAB was financed by grants: Conacyt 180098, Conacyt 180380 and UNAM-DGAPA-PAPIIT IN203113.

BARRIO, R. A. AND ROMERO-ARIAS, J. R. AND NOGUEZ, M. A. AND AZPEITIA, E. AND ORTIZ-GUTIERREZ, E. AND HERNÁNDEZ, V. AND CORTÉS-POZA, Y. AND ÁLVAREZ-BUYLLA, E. R. (2013). Cell patterns emerge from coupled chemical and physical fields with cell proliferation dynamics: The arabidopsis thaliana root as a study system. *PLoS Comput Biol*, 9.

GERRIT T.S. BEEMSTER AND TOBIAS I. BASKIN (1998). Analysis of cell division and elongation underlying the developmental acceleration of root growth in arabidopsis thaliana.

Plant Physiol, 116:1515–1526.

BITONI, M. B. AND CHIAPPETTA, A. (2011). Root apical meristem pattern: Hormone circuitry and transcriptional networks. *Progress in Botany*, 72.

BLILOU, IKRAM AND XU, JIAN AND WILDWATER, MARJOLEIN AND WILLEMSEN, VIOLA AND PAPONOV, IVAN AND FRIML, Jiří AND HEIDSTRA, RENZE AND AIDA, MITSUHIRO AND PALME, KLAUS AND SCHERES, BEN (2005). The pin auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in arabidopsis roots. *Nature*, 433:39–44.

- BOZORG, BEHURZ AND KRUPINSKI, PAVEL AND JÖNSSON, HENRIK (2014). Stress and strain provide positional and directional cues in development. *PLoS Comput Biol*, 10(1):e1003410.
- BRAYBROOK, SIOBHAN A. AND PEAUCELLE, ALEXIS (2013). Mechano-chemical aspects of organ formation in arabidopsis thaliana: The relationship between auxin and pectin. *PLoS One*, 8.
- CHEN, XU AND NARAMOTO, SATOSHI AND ROBERT, STEPHANIE AND TEJOS, RICARDO AND LÖFKE, CHRISTIAN AND LIN, DESHU AND YANG, ZHENBIAO AND FRIML, JIŘÍ (2012). Abp1 and rop6 gtpase signaling regulate clathrin-mediated endocytosis in arabidopsis roots. *Curr Biol*, 22:1326–1332.
- DE RYBEL, BERT AND ADIBI, MILAD AND BREDÁ, ALICE S. AND WENDRICH, JOS R. AND SMIT, MARGOT E. AND NOVÁK, ONDŘEJ AND YAMAGUCHI, NOBUTOSHI AND YOSHIDA, SAIKO AND VAN ISTERDAEL, GERT AND PALOVAARA, JOAKIM AND NIJSSE, BART AND BOEKSCHOTEN, MARK V. AND HOOVELD, GUIDO AND BEECKMAN, TOM AND WAGNER, DORIS AND LJUNG, KARIN AND FLECK, CHRISTIAN AND WEIJERS, DOLF (2014). Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in arabidopsis. *Science*, 345(6197).
- DHONUKSHE, PANKAJ AND GRIGORIEV, ILYA AND FISCHER, RAINER AND TOMINAGA, MOTOKI AND ROBINSON, DAVID G AND HASEK, JIŘÍ AND PACIOREK, TOMASZ AND PETRÁSEK, JAN AND SEIFERTOVÁ, DANIELA AND TEJOS, RICARDO AND MEISEL, LEE A AND ZAZÍMALOVÁ, EVA AND GADELLA, THEODORUS W. J. AND STIERHOF, YORK-DIETER AND UEDA, TAKASHI AND OIWA, KAZUHIRO AND AKHMANOVA, ANNA AND BROCK, ROLAND AND SPANG, ANNE AND FRIML, JIŘÍ (2008). Auxin transport inhibitors impair vesicle motility and actin cytoskeleton dynamics in diverse eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(11):4489–94.
- DITENGOU, FRANCK ANICET AND TEALE, WILLIAM D. AND KOCHERSPERGER, PHILIP AND FLITTNER, KARL ANDREAS AND KNEUPER, IRINA AND VAN DER GRAAFF, ERIC AND NZIENGUI, HUGUES AND PINOSA, FRANCESCO AND LI, XUGANG AND NITSCHKE, ROLAND AND LAUX, THOMAS AND PALME, KLAUS (2008). Mechanical induction of lateral root initiation in arabidopsis thaliana. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:18818–18823.
- FERARU, ELENA AND FERARU, MUGUREL IOAN AND KLEINE-VEHN, JÜRGEN AND MARTINIÈRE, ALEXANDRE AND MOUILLE, GRÉGORIE AND VANNESTE, STEFFEN AND VERNHETTES, SAMANTHA AND RUNIONS, JOHN AND FRIML, JIŘÍ (2011). PIN polarity maintenance by the cell wall in Arabidopsis. *Curr Biol*, 21(4):338–43.
- FERNANDES, AN AND CHEN, X AND SCOTCHFORD, CA AND WALKER, J AND WELLS, DM AND ROBERTS, CJ AND EVERITT, NM (2012). Mechanical properties of epidermal cells of whole living roots of Arabidopsis thaliana: An atomic force microscopy study. *Phys Rev E*, 85:21916.
- FRESHOUR, GLENN AND BONIN, CHRISTOPHER P. AND REITER, WOLF-DIETER AND ALBERSHEIM, PETER AND DARVILL, ALAN G. AND HAHN, MICHAEL G. (2003). Distribution of fucose-containing xyloglucans in cell walls of the mur1 mutant of arabidopsis. *Plant Physiol*, 131:1602–1612.
- FRIDMAN, YULIA AND ELKOUBY, LIRON AND HOLLAND, NETA AND VRAGOVIĆ, KRISTINA AND ELBAUM, RIVKA AND SAVALDI-GOLDSTEIN, SIGAL (2014). Root growth is modulated by differential hormonal sensitivity in neighboring cells. *Genes Dev*, 28:912–20.
- GARAY-ARROYO, ADRIANA AND ORTIZ-MORENO, ENRIQUE AND DE LA PAZ SÁNCHEZ, MARÍA AND MURPHY, ANGUS S AND GARCÍA-PONCE, BERENICE AND MARSCH-MARTÍNEZ, NAYELLI AND DE FOLTER, STEFAN AND CORVERA-POIRÉ, ADRIANA AND JAÍMES-MIRANDA, FABIOLA AND PACHECO-ESCOBEDO, MARIO A AND DUBROVSKY, JOSEPH G AND PELAZ, SORAYA AND ÁLVAREZ-BUYLLA, ELENA R (2013). The mads transcription factor xal2/agl14 modulates auxin transport during arabidopsis root development by regulating pin expression. *The EMBO Journal*, 32(21):2884–2895.
- GREEN, P.B. (1962). Mechanism for plant cellular morphogenesis. *Science*, 138(3548):1404–1405.
- GRIENEISEN, VERÓNICA A. AND SCHERES, BEN AND HOGEWEG, PAULIEN AND MARÉE, ATHANASIOS F. M. (2012). Morphogengineering roots: comparing mechanisms of morphogen gradient formation. *BMC System Biology*, 6(37).
- HAMANT, OLIVIER AND HEISLER, MARCUS G. AND JÖNSSON, HENRIK AND KRUPINSKI, PAWEŁ AND UYTTEWAAL, MAGALIE AND BOKOV, PLAMEN AND CORSON, FRANCIS AND SAHLIN, PATRIK AND BOUDAUD, AREZKI AND MEYEROWITZ, ELLIOT M. AND COUDER, YVES AND TRAAS, JAN (2008). Developmental patterning by mechanical signals in arabidopsis. *Science*, 322(5908):1650–1655.
- HEISLER, MARCUS G. AND HAMANT, OLIVIER AND KRUPINSKI, PAWEŁ AND UYTTEWAAL, MAGALIE AND OHNO, CAROLYN AND JÖNSSON, HENRIK AND TRAAS, JAN AND MEYEROWITZ, ELLIOT M. (2010). Alignment between pin1 polarity and microtubule orientation in the shoot apical meristem reveals a tight coupling between morphogenesis and auxin transport. *PLoS Biol*, 8(10):e1000516.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, VALERIA AND RUEDA, DENISSE AND CABALLERO, LORENA AND ÁLVAREZ-BUYLLA, ELENA R. AND BENÍTEZ, MARIANA (2014). Mechanical forces as information: an integrated approach to plant and animal development. *Frontiers in Plant Science*, 5(265).
- HOMANN, ULRIKE (1998). Fusion and fission of plasma-membrane material accommodates for osmotically induced changes in the surface area of guard-cell protoplasts. *Planta*, 206:329–333.
- IVANOV, VICTOR B. AND DUBROVSKY, JOSEPH G. (2013). Longitudinal zonation pattern in plant roots: Conflicts and solutions.
- JAEGER, JOHANNES AND REINITZ, JOHN (2006). On the dynamic nature of positional information. *BioEssays*, 28(11):1102–1111.
- KLEINE-VEHN, JÜRGEN AND FRIML, JIŘÍ (2008). Polar targeting and endocytic recycling in auxin-dependent plant development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 24:447–73.
- KLEINE-VEHN, J. AND HUANG, F. AND NARAMOTO, S. AND ZHANG, J. AND MICHNIEWICZ, M. AND OFFRINGA, R. AND FRIML, J. (2009). Pin auxin efflux carrier polarity is regulated by pinoid kinase-mediated recruitment into gnom-independent trafficking in arabidopsis. *The Plant Cell*, 21(12):3839–3849.
- KÖHLER, LOTHAR AND SPATZ, HANNS CHRISTOF (2002). Micromechanics of plant tissues beyond the linear-elastic range. *Planta*, 215:33–40.
- KUTSCHERA, U (1992). The role of the epidermis in the control of elongation growth in stems and coleoptiles. *Bot Acta*,

105:246–252.

KUTSCHERA, U. AND NIKLAS, K. J. (2007). The epidermal growth control theory of stem elongation: an old and a new perspective. *J Plant Physiol*, 164(11):1395–409.

LASKOWSKI, MARTA AND GRIENEISEN, VERÓNICA A. AND HOFHUIS, HUGO AND TEN HOVE, COLETTE A. AND HOGEWEG, PAULIEN AND MARÉE, ATHANASIOS F. M. AND SCHERES, BEN (2008). Root system architecture from coupling cell shape to auxin transport. *PLoS Biol*, 6:2721–2735.

LINTILHAC, PHILIP M. (2013). The problem of morphogenesis: Unscripted biophysical control systems in plants.

LUCAS, MIKAËL AND KENOBI, KIM AND VON WANGENHEIM, DANIEL AND VOß, UTE AND SWARUP, KAMAL AND DE SMET, IVE AND VAN DAMME, DANIEL AND LAWRENCE, TARA AND PÉRET, BENJAMIN AND MOSCARDI, ERIC AND BARBEAU, DANIEL AND GODIN, CHRISTOPHE AND SALT, DAVID AND GUYOMARCH, SOAZIG AND STELZER, ERNST H K AND MAIZEL, ALEXIS AND LAPLAZE, LAURENT AND BENNETT, MALCOLM J (2013). Lateral root morphogenesis is dependent on the mechanical properties of the overlying tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110:5229–34.

MAMMOTO, A. AND MAMMOTO, T. AND INGBER, D. E. (2012). Mechanosensitive mechanisms in transcriptional regulation.

MENGES, M. AND SAMLAND, A.K. AND MURRAY J.A.H (2006). The d-type cyclin *cyd3:1* in limiting for the g1-to-s-phase transition in arabidopsis. *Plant Cell*, 18:893–906.

NAKAYAMA, NAOMI AND SMITH, RICHARD S. AND MANDEL, THERESE AND ROBINSON, SARAH AND KIMURA, SEISUKE AND BOUDAUD, AREZKI AND KUHLEMEIER, CRIS (2012). Mechanical regulation of auxin-mediated growth. *Curr Biol*, 22:1468–1476.

NEWELL, ALAN C. AND SHIPMAN, PATRICK D. AND SUN, ZHIYING (2008). Phyllotaxis: cooperation and competition between mechanical and biochemical processes. *J Theor Biol*, 251(3):421–39.

PACIOREK, TOMASZ AND ZAZÍMALOVÁ, EVA AND RUTHARDT, NADIA AND PETRÁSEK, JAN AND STIERHOF, YORK-DIETER AND KLEINE-VEHN, JÜRGEN AND MORRIS, DAVID A AND EMANS, NEIL AND JÜRGENS, GERD AND GELDNER, NIKO AND FRIML, JIŘÍ (2005). Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. *Nature*, 435(7046):1251–6.

PETERSSON, SARA V. AND JOHANSSON, ANNIKA I. AND KOWALCZYK, MARIUSZ AND MAKOVEYCHUK, ALEXANDER AND WANG, JEAN Y. AND MORITZ, THOMAS AND GREBE, MARKUS AND BENFEY, PHILIP N. AND SANDBERG, GÖRAN AND LJUNG, KARIN (2009). An auxin gradient and maximum in the arabidopsis root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of *iaa* distribution and synthesis. *Plant Cell*, 21:1659–1668.

RICHTER, GREGORY L. AND MONSHAUSEN, GABRIELE B. AND KROL, ALEXANDRA AND GILROY, SIMON (2009). Me-

chanical stimuli modulate lateral root organogenesis. *Plant Physiol*, 151:1855–1866.

ROBERT, STÉPHANIE AND KLEINE-VEHN, JÜRGEN AND BARBEZ, ELKE AND SAUER, MICHAEL AND PACIOREK, TOMASZ AND BASTER, PAWEL AND VANNESTE, STEFFEN AND ZHANG, JING AND SIMON, SIBU AND ČOVANOVÁ, MILADA AND HAYASHI, KENICHIRO AND DHONUKSHE, PANKAJ AND YANG, ZHENBIAO AND BEDNAREK, SEBASTIAN Y AND JONES, ALAN M AND LUSCHNIG, CHRISTIAN AND ANIENTO, FERNANDO AND ZAZÍMALOVÁ, EVA AND FRIML, JIŘÍ (2010). ABP1 mediates auxin inhibition of clathrin-dependent endocytosis in Arabidopsis. *Cell*, 143(1):111–21.

TEN TUSSCHER, KH AND HOGEWEG, P (2011). Evolution of networks for body plan patterning; interplay of modularity, robustness and evolvability. *PLoS Comput Biol*, 7(10).

VAN BERKEL, KLAARTJE AND DE BOER, ROB J AND SCHERES, BEN AND TEN TUSSCHER, KIRSTEN (2013). Polar auxin transport: models and mechanisms. *Development*, 140:2253–68.

VERMEER, JOOP E M AND VON WANGENHEIM, DANIEL AND BARBERON, MARIE AND LEE, YUREE AND STELZER, ERNST H K AND MAIZEL, ALEXIS AND GELDNER, NIKO (2014). A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in Arabidopsis. *Science*, 343:178–83.

VIETEN, ANNE AND VANNESTE, STEFFEN AND WISNIEWSKA, JUSTYNA AND BENKOVÁ, EVA AND BENJAMINS, RENÉ AND BEECKMAN, TOM AND LUSCHNIG, CHRISTIAN AND FRIML, JIŘÍ (2005). Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development*, 132:4521–4531.

WIEDEMEIER, AMD AND JUDY-MARCH, JE AND HOCART, CH AND WASTENEYS GO, WILLIAMSON, RE AND BASKIN TI (2002). Mutant alleles of arabidopsis radially swollen 4 and 7 reduce growth anisotropy without altering the transverse orientation of cortical microtubules or cellulose microfibrils. *Development (Cambridge, England)*, 129(20):4821–4830.

WISNIEWSKA, JUSTYNA AND XU, JIAN AND SEIFERTOVÁ, DANIELA AND BREWER, PHILIP B. AND RUZICKA, KAMIL AND BILLOU, IKRAM AND ROUQUIÉ, DAVID AND BENKOVÁ, EVA AND SCHERES, BEN AND FRIML, JIŘÍ (2006). Polar pin localization directs auxin flow in plants. *Science*, 312:883.

WOJTASZEK, PRZEMYSŁAW (2011). *Mechanical Integration of Plant Cells and Plants*, volume 9. Springer Verlag.

ZAZÍMALOVÁ, E. AND PETRÁSEK, J. AND BENKOVA, E. (2014). *Auxin and Its Role in Plant Development*. Springer Vienna.

ZWIEWKA, MARTA AND NODZYŃSKI, TOMASZ AND ROBERT, STÉPHANIE AND VANNESTE, STEFFEN AND FRIML, JIŘÍ (2015). Osmotic stress modulates the balance between exocytosis and clathrin-mediated endocytosis in *arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant*, 8(8):1175–1187.

