



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

MODELO MECANO-QUÍMICO DE FORMACIÓN DE
PATRONES FILOTÁCTICOS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARA DENISSE REGINA RUEDA CONTRERAS

DIRECTORES DE TESIS:

DR. JOSÉ LUIS ARAGÓN VERA

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

DR. GERMINAL COCHO GIL

INSTITUTO DE FÍSICA

DRA. ELENA ÁLVAREZ-BUYLLA ROCES

INSTITUTO DE ECOLOGÍA



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.

Modelo Mecano-Químico de Formación de Patrones Filotácticos

por

Mara Denisse Regina Rueda Contreras

Lic.Mat., Universidad de Guanajuato - Centro de Investigación en Matemáticas
A.C. (2008)

Tesis para obtener el título de

Doctor en Ciencias

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Santiago de Querétaro, Querétaro. Marzo, 2019

*A Don José Contreras
y a mi Pedrito,
que tuvieron visión.*

Agradecimientos

Agradezco el gran misterio de estar aquí intentando dialogar con la Naturaleza. Agradezco a quienes hicieron posible ese gran misterio, a todo mi linaje hacia atrás, a mi madre, a mis abuelos, a quienes despertaron en mí la inagotable sed de comprender. Al doctor JOSÉ LUIS ARAGÓN, quien ha guiado mi camino impecablemente en los últimos años y ha aportado cuanto ha sido necesario y más para mi crecimiento. Así también agradezco al doctor RAFAEL BARRIO, quien reaviva y alimenta esa sed, cuyo fruto tangible es este trabajo. A mi colega, ROBERTO ROMERO ARIAS, cuya presencia en mi camino es una pieza clave, enriquecedora, sin la cual este trabajo no hubiera podido florecer. Agradezco el apoyo sin condición y sin reparo del doctor GERMINAL COCHO, quien aportó la chispa primordial que inspirara este trabajo. A la doctora ELENA ÁLVAREZ-BUYLLA, que siempre me ha mostrado cuánto me falta caminar.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, honrada de ser parte de ella, y al CONACYT, por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo. Finalmente, agradezco a JOSEP M. SICART por las fotografías que embellecen esta tesis y a todos los que, como él, con su arte y con su amor, alimentan mi espíritu.

Índice general

1. Biología y mecánica de la flotaxia	5
1.1. Filotaxis: reseña histórica	5
1.2. Morfogénesis del meristemo aéreo apical	8
1.2.1. Dinámica de la auxina en el meristemo aéreo	11
1.2.2. El crecimiento vegetal y su continuidad	14
1.2.3. La mecánica del crecimiento y la dinámica de la auxina como un bucle de retroalimentación	15
2. Métodos	23
2.1. Modelo mecánico de crecimiento: el campo fase	24
2.1.1. La ecuación de Cahn-Hilliard: un modelo elemental de campo fase .	27
2.1.2. Energía de doblamiento de Canham-Helfrich	31
2.1.3. Modelo mínimo: el campo fase en términos de la curvatura	33
2.1.4. Curvatura espontánea: las propiedades mecánicas del dominio dinámi- co	35
2.1.5. Ecuaciones dinámicas y el tensor de esfuerzos	38
2.2. Modelo químico: sistemas de Turing o de reacción-difusión	42
2.2.1. El modelo BVAM en una esfera	44
2.2.2. Armónicos esféricos a partir del modelo BVAM	53
2.3. Resumen del Capítulo: el modelo mecano-químico acoplado	56

3. Formación de patrones filotáticos conducida por la mecánica del crecimiento: simulaciones y resultados	60
3.1. Integración numérica	60
3.2. Resultados	63
3.2.1. Verticilos	65
3.2.2. Espirales o parastiquios	67
3.2.3. Cactos	69
3.2.4. Parámetros	74
3.2.5. Otros resultados y posibles experimentos	75
3.3. Discusión y conclusiones	77
3.4. Perspectivas	85

Modelo Mecano-Químico de Formación de Patrones Filotáticos

por

Mara Denisse Regina Rueda Contreras

Resumen

En este trabajo se propone un mecanismo de formación de patrones en dominios que crecen y poseen curvatura variable, con el fin de modelar el proceso de formación de patrones filotáticos. Este mecanismo consta de dos partes fundamentales: el proceso mecánico del crecimiento vegetal y las reacciones químicas involucradas en la filotaxia. La mecánica del crecimiento se modela mediante la teoría física del campo fase, la cual ha demostrado ser una herramienta poderosa para modelar los cambios de forma que experimentan diversas estructuras biológicas en diferentes contextos. La dinámica química se modela mediante un sistema de reacción-difusión y se acopla con las ecuaciones del campo fase, a través del campo de esfuerzos mecánicos generado por el dominio en crecimiento. Se asume, además, que la curvatura de la superficie que delimita el dominio tridimensional cambia en respuesta a la concentración de una de las especies químicas. Estos supuestos se basan en los resultados experimentales, obtenidos en años recientes, respecto a la morfogénesis vegetal. En el proceso de formación de patrones filotáticos la distribución espacial de la hormona vegetal llamada auxina determina el patrón espacial, en un dominio biológico que crece y cambia. La concentración de auxina modifica las propiedades mecánicas del dominio (el meristemo aéreo, o MA) y el campo de esfuerzos mecánicos en el MA orienta el flujo de auxina. En nuestro modelo, la difusión de la especie química es dirigida por el campo de esfuerzos y, a su vez, el campo de esfuerzos es modificado por la presencia de esta sustancia. De este modo, nuestro trabajo es una primera aproximación para modelar el bucle de regulación mecano-química presente en la filotaxia, a partir del cual es posible reproducir una gran variedad de patrones filotáticos. El modelo constituye, además, una herramienta útil y novedosa para la biología teórica, pues muchos procesos del desarrollo parecen ser afectados por los cambios de curvatura, el estrés mecánico y otros aspectos físicos. Más aún, nuestros métodos proporcionan una herramienta para resolver sistemas de reacción-difusión en cualquier dominio dinámico tridimensional, y podrían constituir una nueva aportación al estudio de la formación de patrones pues, dado que todas las interacciones que construyen al modelo son puramente físicas, podríamos estar frente a un posible mecanismo universal.

Modelo Mecano-Químico de Formación de Patrones Filotácticos

by

Mara Denisse Regina Rueda Contreras

Abstract

We propose a mechanism for pattern formation on growing domains with variable curvature to model the process of phyllotactic pattern formation. This mechanism has two basic parts: the mechanical growth process of the plant and the chemical reactions involved in the patterning. The growth process is modeled by means of the phase-field theory, a physical theory that has demonstrated to be a powerful tool in modelling time evolving biological structures. The chemical dynamics is modeled by a particular reaction-diffusion mechanism but coupled with the phase-field equations, where the stress field generated by the domain growth is the coupler. We assume that the surface enclosing the domain changes its curvature in response to the concentration of the chemicals. These assumptions come from the experimental results on plant morphogenesis obtained in recent years. In plants, the process of phyllotactic pattern formation involves a phytohormone called auxin, whose spatial distribution determines the phyllotactic pattern in a biological domain that is growing and changing in time. The concentration of auxin modifies the mechanical properties of the domain (shoot apical meristem or SAM in short) and the mechanical stress field in the SAM orients the flux of auxin. We propose a model where chemical diffusion is driven by the stress field and, at the same time, the stress field is modified by the chemical concentration. In this way, our work represents a first approach to model the mechano-chemical regulatory loop in phyllotaxis. Our model constitutes a useful and novel apparatus for theoretical biology, as many developmental processes in organisms seem to be affected by the changes of curvature, mechanical stress and other physical aspects. Additionally, our method gives a simple framework for solving reaction-diffusion systems on any three-dimensional non fixed domain, and turns out to be a universal mechanism as most of the proposed interactions are purely physical and basic.

Introducción

Donde hay materia, hay geometría.

— JOHANNES KEPLER

Al observar la naturaleza es inmediato percatarse de que existe un orden. En cualquier sistema, en cualquier escala, desde las órbitas planetarias que podemos abstraer como curvas cerradas simples, hasta la estructura de una molécula de agua, la cual explicamos mediante una fórmula que codifica la simetría de dicha asociación de átomos (H_2O), vemos que las formas y arreglos geométricos abundan en la naturaleza y la construyen. El movimiento planetario y las moléculas son ejemplos de sistemas físicos y químicos, en los cuales es posible entender este orden y, más aún, él es parte intrínseca de las propiedades que los caracterizan. Algunos procesos de cambios de estado de la materia, por ejemplo, producen las estructuras más ordenadas que existen en nuestro planeta: los cristales. Por otra parte, la estructura de las moléculas permite la existencia de un fenómeno tan elemental como el enlace químico, a partir del cual es posible desarrollar toda la teoría de la química. Esto hace evidente que el orden geométrico, exista o no exista en la naturaleza, es fundamental para nuestro entendimiento de ella.

En los sistemas vivos, sobre los cuales pretendemos discutir en este trabajo, resulta mucho más complicado estudiar y comprender este orden, aunque en escalas moleculares su presencia y su acción son evidentes: la estructura primaria y secundaria de las proteínas, por ejemplo, nos da cierta información sobre el papel que éstas juegan, dependiendo del contexto donde se encuentren. Otro ejemplo es la estructura de los fosfolípidos, que nos permite comprender por qué se formará forzosamente una membrana lipídica en un ambiente acuoso. Las funciones que adquieren estas membranas son fundamentales para la vida

y son bien conocidas por cualquier científico: una bicapa con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico que delimita una región en el espacio, a través de la cual puede existir un intercambio de sustancias con el medio. Una membrana biológica es, pues, una configuración necesaria de un sistema físico, dadas sus propiedades químicas, estructurales y energéticas (en un ambiente acuoso los fosfolípidos se agregan formando bicapas para minimizar su energía). La membrana fosfolipídica es, por otra parte, una condición necesaria para la existencia de una célula, *i.e.* la unidad básica de un sistema vivo.

Así como podemos comprender el origen y la función de una estructura celular básica en términos de su energía, nos gustaría poder explicar la formación y el desarrollo de un organismo completo, con las propiedades geométricas que abundan en cada una de sus partes. Es evidente que el grado de dificultad para entender la formación de un organismo incrementa de forma dramática, mientras nos movemos de la escala molecular, la escala celular, hasta llegar a la escala del organismo. No es imposible, sin embargo, comenzar a comprender el surgimiento de este orden en algunos sistemas vivos o en algunas de sus partes. Esta tesis es un esfuerzo por avanzar en dicha comprensión.

Nada en la naturaleza puede adquirir su forma por azar, pues todo lo que en ella existe está sujeto a las leyes de la física. Los organismos, así como las estructuras cristalinas o los polímeros, son construídos bajo las normas operativas de la física. Si podemos comprender con exactitud cómo es que surge una estructura tan ordenada y simétrica como un cristal, o por qué es inevitable la formación de una bicapa lipídica en ciertos ambientes, entonces podemos preguntarnos cómo es que un organismo adquirió la forma que posee y no otra. Es necesario hacer uso de las herramientas física y matemática para poder aproximarnos a esta pregunta. Desde luego, es preciso pensar también en términos evolutivos y funcionales para comenzar a delinear una respuesta.

En las plantas podemos observar, en particular, arreglos geométricos dotados de simetrías, tan estéticos, que nos conducen a preguntarnos cómo es que estos organismos producen estos diseños, o bajo qué mecanismos y leyes surgen estas simetrías. Estas preguntas dan origen al estudio de la filotaxia o filotaxis, que se refiere al acomodo que los órganos aére-

os de las plantas adquieren mientras éstas crecen y se desarrollan. Como corresponde a la mayoría de las interrogantes acerca de los procesos de morfogénesis, estas preguntas constituyen un verdadero reto. Desde el siglo XIX han surgido explicaciones al respecto, pero hasta años muy recientes se ha comenzado a abordar este problema desde el punto de vista de la física y de la energía. La búsqueda de una aproximación al problema de la filotaxis bajo este enfoque es el objetivo principal de este trabajo.

Esta tesis se dedica al estudio del proceso de formación de patrones en el desarrollo vegetal, específicamente de los patrones filotácticos. El trabajo comienza entonces con una revisión de los estudios biológicos sobre filotaxia en el Capítulo 1, haciendo énfasis en los elementos físicos que intervienen en este proceso de desarrollo. En el Capítulo 2 se exponen las bases teóricas del modelo matemático que se propone para explicar la formación de estos patrones desde un enfoque físico y a partir de la energía del sistema. El modelo se desarrolla con base en lo expuesto en el Capítulo 1 y es general, es decir, puede ser aplicado y adaptado para modelar muchos otros procesos (a pesar de que está construido de acuerdo con resultados experimentales sobre la filotaxia, todas las interacciones y mecanismos propuestos son de carácter físico; luego, los resultados no dependen de los detalles propios de cada organismo).

Como su nombre lo indica, el modelo mecano-químico de formación de patrones consta de dos partes fundamentales: la mecánica y la química implicadas en la filotaxis. Estas dos partes corresponden, básicamente, a la física implicada en el crecimiento vegetal y a la dinámica de las hormonas responsables de la formación de órganos en los meristemas aéreos. La parte química del modelo no es, sin embargo, exclusiva para estas hormonas, sino que puede modelar la dinámica de otros morfógenos en otros procesos de desarrollo. Es necesario introducir las dos teorías que construyen ambas partes del modelo: la teoría física del campo fase y la teoría matemática de formación de patrones mediante sistemas de reacción-difusión. En el Capítulo 2 se explican dichas teorías y se presenta el desarrollo del modelo mecano-químico de formación de patrones. Finalmente en el Capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos, así como su discusión y las perspectivas o trabajo a

futuro.

Esperamos que este trabajo contribuya al entendimiento de la morfología de estos organismos y de los sistemas biológicos en general y que arroje alguna luz sobre el estudio de los mecanismos físicos responsables de crear las formas y estructuras que observamos en los seres vivos.

Capítulo 1

Biología y mecánica de la filotaxia

En este capítulo presentamos un resumen de los estudios que conforman el acervo de conocimiento sobre la filotaxia en un contexto biológico. Éstos han ayudado a comprender los mecanismos mediante los cuales las plantas producen patrones espaciales regulares al formar sus órganos. Comenzamos con una reseña histórica de dicho estudio y continuamos con una revisión de los resultados experimentales que son fundamentales en este proceso morfogénético, y que además son la base del modelo mecano-químico de formación de patrones que desarrollamos. Dado que la mecánica inherente al crecimiento vegetal es un elemento básico en el planteamiento del modelo, se hace un énfasis en los factores mecánicos que intervienen en la filotaxia. Cabe señalar que, aunque está inspirado en resultados experimentales específicos de las plantas, este modelo es general, pues todas las interacciones que se proponen para su planteamiento son de carácter físico básico. Por lo tanto, el modelo mecano-químico puede aplicarse en diversos contextos, ya sean biológicos o de otras disciplinas. En esta tesis enfocamos su aplicación al proceso de morfogénesis del meristemo aéreo vegetal.

1.1. Filotaxis: reseña histórica

La filotaxia o filotaxis se refiere al arreglo espacial de los órganos laterales de las plantas, como hojas, estructuras florales, costillas en los cactus, o escamas en los conos

de los pinos (Fig. 1-1). El estudio de la filotaxia puede considerarse como la rama más antigua de la biología matemática, pues se remonta hasta el siglo XV en la Grecia antigua. Los primeros naturalistas, como Teofrasto (370-285 A.C.) y Plinio (23-79 A.C.), notaron distintos patrones en los arreglos de las hojas y los propusieron como criterios para la clasificación de las plantas. Fue hasta el tiempo de Leonardo Fibonacci de Pisa (1175-1240) que se observó la relación que existe entre la filotaxia y la proporción áurea o la sucesión Fibonacci. Una sucesión de Fibonacci se construye mediante la regla $a_{n+1} = a_n + a_{n-1}$ (el n -ésimo término de la sucesión es la suma de los dos términos anteriores). La proporción áurea se define por el límite $\tau = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{a_{n+1}}{a_n}$, con $a_0 = 1$, y el ángulo áureo φ por la relación $\varphi = 2\pi\tau$. En las espirales filotácticas se observa que los números de espirales opuestas (parastiquios) son siempre números de Fibonacci consecutivos. Más aún, el ángulo entre dos órganos vegetales consecutivos (ángulo de divergencia) en una espiral siempre es cercano al ángulo áureo (Fig. 1-1).

El primer estudio serio sobre los arreglos espaciales de hojas se debe a Charles Bonnet (1720-1793), quien pudo distinguir cuatro distintos patrones filotácticos y describir la llamada espiral genética. La filotaxis comenzó a estudiarse desde un enfoque científico alrededor de 1830, con Schimper, quien describió las espirales filotácticas y su relación con la sucesión de Fibonacci [Schimper, 1830]. En 1837, Louis y Auguste Bravais representaron los patrones filotácticos como puntos de una latiz en un cilindro, identificando la correspondencia entre el ángulo áureo y el ángulo de divergencia más común observado en las plantas [Bravais y Bravais, 1837]. Esta idea fue retomada después por varios autores y ha sido una herramienta útil para establecer algunas propiedades matemáticas de las espirales filotácticas. Las explicaciones fisiológicas y mecánicas surgieron hasta finales del siglo XIX y no fue sino hasta 1982 que Ridley y Airy desarrollaron la hipótesis de empaquetamiento eficiente, obteniendo con ella la filotaxia de Fibonacci [Ridley, 1981; Airy, 1873]. Después de los trabajos de Hofmeister [Hofmeister, 1868], quien estableció la hipótesis de inhibición, el estudio de la filotaxia se reorientó hacia el meristemo aéreo apical. El meristemo aéreo vegetal es un conglomerado de células localizado en la punta de los tallos, donde éstas se

dividen rápidamente dando lugar al crecimiento. Detrás del ápice que se desplaza hacia arriba cuando la planta crece, una serie de protuberancias llamadas primordios comienzan a aparecer, las cuales se diferenciarán para formar órganos. La hipótesis de inhibición establece que el primordio más joven se forma en el espacio disponible más amplio dejado por los primordios anteriores, es decir, los primordios existentes ejercen una influencia inhibitoria sobre el primordio que aparecerá. El meristemo aéreo es entonces la estructura donde los nuevos primordios emergen, dando origen a un patrón altamente simétrico y dotado de propiedades matemáticas interesantes.

Las teorías químicas sobre filotaxis aparecieron al mismo tiempo, cuando el matemático Alan Turing aportó las primeras contribuciones a este enfoque, basadas en su teoría morfogénica de reacción-difusión [Turing, 1952]. Esta teoría es capaz de generar patrones espaciales similares a los que se observan en muchos sistemas biológicos y resulta ser de suma importancia para el estudio del desarrollo, pues es un ejemplo de un sistema que se auto-organiza para producir un orden espacial. Posteriormente y con base en estas ideas, Meinhardt adoptó también un enfoque químico, obteniendo patrones filotáticos [Koch y Meinhardt, 1994]. En cuanto al enfoque físico, algunos experimentos fueron realizados con base en hipótesis que pudieran explicar el surgimiento de estos patrones. Un ejemplo ilustrativo son los trabajos de Douady y Couder, quienes obtuvieron espirales filotáticas dejando caer gotas ferromagnéticas cargadas en un campo magnético, en intervalos de tiempo regulares que simulan lo que se conoce como plastocrono [Douady y Couder, 1996]. Un plastocrono es un intervalo de tiempo constante entre la formación de primordios consecutivos. Douady y Couder encontraron, con base en sus experimentos ferromagnéticos, que el ángulo áureo es elegido por este mecanismo porque permite un empaquetamiento eficiente de los primordios alrededor del ápice, es decir, la acción del plastocrono junto con el efecto de repulsión entre las gotas ferromagnéticas cargadas, que en este caso representan a los primordios, elige por sí misma este patrón espacial. El descubrimiento posterior de la hormona vegetal llamada auxina y su influencia en la filotaxia ha abierto un camino interdisciplinario para acercarse a este fenómeno [Woodward *et al.*, 2005; Reinhardt *et al.*,

2003; Kierzkowski *et al.*, 2012; Heisler *et al.*, 2005]. Más recientemente, las investigaciones enfocadas hacia aspectos físicos y mecánicos de la morfogénesis indican que los enfoques químicos deben ser complementados con la física, para lograr entender este fenómeno desde un enfoque integrativo.



Figura 1-1: **Filotaxis.** Las plantas producen sus órganos laterales y florales formando patrones espaciales simétricos. En la filotaxia en espiral se distinguen dos familias de espirales o parastiquios: una familia va en el sentido de las manecillas del reloj, y la otra, en la dirección opuesta. El número de parastiquios en cada familia coincide con números consecutivos de una sucesión de Fibonacci y el ángulo entre órganos sucesivos (ángulo de divergencia) siempre es cercano al ángulo áureo.

A continuación, describimos brevemente los resultados experimentales más recientes, sobre la auxina, la mecánica, y otros elementos en el meristemo aéreo, que tienen una relación directa con la filotaxia.

1.2. Morfogénesis del meristemo aéreo apical

El meristemo aéreo apical (MA) es una estructura vital para el desarrollo vegetal y la formación de patrones filotáticos es parte fundamental de su morfogénesis. El MA

se localiza en la parte apical superior de las plantas o en las partes más distales del tallo, y en la mayoría de las especies superiores posee la forma de un domo paraboloidal (Fig. 1-2A, B). El MA provee de nuevas células no diferenciadas para el crecimiento de la planta y la formación de órganos laterales. Las dos funciones principales del MA se distinguen entonces como auto-mantenimiento y morfogénesis, es decir, el tamaño y la forma del MA se mantienen a lo largo de toda la vida de la planta y él es responsable de la formación de los nuevos órganos. A medida que el domo apical crece, la auxina se distribuye en su superficie, formando un patrón espacial de sitios de acumulación que determina el patrón filotáctico [Reinhardt *et al.*, 2003]. La propiedad de auto-mantenimiento del meristemo, que en sí misma constituye una pregunta fundamental del desarrollo de las plantas, representa un elemento muy importante en este trabajo, pues la forma conservada del MA es una restricción geométrica que es en gran parte responsable del surgimiento de patrones filotácticos simétricos y ordenados.

El MA se divide en dos zonas funcionales de acuerdo con sus patrones de crecimiento: las zonas central y periférica. La zona central (ZC), localizada en el centro del domo cerca de la punta, contiene al nicho de células madre, que provee indefinidamente nuevas células para mantener el crecimiento de la planta [Kwiatkowska, 2004]. Estas células poseen tasas de división muy bajas, por lo que la ZC tiene una tasa de crecimiento cercana a cero. Las células hijas, que poseen tasas de crecimiento mucho más elevadas, son desplazadas continuamente de manera radial hacia la zona periférica (ZP), localizada en los costados del domo (Fig. 1-2C). Por lo tanto, la ZP, que es la región donde emergen los nuevos primordios, se caracteriza por tener elevadas tasas de crecimiento con respecto a la zona funcional apical, que posee tasas de crecimiento casi nulas [Kwiatkowska, 2004]. Muchas investigaciones indican que las diferencias en las tasas de crecimiento de estas dos zonas son de gran importancia para la morfogénesis del MA [Kierzkowski *et al.*, 2012]. Este rasgo particular del meristemo es una consecuencia directa de su geometría y de la mecánica que ésta admite [Hejnowicz, 1955, 1989; Hejnowicz *et al.*, 1984; Hejnowicz y Romberger, 1984] pues, para que el crecimiento sea posible las células deben ceder al estrés mecánico,

al cual está sometido el MA debido a la presión interna; cerca del ápice el estrés mecánico se anula, mientras que en los flancos del domo se distribuye de manera simétrica. Estas propiedades mecánicas relacionadas con la geometría del MA se detallan en la Sección 1.2.3. Es importante mencionar que los mismos patrones de crecimiento se observan en otras estructuras apicales [Dumais *et al.*, 2006; Dumais y Steele, 2000; Bernal *et al.*, 2007], y que son fundamentales para el enfoque de este trabajo.

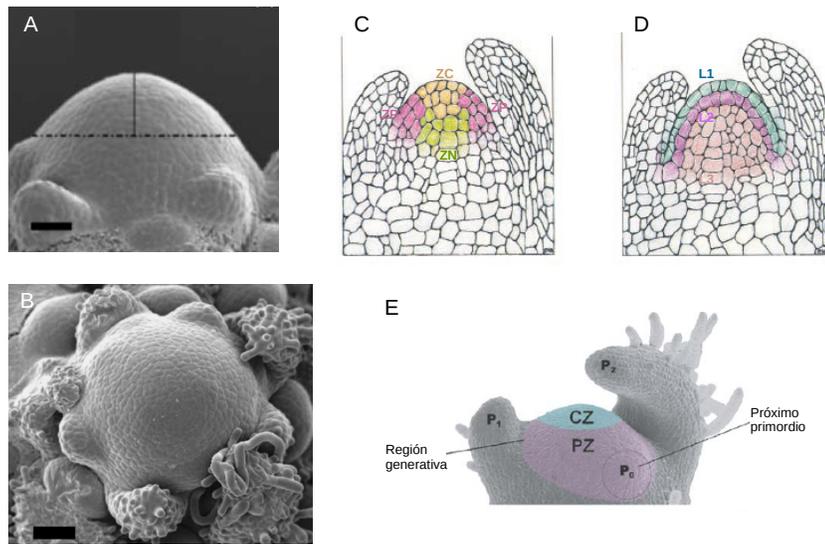


Figura 1-2: **Meristemo apical.** (A) La forma del meristemo aéreo de la mayoría de las plantas es un domo con simetría radial. En la figura se muestra un meristemo de *Chanopodium rubrum*, una especie de quinoa norteamericana. (B) Vista superior del meristemo en A. Barras $50\mu m$. (C) Zonificación del meristemo aéreo de acuerdo con sus patrones de crecimiento y sus funciones. La zona central, ZC en color naranja, contiene al nicho de células pluripotenciales y se caracteriza por sus bajas tasas de crecimiento. La zona periférica, ZP en rosa, se caracteriza por tener elevadas tasas de crecimiento y es el lugar donde emergen los órganos laterales. La zona de nervadura, ZN en verde, provee de células para el desarrollo de los tejidos internos. (D) Las capas celulares del MA, L1 en azul, L2 en magenta, L3 en rosa, se caracterizan por sus patrones de división celular. L1 y L2 son las capas más superficiales y crecen de forma paralela al meristemo, es decir, se dividen de manera anticlinal. Las células en L3 se dividen en todas direcciones. (E) En coordinación, los patrones de crecimiento de las capas celulares y las zonas meristemáticas contribuyen al surgimiento del patrón filotáctico. Los primordios P_i están numerados en orden de aparición, siendo P_0 el primordio que surgirá a continuación. (Imágenes: (A, B) Albrechtová *et al.*, 2004, (C, D) Sharma *et al.*, 2002, (E) Shani *et al.*, 2006.)

Una segunda zonificación, basada en los patrones de división celular que ocurren en distintas regiones del MA, consiste en tres capas celulares distintas: la más superficial, L1, la intermedia, L2, y la más interna, L3. Las capas L1 y L2 son láminas celulares que crecen y se extienden de forma paralela a la superficie del meristemo (división anticlinal), mientras que las células en L3 se dividen en todas direcciones [Kwiatkowska, 2004] (Fig. 1-2D). Integrados y coordinados, estos patrones de crecimiento son responsables del mantenimiento del MA y contribuyen al surgimiento del patrón filotáctico (Fig. 1-2E).

Una vez analizados los distintos patrones de crecimiento, así como la forma y los rasgos geométricos más notables del MA, es necesario presentar los resultados experimentales indispensables para el planteamiento del modelo mecano-químico de formación de patrones. Estos son, básicamente, los relacionados con la dinámica de la auxina, el crecimiento vegetal como un continuo y los aspectos mecánicos involucrados en el proceso morfogénico que deseamos modelar. Los presentamos, pues, a continuación y en ese orden.

1.2.1. Dinámica de la auxina en el meristemo aéreo

La auxina (IAA, ácido indol-3-acético) es una hormona esencial en muchos procesos del desarrollo vegetal, desde la embriogénesis [Liu *et al.*, 1993] hasta la diferenciación celular en las raíces y los tejidos vasculares [Friml *et al.*, 2002; Mattsson *et al.*, 2003]. En el MA la auxina se distribuye en la superficie, formando un patrón espacial de sitios de acumulación que determina la filotaxia [Reinhardt *et al.*, 2003; Heisler *et al.*, 2005]. Las regiones del MA donde la auxina alcanza un máximo de concentración dan origen a un primordio, que se desarrollará y diferenciará para formar un nuevo órgano. Una vez que el primordio se ha iniciado, las células que lo conforman adoptan patrones de división distintos a los de las células del MA, formando un pliegue en la frontera entre el meristemo y el primordio, el cual se caracteriza por poseer curvatura negativa; esto dará origen a una frontera física y transcripcional clara entre ellos [Kwiatkowska, 2004].

La distribución de auxina en el MA es una combinación de difusión simple, pasiva, y un mecanismo de transporte activo mediado por las proteínas de membrana PINFORMED1

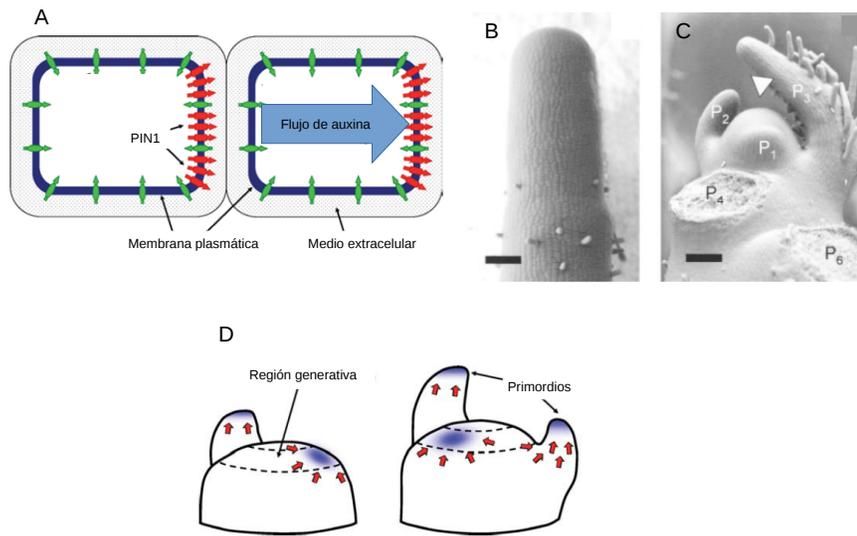


Figura 1-3: **Dinámica de la auxina.** (A) Las proteínas transportadoras PIN1, en rojo, se distribuyen de manera polar en la membrana plasmática, dando direccionalidad al flujo de auxina. (B) Los mutantes en los que se impide el transporte polar de auxina mediado por PIN1 no desarrollan órganos laterales. (C) Meristemo control para el mutante en B. Se observan claramente los primordios P_i numerados por orden de aparición. Barras, $100\mu m$. (D) Modelo usual de transporte de auxina en el MA. Las proteínas PIN1 (flechas rojas) dirigen el flujo de auxina hacia el sitio donde ésta se empieza a acumular (puntos azules), es decir, la auxina misma polariza a sus transportadores. (Imágenes: (A, D) Smith, 2008, (B, C) Reinhardt *et al.*, 2000)

(PIN1). Estas proteínas transportan a la auxina de dentro hacia afuera de las células en todos los tejidos vegetales. Cuando la auxina se encuentra en el exterior de la célula, las moléculas no disociadas de IAA son lipofílicas y pueden difundir de manera pasiva hacia adentro de las células [Michniewicz *et al.*, 2007]. En el ambiente intracelular más básico, por otro lado, la auxina IAA se disocia. Los aniones disociados IAA^- son más hidrofílicos y, por lo tanto, menos permeables, de modo que no pueden atravesar la membrana plasmática sin la intervención activa de PIN1 [Reinhardt *et al.*, 2003]. Más aún, las proteínas PIN1 tienen una distribución asimétrica (polar) en la membrana celular. En la capa celular más externa del MA, PIN1 se orienta hacia los sitios donde emerge un nuevo primordio

[Reinhardt *et al.*, 2003]. Luego, el transporte polar activo provee de direccionalidad al flujo de auxina (Fig. 1-3A). Esta característica es de gran importancia en todos los procesos de desarrollo en los que la hormona está involucrada además de la filotaxia. Los mutantes experimentales en los que se inhibe la síntesis de PIN1 no desarrollan ningún órgano lateral y otros mutantes con alteraciones en la polaridad de las proteínas PIN presentan fenotipos similares [Reinhardt *et al.*, 2003; Christensen *et al.*, 2000; Reinhardt *et al.*, 2000] (Fig. 1-3B, C).

En vista de que la auxina regula la expresión de PIN1 en las raíces [Vieten *et al.*, 2005], se ha formulado la hipótesis de que también lo hace en el MA. Más aún, dado que los primordios emergentes son los sitios donde la auxina alcanza un máximo, se ha propuesto que PIN1 es polarizado por la hormona (Fig. 1-3D). Esta es la hipótesis central de los modelos químicos de filotaxia propuestos hasta ahora [Jönsson *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2006]. Sin embargo, el mecanismo por el cual PIN1 es polarizada todavía se desconoce. Cabe señalar que las interacciones entre la membrana plasmática y la pared celular son cruciales para el mantenimiento de los dominios polares de PIN1, pues la alteración mecánica de las paredes celulares causa una pérdida de esta polaridad, ocasionando una redistribución simétrica de la proteína en toda la membrana [Feraru *et al.*, 2011]. Esto indica que, además de la influencia que el surgimiento de nuevos primordios tiene sobre la polaridad de PIN1, existen otros agentes, tanto mecánicos como bioquímicos, que afectan o están relacionados con la localización del transportador [Heisler *et al.*, 2010; Christensen *et al.*, 2000].

En este trabajo se explora una nueva hipótesis sobre la direccionalidad del flujo de auxina en el MA: los patrones de distribución de PIN1 podrían ser producto de señales mecánicas. Uno de los elementos centrales del modelo mecano-químico es que la direccionalidad del flujo de auxina en el MA ocurre como resultado de la mecánica del crecimiento del domo apical. A pesar de que los experimentos evidencian que esta polaridad no es debida a un único factor, ya sea bioquímico o mecánico, es importante explorar el segundo, pues la bioquímica, y cualquier otro proceso biológico, genético o molecular están necesariamente subordinados a la física. El modelo mecano-químico está enfocado, por lo

tanto, a la exploración del factor mecánico sobre esta polaridad.

1.2.2. El crecimiento vegetal y su continuidad

Dos atributos fundamentales del crecimiento vegetal son la continuidad y la coordinación. A diferencia de las células animales, las células vegetales están unidas por sus paredes celulares. La pared celular vegetal es una red intrincada de polisacáridos y proteínas que conectan fibras de celulosa, que es la principal componente estructural de esta red. La pared celular puede entonces ser vista como un material fibroso compuesto, cuya fuerza es conferida principalmente por las fibras de celulosa. Las fibras de celulosa, a su vez, están embebidas en una matriz proteica de pectinas y hemicelulosas [Mirabet *et al.*, 2013]. Es sabido que un material de este tipo combina de manera óptima la flexibilidad de doblamiento y la estabilidad mecánica [Niklas y Spatz, 2012].

Los tejidos vegetales se caracterizan por un crecimiento simplástico, continuo y coordinado, en el cual todos los contactos entre las células se mantienen debido a la red fibrosa que las une. Así, las células vecinas en un tejido vegetal están mecánicamente acopladas por tensión tisular [Niklas y Spatz, 2012]. Cuando ocurre una división celular, las células hijas heredan la pared celular de la madre. Esto da origen a un continuo, en el cual todos los procesos celulares, moleculares y genéticos ocurren [Kwiatkowska, 2008; Hamant y Traas, 2010]. El crecimiento de cada célula es restringido y afectado por el de sus vecinas y el estrés o esfuerzo mecánico que éstas producen. Esto se denomina crecimiento difuso [Hamant *et al.*, 2010] y proporciona las condiciones de continuidad a los tejidos vegetales, es decir, los convierte en un medio continuo [Kwiatkowska, 2004; Fung, 1994]. Debido a esta característica del crecimiento vegetal, cualquier cantidad o parámetro que se mida en un tejido puede ser descrito adecuadamente por una variable continua. Más aún, un crecimiento de este tipo es de naturaleza tensorial [Hejnowicz y Romberger, 1984], y puede ser interpretado como una deformación irreversible, es decir, una deformación plástica [Green, 1996] del tejido. Las tasas de crecimiento son entonces equivalentes a las tasas de deformación y deben ser resultado del esfuerzo mecánico que actúa en las paredes celulares

[Nakielski y Hejnowicz, 2003]. Tanto las deformaciones (crecimiento) como los esfuerzos usualmente son anisotrópicos, es decir, sus valores en un punto son diferentes en diferentes direcciones. De este modo, las propiedades físicas de las células vegetales deben ser descritas mediante campos continuos, o bien, mediante tensores. Los tensores son objetos geométricos que establecen relaciones lineales entre vectores, escalares y tensores mismos. Una de las propiedades más importantes de un tensor es que define tres direcciones principales, mutuamente ortogonales, en las cuales el tensor alcanza sus valores extremos (Fig. 1-4).

Con base en estas características se adoptó un enfoque mesoscópico para modelar el crecimiento del MA, el cual es considerado como un medio continuo. El flujo direccional de auxina es una variable continua que depende de las propiedades mecánicas del continuo. Es importante notar que, contrario a los modelos discretos de filotaxia [Smith *et al.*, 2006; Jönsson *et al.*, 2006], el modelo propuesto no mide los cambios de concentración de auxina entre una célula y otra, sino que modela la dinámica de ésta en el tejido completo. Esto constituye una ventaja tanto metodológica como epistemológica, pues el modelo consta de un sólo conjunto de ecuaciones para todo el sistema.

1.2.3. La mecánica del crecimiento y la dinámica de la auxina como un bucle de retroalimentación

Muchos procesos del desarrollo ocurren como un *diálogo* entre señales mecánicas y moléculas que producen una amplia variedad de respuestas a estas señales [Sampathkumar *et al.*, 2014] (véase [Hernández-Hernández *et al.*, 2014] para una revisión). La morfogénesis vegetal es el mejor ejemplo de ello, pues la presión de turgencia en las estructuras vegetales es la fuerza principal que dirige el crecimiento [Kierzkowski *et al.*, 2012]. La presión de turgencia es una presión hidrostática que surge como un fenómeno osmótico en una célula. La célula vegetal se encuentra presurizada por turgencia; ello ocasiona una compresión en el protoplasto y una tensión en la pared celular [Wojtaszek, 2011]. Estas interacciones entre la presión de turgencia y la pared celular, a nivel de tejidos y órganos, son cruciales

para determinar los patrones de crecimiento en las plantas. Las paredes celulares de la epidermis vegetal, por ejemplo, son hasta diez veces más gruesas y resistentes al estrés mecánico que las paredes de los tipos celulares internos [Niklas y Spatz, 2012]. Las células quedan empaquetadas bajo tensión/compresión dentro de estas capas rígidas y forman tejidos con distintas propiedades mecánicas; luego, el estrés mecánico es transferido hacia las capas externas, que a través de éste controlan el crecimiento [Schopfer, 2001]. Este diálogo mecánico da origen a una presión adicional supracelular que permite a las células del interior percibir y ajustar su balance mecánico al entorno físico inmediato [Kutschera y Niklas, 2007].

La elongación celular, y con ella el crecimiento, necesitan que la pared celular se relaje y se subordine a la presión. Al mismo tiempo, las células precisan acoplar la síntesis de componentes de pared celular con este relajamiento mecánico [Cosgrove, 2005]. A nivel celular, las componentes del estrés producido por la presión dependen de la geometría de la célula [Schopfer, 2001]; a nivel de órganos, la distribución de los esfuerzos queda determinada por la geometría éstos y puede ser modificada por los esfuerzos a nivel tisular [Dumais y Steele, 2000]. En los meristemos, que son órganos que se auto-mantienen, la distribución de los esfuerzos es prácticamente estacionaria en el tiempo, siempre y cuando los patrones de crecimiento y la geometría no cambien.

El esfuerzo mecánico es un tensor de segundo orden [Fung, 1994], cuyas direcciones principales forman un patrón espacial de trayectorias de esfuerzos principales (Fig. 1-4). Un análisis tensorial del crecimiento sugiere que las células meristemáticas son capaces de percibir señales direccionales, las cuales participan en la regulación del crecimiento a nivel tisular y son empleadas por las células para definir la orientación de sus planos de división [Hejnowicz *et al.*, 1984]. Así, es necesario que ocurran procesos tanto mecánicos como bioquímicos para coordinar la morfogénesis vegetal.

El transporte de auxinas no es un proceso aislado en el MA, de hecho, es afectado por la mecánica del tejido [Heisler *et al.*, 2010; Hamant *et al.*, 2010] o por la integridad mecánica de la pared celular [Feraru *et al.*, 2011]. Ello implica la existencia de un bucle

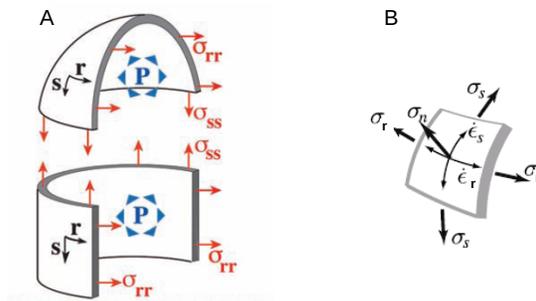


Figura 1-4: **Esfuerzos mecánicos en el MA.** (A) Dada la geometría del MA, los esfuerzos mecánicos σ se distribuyen de acuerdo a las direcciones principales (s, r, n), definiendo las nueve componentes del tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$, donde $\alpha, \beta = s, r, n$. (B) Esfuerzos principales en un elemento de superficie del domo apical. Las deformaciones correspondientes ϵ también son un tensor y ocurren en las direcciones principales (s, r, n). (Imágenes: (A) Hamant *et al.*, 2008, (B) Dumais *et al.*, 2006)

de regulación mecano-químico en la filotaxia. Las evidencias experimentales indican que la auxina promueve la acidificación de la pared celular y así modifica sus propiedades mecánicas [Cosgrove, 2005; Rayle y Cleland, 1992; Schopfer, 2001]. Se cree que este efecto induce la expresión de proteínas responsables de remodelar la pared celular a través de un incremento de su elasticidad [Traas, 2013]. Las expansinas, por ejemplo, son agentes modificadores de la pared celular que pueden inducir la formación de órganos en el MA [Fleming *et al.*, 1997; Pien *et al.*, 2001]. Se conocen como proteínas ablandadoras de la pared celular, pues incrementan su elasticidad, es decir, disminuyen su módulo de Young (ver ecuación 2-13 en el siguiente capítulo) [Cosgrove, 2005]. La expresión local de estas proteínas en plantas de tabaco desencadena el proceso completo de morfogénesis de hojas [Pien *et al.*, 2001]. Las pectinas, por otro lado, son un grupo heterogéneo de polisacáridos

de pared celular que modifican su rigidez, dependiendo de su estado de esterificación [Peaucelle *et al.*, 2008]. La alteración experimental de este estado modifica el patrón filotáctico e impide el surgimiento normal de órganos aéreos [Peaucelle *et al.*, 2008]. Más aún, los mutantes de auxina, en los cuales se impide el transporte o la señalización de esta hormona, no desarrollan órganos laterales [Reinhardt *et al.*, 2003] (Fig. 1-3 B). Sin embargo, el fenotipo normal (el patrón filotáctico) puede ser recuperado mediante la aplicación directa de la auxina en la superficie del MA, o bien, mediante la inducción de un reblandecimiento local de la pared celular [Reinhardt *et al.*, 2003; Fleming *et al.*, 1997]. En conclusión, un control localizado de la extensibilidad del tejido es suficiente para inducir la filotaxis y este hecho experimental constituye el fundamento principal del modelo mecano-químico de formación de patrones.

Resumimos estos resultados afirmando que la auxina modifica las propiedades mecánicas del tejido vegetal, incrementando su extensibilidad [Schopfer, 2001; Braybrook y Peaucelle, 2013]. En mutantes de transporte de auxina se detecta una disminución de la rigidez de la pared celular en los sitios donde se aplica auxina exógena; ello ocurre varias horas antes de que aparezca alguna protuberancia visible en el meristemo [Braybrook y Peaucelle, 2013]. El crecimiento (deformación) puede ocurrir sólo si la pared celular se reblandece; luego, está sujeto a la concentración de auxina o de agentes ablandadores de la pared celular. Por lo tanto, incorporamos en el modelo un mecanismo de crecimiento dependiente de la concentración de auxina, que opera mediante un aumento de la elasticidad del tejido (ver la ecuación (2-35) en el siguiente capítulo). Aún se discute si el incremento en la extensibilidad es el evento inicial en el crecimiento vegetal [Zonia y Munnik, 2007], pero es aceptado que en general éste depende de las propiedades mecánicas del tejido. En conjunto, las tasas de crecimiento y la anisotropía de la pared celular, tanto estructural como mecánica, son reguladas por interacciones complejas de naturaleza retroalimentativa, en las que el citoesqueleto y las componentes de la pared celular están involucradas [Baskin, 2005].

Debido al crecimiento difuso en las plantas (Sección 1.2.2), es decir, continuo, el crec-

imiento local (de un primordio, por ejemplo) produce diferencias en la distribución de los esfuerzos mecánicos a nivel tisular, lo cual podría ser una señal de regulación captada por el citoesqueleto. Existen evidencias contundentes de que el citoesqueleto funciona como un sensor mecánico a través de los microtúbulos corticales en la célula vegetal. Los trabajos de Heisler *et al.*, y Hamant *et al.* muestran que los esfuerzos mecánicos en la superficie del MA pueden ser las señales que orientan a los microtúbulos dentro de las células [Heisler *et al.*, 2010; Hamant *et al.*, 2010] (Fig. 1-5A). Estos trabajos demuestran que existe un bucle de retroalimentación entre la orientación de los microtúbulos corticales y el crecimiento de un órgano vegetal. Más aún, este mecanismo de retroalimentación también influye en la localización polar de PIN1, pues la proteína se orienta en la membrana plasmática de manera paralela al alineamiento de microtúbulos corticales (Fig. 1-5B). De este modo, PIN1 se alinea con el campo de esfuerzos en el meristemo [Heisler *et al.*, 2010]. Así, el surgimiento de un primordio, que modifica necesariamente este campo de esfuerzos, puede ser una señal mecánica fundamental para el ordenamiento de PIN1. Los microtúbulos constituyen una red altamente dinámica que conecta a todas las células en el MA y responde a los esfuerzos mecánicos aplicados, reorganizándose en patrones y direcciones específicas. La modelación mecánica de la expansión del meristemo aéreo predice el patrón supracelular de orientación de microtúbulos, que resultan estar alineados con las direcciones de estrés máximo [Heisler *et al.*, 2010].

La reorientación de los microtúbulos trasciende las fronteras de las células individuales en varias estructuras de la planta: en raíces lesionadas, por ejemplo, un alineamiento supracelular de microtúbulos se corresponde con los cambios en los planos de división celular, de modo que la herida pueda ser cerrada eficientemente [Hush *et al.*, 1990]. Al efectuar una ablación, por otro lado, se induce una redistribución de los esfuerzos mecánicos en el tejido; ello ocasiona la correspondiente redistribución de los microtúbulos corticales. De manera análoga, el surgimiento de un primordio en la superficie del MA produce modificaciones en la distribución de los esfuerzos principales. Tanto PIN1 como los microtúbulos se reorientan de manera similar en respuesta a tratamientos de ablación (cabe señalar que

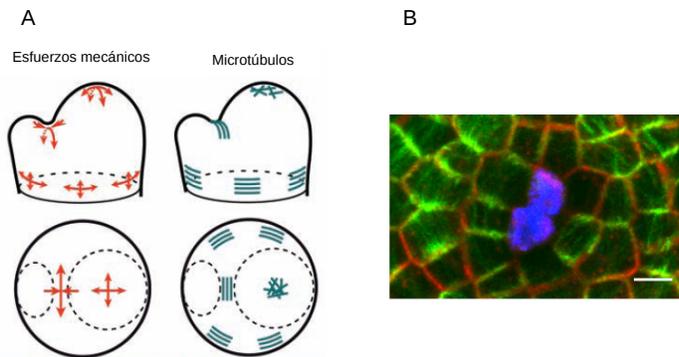


Figura 1-5: **Esfuerzos mecánicos y PIN1** (A) La orientación de los microtúbulos corticales coincide con las direcciones principales de esfuerzos. (B) Las proteínas PIN1 (señal en rojo) se alinean de manera paralela a los microtúbulos (en verde). El color azul indica una ablación local, alrededor de la cual los microtúbulos se reorientan en respuesta a los cambios en el estrés mecánico. (Imágenes: (A) Hamant *et al.*, 2008, (B) Heisler *et al.*, 2010)

este no es un comportamiento usual de proteínas de membrana) [Heisler *et al.*, 2010]. Más aún, las respuestas a ablación son robustas a los cambios en la distribución y transporte de auxina, lo cual demuestra que, a pesar de que la polaridad de PIN1 puede ser sensible a la hormona, los cambios direccionales coordinados de PIN1 ocurren como respuesta a un estímulo mecánico. Luego, la hipótesis principal del modelo mecano-químico es que el campo de esfuerzos en la superficie del MA confiere direccionalidad al transporte de auxina. La auxina, a su vez, retroalimenta a la mecánica del crecimiento a través de la modificación de las propiedades mecánicas del tejido.

El carácter tensorial del crecimiento vegetal y las relaciones entre el crecimiento y el estrés mecánico posiblemente implican un mecanismo de información posicional. Los gradientes de auxina o de otros morfógenos son de naturaleza vectorial y no pueden proveer

información sobre variación espacial o direcciones preferenciales, como lo hacen los tensores. El alineamiento periclinal y anticlinal de las paredes celulares y los experimentos con células aisladas muestran que éstas son capaces de percibir las señales direccionales provenientes de los tensores implicados en el crecimiento. La información direccional de estos tensores posiblemente es usada para crear la simetría de los órganos y de los organismos [Hejnowicz *et al.*, 1984]. Luego, la simetría puede ser una consecuencia natural de las interacciones que involucran o son dependientes de tensores en el crecimiento. Este trabajo muestra que, en efecto, el tensor de esfuerzos en el crecimiento aéreo vegetal es un elemento clave para generar y perpetuar la simetría de los patrones filotáticos.

Cabe señalar que existen muchos otros factores, en diferentes escalas, que alteran o están relacionados con la filotaxia [Shani *et al.*, 2006]. La polarización de PIN1, por ejemplo, es afectada por la acción de la cinasa PINOID (PID) [Christensen *et al.*, 2000]. En los mutantes de pérdida de función de PID ocurre un cambio de polaridad de las proteínas PIN1, lo cual ocasiona defectos en la morfogénesis del MA, con fenotipos similares a los mutantes de PIN1 y un colapso en el meristemo de raíz [Michniewicz *et al.*, 2007]. Luego, se hipotetiza que la fosforilación directa de PIN1, mediada por PID, puede afectar su localización intracelular. El mutante de MONOPTEROS (MP), que codifica un factor de transcripción de respuesta a auxinas, muestra también el fenotipo de un MA sin órganos laterales y no responde a la aplicación de auxina exógena [Bhatia *et al.*, 2016]; este mutante, sin embargo, presenta una localización polar de PIN1. La familia de proteínas KNOX también está relacionada con la filotaxia: SHOOTMERISTEMLESS (STM), un miembro de esta familia, se expresa en todo el MA, excepto en los primordios incipientes, y la expresión de CUPSHAPEDCOTYLEDON (CUC) se restringe a las fronteras de estos primordios. La expresión ectópica de este gen, por otro lado, produce una filotaxia alterada [Takada *et al.*, 2001].

Es evidente que en el proceso de formación de patrones filotáticos intervienen factores y agentes variados, en distintas escalas y por distintas vías, haciendo de éste un proceso altamente complejo. Sin embargo, en este estudio nos limitamos a analizar el fenómeno en

la escala mesoscópica y con un enfoque básico, considerando el entorno físico y mecánico sobre el cual ocurren los procesos genéticos y moleculares. Una de las diferencias principales entre el modelo que se propone y los modelos basados en la concentración de auxina es que la geometría y el crecimiento tisular adquieren una importancia fundamental, pues retroalimentan directamente al estrés mecánico. La distribución de esfuerzos mecánicos en el MA depende de la geometría del domo apical, así como de las propiedades mecánicas del tejido [Bernal *et al.*, 2007; Fung, 1994]. Más aún, el modelo mecano-químico es más general, pues los esfuerzos mecánicos dependen no sólo de la concentración de auxina, sino también de la morfología del tejido, las perturbaciones mecánicas, y cualquier actividad genética que regule el crecimiento. Al mismo tiempo, la forma y el crecimiento de las regiones funcionales del MA dependen de la presión de turgencia, los esfuerzos que ésta induce en las paredes celulares y de la concentración de auxina presente [Hamant y Traas, 2010]. Por lo tanto, la señalización mecánica es incorporada en este trabajo, con el objetivo de proponer un modelo completo e integrativo de morfogénesis vegetal.

Capítulo 2

Métodos

De acuerdo con los resultados expuestos en el capítulo anterior se plantea un modelo general de formación de patrones filotáticos. Este modelo consta de dos partes: la mecánica del crecimiento del meristemo aéreo y la dinámica de las hormonas involucradas en el proceso morfogenético. Llamamos *modelo mecánico* al conjunto de ecuaciones que modelan la mecánica del crecimiento del domo apical. Este crecimiento es afectado por la presencia de un morfógeno, la auxina, de acuerdo con los resultados experimentales ya mencionados. Las ecuaciones que modelan la dinámica de las hormonas implicadas constituyen el *modelo químico*. Esta dinámica resulta ser afectada por las interacciones que tiene con el modelo mecánico. Dicho modelo se construye con base en la teoría física del campo fase, mientras que el modelo químico es un sistema de reacción-difusión, que se resuelve en el dominio dinámico definido por el campo fase.

En este capítulo exponemos, brevemente, tanto la teoría del campo fase (Sección 2.1) como la de reacción-difusión (Sección 2.2), y explicamos cómo se han acoplado para la modelación de la filotaxia (Sección 2.3). Presentamos, además, un conjunto de resultados obtenidos con el modelo químico, sin ser acoplado (Sección 2.2.1), con dos fines. El primero es mostrar las propiedades de los patrones simétricos que pueden obtenerse a partir de este modelo, y el segundo es validar los métodos numéricos utilizados para la resolución del modelo mecano-químico.

La metodología presentada en este capítulo permite acoplar el proceso químico de difusión con los cambios de curvatura y el esfuerzo mecánico de una manera retroalimentativa: la concentración de una especie química (la auxina) modifica el campo de esfuerzos en el tejido y, a su vez, la distribución de esta especie depende de dicho campo, el cual cambia mientras el dominio crece. La evolución de este dominio es determinada por una ecuación dinámica obtenida a partir del enfoque del campo fase. La distribución de auxina es descrita por una segunda ecuación dinámica, obtenida a partir de la misma densidad de energía. Luego, ambos procesos están mecánicamente acoplados y, a diferencia de los modelos de campo fase propuestos para el estudio de fenómenos biológicos, nuestro modelo mecánico consta de dos ecuaciones dinámicas que describen la evolución completa del sistema: una ecuación para la dinámica del dominio en crecimiento y otra para la especie química que difunde en él.

En la Sección 2.3 se puede encontrar un resumen de este capítulo, para el lector que prefiera omitir la derivación matemática completa del modelo.

2.1. Modelo mecánico de crecimiento: el campo fase

El modelo de campo fase que utilizamos en este trabajo proviene de la teoría desarrollada en [Campelo y Hernández-Machado, 2006; Campelo, 2008; Lázaro *et al.*, 2015], donde se derivan las ecuaciones para estudiar, de manera dinámica, la energía de doblamiento de las membranas biológicas, las cuales se describen como superficies elásticas fluidas [Canham, 1970; Helfrich, 1973]. Con este enfoque es posible establecer una ecuación dinámica que describe las formas que una membrana puede adoptar, sujeta a distintas condiciones y restricciones. Se asume en estos trabajos que la membrana es homogénea y simétrica y que delimita una región en el espacio, es decir, que conforma una vesícula. Las diferentes formas que se obtienen al minimizar la energía del sistema dependen solamente de la razón entre el área superficial y el volumen interno de la vesícula (Fig. 2.1A). Una membrana cerrada adquiere estas diferentes formas como resultado de minimizar su energía de doblamiento, al imponer la restricción de que el volumen o el área superficial se mantengan constantes

(para membranas planas esta energía de doblamiento se vuelve cero).

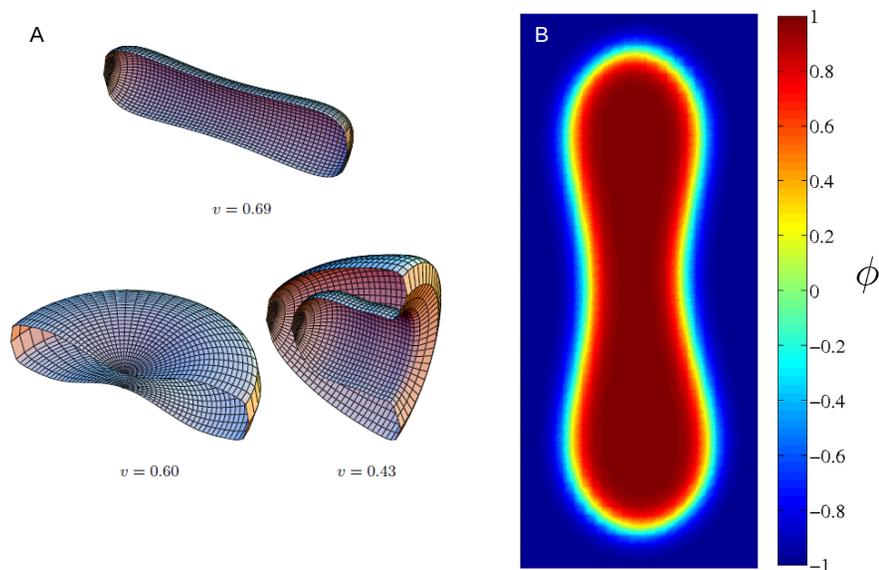


Figura 2-1: **Formas estacionarias a partir del campo fase.** (A) Distintas formas estacionarias de vesículas modeladas como un campo fase definido por la energía de doblamiento. El parámetro v se refiere a la razón entre el volumen de la vesícula y el volumen de una esfera con la misma área superficial. Para $v = 0.69$ se tienen estomatocitos, $v = 0.60$ produce la forma característica de los glóbulos rojos y $v = 0.43$ corresponde a vesículas oblongas. (B) Un campo fase ϕ que produce la forma de un glóbulo rojo, partiendo de un elipsoide como condición inicial. La región interna del elipsoide es definida por $\phi = +1$, y el exterior por $\phi = -1$. La interfase, que corresponde a la membrana del glóbulo rojo, se encuentra en el conjunto de nivel $\phi = 0$. (Imágenes: (A) Campelo y Hernández-Machado, 2006, (B) Lázaro *et al.*, 2015.)

Los modelos de campo fase expuestos en [Campelo y Hernández-Machado, 2006; Campelo, 2008; Lázaro *et al.*, 2015] provienen de la formulación de energías que describen problemas interfaciales. Para visualizar cómo funcionan estas energías, podemos pensar en lo que sucede al dejar caer gotas de aceite dentro de un vaso con agua: las gotas coalescen rápidamente. La física de este sistema está gobernada por una energía interfacial, pues las moléculas de aceite y de agua tienden rápidamente a minimizar la frontera entre ambas fases: las gotas de aceite comienzan a fusionarse para formar gotas más grandes de menor perímetro. Este es un ejemplo de un sistema físico gobernado por efectos interfaciales,

donde la localización de la interfase (entre el agua y el aceite en este caso) cambia con el tiempo e incluso sufre transformaciones topológicas. Aunque la física es muy simple, el estudio de la dinámica de este sistema es muy complicado, pues es un problema de frontera libre. Para estudiarlo es necesario rastrear la posición de la interfase en el tiempo, y resolver los problemas dinámicos acoplados del volumen y la frontera en movimiento. El objetivo de los modelos de campo fase es entonces construir una ecuación dinámica que resuelva estos problemas, sin necesidad de proporcionar información explícita sobre la posición de la interfase. En estos modelos las condiciones de frontera se sustituyen por una ecuación diferencial parcial que rastrea la evolución de un campo auxiliar: el campo fase ϕ . Este campo es una función suave $\phi : \Omega \subset \mathbb{R}^3 \rightarrow \mathbb{R}$ que actúa como un parámetro de orden con dos fases estables. En el enfoque de Ginzburg-Landau [Landau y Lifshitz, 1980] se consideran dos dominios, un fluido interno y un ambiente exterior acuoso, y se asocia a cada dominio una de las fases de equilibrio donde ϕ toma sus valores estables, típicamente $+1$ y -1 . Ambos dominios se conectan mediante una interfase suave de grosor ϵ , en la cual ϕ cambia abruptamente de una fase a la otra. Esta interfase usualmente se localiza en el conjunto de nivel $\phi = 0$. Así, es posible saber en qué fase física se encuentra un punto, verificando el valor de ϕ .

En este trabajo modelamos la superficie del meristemo aéreo (MA) como un campo fase ϕ , cuya evolución depende de la concentración de un químico u (la auxina), también modelada como un campo conservativo. La evolución del campo u depende del esfuerzo mecánico generado por ϕ y se compone tanto de difusión simple como de un transporte activo orientado por el tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$. La sustancia u promueve el crecimiento de ϕ permitiendo un aumento espontáneo de su curvatura, simulando de este modo un cambio en sus propiedades mecánicas. La ecuación que describe la energía del sistema incluye entonces un término de curvatura espontánea dependiente de u . Esto permite que, en presencia de una acumulación de u , aparezcan deformaciones locales en ϕ , lo cual se interpreta como un incremento en su elasticidad. De este modo, la inclusión del término de curvatura espontánea modela el efecto de la auxina sobre la elasticidad de la capa L1 del

MA. Los cambios locales en la curvatura retroalimentan la evolución de u , pues modifican el campo de esfuerzos en ϕ . De este modo intentamos modelar, en un nivel básico, el bucle de retroalimentación mecano-químico presente en la filotaxis.

Introducimos a continuación la teoría del campo fase con una descripción del modelo de Cahn-Hilliard, el cual fue desarrollado para estudiar la dinámica de aleaciones binarias. Esto es con el fin de mostrar la derivación de una ecuación dinámica elemental y, con base en esta derivación, desarrollar las ecuaciones dinámicas que constituyen el modelo mecánico. Una vez establecida la teoría para obtener las ecuaciones dinámicas, describimos el modelo de Canham-Helfrich, que es un campo fase obtenido a partir de la energía de doblamiento de las membranas. Se presentan los procedimientos matemáticos para expresar esta energía de doblamiento mediante los invariantes geométricos de la interfase y se incluye el factor de curvatura espontánea, con el fin de presentar las ecuaciones tal y como son resueltas para obtener los resultados. Finalmente, en la Sección 2.1.5 presentamos el modelo mecánico, cuyas ecuaciones dinámicas involucran al tensor de esfuerzos y al funcional de curvatura espontánea, es decir, el efecto de la auxina sobre el tejido.

2.1.1. La ecuación de Cahn-Hilliard: un modelo elemental de campo fase

En esta sección presentamos una derivación del modelo de Cahn-Hilliard [Cahn y Hilliard, 1958], o modelo B, para ejemplificar la construcción de un modelo de campo fase. El modelo de Cahn-Hilliard fue desarrollado para estudiar el proceso de descomposición de aleaciones binarias. En ese caso, el campo fase ϕ posee una interpretación física clara: es la concentración de una de las componentes en la aleación.

Para comprender de dónde surge la teoría del campo fase es necesario remontarse al sistema mecánico más simple: un sistema de n partículas o puntos materiales que se mueven en el espacio. Para determinar la evolución de este sistema es necesario considerar $3n$ coordenadas, que definen la posición de las partículas en cada instante de tiempo. El número de magnitudes independientes que se requieren para determinar unívocamente la posición del sistema se denomina *número de grados de libertad* del sistema. Estas mag-

nitudes no tienen que ser necesariamente las coordenadas cartesianas de los puntos: se denomina *coordenadas generalizadas* de un sistema con s grados de libertad al conjunto de magnitudes $q = \{q_1, \dots, q_s\} = \{q_i\}$ cualesquiera, que caracterizan su posición. Las *velocidades generalizadas* corresponden a las derivadas $\dot{q} = \{\dot{q}_i\}$. La expresión más general de la ley del movimiento de los sistemas mecánicos está dada por el llamado *principio de mínima acción* o *principio de Hamilton*. Este principio establece que todo sistema mecánico está caracterizado por una función $\mathcal{L}(q, \dot{q}, t)$ que, en nuestro enfoque, se denomina *densidad de energía libre* del sistema. Esta función debe ser tal que el movimiento del sistema satisfaga la condición de que el valor de la integral

$$\mathcal{S} = \int \mathcal{L}(q, \dot{q}, t) dt \quad (2-1)$$

sea mínimo, en cualesquiera dos instantes de tiempo. Esta integral, cuyo valor debe ser mínimo, es la *energía libre total del sistema*, \mathcal{F} :

$$\mathcal{F} = \int_{\Omega} \mathcal{L}(\mathbf{x}) dV, \quad (2-2)$$

donde Ω es un dominio de integración en el espacio.

La energía de un sistema es su capacidad para realizar un trabajo mecánico, es decir, de efectuar movimientos en contra de una fuerza. Las conversiones de una forma de energía en otra producen cierta cantidad de calor o energía *desperdiciada*; luego, existe una cantidad máxima de trabajo útil que puede extraerse de cualquier sistema mecánico. Esta cantidad máxima de trabajo es la energía libre. Cuando un sistema mecánico cambia en el tiempo, lo hace de manera tal que su energía libre disminuya. En un estado de equilibrio, o estacionario, la energía libre es mínima y no ocurren más cambios en el sistema.

Dada la expresión (2-2) para la energía libre, y dado que ϕ juega el papel de q_i en nuestro sistema mecánico, consideramos que la densidad de energía es una función de ϕ y de sus gradientes. Luego, expresamos la densidad de energía como $\mathcal{L} = \mathcal{L}(\phi, \nabla\phi)$. Esta densidad tiene una expansión en series de Taylor alrededor de una concentración uniforme

f_0 :

$$\mathcal{L}(\phi, \nabla\phi) = f_0(\phi) + \sum_i L_i \frac{\partial\phi}{\partial x_i} + \frac{1}{2} \sum_{ij} K_{ij} \frac{\partial\phi}{\partial x_i} \frac{\partial\phi}{\partial x_j}, \quad (2-3)$$

donde

$$L_i = \left[\frac{\partial f}{\partial \left(\frac{\partial\phi}{\partial x_i} \right)} \right]_0, \quad K_{ij} = \left[\frac{\partial^2 f}{\partial \left(\frac{\partial\phi}{\partial x_i} \right) \partial \left(\frac{\partial\phi}{\partial x_j} \right)} \right]_0. \quad (2-4)$$

El subíndice indica que las derivadas se evalúan en el punto crítico. Suponemos que el sistema es isotrópico y homogéneo, es decir, la densidad de energía es invariante bajo reflexiones $x_i \rightarrow -x_i$. Luego, $L_i = 0$, y K_{ij} es distinto de cero sólo para $i = j$. De este modo podemos escribir, hasta segundo orden

$$\mathcal{L}(\phi, \nabla\phi) = f(\phi) + \frac{\epsilon^2}{2} |\nabla\phi|^2, \quad (2-5)$$

donde $\epsilon = K_{ii}$. La función f se conoce como el término homogéneo y depende de la física del sistema. En el caso de una aleación binaria se elige como un potencial biestable, pues ϕ debe poseer dos fases estables. Dada la relación (2-5), expresamos la densidad de energía de nuestro sistema como $\mathcal{L} = \mathcal{L}(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi)$.

Asumiendo que el sistema es suficientemente grande podemos definir el potencial químico μ (el cambio de la energía libre respecto a un valor de referencia de la concentración ϕ) como la derivada funcional de la energía libre. La derivada funcional relaciona los cambios de un funcional con los cambios en las funciones de las cuales es dependiente. La densidad de energía para nuestro modelo está dada por

$$\mathcal{F} = \int_{\Omega} \mathcal{L}(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi) dV, \quad (2-6)$$

cuya derivada funcional es

$$\mu[\phi] = \frac{\delta\mathcal{F}}{\delta\phi} \doteq \frac{\partial\mathcal{L}}{\partial\phi} - \nabla_{\alpha} \frac{\partial\mathcal{L}}{\partial(\nabla_{\alpha}\phi)} + \nabla^2 \frac{\partial\mathcal{L}}{\partial(\nabla^2\phi)}. \quad (2-7)$$

En este caso utilizamos coordenadas espaciales cartesianas, es decir, $\alpha = 1, 2, 3$, y los subíndices en el operador gradiente se refieren a la diferenciación respecto a la coordenada correspondiente. De este modo, el potencial químico o la derivada funcional de la energía es

$$\mu[\phi] = \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} = f'(\phi) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi. \quad (2-8)$$

En el modelo de Cahn-Hilliard, la concentración se conserva localmente. Luego, la dinámica de ϕ puede expresarse como una ley de Fick [Groot y Mazur, 1984], es decir, como la divergencia de un flujo J :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = -\nabla \cdot J. \quad (2-9)$$

El flujo es proporcional al gradiente del potencial químico hasta primer orden:

$$J = -M_\phi \nabla \mu. \quad (2-10)$$

Así, considerando un término homogéneo biestable

$$f(\phi) = -\frac{\phi^2}{2} + \frac{\phi^4}{4}, \quad (2-11)$$

la ecuación dinámica final para el modelo de Cahn-Hilliard es

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = M_\phi (\phi - \phi^3 + \epsilon^2 \nabla^2 \phi). \quad (2-12)$$

Esta ecuación describe la evolución temporal del campo fase ϕ .

El mínimo de la energía libre (2-6), con el término homogéneo (2-11), se obtiene haciendo $\mu = 0$, y puede resolverse añadiendo las condiciones de frontera $\phi(\mathbf{x}) \rightarrow \pm 1$ cuando $\mathbf{x} \rightarrow \pm \infty$. De este modo, es posible obtener el perfil de equilibrio de la interfase, que resulta ser una función suave parecida a la tangente hiperbólica, \tanh , con una interfase de grosor ϵ . A continuación presentamos la derivación de una ecuación dinámica similar, cuando la

energía del sistema se expresa en términos de la curvatura y la energía de doblamiento.

2.1.2. Energía de doblamiento de Canham-Helfrich

En esta sección derivamos un modelo de campo fase basado en la energía de doblamiento de una superficie. Esta energía puede escribirse en términos de los invariantes geométricos de la superficie como [Canham, 1970]

$$U = \frac{D}{2} \int \left(\frac{1}{R_1^2} + \frac{1}{R_2^2} \right) dA, \quad (2-13)$$

donde R_i son las curvaturas principales y $D = \frac{Eh^3}{12(1-\nu^2)}$ es el coeficiente de rigidez de doblamiento. Los términos E y ν son constantes elásticas conocidas como el módulo de Young y el coeficiente de Poisson, y h es el grosor de la membrana. La ecuación (2-13) se conoce como la energía de doblamiento de Canham. Para una vesícula cerrada de área y volumen fijos, el mínimo de esta energía corresponde a la forma bicóncava usual de los glóbulos rojos [Campelo, 2008] (Fig. 2.1).

Para implementar un modelo de campo fase basado en la energía de doblamiento, las membranas deben ser consideradas como objetos mesoscópicos sin estructura interna. Es decir, las membranas se consideran como una superficie embebida en el espacio euclidiano tridimensional. Es necesario expresar las propiedades geométricas de la superficie, es decir, sus curvaturas, como funciones del campo fase.

Los campos fase son funciones regulares, por lo tanto, pueden ser expresadas en términos de cualquier función suave de las coordenadas. En particular, ϕ puede escribirse como una función dependiente de la distancia (con signo) a la interfase $d(\mathbf{x})$,

$$\phi(\mathbf{x}) = f \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right) = \tanh \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right). \quad (2-14)$$

Se elige esta parametrización en particular porque la función distancia con signo a la interfase cumple dos propiedades muy especiales: su primera derivada es el vector normal unitario a la interfase,

$$\nabla d(\mathbf{x}) = \hat{n}, \quad (2-15)$$

y su segunda derivada es el tensor de curvatura [Carmo, 1976],

$$\nabla\nabla d(\mathbf{x}) = Q_{\alpha\beta}. \quad (2-16)$$

Las derivadas del campo fase respecto a su argumento, $d(\mathbf{x})/\sqrt{2\epsilon}$, se expresan como

$$f' \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right) = 1 - f^2 \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right), \quad (2-17a)$$

$$f'' \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right) = -2f \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right) \left[1 - f^2 \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}} \right) \right], \quad (2-17b)$$

pues se cumple que $\tanh'(x) = \text{sech}^2(x)$, y $\text{sech}^2(x) = 1 - \tanh^2(x)$. Considérense ahora las derivadas de ϕ respecto a las coordenadas x_α con la función distancia. Recordemos que la notación $\nabla_\alpha = \frac{\partial}{\partial x^\alpha}$ se refiere a una derivación respecto a las coordenadas, de modo que

$$\nabla_\alpha \phi = \frac{1}{\sqrt{2\epsilon}} f' \nabla_\alpha d(\mathbf{x}), \quad (2-18a)$$

$$\nabla_\alpha \nabla_\beta \phi = \frac{1}{2\epsilon^2} f'' \nabla_\alpha d(\mathbf{x}) \nabla_\beta d(\mathbf{x}) + \frac{1}{\sqrt{2\epsilon}} f' \nabla_\alpha \nabla_\beta d(\mathbf{x}). \quad (2-18b)$$

A partir de (2-17) y (2-18) es posible expresar las segundas derivadas de la función distancia como funciones de ϕ y sus derivadas:

$$\nabla_\alpha \nabla_\beta d(\mathbf{x}) = \nabla_{\alpha\beta}^2 d(\mathbf{x}) = \frac{\sqrt{2\epsilon}}{1 - \phi^2} \left[\nabla_{\alpha\beta}^2 \phi + \frac{2\phi}{1 - \phi^2} \nabla_\alpha \phi \nabla_\beta \phi \right] = Q_{\alpha\beta}, \quad (2-19)$$

donde $Q_{\alpha\beta}$ es el tensor de curvatura de dimensión 3 [Campelo, 2008].

Este tensor de curvatura es simétrico, $Q_{\alpha\beta} = Q_{\beta\alpha}$ y, dado que el gradiente de la función distancia es un vector unitario (2-15), el tensor de curvatura siempre tiene un eigenvalor

igual a cero, cuyo eigenvector correspondiente es $\nabla_\alpha d(\mathbf{x})$ [Campelo, 2008]. Por lo tanto, su determinante es cero.

Un tensor de dimensión n tiene n escalares invariantes bajo cambios de coordenadas, los cuales pueden expresarse en términos de los coeficientes del polinomio característico. En dimensión 3, los coeficientes corresponden al determinante, la traza y la suma de los menores principales de la matriz que representa al tensor. Los dos invariantes distintos de cero de $Q_{\alpha\beta}$ están relacionados con la curvatura media, \mathcal{H} , y la curvatura Gaussiana, \mathcal{K} , de la siguiente manera [Safran, 2003]:

$$\mathcal{H} = \frac{1}{2} \text{tr} [\nabla_{\alpha\beta}^2 d(\mathbf{x})], \quad (2-20a)$$

$$\mathcal{K} = \sum_{\alpha,\beta} \left[(Q_{\alpha\alpha}Q_{\beta\beta} - Q_{\alpha\beta}^2) \frac{1 - \delta_{\alpha\beta}}{2} \right], \quad (2-20b)$$

donde $\delta_{\alpha\beta}$ es la delta de Kronecker. La expresión del tensor de curvatura en términos de ϕ (2-19) nos permite expresar las curvaturas invariantes también como funciones del campo fase y sus derivadas. Usando (2-17) tenemos:

$$\mathcal{H}[\phi] = \frac{\sqrt{2}}{2\epsilon(1-\phi^2)} [-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi]. \quad (2-21)$$

La curvatura Gaussiana \mathcal{K} también puede expresarse, con un poco más de trabajo algebraico, en términos del campo fase [Campelo, 2008], pero para nuestros propósitos basta con la expresión (2-21). Ésta nos permitirá obtener el modelo de campo fase en términos de la curvatura, en la siguiente sección.

2.1.3. Modelo mínimo: el campo fase en términos de la curvatura

El modelo mínimo se refiere a la expresión de la energía del sistema en términos de la curvatura media de la interfase. Con los resultados derivados en la sección anterior podemos expresar la energía de doblamiento como una función de ϕ . La expresión para la energía libre del modelo mínimo es

$$F_M = \frac{\kappa}{2} \int_{\Gamma} (2\mathcal{H})^2 ds, \quad (2-22)$$

donde Γ es la superficie de la membrana, \mathcal{H} es la curvatura media, y κ es el módulo de doblamiento. Esta energía libre es una integral de superficie, pero la energía que buscamos en términos del campo fase debe ser una integral de volumen de la forma

$$\mathcal{F}[\phi] = \int_{\Omega} \mathcal{L}(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi) dV, \quad (2-23)$$

donde Ω es el dominio tridimensional de ϕ . Una manera de expresar la integral de superficie como una integral de volumen es implementar una función delta de Dirac en la interfase, donde su cumpla que $d(\mathbf{x}) = 0$, esto es:

$$ds = \delta(d(\mathbf{x}))dV. \quad (2-24)$$

Así, es necesario hallar una representación de la función delta de Dirac en términos de ϕ . Algunas propiedades de las funciones de campo fase son de gran ayuda para este propósito, por ejemplo, son funciones continuas y sólo cambian de manera substancial en una vecindad de tamaño ϵ alrededor de la interfase. En el límite, una función de campo fase se convierte en una función escalón. De este modo, un candidato para la función delta que buscamos es la derivada de ϕ , que se comporta como una función indicadora de la interfase. Reescribimos $f'(d(\mathbf{x})/\sqrt{2}\epsilon)$ usando el perfil de tangente hiperbólica para ϕ como

$$f' \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2}\epsilon} \right) = 1 - f^2 \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2}\epsilon} \right) = \text{sech}^2 \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2}\epsilon} \right). \quad (2-25)$$

Usando el hecho de que [Campelo, 2008]

$$\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} \text{sech}^4 \left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2}\epsilon} \right) = \delta(d(\mathbf{x})) \quad (2-26)$$

podemos escribir

$$ds = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} \operatorname{sech}^4\left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2}\epsilon}\right) dV = \frac{3}{4\sqrt{2}\epsilon} (1 - \phi^2)^2 dV. \quad (2-27)$$

Finalmente, usando las ecuaciones (2-21) y (2-27), es posible expresar el modelo mínimo en términos de ϕ :

$$F_M[\phi] = \frac{3\sqrt{2}\kappa}{8\epsilon^3} \int_{\Omega} (-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi)^2 dV. \quad (2-28)$$

En otras palabras:

$$F_M[\phi] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (\Phi[\phi])^2 dV, \quad (2-29)$$

donde

$$\Phi[\phi] = -\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi, \quad (2-30)$$

y

$$\bar{\kappa} = \frac{3\sqrt{2}}{4\epsilon^3} \kappa. \quad (2-31)$$

Nótese que el funcional de energía libre Φ^2 es el cuadrado del potencial químico μ (la derivada funcional de la energía libre) asociado con el problema de Cahn-Hilliard [Cahn y Hilliard, 1958]. El mínimo de la energía libre (2-29) se obtiene igualando a cero la ecuación (2-30). En una dimensión, esto conduce a la solución con perfil de tangente hiperbólica $\phi(x) = \tanh\left(\frac{x}{\sqrt{2}\epsilon}\right)$, dadas las condiciones de frontera usuales: $\phi(\pm\infty) = \pm 1$. Es decir, se obtiene el supuesto original en el perfil del campo fase, *i.e* la ecuación (2-14).

2.1.4. Curvatura espontánea: las propiedades mecánicas del dominio dinámico

Una vez que las propiedades geométricas locales de la superficie han sido expresadas en términos de ϕ , es posible generalizar el modelo mínimo, permitiendo que la membrana, o

en nuestro caso, la epidermis vegetal, adopte una curvatura preferencial (distinta de cero). El modelo de curvatura espontánea fue propuesto por Wolfgang Helfrich [Helfrich, 1973], y expresa la energía libre del sistema con una curvatura espontánea preferencial c_0 ¹:

$$F_{SC} = \frac{\kappa}{2} \int_{\Gamma} (2H - c_0)^2 ds. \quad (2-32)$$

Como antes, podemos escribir la energía libre de curvatura espontánea en términos del campo fase [Campelo y Hernández-Machado, 2006]:

$$F_{SC}[\phi] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (\Phi_{SC}[\phi])^2 dV, \quad (2-33)$$

donde

$$\Phi_{SC}[\phi] = \Phi[\phi] - \epsilon C_0(1 - \phi^2). \quad (2-34)$$

El funcional $\Phi_{SC}[\phi]$ se compone del funcional que fue dado para el modelo mínimo, $\Phi[\phi]$ (2-30), y del término de curvatura espontánea $C_0 = c_0/\sqrt{2}$. Este término representa la curvatura espontánea de ϕ , mientras que el término $(1 - \phi^2)$ actúa como una función delta centrada en la interfase. Con ello, el efecto de C_0 se limita a la superficie $\phi = 0$, sin afectar el volumen restante. Así, la interfase está forzada a acomodar su superficie de acuerdo a la curvatura espontánea C_0 y, en términos del problema biológico que abordamos, aseguramos que el crecimiento (deformación y aumento de la curvatura) ocurran sólo en la epidermis L1, sin afectar el volumen contenido en el interior del MA.

Recordemos que este modelo de campo fase puede obtenerse a partir de las formulaciones del problema de Canham-Helfrich [Helfrich, 1973] y que ambos modelos son equivalentes [Campelo y Hernández-Machado, 2006]. El problema de Canham-Helfrich describe la evolución de interfases gobernadas por energía de doblamiento o energía elástica, que describe la relajación de una superficie hacia formas estacionarias. Sin restricciones y sin una curvatura preferencial, una superficie se relajaría hacia un estado de curvatura igual a

¹El subíndice SC para la energía libre se refiere los vocablos *spontaneous curvature* en inglés.

cero. En este trabajo imponemos la aparición de una curvatura espontánea en la interfase como respuesta a la concentración de la especie química u , la auxina, de acuerdo con los resultados experimentales expuestos en la Sección 1.2.3. El reblandecimiento del tejido o la disminución de su rigidez en respuesta a la concentración de auxina permite, por medio de la presión de turgencia, la aparición de una pequeña protuberancia en la epidermis (un primordio), que necesariamente cambia la curvatura de manera local. Escribimos entonces el término de curvatura espontánea C_0 como un funcional cuadrático de la concentración de auxina u :

$$C_0 = C_0[u] = \beta u^2, \quad (2-35)$$

donde β es la intensidad de la influencia que tiene la auxina sobre la curvatura del tejido, o bien, sobre su elasticidad. La dependencia cuadrática en la ecuación (2-35) es el supuesto más simple para modelar este proceso, pues, si R es el radio del domo apical, la interfase crece como R^2 . Con el acoplamiento del campo u en la densidad de energía, escribimos el funcional Φ_{SC} como $\Phi_{SC}[\phi, u]$ y la energía libre del sistema se convierte en

$$\mathcal{F}_{SC} = \int_{\Omega} ((1 - \phi^2)(-\phi - \epsilon\beta u^2) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi)^2 dV. \quad (2-36)$$

Finalmente, es necesario incluir en la densidad de energía los términos de tensión superficial de u y ϕ , es decir, $|\nabla\phi|^2$ y $|\nabla u|^2$ [Campelo, 2008], y así modelar el costo energético de la relajación de la superficie. Nuestra energía libre final es entonces

$$\mathcal{F} = \int_{\Omega} \left(\Phi_{SC}^2[\phi, u] - \frac{1}{2}\varrho_{\phi} |\nabla\phi|^2 - \frac{1}{2}\varrho_u |\nabla u|^2 \right)^2 dV, \quad (2-37)$$

donde ϱ_{ϕ} y ϱ_u son constantes positivas. Asumimos que ϱ_{ϕ} es mucho mayor que ϱ_u , pues la capa celular L1 tiene una alta rigidez [Hamant *et al.*, 2010], mientras que la auxina es un fluido.

Una vez que u y ϕ están acopladas en la densidad de energía, es necesario establecer su evolución en el tiempo, como lo hicimos para (2-12). Asumimos nuevamente que el

material se conserva de manera local a lo largo del tiempo y establecemos la dinámica de ϕ y de u mediante dos ecuaciones de difusión. En la siguiente sección derivamos dichas ecuaciones.

2.1.5. Ecuaciones dinámicas y el tensor de esfuerzos

En nuestro modelo, como en el modelo de Cahn-Hilliard, la relajación hacia el mínimo de la energía libre se alcanza mediante una dinámica de relajación conservada:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla^2 \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right), \quad \frac{\partial u}{\partial t} = \nabla^2 \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right), \quad (2-38)$$

donde \mathcal{F} está determinada por la ecuación (2-37). Recordemos que la derivada funcional de la energía libre se define por

$$\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} = \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \phi} - \nabla_\alpha \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_\alpha \phi)} + \nabla_{\alpha\alpha} \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_{\alpha\alpha} \phi)}. \quad (2-39)$$

Es necesario, entonces, calcular los cambios de \mathcal{F} con respecto a u y a ϕ y después someter estos cambios a difusión. Sean D_ϕ y D_u los coeficientes de difusión de ϕ y de u , respectivamente. Entonces, la dinámica de estas variables queda determinada por

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_\phi \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right), \quad (2-40a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_u \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right). \quad (2-40b)$$

A pesar de que la dinámica de nuestro sistema es conservada, el crecimiento del domo apical conlleva procesos de elongación y proliferación celular. Luego, la cantidad de material no es constante a medida que el meristemo crece, es decir, a medida que el campo fase ϕ evoluciona. Por lo tanto, es necesario introducir un término adicional en la ecuación dinámica de ϕ que agregue masa al tejido. Dado que la auxina promueve el crecimiento en el MA, el término de adición de masa debe depender de la concentración de auxina u .

Tomando en cuenta todas estas observaciones, reescribimos la ecuación (2-40a) como

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right) + \alpha[u], \quad (2-41)$$

donde $\alpha[u] = mu^2$ es el funcional que agrega masa a ϕ , y la constante $m > 0$ es la cantidad de masa agregada. La introducción del funcional α en la ecuación dinámica permite una modelación plausible del crecimiento biológico y no solamente de la deformación de un sólido sometido a fuerzas.

Para modelar los patrones de crecimiento característicos del MA (Sección 1.2), elegimos como configuración inicial para ϕ un domo apical simétrico y usamos el hecho de que la ZP, la región donde los primordios emergen, posee tasas de crecimiento mucho más elevadas que el resto del meristemo [Ljung *et al.*, 2001; Kwiatkowska, 2004]. Modelamos este hecho mediante la inclusión de una distribución normal de auxina $G[u]$, centrada en el eje del domo apical. Dicha distribución es de altura variable, la cual cambia de acuerdo al desplazamiento del punto más alto de ϕ . Las ecuaciones dinámicas (2-40) se convierten entonces en

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right) + \alpha[u] + \kappa m G[u], \quad (2-42a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_u \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right) + G[u], \quad (2-42b)$$

con $\kappa > 0$.

La hipótesis central de este trabajo es que la dinámica de la especie u en la superficie ϕ es dirigida por el campo de esfuerzos. Por lo tanto, definimos el coeficiente de difusión de u como un tensor que depende explícitamente del tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$:

$$D_u = \gamma \sigma_{\alpha\beta}, \quad (2-43)$$

con $\gamma > 0$. La ecuación dinámica para u (2-40b) se reescribe entonces como

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left((\gamma \sigma_{\alpha\beta}) \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right) + G[u] = \gamma \nabla \cdot \left(\sigma_{\alpha\beta} \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right) + G[u]. \quad (2-44)$$

En [Lázaro *et al.*, 2015] puede encontrarse una derivación del tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$ a partir de una energía libre, en el contexto del campo fase. En términos de las variaciones de la energía libre, el tensor de esfuerzos se puede expresar como

$$\sigma_{\alpha\beta} = \left(\mathcal{L} - \phi \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \phi} \right) \delta_{\alpha\beta} - \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_{\beta} \phi)} \nabla_{\alpha} \phi + \nabla_{\beta} \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla^2 \phi)} \nabla_{\alpha} \phi - \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla^2 \phi)} \nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi. \quad (2-45)$$

El cálculo explícito de $\sigma_{\alpha\beta}$ a partir de las ecuaciones (2-37) y (2-45), que es válido para cualquier energía de la forma (2-23), puede encontrarse en el Apéndice A. La presión de turgencia se expresa directamente en el tensor de esfuerzos como $P_{\alpha\beta} = -\sigma_{\alpha\beta}$; de este modo, las propiedades mecánicas de la interfase, de la epidermis del MA en este caso, están completamente determinadas a partir de la energía libre. Al ser diagonal, el primer término de la ecuación (2-45) se relaciona con la presión hidrostática, mientras que el segundo y el tercer término se asocian con la tensión superficial de ϕ . Más aún, el tensor de curvatura $Q_{\alpha\beta}$ (2-19) está contenido en el tercer término de (2-45) (ver Apéndice A). Asimismo, la geometría de la deformación de la interfase está contenida de manera implícita en los gradientes de ϕ .

El cálculo de la derivada funcional en las ecuaciones (2-40b) y (2-41), con la adición del tensor de esfuerzos, proporciona las ecuaciones dinámicas para ϕ y para u , las cuales determinan el crecimiento del tejido y la distribución de la auxina en él. Las variaciones de la energía respecto a ϕ y u son

$$\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} = 2 \left[(3\phi^2 - 1 - 2\phi\epsilon\beta u^2) \Phi_{SC}[\phi, u] - \epsilon^2 \nabla^2 \Phi_{SC}[\phi, u] \right] + \varrho_{\phi} \nabla^2 \phi, \quad (2-46a)$$

$$\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} = -4\epsilon (\phi^2 - 1) \beta u \Phi_{SC}[\phi, u] + \varrho_u \nabla^2 u. \quad (2-46b)$$

Sustituyendo estas expresiones en (2-41) y (2-44) obtenemos las ecuaciones de nuestro modelo mecánico, que simulan los procesos acoplados de crecimiento, deformación y distribución del morfógeno u en la superficie ϕ :

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \{ [2(3\phi^2 - 1 - 2\phi\epsilon\beta u^2) \Phi_{SC}[\phi, u] - \epsilon^2 \nabla^2 \Phi_{SC}[\phi, u]] + \varrho_\phi \nabla^2 \phi \} + \alpha[u] + \kappa m G[u], \quad (2-47a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \gamma \nabla \cdot (\sigma_{\alpha\beta} \nabla \{ -4\epsilon(\phi^2 - 1)\beta u \Phi_{SC}[\phi, u] + \varrho_u \nabla^2 u \}) + G[u]. \quad (2-47b)$$

Estas ecuaciones han sido obtenidas a partir de los supuestos más simples que pueden formularse para el proceso de desarrollo del meristemo aéreo vegetal, en el contexto de la teoría del campo fase. La minimización de la energía libre determina cómo es que los puntos materiales del domo se desplazarán y cómo será distribuida la sustancia química en la superficie. Ambos procesos están acoplados en un proceso retroalimentativo a partir de la densidad de energía (2-37). Las ecuaciones (2-47) modelan la parte mecánica del proceso de crecimiento, que será acoplado con la parte química que se describe en la siguiente sección.

Integrando solamente la ecuación dinámica para ϕ , sin acoplar la dinámica de u , se obtienen los patrones de crecimiento del MA (Fig. 2-2). Esto se logró partiendo de una superficie inicial ϕ_0 , que consiste en un cilindro unido a un hemisferio, semejante al domo apical (Fig. 2-2A). Los detalles de estas simulaciones se pueden encontrar en el siguiente capítulo. Reportamos este resultado para ilustrar, simplemente, otra de las formas estacionarias que es posible obtener a partir del campo fase. Sin embargo, este resultado es relevante, pues sin el crecimiento apical explícito dado por la distribución normal $G[u]$, no es posible obtener patrones filotácticos (ver Sección 3.2).

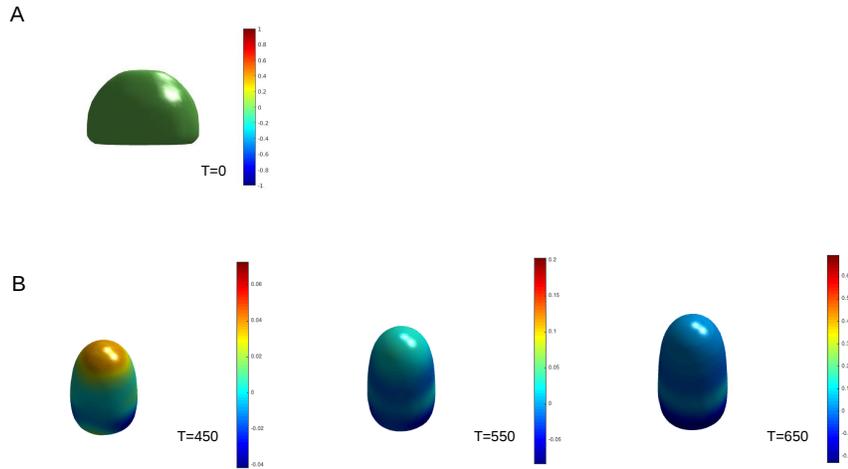


Figura 2-2: **Crecimiento apical.** (A) Dominio inicial ϕ_0 , que consta de un cilindro de radio $R = 10$ y altura inicial $HZ = 6$, unido a un hemisferio en la punta. (B) Patrón de crecimiento del dominio. La distribución normal $G[u]$ tiene un ancho de $R/2$ y es visible en el tiempo $T=450$. Las imágenes fueron tomadas en los tiempos $T=450, 550, 650$. Los detalles de esta simulación pueden encontrarse en el siguiente capítulo.

2.2. Modelo químico: sistemas de Turing o de reacción-difusión

El modelo químico se refiere, en este trabajo, a un sistema de reacción-difusión que provee una condición inicial para el modelo mecánico. Esta condición inicial consiste en un patrón espacial definido por armónicos esféricos. La teoría de Turing ha sido una herramienta importante en el estudio de formación de patrones en la naturaleza, pues proporciona un mecanismo capaz de generar patrones espaciales sin ningún tipo de influencia externa al sistema. La determinación de estos mecanismos generadores de patrones es esencial para el estudio de la biología del desarrollo.

En 1952 el matemático inglés Alan Turing propuso en su trabajo *The Chemical Basis of Morphogenesis* [Turing, 1952], un mecanismo generador de patrones para modelar procesos biológicos. Este mecanismo consiste en un sistema de dos ecuaciones de reacción-difusión

acopladas, las cuales modelan el cambio en la concentración de dos o más sustancias químicas distintas (morfógenos) en el tiempo y en el espacio. La propuesta de Turing es que la difusión es una fuerza que puede conducir hacia el rompimiento de simetría en una mezcla uniforme del par de sustancias, lo cual se conoce como *inestabilidad conducida por difusión* o *inestabilidad de Turing*. Este mecanismo es capaz de generar patrones espaciales estables de concentración de ambos morfógenos a partir de un estado homogéneo.

Mediante un análisis de estabilidad lineal es posible derivar las condiciones necesarias y suficientes para producir la inestabilidad de Turing y así obtener el surgimiento de patrones espaciales. Presentamos este análisis cuando el dominio de integración es una esfera y lo aplicamos a un sistema de reacción-difusión en particular conocido como el sistema BVAM (éste debe su nombre a los autores que lo han propuesto y estudiado: Barrio, Varea, Aragón, Maini). El modelo BVAM ha demostrado ser de gran utilidad en la modelación de varios procesos biológicos [Barrio *et al.*, 1999; Aragón *et al.*, 2002] y, más aún, los análisis de estabilidad a los que se somete pueden predecir simetrías en las soluciones cuando el dominio es una esfera [Gjorgjieva, 2006] o un disco [Aragón *et al.*, 2002]. El análisis de estabilidad lineal muestra las relaciones que existen entre las simetrías de las soluciones y las condiciones para la inestabilidad de Turing. La presencia de los armónicos esféricos en las soluciones es, básicamente, la razón por la cual aparecen las distintas simetrías de la esfera. Por lo tanto, exponemos los cálculos para la obtención de los armónicos esféricos a partir del análisis de estabilidad lineal del modelo BVAM en el Apéndice B.

La sustancia u introducida en el modelo mecánico (la auxina), es uno de los morfógenos presentes en el modelo químico. Dado que la red de mecanismos de señalización e interacción de la auxina con otras sustancias es altamente compleja, abstraemos o reducimos estos procesos mediante el sistema de reacción-difusión conocido como BVAM. Así, asumimos que el segundo morfógeno en el sistema de reacción-difusión, v , puede ser representado por cualquiera de las sustancias que interactúan con la auxina, como la citoquinina, otra hormona vegetal implicada en interacciones antagónicas con la auxina [Shani *et al.*, 2006].

La auxina regula negativamente la síntesis de citoquinina y, por su parte, la citoquinina podría ser uno de los factores que controlan la receptividad a auxina en el MA [Shani *et al.*, 2006] (Fig. 2-3). Cabe señalar que el modelo químico es una propuesta simple para el posible mecanismo entre la auxina y las demás hormonas en el MA, y puede ser modificado para incorporar la influencia de otros agentes, como la giberelina, por ejemplo, otra hormona que regula el crecimiento vegetal en diversos procesos metabólicos. Es sabido que una alta proporción entre la concentración citoquinina:auxina y una baja concentración de giberelina promueven el crecimiento indeterminado en el MA, es decir, impiden la diferenciación celular (Fig. 2-3). Además, las altas concentraciones de giberelina inhiben la actividad de la citoquinina, y las tres hormonas se encuentran conectadas mediante bucles de retroalimentación en los que intervienen genes y factores de transcripción, entre otros [Shani *et al.*, 2006]. El modelo químico es pues una primera aproximación a esta dinámica compleja, en la cual el morfógeno v podría ser cualquier otra sustancia aún no completamente determinada o incluso desconocida.

En lo que resta de este capítulo presentamos el análisis de estabilidad lineal del modelo BVAM en una esfera de radio R y las condiciones de inestabilidad de Turing que producen los armónicos esféricos. Al final de la Sección se presentan también los resultados de las simulaciones computacionales correspondientes, mediante las cuales se obtienen los patrones espaciales simétricos a partir de los análisis mencionados.

2.2.1. El modelo BVAM en una esfera

En esta sección derivamos las condiciones para la formación de patrones de Turing en la esfera, basándonos en los procedimientos expuestos en [Murray, 1993] y [Gjorgjieva, 2006]. Cabe señalar que estos análisis son ya rutinarios en el contexto de la teoría de Turing, sin embargo, los presentamos para mostrar de dónde provienen las simetrías que se observan en las soluciones. Una vez que se obtienen las condiciones de inestabilidad en la esfera, éstas se mantienen para el dominio dinámico generado por el modelo mecánico (Fig. 2-2).

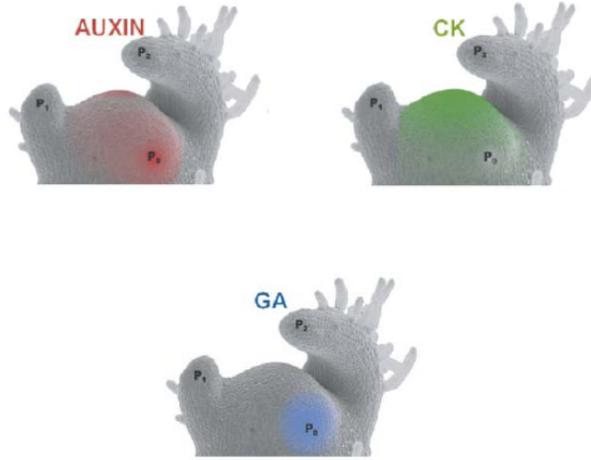


Figura 2-3: **Interacciones de la auxina con otras hormonas en el MA.** Distribución de auxina (AUXIN), citoquinina (CK) y giberelina (GA) en el MA de *Arabidopsis thaliana*. P_i son los primordios y P_0 denota la zona donde crecerá el siguiente primordio. La alta concentración de auxina inhibe la síntesis de citoquinina, la giberelina inhibe la acción de la citoquinina, y las tres hormonas están implicadas en el mantenimiento del crecimiento no diferenciado en el MA. (Imágenes: Shani *et al.*, 2006).

El sistema original considerado por Turing en [Turing, 1952] consiste de dos morfógenos U y V y tiene la forma

$$\frac{\partial U}{\partial t} = D_U \nabla^2 U + F(U, V), \quad (2-48a)$$

$$\frac{\partial V}{\partial t} = D_V \nabla^2 V + G(U, V), \quad (2-48b)$$

donde $U(\mathbf{x}, t)$ y $V(\mathbf{x}, t)$ son las concentraciones de las especies químicas y las funciones F y G representan su cinética, generalmente no lineal. Se consideran condiciones de frontera de Neumann para el sistema, ya que sólo son de interés los patrones generados internamente, sin ser influidos por ningún elemento de la frontera. La propuesta de Turing

es que, en ausencia de difusión ($D_U = D_V = 0$), las sustancias U y V tienden a un estado estacionario homogéneo y linealmente estable. Bajo ciertas condiciones, sin embargo, es posible que se produzca una inestabilidad conducida por la difusión, dando lugar a patrones espaciales de concentración no homogéneos, los cuales son desencadenados por perturbaciones aleatorias.

Todos los sistemas de reacción-difusión pueden expresarse como un sistema adimensional de la forma

$$u_t = D\nabla^2 u + \eta f(u, v), \quad (2-49a)$$

$$v_t = \nabla^2 v + \eta g(u, v), \quad (2-49b)$$

donde $D = D_U/D_V$ [Murray, 1993]. El parámetro $\eta > 0$ representa la intensidad de los términos de reacción y usualmente se interpreta como una medida relativa del tamaño del dominio [Murray, 1993]. Este parámetro es de gran importancia para cualquier sistema de reacción-difusión, pues el patrón que se produce depende del tamaño y la forma del dominio en el que se resuelve.

Para determinar si un sistema como (2-49) puede generar patrones de Turing, es necesario analizar la cinética general dada por las funciones f y g y examinar los valores de η y D que pueden producir un patrón. La cinética del modelo BVAM se obtiene asumiendo que, para dos morfógenos U y V existe un punto fijo (U_c, V_c) . Una expansión en series de Taylor hasta tercer orden alrededor de este punto determina la cinética del sistema. Definimos $u = U - U_c$, y $v = V - V_c$, de modo que exista una solución estacionaria y uniforme en $(0, 0)$. El sistema BVAM adimensional queda entonces definido por

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D\nabla^2 u + \eta (u + av - cuv - uv^2), \quad (2-50a)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \nabla^2 v + \eta (bv + hu + cuv + uv^2). \quad (2-50b)$$

Nuevamente, D es la razón entre los coeficientes de difusión: D_u/D_v .

Consideremos el sistema general en ausencia de difusión

$$u_t = \eta f(u, v), \quad (2-51a)$$

$$v_t = \eta g(u, v). \quad (2-51b)$$

La condición para un estado estacionario estable y uniforme (u_0, v_0) es que se cumpla $f(u_0, v_0) = 0$ y $g(u_0, v_0) = 0$. Para linealizar el sistema alrededor de este estado se define el vector

$$\mathbf{w} = \begin{pmatrix} u - u_0 \\ v - v_0 \end{pmatrix}, \quad (2-52)$$

cuya magnitud es pequeña. Se define también la matriz de estabilidad como

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} f_u & f_v \\ g_u & g_v \end{pmatrix}, \quad (2-53)$$

donde $f_u = \frac{\partial f}{\partial u}$, y las demás entradas se calculan de manera análoga. Escribimos el sistema (2-51) linealizado como

$$\mathbf{w}_t = \eta \mathbf{A} \mathbf{w}. \quad (2-54)$$

La estabilidad de (2-54) está determinada por soluciones exponenciales de la forma

$$\mathbf{w} = \mathbf{v} e^{\lambda t}, \quad (2-55)$$

donde λ es el eigenvalor y \mathbf{v} es el vector propio correspondiente al problema de valores propios (2-54). Es decir, λ queda determinado por la expresión

$$\det(\eta \mathbf{A} - \lambda \mathbf{I}) = (\eta f_u - \lambda)(\eta g_v - \lambda) - \eta^2 f_v g_u = 0. \quad (2-56)$$

La solución será linealmente estable si $Re(\lambda) < 0$, esto es, si se cumple que

$$\text{tr } \mathbf{A} = f_u + g_v < 0, \quad (2-57a)$$

$$\det \mathbf{A} = f_u g_v - f_v g_u > 0. \quad (2-57b)$$

Las desigualdades (2-57) son las primeras condiciones para la inestabilidad de Turing.

Supongamos que el sistema de Turing se desea resolver en una esfera de radio R . En coordenadas esféricas se tiene una expresión específica para el operador laplaciano ∇^2 , de modo que el sistema (2-49) se reescribe como [Gjorgjieva, 2006]

$$u_t = \frac{D}{R^2} \nabla^2 u + \eta f(u, v), \quad (2-58a)$$

$$v_t = \frac{1}{R^2} \nabla^2 v + \eta g(u, v). \quad (2-58b)$$

Consideremos el sistema de reacción-difusión completo (2-58) linealizando alrededor de (u_0, v_0) para obtener

$$\mathbf{w}_t = \mathbf{D} \nabla^2 \mathbf{w} + \eta \mathbf{A} \mathbf{w}, \quad (2-59)$$

donde la matriz de difusión \mathbf{D} es

$$\mathbf{D} = \frac{1}{R^2} \begin{pmatrix} D & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}. \quad (2-60)$$

Obsérvese que el sistema lineal (2-59) puede ser resuelto mediante separación de variables. Se propone entonces una solución

$$\mathbf{w}(\mathbf{x}, t) = \mathbf{T}(t) \mathbf{Y}(\mathbf{x}), \quad (2-61)$$

de la cual se obtienen dos conjuntos de ecuaciones diferenciales ordinarias: un con-

junto de ecuaciones dependientes del tiempo, y la ecuación de Helmholtz. Las ecuaciones dependientes del tiempo son

$$\mathbf{T}'(t) + Dk^2\mathbf{T}(t) = 0, \quad (2-62)$$

cuyas soluciones son las exponenciales $e^{\lambda t}$ en (2-55), y la ecuación de Helmholtz es:

$$\nabla^2\mathbf{Y}(\mathbf{x}) + k^2\mathbf{Y}(\mathbf{x}) = 0. \quad (2-63)$$

Ambos sistemas se definen con condiciones de frontera de Neumann y condiciones periódicas usuales para la esfera (ver Apéndice B). Los diferentes valores de k^2 representan los números de onda para el dominio en cuestión, es decir, la *frecuencia espacial* que poseerá el patrón en tal dominio. Las soluciones de la ecuación de Helmholtz escalar son los armónicos esféricos, sobre los cuales se discute en el Apéndice B. Después de obtener las soluciones $\mathbf{Y}_k(\mathbf{x})$ (los armónicos esféricos) y las soluciones dependientes del tiempo, se toman combinaciones lineales de ellas para buscar soluciones de la forma

$$\mathbf{w}(\mathbf{x}, t) = \sum_k c_k e^{\lambda t} \mathbf{Y}_k(\mathbf{x}), \quad (2-64)$$

donde c_k son los coeficientes de Fourier en la expansión de las condiciones iniciales en términos de \mathbf{Y}_k . Sustituyendo en (2-59) para cada k se tiene que

$$\lambda\mathbf{Y}_k = \mathbf{D}\nabla^2\mathbf{Y}_k + \eta\mathbf{A}\mathbf{Y}_k. \quad (2-65)$$

Esto es, dada la ecuación (2-63) reescribimos la relación anterior como

$$\lambda\mathbf{Y}_k = \eta\mathbf{A}\mathbf{Y}_k - \mathbf{D}k^2\mathbf{Y}_k. \quad (2-66)$$

Existen soluciones no triviales de (2-66) sólo si se cumple que

$$\det(\lambda\mathbf{I} - \eta\mathbf{A} + \mathbf{D}k^2) = 0. \quad (2-67)$$

Denotemos por $\lambda = \lambda(k)$ a las raíces de (2-67) para un número de onda k^2 dado. El modo $c_k e^{\lambda t} \mathbf{Y}_k(\mathbf{x})$ será inestable si $Re(\lambda) > 0$ para algún k . De (2-67) se obtienen dos condiciones más para la inestabilidad de Turing:

$$f_u + Dg_v > 0, \quad (2-68a)$$

$$f_u + Dg_v > 2\sqrt{D \det(\mathbf{A})}. \quad (2-68b)$$

De (2-57) y (2-68) se deduce que $D \neq 1$ y que f_u y g_v deben tener signos opuestos. Estas condiciones son necesarias, pero no suficientes, para la inestabilidad de Turing. De acuerdo con (2-64) debe existir al menos un modo que crezca de manera exponencial y se convierta en un modo inestable. Dado que los modos son un conjunto discreto, puede existir todo un rango de modos inestables que, al ser sumados en (2-64), conduzcan a la inestabilidad. Determinamos este rango a continuación.

Para que existan soluciones \mathbf{Y}_k en (2-66), λ debe ser solución del polinomio característico (2-67), es decir,

$$\lambda^2 + \lambda \left(\frac{k^2}{R^2}(1 + D) - \eta(f_u + g_v) \right) + h(k^2) = 0, \quad (2-69)$$

donde

$$h(k^2) = \eta^2 \det(\mathbf{A}) - \eta \frac{k^2}{R^2}(f_u + Dg_v) + \frac{Dk^4}{R^4}. \quad (2-70)$$

Es necesario que $Re(\lambda) > 0$; el modo dominante será el número de onda k para el cual se cumpla que $Re(\lambda)$ es máximo. Obsérvese que el coeficiente de λ en (2-69) es positivo, pues de (2-57) se tiene que $f_u + g_v < 0$. Esto implica que la suma de las raíces de (2-69) es negativa. Luego, el término $h(k^2)$, que es el producto de estas raíces, es negativo. Si $h(k^2) < 0$, entonces, el mínimo de $h(k^2)$ es también menor que cero. Tómese la derivada de h con respecto a k^2 igual a cero para hallar este mínimo:

$$h'(k^2) = 2k^2 \frac{D}{R^4} - \frac{\eta}{R^2}(f_u + Dg_v) = 0. \quad (2-71)$$

El valor de k^2 para el cual se alcanza este mínimo es

$$k_{min}^2 = \eta \frac{R^2}{2D}(f_u + Dg_v). \quad (2-72)$$

Como dijimos, el parámetro η juega un papel muy importante en este análisis, pues determina el tamaño del rango de números de onda posibles. Si η es muy pequeño, por ejemplo, no es posible que se forme ningún patrón de Turing, pues ningún modo k^2 caerá en el rango de los modos inestables. Cuando el dominio es una esfera, este rango depende, además, del radio R :

$$L(\mathbf{A}, \eta, D, R) < k^2 < M(\mathbf{A}, \eta, D, R), \quad (2-73)$$

donde,

$$L(\mathbf{A}, \eta, D, R) = \frac{\eta R^2}{2D} \left((f_u + Dg_v) - \sqrt{(f_u + Dg_v)^2 - 4D \det(\mathbf{A})} \right), \quad (2-74a)$$

$$M(\mathbf{A}, \eta, D, R) = \frac{\eta R^2}{2D} \left((f_u + Dg_v) + \sqrt{(f_u + Dg_v)^2 - 4D \det(\mathbf{A})} \right), \quad (2-74b)$$

son las dos raíces de la ecuación $h(k^2) = 0$. Obsérvese que los valores de L y M dependen de R^2 , pues éste incrementa el número de onda para el cual se esperaría que emerja un patrón, es decir, se esperarían patrones con modos más altos en esferas más grandes. Para $\lambda = \lambda(k)$ como raíces de (2-69) solamente los modos k que caigan dentro del rango (2-73) serán relevantes para la determinación del patrón. En nuestro estudio el radio R es fijo; luego, el parámetro η es el que se utiliza para elegir los distintos modos k^2 que producirán patrones simétricos para alimentar al modelo mecánico.

La matriz de estabilidad (2-53) queda determinada para el sistema BVAM (2-50) como

$$\mathbf{A} = \eta \begin{pmatrix} 1 - v^2 - cv & -2uv + a - cu \\ v^2 + h + cv & b + 2uv + cu \end{pmatrix}_{(0,0)}. \quad (2-75)$$

La relación de dispersión (2-69) para calcular los modos k^2 es

$$\lambda^2 + \lambda [(1 + D)k^2 - \eta(1 + b)] + Dk^4 - \eta k^2(1 + Db) + \eta^2(b - ah) = 0. \quad (2-76)$$

Los modos inestables pueden estimarse notando que, al inicio de la inestabilidad, $\lambda(k_c) = 0$. Luego,

$$Dk_c^4 - k_c^2(1 + Db) + \eta^2(b - ah) = 0, \quad (2-77)$$

y el número de onda más inestable es

$$k_c^2 = \eta(1 + Db)/2D. \quad (2-78)$$

Obsérvese que el rango $L \leq k^2 \leq M$ (2-74) para el modelo BVAM queda determinado como

$$L(\mathbf{A}, \eta, D) = \frac{\eta R^2}{2D} \left((1 + Db) - \sqrt{(1 + Db)^2 - 4D(b - ha)} \right) = \eta R^2 \Theta_0, \quad (2-79)$$

y

$$M(\mathbf{A}, \eta, D) = \frac{\eta R^2}{2D} \left((1 + Db) + \sqrt{(1 + Db)^2 - 4D(b - ha)} \right) = \eta R^2 \Theta_1. \quad (2-80)$$

Las funciones asociadas de Legendre P_l^m (ecuaciones B13 en el Apéndice B), que se obtienen al resolver la ecuación de Helmholtz (2-63), muestran que los eigenvalores l de los

armónicos esféricos están relacionados con modos inestables como $k^2 = l(l+1)$. La relación entre los modos k^2 y los parámetros l y m de las funciones asociadas puede emplearse para predecir los patrones en la superficie de la esfera. El parámetro m determina el número de círculos horizontales alrededor de ésta, mientras que $l - m$ determina el número de semicírculos verticales de polo a polo. Así, m y l son llamados números meridional y latitudinal. Es posible hacer uso de la relación $k^2 = l(l+1)$, con $|m| \leq l$, y el rango de los modos (2-73) para predecir la simetría de la solución. Esta relación, sin embargo, sólo nos permite determinar el número latitudinal l a partir de k^2 , pero no el parámetro m , que está relacionado únicamente con l .

2.2.2. Armónicos esféricos a partir del modelo BVAM

Con base en los resultados teóricos obtenidos, efectuamos un conjunto de simulaciones computacionales para resolver el modelo químico (2-50) en una esfera de radio $R = 10$ (el radio del dominio dinámico (Fig. 2-2)). Mediante una estimación del número latitudinal l a partir de los modos k^2 se obtuvieron los distintos armónicos esféricos en este dominio (Fig. 2-4). Los valores de los parámetros cinéticos se eligieron de acuerdo con [Aragón *et al.*, 2002; Gjorgjieva, 2006; Leppänen, 2004], de modo que la inestabilidad de Turing es garantizada para este sistema: $a = 1.1123$, $b = -1.0122$, $h = -1$, y $D = 0.516$. El parámetro c toma distintos valores para obtener distintos patrones flotácticos cuando el modelo químico es acoplado con el modelo mecánico. En esta sección obtenemos los armónicos esféricos fijando $c = 0$. El parámetro η representa el tamaño del dominio y toma distintos valores para obtener los distintos armónicos [Gjorgjieva, 2006]. Consideramos un dominio unitario de tamaño $L = 1$ y escalamos esta dimensión como $\eta = L^2/a\delta$, para un factor de escalamiento δ . Es posible hallar un patrón de Turing simétrico para cada armónico esférico y para cada valor del radio R , variando el factor de escala δ en el rango

$$\frac{\eta_0 R^2 \Theta_0}{l(l+1)} < \delta < \frac{\eta_0 R^2 \Theta_1}{l(l+1)}, \quad (2-81)$$

donde $\eta_0 = 2Dk_c^2/(Db+1)$ depende del modo más inestable k_c .

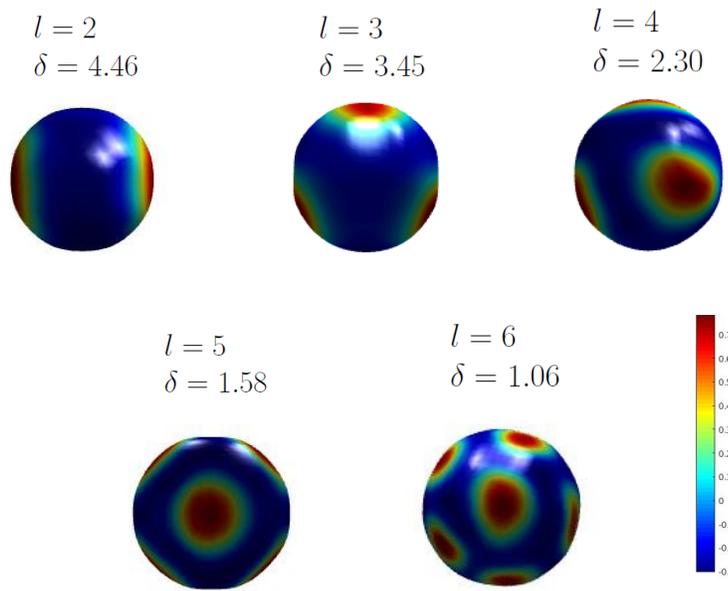


Figura 2-4: **Armónicos esféricos.** Simetrías obtenidas en la esfera a partir del modelo químico. Cada armónico se obtiene utilizando un valor distinto para el factor de escala δ , estimado a partir del número latitudinal l y el rango (2-81).

Las simetrías de la esfera que se obtienen están estrechamente relacionadas con la escala del dominio y se corresponden con los resultados antes reportados para patrones de Turing [Gjorgjieva, 2006; Aragón *et al.*, 2002]. Los valores de δ fueron elegidos para diferentes armónicos, procurando que los modos $k^2 = l(l + 1)$ fueran lo más cercanos posible al valor exacto para cada simetría. Por ejemplo, para obtener la simetría dada por $l = 4$, el factor δ debe variar dentro del rango $1.29 < \delta < 2.43$. Con un valor $\delta = 2.30$ se obtuvo el armónico dado por $l = 4$ (Fig. 2-4). En la figura 2-4 se presentan los distintos valores de δ con el patrón de Turing simétrico correspondiente; cada número latitudinal l que se observa se estima a partir de la relación $k^2 = l(l + 1)$.

Estos resultados sirven para validar los métodos numéricos empleados para resolver el modelo mecano-químico. En el capítulo siguiente explicamos cómo el modelo mecánico (2-47) se relaciona con el modelo químico (2-50). Básicamente, el mecanismo de Turing

es introducido como un *pulso* mientras las ecuaciones dinámicas (2-47) son resueltas, y ambos mecanismos se retroalimentan (Fig. 2-5). La figura 2-5 muestra un esquema de esta retroalimentación y explica a grandes rasgos el modelo mecano-químico de formación de patrones filotácticos.

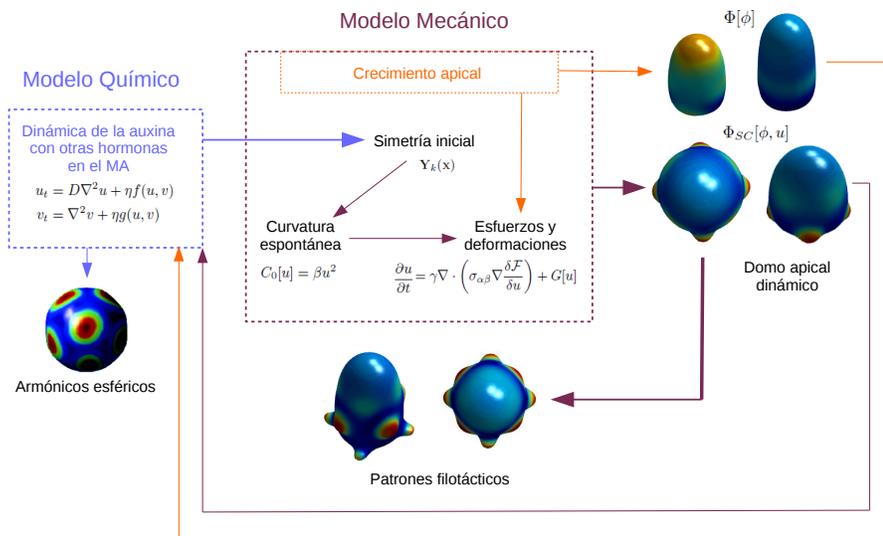


Figura 2-5: **Modelo mecano-químico de formación de patrones.** El modelo químico produce el rompimiento de simetría inicial, proporcionando al modelo mecánico una distribución no homogénea de auxina, de acuerdo con los armónicos esféricos presentes en las soluciones del sistema de reacción-difusión. Nótese que, a pesar de que el dominio dinámico no es esférico ($\Phi[\phi]$), las simetrías de estas soluciones permanecen en el domo. Con el efecto de la curvatura espontánea dependiente del campo u , las propiedades mecánicas de la interfase (distribución de esfuerzos mecánicos y deformaciones) cambian y, como resultado de la difusión tensorial dependiente de $\sigma_{\alpha\beta}$, se producen los patrones filotácticos. El modelo mecánico es responsable de perpetuar las simetrías dadas por el modelo químico.

2.3. Resumen del Capítulo: el modelo mecano-químico acoplado

En esta sección se expone, de manera resumida, el conjunto de ecuaciones que conforman el modelo mecano-químico de formación de patrones filotácticos.

El modelo mecánico de crecimiento se obtiene con base en la teoría del campo fase, es decir, se considera que la energía libre del sistema puede expresarse mediante un campo auxiliar suave, $\phi : \Omega \subset \mathbb{R}^3 \rightarrow \mathbb{R}$, que actúa como un parámetro de orden con dos fases estables. El conjunto de nivel $\phi = 0$ determina la interfase y representa a la superficie que evoluciona en el tiempo. En nuestro caso, $\phi = 0$ representa a la capa epidérmica del meristemo aéreo vegetal, donde surgen los patrones filotácticos.

La energía libre del sistema mecánico en crecimiento se expresa en términos del campo ϕ y sus gradientes como

$$\mathcal{F} = \int_{\Omega} \mathcal{L}(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi) dV. \quad (2-82)$$

Nos inspiramos en los trabajos donde se ha empleado el campo fase para estudiar la dinámica de las membranas biológicas a partir de su energía de doblamiento [Campelo y Hernández-Machado, 2006; Campelo, 2008; Lázaro *et al.*, 2015]. En dichos trabajos se ha encontrado que las membranas biológicas adquieren sus formas específicas como resultado de minimizar su energía de doblamiento (Fig. 2-1).

La energía de doblamiento de una superficie Γ es función de sus invariantes geométricos, es decir, sus curvaturas. Es posible expresar la curvatura media de una superficie en términos del campo fase como [Campelo, 2008]

$$\mathcal{H}[\phi] = \frac{\sqrt{2}}{2\epsilon(1-\phi^2)} [-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi], \quad (2-83)$$

de modo que la energía de doblamiento puede expresarse como

$$F = \frac{\kappa}{2} \int_{\Gamma} (2\mathcal{H})^2 ds. \quad (2-84)$$

Dado que el campo fase posee un dominio tridimensional, es necesario expresar esta energía como una integral de volumen y no de superficie. Utilizando las propiedades de ϕ y de la función distancia con signo a la interfase es posible expresar (2-84) como la integral de volumen

$$F[\phi] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (-\phi + \phi^3 - \epsilon^2 \nabla^2 \phi)^2 dV = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (\Phi[\phi])^2 dV, \quad (2-85)$$

donde $\bar{\kappa}$ es una constante elástica que involucra al grosor de la interfase ϵ .

Para incluir la acción de la auxina, u , que produce un reblandecimiento del tejido vegetal y con ello promueve el crecimiento, se añade a la energía libre un término de curvatura espontánea C_0 que depende u :

$$F[\phi] = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (\Phi[\phi] - \epsilon C_0 (1 - \phi^2))^2 = \frac{\bar{\kappa}}{2} \int_{\Omega} (\Phi_{SC}[\phi])^2 dV, \quad (2-86)$$

donde $C_0 = C_0[u] = \beta u^2$, y $\beta > 0$. Finalmente, se incluyen los términos de tensión superficial de u y de ϕ en la densidad de energía y ésta queda definida como

$$\mathcal{F} = \int_{\Omega} \left(\Phi_{SC}^2[\phi] - \frac{1}{2} \rho_{\phi} |\nabla \phi|^2 - \frac{1}{2} \rho_u |\nabla u|^2 \right) dV, \quad (2-87)$$

donde ρ_{ϕ} y ρ_u son constantes positivas.

La relajación dinámica de ϕ y de u hacia el mínimo de la energía libre se alcanza mediante una dinámica de relajación conservada, esto es, mediante ecuaciones de difusión:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_{\phi} \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right), \quad \frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left(D_u \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right), \quad (2-88)$$

donde $\delta \mathcal{F} / \delta \phi$ y $\delta \mathcal{F} / \delta u$ son las derivadas funcionales de la energía y D_{ϕ} , D_u , son coeficientes de difusión. Añadimos a estas ecuaciones una distribución normal de auxina $G[u]$, centrada en el eje del domo apical y de altura variable, la cual cambia de acuerdo

al desplazamiento de punto más alto de ϕ (Fig. 2-2B). Incluimos también un funcional $\alpha[u] = \kappa m u^2$, $m > 0, \kappa > 0$, que agrega masa al tejido ϕ y que depende de u , pues la auxina promueve el crecimiento. De este modo es posible modelar el crecimiento biológico de la estructura vegetal, y no solamente sus deformaciones en respuesta a fuerzas.

La hipótesis central de este trabajo es que la dinámica de u en ϕ es dirigida por el campo de esfuerzos. Por lo tanto, definimos el coeficiente de difusión de u como un tensor que depende explícitamente del tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$: $D_u = \gamma \sigma_{\alpha\beta}$, con $\gamma > 0$. Las ecuaciones que determinan la evolución dinámica de u y ϕ quedan entonces definidas por:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D_\phi \nabla^2 \left(\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \phi} \right) + \alpha[u] + \kappa m G[u], \quad (2-89a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left((\gamma \sigma_{\alpha\beta}) \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right) + G[u] = \gamma \nabla \cdot \left(\sigma_{\alpha\beta} \nabla \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta u} \right) + G[u]. \quad (2-89b)$$

Las ecuaciones (2-89) constituyen el modelo mecánico, que simula los procesos acoplados de crecimiento, deformación y distribución del morfógeno u , la auxina, en la superficie del domo apical ϕ . Los procesos de crecimiento y transporte de auxina están acoplados de manera retroalimentativa a partir de la densidad de energía en (2-87). Resolviendo las ecuaciones dinámicas (2-89) sin acoplar el modelo químico se obtienen los patrones de crecimiento del MA (Fig. 2-2).

El modelo químico se refiere a un sistema de reacción-difusión conocido como el modelo BVAM, definido por las ecuaciones

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \nabla^2 u + \eta (u + av - cuv - uv^2), \quad (2-90a)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \nabla^2 v + \eta (bv + hu + cuv + uv^2), \quad (2-90b)$$

con condiciones de frontera de Neumann. El morfógeno u representa a la auxina, como en el modelo mecánico, y el morfógeno v puede considerarse como alguna otra hormona vegetal implicada en la morfogénesis del meristemo aéreo, como la citoquinina (Fig. 2-

3). El modelo químico produce el rompimiento de simetría inicial (Fig. 2-4), es decir, genera un patrón espacial de distribución de auxina, con el cual el modelo mecánico es alimentado. Mientras se resuelven las ecuaciones dinámicas (2-89) el proceso de Turing continúa, a medida que el dominio determinado por ϕ evoluciona. El efecto de la curvatura espontánea, $C_0[u]$, modifica las propiedades mecánicas de la interfase (distribución de esfuerzos mecánicos y deformaciones), y de este modo determina la distribución misma de u , la auxina, mediante el coeficiente de difusión tensorial ($D_u = \gamma\sigma_{\alpha\beta}$). El modelo mecánico es responsable de perpetuar las simetrías producidas por el modelo químico, generando una gran variedad patrones filotáticos (Fig. 2-5). En el siguiente capítulo se proporcionan los detalles de estos resultados.

Capítulo 3

Formación de patrones filotácticos conducida por la mecánica del crecimiento: simulaciones y resultados

En este capítulo presentamos los resultados obtenidos al resolver el modelo mecano-químico de formación de patrones filotácticos. Comenzamos con una descripción de los métodos numéricos empleados para la resolución de las ecuaciones y los detalles de implementación. Continuamos con la presentación de los distintos patrones filotácticos obtenidos y una discusión al respecto. El capítulo concluye, finalmente, con las propuestas para el trabajo a futuro con el modelo mecano-químico de formación de patrones.

3.1. Integración numérica

Los patrones de distribución espacial de auxina u , en el dominio dinámico definido por el campo fase ϕ , corresponden a los mínimos de energía elástica de ϕ , sujeta a la imposición del surgimiento de una curvatura espontánea en respuesta a la concentración de auxina.

La presencia del tensor de esfuerzos, $\sigma_{\alpha\beta}$, dirige el flujo de auxina en la superficie y es modificado por los patrones de distribución de dicha sustancia. La energía elástica de este sistema es expresada como una función del campo fase, cuyo dominio tridimensional es implementado numéricamente como una latiz cúbica de dimensiones $N_x = N_y = 40$, $N_z = 60$, y un tamaño de paso espacial $dx = 1$. A partir de la energía de doblamiento se derivan las ecuaciones dinámicas de relajación conservada para ϕ y para u , las cuales dictan cómo el sistema mecánico evoluciona hacia sus configuraciones estacionarias. En esta sección explicamos de qué manera se resuelven las ecuaciones dinámicas y cuáles son los parámetros que definen el tipo de patrón flotáctico que se obtiene. Los resultados del modelo químico, que ya han sido reportados [Gjorgjieva, 2006] y que hemos reproducido y presentado en la Sección 2.2.2, se obtienen con los mismos métodos numéricos que el modelo mecánico.

Todas las ecuaciones diferenciales del modelo son altamente no lineales (véase simplemente la expresión del tensor de esfuerzos en la ecuación (A21) en el Apéndice A). La solución numérica se obtuvo mediante el uso de un esquema de Euler simple para la dependencia temporal y, para la dependencia espacial, se construyó una latiz cúbica mediante la cual todos los operadores diferenciales se aproximaron por diferencias finitas de segundo orden. Considerando que las reacciones químicas son procesos que ocurren muy rápidamente, mientras que el crecimiento puede tomar días o incluso meses, el modelo mecánico fue resuelto fijando un tamaño de paso temporal $dt = 1 \times 10^{-5}$, mientras que para el modelo químico este paso fue $dt_1 = 5 \times 10^{-2}$. El modelo de Turing alcanza muy rápidamente un estado estacionario, por lo tanto, fue integrado en pocas iteraciones con la escala de tiempo $dt_1 = 5 \times 10^{-2}$, mientras que el modelo mecánico fue resuelto en un mayor número de iteraciones con la escala temporal $dt = 1 \times 10^{-5}$. Esto asegura que la dinámica del cambio de forma del dominio es 5000 veces más lenta que la dinámica de los morfógenos u y v . La convergencia de ambos métodos se verifica con la generación de las distintas simetrías de la esfera, predichas por el análisis armónico en la Sección (2.2.2) y en el Apéndice B.

La evolución del dominio ϕ se inicia a partir de la forma definida por una superficie ϕ_0 , que consiste en un cilindro de radio $R = 10$ truncado por un hemisferio (Fig. 2-2A). Esta superficie aproxima la forma del meristemo aéreo apical MA (Fig. 1-2) y se define por el conjunto de nivel $\phi = 0$, que separa la región externa al meristemo ($\phi = -1$) y la región interna del mismo ($\phi = 1$). La parte cilíndrica de la superficie inicial ϕ_0 , cuyo radio es $R = 10$, tiene una altura $H_z = 6$, la cual incrementa debido al crecimiento apical dado por $G[u]$ (Fig. 2-2B). La evolución de esta superficie queda determinada por las ecuaciones (2-47). El crecimiento apical mostrado en la Fig. 2-2B es una característica fundamental para la morfogénesis de este sistema biológico, y se obtiene a partir de ϕ_0 sin acoplar la dinámica de los morfógenos u y v . Es decir, se resuelven las ecuaciones dinámicas para ϕ y u derivadas de la densidad de energía, pero sin acoplar el modelo químico. Los patrones filotácticos se forman en este dominio al acoplar las ecuaciones de reacción-difusión y resolver simultáneamente los modelos químico y mecánico.

Los coeficientes de tensión superficial fueron fijos para todas las simulaciones: $\varrho_\phi = 2.5$, $\varrho_u = 0.5$, así como el coeficiente de difusión $D_\phi = 1$. La distribución normal $G[u]$ se centró en el punto $(\frac{N_x}{2}, \frac{N_y}{2}, H_z)$, inicialmente, pero la tercera coordenada de este punto, H_z , varía a medida que el dominio crece de manera apical, de modo tal que la distancia de la fuente al punto más alto de ϕ permanece constante. El ancho de esta distribución normal está relacionado con el radio R y resulta ser muy importante para la formación correcta de los patrones. También la variación del parámetro κ , que permite una adición de masa no constante en $G[u]$ (ecuación (2-42)), es necesaria para la obtención de los distintos patrones filotácticos.

Los parámetros del modelo químico se eligieron como en los trabajos [Leppänen, 2004; Aragón *et al.*, 2002; Gjorgjieva, 2006] para todas las simulaciones, con el fin de obtener las condiciones de la inestabilidad de Turing: $a = 1.1123$, $b = -1.0122$, $h = -1$, y $D = 0.516$. Se eligieron distintos valores para el parámetro cinético c , con el fin de obtener distintos tipos de patrones. El parámetro η representa el tamaño del dominio para un sistema de Turing, y es el responsable de producir los distintos armónicos esféricos en la superficie

de la esfera (Fig. 2-4). Este parámetro también es responsable de generar las distintas simetrías para el modelo mecano-químico.

Todos los tejidos de un ejemplar joven de *Arabidopsis thaliana* son capaces de sintetizar auxina [Ljung *et al.*, 2001], luego, todas las simulaciones se iniciaron con una distribución aleatoria de los morfógenos u y v , obtenida como una perturbación alrededor del estado estacionario $(0, 0)$ del modelo químico. Más aún, como los primordios jóvenes poseen la más alta capacidad de sintetizar auxina *de novo* y contienen una concentración de auxina casi diez veces mayor que cualquier otro tejido [Ljung *et al.*, 2001], los primordios emergentes se fijaron como fuentes relativas de auxina. Esto se logró mediante la adición de términos constantes en las ecuaciones dinámicas (2-47), los cuales son distintos de cero solamente en los sitios donde un primordio está presente. Como consecuencia, los primordios se mantienen a lo largo de las simulaciones una vez que se han formado.

3.2. Resultados

Entre los parámetros del modelo mecánico los coeficientes $D_\phi = 1$, $\epsilon = 1$, $m = 15$, $\varrho_\phi = 2.5$ y $\varrho_u = 0.5$, permanecen constantes durante todas las simulaciones; son los parámetros β , κ y γ , es decir, la magnitud de la influencia de la auxina sobre la elasticidad, la cantidad de masa agregada al crecimiento apical, y la influencia que ejerce el estrés mecánico sobre el flujo de auxina, los que determinan la formación de los distintos patrones filotácticos. Para el modelo químico, solamente los parámetros c y η , es decir, el coeficiente de interacción entre los morfógenos u y v ($-cuv$ y $+cuv$ en las ecuaciones 2-50), y el parámetro de escalamiento del tamaño del dominio, varían y determinan el tipo de patrón que se obtiene. Es importante señalar que sin el crecimiento apical explícito dado por $G[u]$ no es posible obtener patrones filotácticos, sino solamente patrones simétricos. A continuación describimos los distintos tipos de patrones obtenidos con las suposiciones adoptadas y los valores de parámetros ya mencionados.

Los patrones filotácticos en la naturaleza pueden clasificarse en tres tipos: alternados, verticilados y espirales. En el patrón alternado los órganos sucesivos se localizan en dos

columnas verticales en lados opuestos del tallo. Los patrones verticilados, por otro lado, se componen de racimos de hojas, pétalos, sépalos, brácteas, o espinas, llamados verticilos, que conservan la simetría (el número de órganos) en la generación de cada verticilo (Fig. 3-1A). Cuando se trata de hojas, los verticilos se localizan en intervalos regulares a lo largo del tallo. Los patrones en espiral o parastiquios son, por otro lado, los más comunes dentro del reino vegetal, pues están presentes en casi el 80% de las especies de plantas superiores (Fig. 3-1B). Con el modelo mecano-químico de formación de patrones es posible obtener patrones verticilados, parastiquios, y algunas formas características del crecimiento en especies de cactáceas (Fig. 3-1C). A continuación presentamos estos resultados con los valores específicos de los parámetros que los producen.



Figura 3-1: **Patrones filotácticos.** (A) Verticilos en los órganos florales (pétalos y estambres). Nótese que la simetría 6 se conserva en cada verticilo. (B) Parastiquios o espirales en el tallo de un ejemplar del género *Pachypodium*. (C) Costillas con simetría 6 en un cacto.

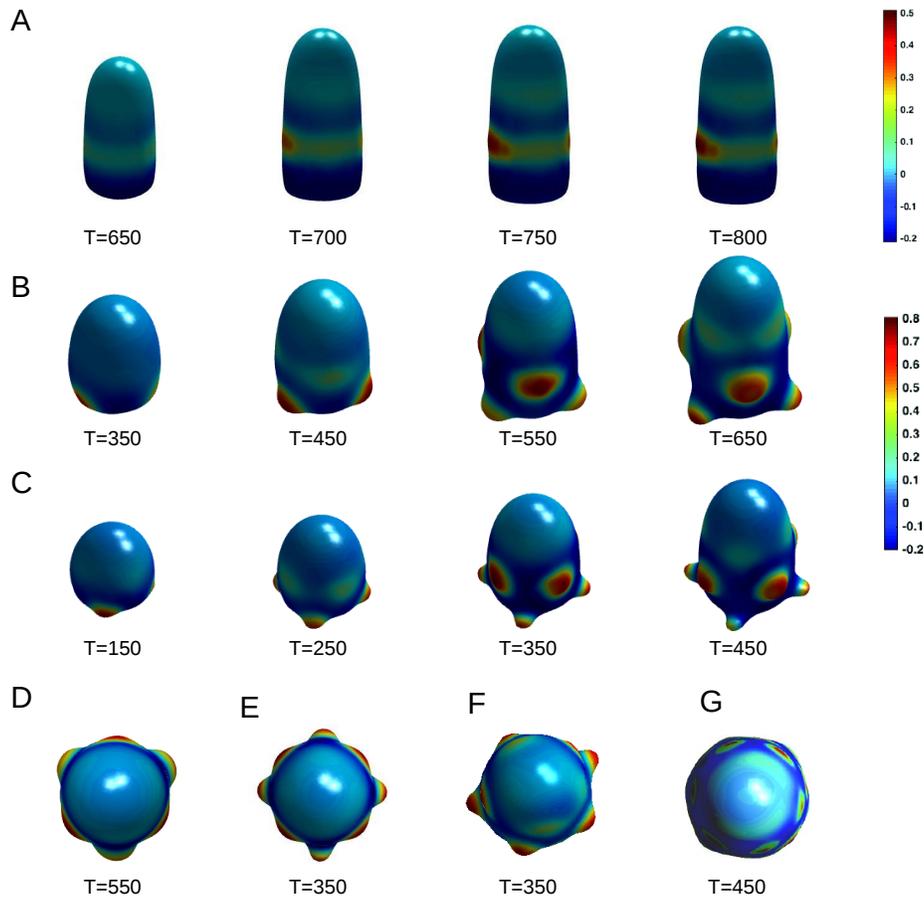


Figura 3-2: **Patrones flotácticos verticilados.** Secuencia temporal del surgimiento de primordios que forman patrones verticilados, con simetrías 2, 3, 4, 5 y 6. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son $\beta = 0.5$, $\gamma = 0.2$, $c = 0.57$, $\kappa = 2$ y $G[u]$ con un ancho de $R/2$. El parámetro η varía para generar la simetría correspondiente. El resto de los parámetros permanecen fijos, con los valores indicados en el texto. (A) Patrón flotáctico verticilado con simetría 2, $\eta = 0.2014$. Las imágenes fueron tomadas en los tiempos indicados: T=650, 700, 750, 800. (B) Patrón flotáctico verticilado con simetría 3, $\eta = 0.2601$. Imágenes tomadas en los tiempos indicados. (C) Patrón flotáctico verticilado con simetría 4, $\eta = 0.3902$. Imágenes tomadas en los tiempos indicados. (D-E) Vista superior de B y C en los tiempos indicados: T=550, 350, respectivamente. (F-G) Vista superior de los patrones flotácticos verticilados con simetrías 5 y 6 en los tiempos indicados: T=350 y T=450. Estos patrones fueron obtenidos con $c = 0.33$, $\eta = 0.6504$ y $\eta = 0.8919$, respectivamente.

3.2.1. Verticilos

Los patrones verticilados pueden encontrarse tanto en estados vegetativos (hojas) como en flores (brácteas, pétalos) en muchas especies vegetales. Cada verticilo puede estar

formado por 2 órganos o más; el número de órganos en cada verticilo define la simetría del patrón. Con la guía de los armónicos esféricos provenientes del modelo químico se obtuvieron patrones verticilados con simetrías 2, 3, 4, 5 y 6 (Fig. 3-2). Llamaremos a estos patrones S2, S3, etc., de acuerdo con su simetría. Un rasgo característico de los patrones verticilados es que, dado un verticilo con cierta simetría, el siguiente verticilo emerge en el meristemo con la misma simetría, de tal modo que cada órgano se ubica en los espacios vacíos dejados por el verticilo anterior. Los patrones verticilados que se obtienen con el modelo mecano-químico exhiben siempre este comportamiento (Fig. 3-2). A partir del rompimiento de simetría dado por el modelo químico, el modelo mecánico es responsable de perpetuar la simetría del patrón, así como de colocar cada órgano en el lugar correspondiente. Los patrones filotáticos no se forman correctamente cuando la influencia del esfuerzo mecánico o la aparición de la curvatura espontánea en respuesta a la auxina son removidas del modelo ($\gamma = 0$, o bien $\beta = 0$) (Fig. 3-3).

Los patrones filotáticos verticilados se forman en el orden espacial y temporal correctos hasta cuatro plastocronos, es decir, hasta cuatro generaciones de un verticilo. A partir del cuarto plastocrono se presentan ligeras deformaciones cerca de la base del domo y el patrón comienza a distorsionarse.

Para los patrones verticilados se emplearon los siguientes parámetros: $\gamma = 0.5$, $\beta = 0.2$, $c = 0.57$, $\kappa = 2$ y $R/2$ para el ancho de $G[u]$. Las distintas simetrías para estos patrones se obtienen al variar el parámetro η de acuerdo con la relación (2-81): mientras más alto es el valor de η , más primordios se obtienen en cada verticilo. Los coeficientes γ y β pueden variar dentro de ciertos rangos para producir patrones filotáticos; fuera de estos rangos, los patrones que se producen son aberrantes. El ancho de la distribución $G[u]$ también es un parámetro sensible, pues, para valores distintos de $R/2$, los patrones dejan de ser simétricos a partir del segundo plastocrono (Fig. 3-3, Fig. 3-4).

Un diagrama de fase para la formación de patrones filotáticos verticilados se muestra en la Fig. 3-5. Se observa que estos patrones surgen como función del acoplamiento del estrés mecánico: a medida que el parámetro γ aumenta, el surgimiento de los primordios se

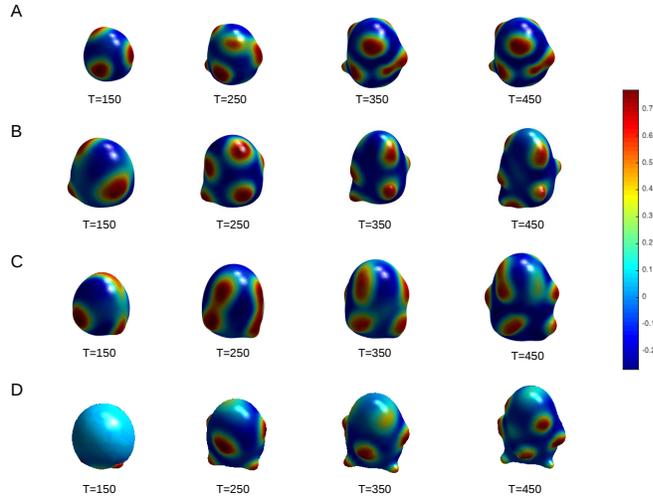


Figura 3-3: **Patrones aberrantes.** Secuencia temporal del surgimiento de patrones aberrantes. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son los mismos que para la secuencia en la Fig. 3-2 C, excepto por β y γ . Imágenes tomadas en los tiempos indicados: T=150, 250, 350, 450. (A) Patrón aberrante sin transporte de auxina guiado por el campo de esfuerzos y sin el efecto de la auxina sobre la curvatura espontánea: $\beta = \gamma = 0$. (B) Patrón aberrante sin la aparición de curvatura espontánea en respuesta a la auxina: $\beta = 0$ ($\gamma = 0.2$). (C) Patrón aberrante sin transporte de auxina guiado por el tensor de esfuerzos: $\gamma = 0$ ($\beta = 0.5$). (D) Patrón aberrante con una alta respuesta a la auxina en términos de la curvatura espontánea: $\beta = 1$ ($\gamma = 0.2$).

retrasa y los patrones se vuelven aberrantes (AB). Para los verticilos con alta simetría, *i.e.* 5 y 6, el acoplamiento del estrés tiene otra influencia, pues induce un cambio de simetría en el patrón. El comportamiento del parámetro β (la influencia de u sobre la elasticidad del dominio) con respecto al acoplamiento del campo de esfuerzos, puede observarse en la Fig. 3-6. Para mantener la formación correcta de los patrones filotácticos, β debe decrecer mientras γ aumenta. Este comportamiento se muestra en la Fig. 3-6 para la simetría 3 (S3), y es el mismo para las demás simetrías. Los patrones verticilados se tornan aberrantes fuera de las regiones indicadas en estos diagramas.

3.2.2. Espirales o parastiquios

Las espirales filotácticas aparecen en diversas estructuras vegetales, tales como frutos, piñas en los pinos, hojas, pequeñas flores en las cabezas de los girasoles y otras estruc-

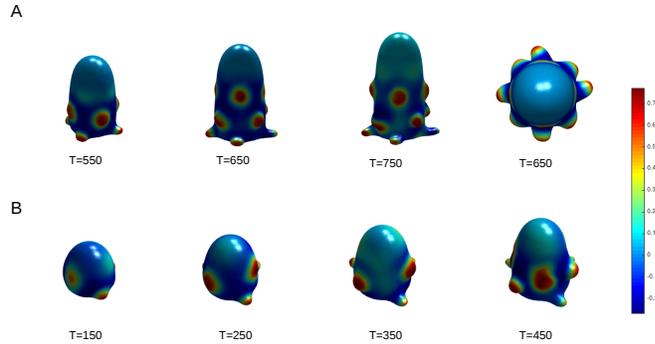


Figura 3-4: **Patrones aberrantes.** Secuencia temporal del surgimiento de patrones aberrantes con alta influencia del campo de esfuerzos y con una distribución $G[u]$ más ancha. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son los mismos que para la secuencia en la Fig. 3-2 C, excepto por γ y el ancho de $G[u]$. Imágenes tomadas en los tiempos T indicados. (A) Evolución temporal del patrón en la Fig. 3-2 C, pero con $\gamma = 3.5$. Se aprecia la pérdida de simetría del patrón comparando el panel superior derecho con la Fig. 3-2 E (B) Evolución temporal del patrón en la Fig. 3-2 C, pero con un ancho de $R/2.5$ para $G[u]$.

turas vegetativas, como espinas (Fig. 3-1B, Fig. 1-1). Las propiedades matemáticas de las espirales filotácticas sugieren que éstas son el resultado de algún mecanismo de empaquetamiento eficiente, aunque ello no ha sido demostrado hasta ahora. Con el modelo mecano-químico de formación de patrones es posible generar patrones filotácticos en espiral, o parastiquios, los cuales pueden surgir *de novo*, o bien, a partir de un mecanismo de empaquetamiento. Los patrones en espiral que resultan de un empaquetamiento de primordios surgen a partir de patrones verticilados con simetrías 5 y 6, para un valor de $c = 0.33$ (Fig. 3-7A, B). Es decir, los valores de los parámetros son idénticos a los empleados para generar verticilos, sólo el parámetro cinético c cambia. Este valor de c se encuentra dentro del rango de valores para generar la inestabilidad de Turing [Aragón *et al.*, 2002]. Los verticilos con dichas simetrías emergen y, a partir del segundo plastocrono, comienzan a empaquetarse en espirales. La transición de verticilos a espirales es un comportamiento muy común entre las especies vegetales. Este tipo de patrones continúan formándose

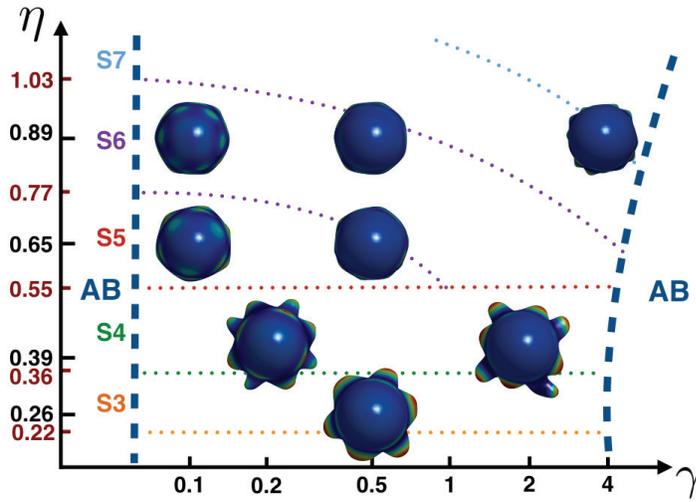


Figura 3-5: **Diagrama de fase de formación de patrones verticilados.** Los patrones filotácticos verticilados emergen como función del acoplamiento del tensor de esfuerzos en las ecuaciones dinámicas. Cuando γ incrementa, el surgimiento de los primordios se retrasa y el patrón comienza a distorsionarse. La simetría de los patrones aumenta en función de η . Las líneas punteadas representan los límites para cada simetría (S3, S4, S5, S6, S7) y los valores límite numéricos se indican en rojo en el eje η . El incremento de γ mantiene la simetría en algunos casos (S3, S4, S5, S6) pero la aumenta en otros (S5 \rightarrow S6, S6 \rightarrow S7). Las líneas en azul delimitan la región de patrones verticilados y patrones aberrantes (AB). Los valores de η para cada imagen se indican en el eje correspondiente, en negro. Los valores de los demás parámetros son $\beta = 0.5$, $G[u]$ con un ancho de $R/2$, $\kappa = 2$ y $c = 0.33$ para $\eta = 0.65$, $\eta = 0.89$, y $c = 0.57$ para $\eta = 0.26$, $\eta = 0.39$.

correctamente hasta 5 plastocronos.

Los patrones en espiral que surgen *de novo* y no como un mecanismo de empaquetamiento, surgen a partir del mismo conjunto de parámetros que los patrones verticilados, excepto por c y κ (Fig. 3-7C).

3.2.3. Cactos

Los cactos son una familia de plantas suculentas, espinosas en su gran mayoría, con tallos gruesos, fotosintéticos, adaptados para almacenar agua. La superficie de los tallos suele estar revestida con protuberancias llamadas tubérculos, que varían en sus formas, desde pequeños abultamientos hasta estructuras conocidas como costillas, que se extienden a lo

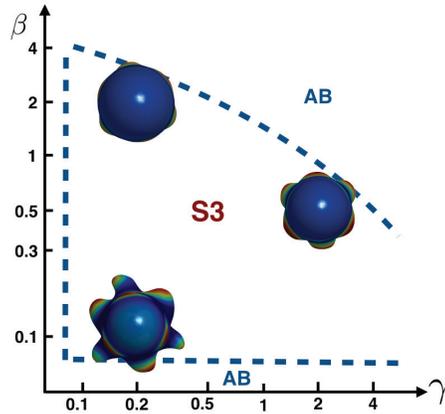


Figura 3-6: **Diagrama de fase para S3.** Los patrones verticilados cambian de acuerdo a la curvatura espontánea β y el esfuerzo γ . Cuando γ crece, β decrece para mantener la formación de patrones verticilados. Los patrones aberrantes (AB) se producen fuera de la región delimitada por las líneas azules. Los valores de los parámetros son $\eta = 0.26$, $G[u]$ con un ancho de $R/2$, $\kappa = 2$ y $c = 0.57$.

largo de todo el tallo (Fig. 3-1C). Estas costillas aparecen también en arreglos simétricos y pueden formar o no espirales. Con el modelo mecano-químico es posible obtener este tipo de filotaxia cuando $c = 0$, el cual produce *rayas* en lugar de *manchas* en un sistema de Turing. Las costillas que comienzan a formar espirales (Fig. 3-8A) se obtienen con los mismos valores de parámetros que los patrones verticilados, salvo que $c = 0$. Las costillas que se extienden verticalmente a lo largo del domo se obtienen con $\kappa = 0.5$ y un ancho de $G[u]$ igual a $R/1.5$. Las correspondientes simetrías de estos patrones dependen del valor de η , como ocurre para los patrones verticilados.

Un diagrama de fase para este tipo de patrones se muestra en la Fig. 3-9. Los patrones en costillas surgen también como función del acoplamiento del estrés, el cual ejerce una influencia sobre su simetría. Fuera de los rangos indicados en la Fig. 3-9 los patrones se tornan aberrantes (AB). Es notable en estas simulaciones que, mientras más bajo es el valor de γ , más alta es la simetría que emerge. Esto podría explicar los patrones que se observan en los cactus que poseen formas cercanas a una esfera: éstos admiten simetrías más altas en la generación de sus órganos porque el esfuerzo mecánico se distribuye de una manera homogénea en una superficie esférica.

Además de surgir en el orden espacial y temporal correctos, todos los patrones repor-



Figura 3-7: **Patrones en espiral.** Secuencia temporal del surgimiento de patrones en espiral. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son $\beta = 0.5$, $\gamma = 0.2$, $\kappa = 1, 2$, y $G[u]$ con un ancho de $R/2$. El parámetro c varía para generar cada tipo de patrón. (A) Patrón filotáctico con simetría 5, $\eta = 0.5676$, $c = 0.33$, $\kappa = 1$. Las imágenes fueron tomadas en los tiempos indicados. El empaquetamiento de primordios para formar parastiquios comienza a partir de la iteración $T=500$. (B) Patrón filotáctico con simetría 6, $\eta = 0.6504$, $c = 0.33$, $\kappa = 1$. Imágenes tomadas en los tiempos indicados. El empaquetamiento de primordios para formar parastiquios comienza a partir de la iteración $T=500$. (C) Patrón en espiral con simetría 6, $\eta = 0.8909$, $c = 0$, $\kappa = 2$. Imágenes tomadas en los tiempos indicados.

tados exhiben un comportamiento que concuerda con observaciones experimentales, las cuales indican que los primordios surgen exactamente en los lugares donde la curvatura del MA cambia [Kelly y Cooke, 2003]. A medida que el domo crece debido a la distribución normal $G[u]$, los primordios siguen apareciendo en la región libre donde ocurre el cambio de

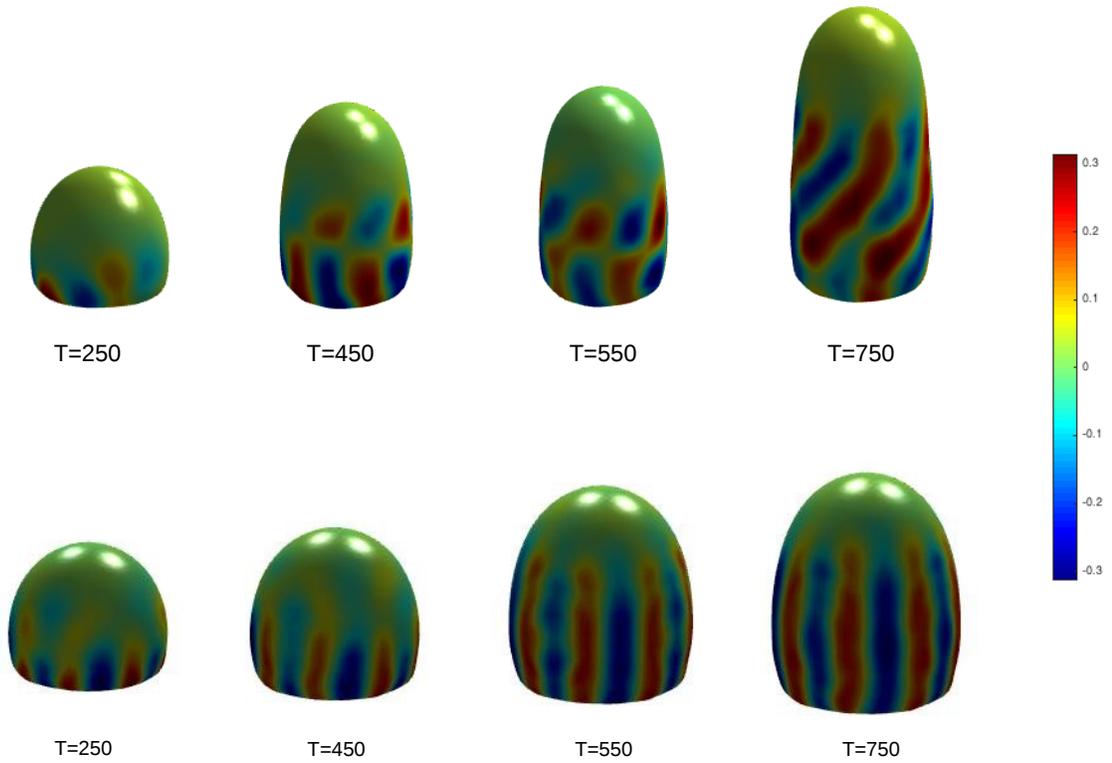


Figura 3-8: **Costillas**. Secuencia temporal del surgimiento de patrones filotácticos característicos de las cactáceas. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son $\beta = 0.5$, $\gamma = 0.2$, y $c = 0$. (A) Patrón filotáctico en espirales con simetría 5, $\eta = 0.5676$, $\kappa = 2$. Las imágenes fueron tomadas en los tiempos indicados. (B) Patrón filotáctico con simetría 6, $\eta = 0.6504$, $\kappa = 0.5$, y $G[u]$ con un ancho de $R/1.5$. Imágenes tomadas en los tiempos indicados.

curvatura más abrupto (Fig. 3-10). En la Fig. 3-10 se observa que la siguiente generación de primordios surgirá en la región del domo que exhibe un cambio drástico de curvatura, de cero a un valor positivo. Este comportamiento persiste en todas las generaciones de primordios.

Dado que todas las ecuaciones empleadas en el modelo mecano-químico de formación de patrones constituyen un modelo adimensional, se decidió comenzar con valores de

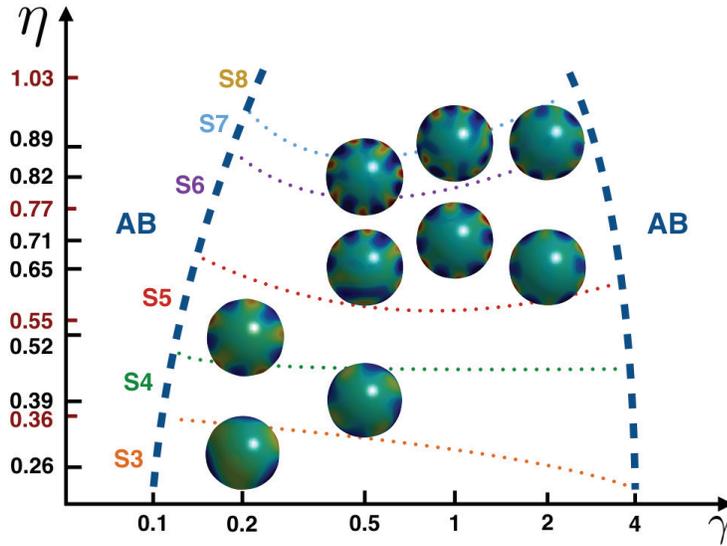


Figura 3-9: **Diagrama de fase para patrones en cactus.** Los patrones en nervaduras, como en los cactus, emergen como función del acoplamiento del estrés mecánico. La simetría de las costillas aumenta en función de η . Las líneas punteadas representan los límites para cada simetría (S3, S4, S5, S6, S7, S8) y los valores numéricos para cada una se indican en rojo en el eje η . El acoplamiento del estrés, γ , incrementa la simetría en algunos casos. La región donde surgen los patrones aberrantes (AB) está indicada con las líneas en color azul. Los valores de η para cada imagen se indican en el eje η en negro. Los valores de los parámetros son $\beta = 0.5$, $G[u]$ con un ancho de $R/1.5$, $\kappa = 0.5$ y $c = 0$.

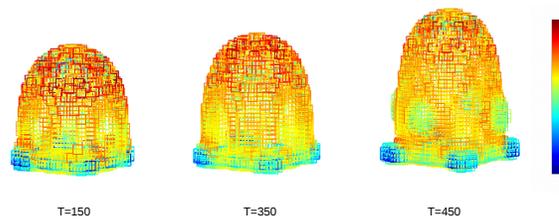


Figura 3-10: **Curvatura media del dominio en crecimiento.** Curvatura media del dominio para la simulación en la Fig. 3-2 C. Imágenes tomadas en los tiempos indicados: T=150, 350, 450. La primera generación de primordios emerge en la región del domo que presenta el cambio de curvatura más abrupto (la base), y las siguientes generaciones de verticilos exhiben el mismo comportamiento.

parámetros mecánicos no muy alejados de la unidad. El proceso de formación de patrones se conserva para una variación de los parámetros β y γ dentro de rangos admisibles para el sistema mecánico. La influencia del grosor de $G[u]$ en la formación de los patrones sugiere que la actividad mitótica del MA debe ser un proceso altamente regulado. La necesidad de ajustar esta distribución cuidadosamente puede ser justificada en términos de las características biológicas del sistema meristemático. La zona periférica del meristemo (ZP) tiene una actividad mitótica distinta al resto del domo apical, pues se compone de células con altas tasas de crecimiento y división, lo cual induce un flujo de células de la punta del meristemo hacia abajo. Este flujo está necesariamente restringido por las dimensiones del domo y por cualquier otra influencia física o biológica, de tal modo que el crecimiento apical debe ser definido en concordancia con estas influencias. Se eligió el valor de $R/2$ para el ancho de esta Gaussiana porque toda la información de una distribución normal se encuentra dentro de dos desviaciones estándar. Este valor resultó ser el apropiado para formar los patrones filotácticos. Es importante mencionar que algunos autores sugieren que un gradiente meridional de extensibilidad es el elemento mecánico clave que explica la morfogénesis apical en varios grupos taxonómicos [Bernal *et al.*, 2007]. La introducción de la distribución $G[u]$ produce este gradiente de extensibilidad en el dominio, y es un elemento clave en este modelo. Por lo tanto, el transporte del morfógeno u guiado por el esfuerzo mecánico y la curvatura, así como el crecimiento apical del domo meristemático, son suficientes para producir patrones filotácticos estables.

3.2.4. Parámetros

A continuación se proporcionan los valores de los parámetros utilizados en las simulaciones, con el fin de clarificar su papel y su importancia en la formación de cada uno de los patrones.

Modelo químico.

Los valores de los parámetros a, b, c, h y D permanecen fijos durante todas las simulaciones y fueron elegidos de acuerdo con [Leppänen, 2004; Aragón *et al.*, 2002; Gjorgjieva,

2006] para obtener la inestabilidad de Turing: $a = 1.1123$, $b = -1.0122$, $h = -1$, y $D = 0.516$.

El parámetro cinético c produce distintos tipos de patrones: $c = 0.57$ produce verticilos, $c = 0.33$ produce espirales a partir de un mecanismo de empaquetamiento, y $c = 0$ produce costillas, como en los cactus.

El parámetro η es el tamaño del dominio y es el responsable de las distintas simetrías de los patrones filotácticos obtenidos.

Modelo mecánico.

Los valores de los parámetros que permanecieron fijos durante todas las simulaciones son el coeficiente de difusión del dominio $D_\phi = 1$, el grosor de la interfase $\epsilon = 1$, los coeficientes de tensión superficial de ϕ y u , $\varrho_\phi = 2.5$ y $\varrho_u = 0.5$, y la cantidad de masa agregada por unidad de tiempo $m = 15$.

El parámetro κ añade masa al crecimiento apical dictado por la distribución $G[u]$: $\kappa = 2$ produce verticilos, patrones en espiral que surgen mediante el empaquetamiento de S5 y costillas con arreglos en espiral; $\kappa = 1$ produce espirales a partir del empaquetamiento de S6; $\kappa = 0.5$ produce costillas verticales.

Los parámetros β y γ , es decir, qué tanto la auxina promueve la elasticidad del tejido y qué tanto el estrés mecánico dirige el flujo de auxina, son determinantes para la formación de patrones filotácticos y los valores que pueden tomar se indican en sus diagramas de fase: Figs. 3-5, 3-6 y 3-9. Fuera de las regiones indicadas en dichos diagramas, se producen patrones aberrantes.

3.2.5. Otros resultados y posibles experimentos

Además de la formación de los patrones filotácticos reportados, es posible obtener otros comportamientos observados en el desarrollo vegetal mediante el modelo mecano-químico. Cuando el acoplamiento del estrés mecánico se acerca al valor límite para patrones verticilados (Fig. 3-5), podemos observar un proceso de ramificación, una vez que se ha formado el primer verticilo en el patrón filotáctico (Fig. 3-11 A). Para el valor límite de este

acoplamiento, $\gamma = 4$, el patrón verticilado S4 experimenta una ramificación simétrica en el primer verticilo que surge. Este comportamiento no persiste a lo largo de las simulaciones, pero nos conduce a hipotetizar que, en estos sistemas biológicos, el proceso de ramificación es también consecuencia de la mecánica del crecimiento. Una exploración del modelo, particularmente del tensor de esfuerzos, puede conducir a la formulación de hipótesis precisas al respecto y al planteamiento de simulaciones posteriores.

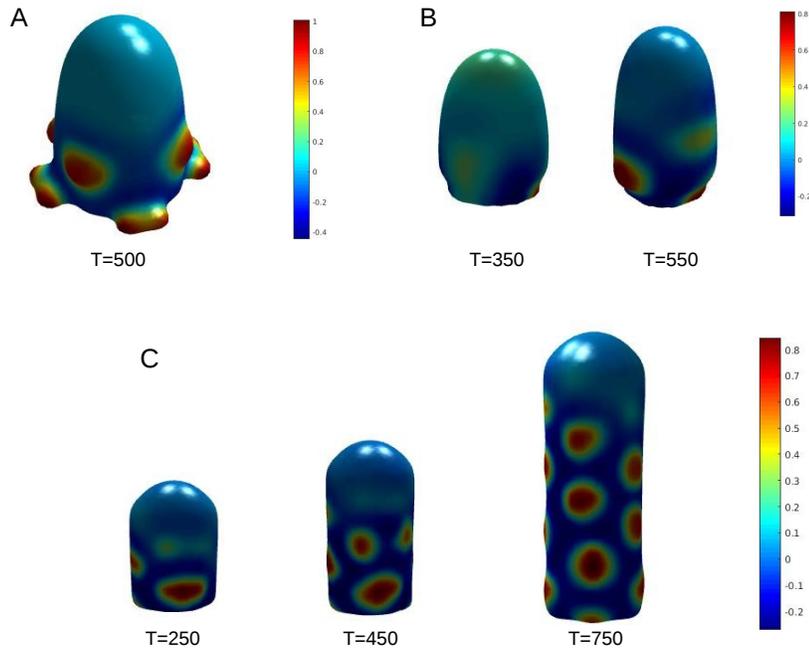


Figura 3-11: Ramificación y constricción mecánica del meristemo. Los valores de los parámetros para estas simulaciones son $\beta = 0.5$, $\kappa = 2$, y $G[u]$ con un ancho de $R/2$. (A) Patrón filotáctico S4, $\eta = 0.3902$, $c = 0.57$, y $\gamma = 4$. Se observa una ramificación simétrica de todos los primordios que forman el primer verticilo. La imagen fue tomada en el tiempo $T=500$. (B) Patrón aberrante producido mediante una constricción mecánica anular en la parte cilíndrica del domo, cercana a la base. Los valores de los parámetros para esta simulación son los que producen el patrón verticilado S3: $\eta = 0.2601$, $c = 0.57$, $\gamma = 0.2$. Se eligieron estos parámetros porque el patrón filotáctico S3 es el más robusto. Las imágenes tomadas en los tiempos $T=350$, 550 . (C) Patrón filotáctico S3, $\eta = 0.2601$, $c = 0.33$, $\gamma = 0.2$, con la imposición de una constricción mecánica en toda la parte cilíndrica del dominio. La formación de parastiquios comienza a partir del surgimiento de los primeros primordios, los cuales dejan de emerger como verticilos. Imágenes tomadas en los tiempos $T=250$, 450 , 750 .

Una serie de resultados adicionales se obtiene a partir de la propuesta de un exper-

imiento, que consiste en constreñir mecánicamente al meristemo. Mediante la fijación de una porción de la parte cilíndrica del domo apical es posible simular la implantación de un anillo rígido, de metal o de un material suficientemente resistente, que impida el crecimiento. La simulación de este experimento para el patrón verticilado S3 produce alteraciones interesantes (Fig. 3-11B, C). Fijando solamente una región anular pequeña cerca de la base del domo, se genera un patrón aberrante (Fig. 3-11 B). Se eligió probar este experimento para el patrón S3 porque es el más robusto (Fig. 3-5, 3-6). Cuando el experimento se realiza fijando toda la porción cilíndrica del dominio, se produce un patrón filotáctico distinto al patrón verticilado S3. Este patrón consiste en parastiquios que se forman a medida que emergen los primordios, es decir, los parastiquios no se forman a partir de un empaquetamiento de verticilos como en los resultados reportados antes (Fig. 3-7A, B), sino que surgen *de novo*. La implementación experimental de esta propuesta puede ser muy sencilla, y la exploración de sus efectos podría conducir a la formulación de estrategias para modificar el patrón filotáctico de manera predecible. Esto podría resultar en una mayor producción de órganos aéreos en las plantas y posiblemente podría aplicarse en especies de importancia alimentaria o comercial. Con estos resultados se hace evidente el potencial que posee el modelo mecano-químico de formación de patrones, en el contexto de la filotaxia.

3.3. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un modelo matemático de formación de patrones basado en los elementos físicos de un sistema biológico. Dicho sistema es el meristemo aéreo apical de las plantas superiores, el cual está encargado de un proceso morfogenético de vital importancia para nuestro planeta: la producción de los órganos aéreos de las plantas. La inspiración principal de este trabajo ha sido comprender por qué, de entre tantas maneras en que un sistema vivo puede producir sus estructuras, lo hace formando patrones completamente simétricos y con propiedades matemáticas específicas. En vista de las características geométricas presentes en la filotaxia, es natural pensar que existen mecanismos

físicos subyacentes produciendo dichas estructuras, los cuales deben subordinarse, necesariamente, a leyes y principios de optimización de energía. El modelo mecano-químico de formación de patrones fue entonces desarrollado con base en la teoría de la energía elástica, o energía de deformación, de una estructura que tuviese las propiedades geométricas y mecánicas del meristemo aéreo. La teoría del campo fase permite realizar la construcción matemática de dominios que cambian de forma a lo largo del tiempo, como resultado de la minimización de su energía de doblamiento. En este modelo hemos implementado una expresión para la energía del sistema que permite dos comportamientos adicionales: primero, el dominio también cambia de tamaño, es decir, crece, y segundo, la superficie donde emerge el patrón espacial también cambia su forma debido a la influencia de una sustancia química, la cual modifica sus propiedades mecánicas. Esta sustancia química es la auxina, el morfógeno por excelencia en el reino vegetal. Los mecanismos principales del modelo mecano-químico están basados en el comportamiento de esta hormona en el proceso de formación de patrones filotácticos.

Para el desarrollo de este modelo se utilizaron los supuestos más simples inspirados en el proceso biológico: el tejido vegetal es un continuo en crecimiento y sus propiedades mecánicas responden a un morfógeno. No se incluyen, obviamente, todos los niveles de interacción y la complejidad de este evento morfogenético. Sin embargo, y dado que las interacciones que definen al modelo son físicas, se pueden rescatar algunos aspectos esenciales del proceso, los cuales discutiremos a lo largo de esta sección.

La teoría de Canham-Helfrich establece que la energía de una superficie puede ser descrita en términos de su curvatura, misma que se obtiene al considerar la elasticidad de la superficie. En la Sección 2.1.1 presentamos esta energía y también la ecuación dinámica que determina la evolución temporal del campo fase, es decir, la ecuación que contiene la información sobre la posición de la superficie en el tiempo. En este trabajo la evolución del campo fase depende, además, de la distribución de una sustancia química que promueve su elasticidad. La dinámica de esta sustancia está dirigida a su vez por el campo de esfuerzos mecánicos que se genera en la superficie, mientras ésta crece. De este modo

hemos logrado modelar un bucle de retroalimentación fundamental en la filotaxia, en el cual están involucradas la mecánica del crecimiento del meristemo aéreo y la acción del morfógeno vegetal.

El incremento en la extensibilidad de la superficie, promovido por la auxina, es implementado mediante la introducción de un término de curvatura espontánea en la energía libre del sistema, el cual depende de la concentración de la sustancia. Así, mientras más alta es esta concentración en la superficie, más fácil resulta deformarla. Esto se basa en el hecho de que la auxina promueve el crecimiento en las plantas mediante una reducción de la rigidez de las paredes celulares. Un primordio puede entonces emerger donde la auxina se acumula, porque la superficie del meristemo se reblandece y cede a la presión interna, permitiendo así la deformación del tejido. El segundo supuesto fundamental del modelo, a saber, que la distribución de auxina está dirigida por el campo de esfuerzos en el meristemo, se implementa haciendo que la difusión del morfógeno sea dependiente del tensor de esfuerzos, el cual determina las magnitudes y direcciones del estrés mecánico en la superficie del domo apical. Esta dependencia se definió de la manera más simple posible, es decir, lineal.

Los resultados experimentales sobre el flujo de auxina en el meristemo aéreo justifican este supuesto, pues indican que la auxina se distribuye mediante una combinación de difusión simple y de un transporte activo mediado por las proteínas de membrana PIN1, cuya localización polarizada da direccionalidad al flujo de auxina. El mecanismo de polarización de PIN1 es aún desconocido, pero se ha observado que estas proteínas se orientan de forma paralela al alineamiento de microtúbulos corticales en el MA, los cuales, a su vez, tienden a orientarse en las direcciones de máximo estrés en las paredes celulares. Estos resultados experimentales pueden abstraerse afirmando que los esfuerzos mecánicos en la superficie orientan el flujo de auxina. De este modo, definimos una ecuación tensorial para el morfógeno u (2-44), la cual modela este comportamiento. En conjunción con el crecimiento apical del domo, los dos supuestos fundamentales del modelo son suficientes para generar la filotaxia. El resto de las suposiciones e interacciones propuestas son de

carácter físico, de modo que el modelo puede ser empleado para simular muchos otros procesos en los sistemas vivos. Este mecanismo de formación de patrones podría ser entonces considerado como básico.

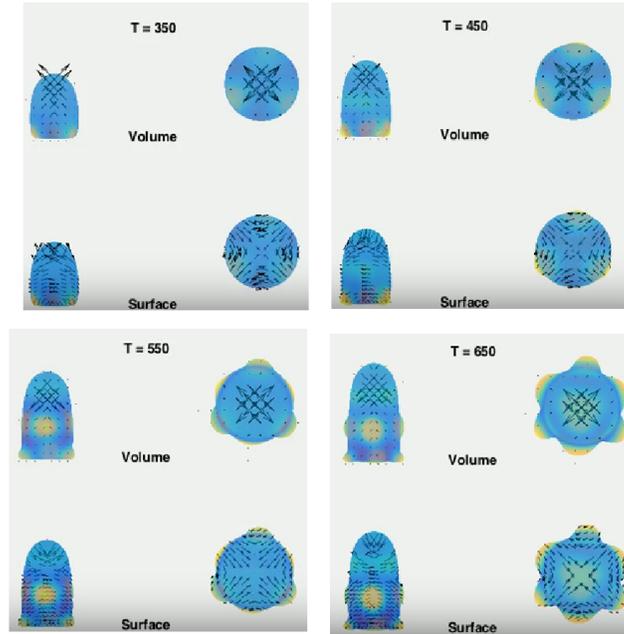


Figura 3-12: **Dinámica del campo de esfuerzos en el meristemo aéreo.** Direcciones principales del tensor de esfuerzos a medida que se forma el patrón verticilado S3. En la parte superior de cada panel se muestran las direcciones principales del tensor de esfuerzos (flechas en negro) en el volumen, mientras que en la parte inferior de cada panel se muestran estas direcciones en la superficie del domo apical. El color difuso en el dominio indica la concentración de u . En el interior del domo las direcciones de esfuerzo máximo permanecen prácticamente estacionarias y se concentran en la región donde el dominio experimenta cambios de curvatura en su frontera. En cambio, es en la superficie donde estas direcciones cambian abruptamente debido al surgimiento de los primordios, correlacionándose con la dinámica de PIN1. Las imágenes fueron tomadas en los tiempos indicados en cada panel: T=350, 450, 550 y 650.

Este trabajo muestra que, en efecto, el esfuerzo mecánico en el crecimiento vegetal es un elemento clave para la generación de los patrones filotácticos, así como para el mantenimiento de su simetría. Esto es de esperarse, pues los meristemos de las plantas son estructuras que se auto-mantienen, es decir, la geometría, la forma y el tamaño de estos órganos se conservan a lo largo de toda su vida útil. Ello implica que la distribución de los esfuerzos mecánicos es prácticamente estacionaria en el tiempo, siempre y cuando los

patrones de crecimiento y la geometría no cambien. El surgimiento de un primordio, como consecuencia del reblandecimiento del tejido y de la fuerza que la presión de turgencia ejerce en él, cambia drásticamente e instantáneamente la distribución de esfuerzos mecánicos (Fig. 3-12). Las direcciones principales del tensor de esfuerzos están correlacionadas con la distribución de auxina y coinciden con la dinámica de PIN1 (Fig. 3-12). Esta señal mecánica podría ser entonces la primera o la más importante para la orientación de las proteínas PIN1. Por otra parte, la simetría observada en los patrones filotácticos es consecuencia de la simetría del meristemo aéreo, es decir, de la simetría de la distribución de los esfuerzos. Cabe entonces preguntarse sobre la influencia que el estrés mecánico puede tener en el desarrollo de otras estructuras simétricas, en distintos organismos.

El modelo de campo fase utilizado puede ser descrito como el modelo mínimo (2-22), con la presencia de la curvatura espontánea y la difusión tensorial de la especie química que la produce. Hay solamente cuatro parámetros en el modelo de los cuales depende el proceso correcto de formación de patrones: la influencia del estrés sobre el transporte, el grado en que el tejido se reblandece en respuesta a la auxina, la tasa del crecimiento apical, y la cantidad de masa agregada al dominio en crecimiento. Las simetrías de los patrones filotácticos se obtienen en función del parámetro η del modelo químico, que representa el tamaño del dominio en un sistema de Turing. Los tipos de patrones obtenidos dependen de los parámetros c del modelo químico y κ en el modelo mecánico. Ningún patrón filotáctico se obtiene cuando la influencia del estrés o la presencia de la curvatura espontánea son removidos del modelo.

Es importante notar, sin embargo, que el modelo no es capaz de generar patrones filotácticos *de novo*, pues el mecanismo del campo fase es alimentado con patrones simétricos que resultan del sistema de Turing. No obstante, las regiones específicas donde surgen los sitios de acumulación de auxina son consecuencia del modelo mecánico. Éstas coinciden con los sitios donde la curvatura del dominio cambia más abruptamente. Este comportamiento se debe a que el tensor de curvatura $Q_{\alpha\beta}$ está presente en el tensor de esfuerzos. De este modo, el crecimiento apical provee de espacio disponible con curvatura

variable y la difusión tensorial *elige* el sitio donde los nuevos primordios aparecerán. Los primordios emergen únicamente en esta región del dominio; en particular, no aparecen en la punta del domo, que en las plantas es una región donde la auxina no tiene efectos. Más aún, el flujo dirigido por el estrés mecánico es responsable de la perpetuación de los patrones filotácticos. El modelo mecano-químico sugiere entonces que las distintas regiones funcionales del MA (Sección 1.2) podrían emerger como una consecuencia natural de la mecánica del crecimiento.

El modelo químico es, por otra parte, una aproximación a la dinámica compleja que tiene la auxina con otros factores químicos en el meristemo; es una propuesta fenomenológica de las posibles interacciones de la auxina con otras sustancias. En este sentido, este modelo podría ser complementado, o completado, con la inclusión de estos múltiples factores. Es muy probable que un sistema de este tipo, es decir, con la participación de más sustancias químicas, admita también soluciones simétricas, pues éstas son consecuencia de la geometría del dominio. Las condiciones de frontera, como en el caso de los problemas clásicos de cristalografía, son de suma importancia en un sistema de formación de patrones, pues las estructuras espaciales que se generan deben ser compatibles con las condiciones de frontera para conseguir minimizar la energía del sistema. En este caso, la simetría axial del domo apical es la que, mediante la acción del estrés, permite el acomodo de dichas estructuras en los arreglos característicos de la filotaxia. Podemos decir que la simetría que surge en la formación de estos patrones es impuesta por la simetría axial a la cual está subordinada el crecimiento del MA. Las interacciones propuestas en la formulación del modelo son las más simples posibles, y generan las estructuras que minimizan la energía del sistema y que son consistentes con las restricciones geométricas.

Existen diferencias fundamentales entre este modelo y los modelos de filotaxia propuestos hasta ahora, los cuales se basan principalmente en la concentración de auxina como señal para orientar a PIN1, o bien, que incluyen también elementos mecánicos en su formulación. Una de estas diferencias es que la geometría y el crecimiento tisular adquieren prioridad, pues retroalimentan directamente al estrés mecánico. La distribución de es-

fuerzos mecánicos en el meristemo depende de la geometría del domo apical, así como de las propiedades mecánicas del tejido. Al mismo tiempo, la forma y el crecimiento de las regiones funcionales del MA dependen de la presión de turgencia y los esfuerzos que ésta induce en las paredes celulares. Por lo tanto, es primordial incorporar la señalización mecánica, en conjunción con la bioquímica, si se pretende entender o modelar este proceso morfogénético. Las relaciones que existen entre los esfuerzos mecánicos, la geometría y las propiedades mecánicas del tejido quedan cubiertas automáticamente con el modelo de campo fase, pero además, el modelo mecano-químico incorpora la dependencia que los esfuerzos presentan ante la concentración de la auxina. Por lo tanto, las influencias que las perturbaciones mecánicas puedan tener en este proceso, así como la actividad genética que regule el crecimiento, pueden ser explorados con la herramienta que provee este enfoque. La señalización mecánica es incorporada en este trabajo, con el objetivo de proponer un modelo completo de morfogénesis vegetal, partiendo de las bases elementales de la física. El modelo puede perfeccionarse, adecuarse a nuevos resultados experimentales que surjan, y complementarse con los demás niveles de interacción en el proceso biológico.

La señalización a través de estímulos mecánicos es mucho más rápida que cualquier proceso basado en difusión y su velocidad es igual o hasta mayor que la de la señalización eléctrica. La gravedad, por ejemplo, debe ser percibida de manera muy eficiente por las plantas, pues está íntimamente ligada a su morfogénesis. Cuando la orientación de una planta cambia con respecto a la fuerza de gravedad, ella responde doblándose de tal manera que la orientación original es restablecida (gravitropismo), y el desarrollo de los órganos vegetales, en general, está ajustado respecto a la gravedad (gravimorfosis). Otro ejemplo donde la señalización mecánica podría ser un factor clave en el desarrollo tiene que ver con la posición del nicho de células madre en ambos meristemos, el aéreo y el de la raíz, que son estructuras paraboloidales. La región donde se encuentran estos conjuntos de células no diferenciadas coincide con el punto libre de estrés mecánico en una estructura cóncava [Hernández-Hernández *et al.*, 2014]. La ausencia de estrés mecánico podría ser la señal que permite que dichas células permanezcan con tasas de división muy

bajas, mientras que sus hijas son desplazadas hacia las regiones donde los esfuerzos y la curvatura comienzan a actuar sobre ellas, quienes posiblemente responden mediante altas tasas de división para después diferenciarse. Más aún, los cambios de curvatura en el domo apical que ocurren en cada plastocrono han sido cuantificados para algunas especies, lo cual ha permitido reconocer regiones únicas en el MA en términos de la curvatura: son cóncavas en una dirección y convexas en la otra [Kwiatkowska, 2004]. Estas regiones son las fronteras entre en MA y los primordios, y coinciden con la expresión de un gen en particular, *CUPSHAPEDCOTYLEDON (CUC)*. Esto indica que muy probablemente existe una retroalimentación entre ambos factores: la curvatura y la expresión génica. Dado que la señalización mecánica es más rápida que la química, es probable que esta característica específica de la curvatura pueda ser empleada como una señal para la expresión de este gen. En conclusión, estos niveles de información se retroalimentan y es importante para la biología del desarrollo comenzar a entender cómo lo hacen.

A pesar de que el modelo está inspirado en el proceso de filotaxia, los mecanismos físicos básicos podrían estar actuando de manera análoga en otros procesos morfogenéticos. Uno de los objetivos principales en el estudio de la formación de patrones es reducir al sistema a sus elementos básicos, necesarios e indispensables, de modo que sea posible comenzar a identificar qué mecanismos son universales. Este trabajo ha sido un esfuerzo por identificar dichos elementos en el proceso de formación de patrones flotáticos. En vista de los resultados obtenidos, podemos concluir que el estudio de cualquier proceso del desarrollo en los sistemas vivos debería estar sustentado por la física. En cada etapa del desarrollo de cualquier organismo aparecen nuevos interactores e interacciones, luego, es adecuado modelar dichos procesos como bloques o módulos sustentados por interacciones físicas que deben ser bien conocidas. Al observar a los sistemas biológicos dentro de un marco teórico donde la física esté presente, es posible descubrir estructuras fundamentales que no están determinadas por experimentación arbitraria de la evolución, sino que son consecuencias fundamentales de la física y la química presentes en el crecimiento. Así, con el enfoque de este trabajo podrían descubrirse *atractores morfogenéticos*, es decir, formas

o patrones estables a los cuales un sistema vivo en desarrollo debe llegar inevitablemente.

3.4. Perspectivas

En esta sección abordamos algunas de las preguntas generadas a partir de los resultados de este trabajo y su discusión, así como las ideas a desarrollar y las posibles aplicaciones del modelo mecano-químico de formación de patrones. Nótese que el contenido de esta tesis puede ser abordado en tres distintos niveles auto-contenidos: el primero es el nivel teórico que acopla los principios del campo fase con el proceso difusivo de morfógenos o sustancias que modifican sus propiedades mecánicas. El segundo nivel se refiere a la filotaxis o, en general, a la morfogénesis vegetal, en el sentido de que el modelo puede ayudar a hacer investigaciones al respecto, desde un enfoque físico. El tercer nivel consiste en el estudio, en general, de los sistemas formadores de patrones. En estos tres niveles es posible formular las perspectivas para este trabajo.

En el nivel teórico, primeramente, el modelo puede ser aplicado bajo cualesquiera otros supuestos concernientes al dominio que crece o que cambia de forma a lo largo del tiempo. En particular, el modelo puede ser probado en otros casos donde se tenga una estructura axisimétrica, como en el domo apical, para observar cómo actúa este mecanismo. Es de esperarse que el comportamiento de los esfuerzos mecánicos sea muy similar y posea propiedades invariantes, de modo que, a partir de esta formulación, es posible investigar el desarrollo de otros sistemas biológicos que posean simetría axial. Por ejemplo, el modelo mecano-químico podría contribuir al estudio del desarrollo de organismos como las algas unicelulares del género *Acetabularia*, cuya estructura y patrones de crecimiento son básicamente los correspondientes a un domo axisimétrico bajo presión interna. También en los girasoles, por ejemplo, la región donde se generan las nuevas inflorescencias es una estructura parecida a un disco, con grosor variable pero axisimétrico, sometido a presión interna; esta estructura posee patrones de distribución de esfuerzos mecánicos y curvatura muy específicos [Steele, 2000], lo cual indica que la señalización mecánica podría estar actuando en el proceso de organogénesis de esta especie. A partir de estas observaciones

resulta inmediato probar este mecanismo en dominios que posean otras geometrías, pues el campo de esfuerzos se modificará y ello dará lugar, posiblemente, a otro tipo de patrones. En general, este modelo puede ser de gran utilidad en el estudio de la evolución de otras formas tridimensionales, biológicas o físicas, en las que se tenga la presencia de fuerzas actuando sobre superficies.

En el nivel teórico también resulta importante proponer algún tipo de análisis para el tensor de esfuerzos, expresado en términos de una densidad de energía que involucre al funcional de curvatura espontánea. La presencia del tensor de curvatura de la superficie y del operador bilaplaciano en la expresión del tensor de esfuerzos (A31) resultan ser de gran interés, y creemos que es posible expresar los esfuerzos únicamente en términos del tensor de curvatura, con el fin de visualizar la relación directa que existe entre ellos. Con respecto al operador bilaplaciano, es importante notar que la ecuación biarmónica no homogénea determina las deformaciones plásticas o elásticas en placas delgadas. Sus soluciones son funciones armónicas que son periódicas y que, sujetas a condiciones de frontera adecuadas, forman patrones simétricos de campos ondulatorios cuando se resuelven en dominios con simetría axial, como un anillo o un disco. En este sentido, el tensor de esfuerzos expresado en la ecuación (A31) podría ser por sí mismo un sistema formador de patrones, o bien, un elemento básico en muchos sistemas formadores de patrones. Es notable, además, que en su propuesta de un modelo de reacción-difusión para la morfogénesis de plantas (*Morphogen theory of phyllotaxis*), Turing afirmó que no se trataba de una difusión simple, sino que se trata también de un operador bilaplaciano modificado [Saunders, 1992].

En el nivel del estudio de la filotaxia y la morfogénesis vegetal hay varias propuestas y preguntas a abordar. Una primera propuesta consiste en investigar si en el meristemo de raíz la auxina tiene una influencia similar sobre las propiedades mecánicas del tejido, y probar si el modelo mecano-químico puede explicar algún evento morfogenético en este sistema. Con respecto al meristemo aéreo es posible plantear más experimentos que involucren la deformación del domo apical. Mediante deformaciones sencillas, que puedan ser fácilmente implementadas de forma experimental, es posible modificar la distribución

de los esfuerzos y observar cómo cambia el patrón filotáctico. Este tipo de propuestas experimentales podrían, por otro lado, extrapolarse al meristemo de raíz. La ventaja de este tipo de propuestas es que los experimentos relacionados con una manipulación mecánica que tenga efectos en el desarrollo vegetal, como en el caso de los bonsai, por ejemplo, serían mucho más sencillos, rentables y seguros, que los experimentos basados en la manipulación genética de los organismos.

En vista de los resultados obtenidos en este estudio cabe plantear preguntas fundamentales para el estudio de la filotaxia. La primera es si la auxina es en realidad el agente que causa la polarización de las proteínas PIN1 en el MA. Esta idea ha sido la primera hipótesis formulada sobre filotaxis, con base en las observaciones del desarrollo del MA a nivel microscópico. Sin embargo, este trabajo apunta a que la señalización mecánica es el verdadero agente de polarización. Otra pregunta fundamental respecto a la polarización de estas proteínas es por qué su localización es distinta en distintas estructuras vegetales, principalmente en ambos meristemos, el aéreo y el de raíz. Es muy probable que el enfoque físico de este trabajo pueda proveer información para poder responder a estas preguntas. Una tercera pregunta fundamental es, por qué la zona central del meristemo, ZC, no responde a la auxina como lo hace el tejido de la zona periférica ZP. En términos físicos, la ZC coincide con la región del domo apical donde no hay direcciones principales de estrés, es decir, el esfuerzo es isotrópico. Sin embargo, esta observación no explica por qué solamente la ZP es capaz de formar órganos laterales.

En el tercer nivel, sobre el estudio de formación de patrones en general, es inmediato preguntarse cómo el estrés mecánico o la modificación de las propiedades mecánicas del sistema intervienen en procesos donde se forman patrones espaciales, ya sea en contextos físicos o biológicos. La influencia o la participación de la extensibilidad en el desarrollo, en general, a partir de factores de crecimiento u otros mecanismos, es un punto que a la luz de este trabajo debe comenzar a ser investigado.

La ciencia se ha desarrollado de tal manera que ha separado a lo vivo como una disciplina aparte de las leyes físicas, lo cual ciertamente ha proporcionado ventajas para

estudiar a los seres vivos, pero al mismo tiempo ha limitado ese estudio y, de cierta manera, lo ha aislado arbitrariamente. Este trabajo es sólo una primera aproximación para estudiar los sistemas vivos desde un punto de vista físico, con el objetivo de formular nuevos conceptos e ideas clave para el estudio de las bases físicas de los procesos de auto-organización y desarrollo.

Apéndice A

El tensor de esfuerzos y su relación con el tensor de curvatura

En esta sección derivamos una expresión para el tensor de esfuerzos

$$\sigma_{\alpha\beta} = \left(\mathcal{L} - \phi \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \phi} \right) \delta_{\alpha\beta} - \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_{\beta} \phi)} \nabla_{\alpha} \phi + \nabla_{\beta} \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla^2 \phi)} \nabla_{\alpha} \phi - \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla^2 \phi)} \nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi, \quad (\text{A1})$$

en términos de nuestra densidad de energía

$$\mathcal{L}(\phi, \nabla \phi, \nabla^2 \phi, u) = ((1 - \phi^2)(-\phi - \epsilon \beta u^2) - \epsilon^2 \nabla^2 \phi)^2 - \frac{1}{2} \rho_{\phi} |\nabla \phi|^2 - \frac{1}{2} \rho_u |\nabla u|^2, \quad (\text{A2})$$

donde ϕ es la interfase y u representa la concentración de auxina presente en ϕ . Podemos escribir esta densidad de energía como

$$\mathcal{L}(\phi, \nabla \phi, \nabla^2 \phi, u) = \mu^2 - \frac{1}{2} \rho_{\phi} |\nabla \phi|^2 - \frac{1}{2} \rho_u |\nabla u|^2, \quad (\text{A3})$$

donde μ es el potencial químico (2-8).

Recordemos que la presencia de $\sigma_{\alpha\beta}$ en las ecuaciones dinámicas constituye el núcleo del modelo mecánico, pues determina la dinámica de la auxina mediante la definición de un coeficiente de difusión tensorial para u :

$$D_u = \gamma \sigma_{\alpha\beta}. \quad (\text{A4})$$

Aquí, la intensidad de la influencia del estrés, $\gamma > 0$, es responsable de la formación espacio-temporal correcta de los patrones filotácticos, junto con el término de curvatura espontánea $C_0[u] = \beta u^2$.

Dada la expresión (A2) para la energía libre, la derivada funcional

$$\frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \phi} = \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial \phi} - \nabla_\alpha \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_\alpha \phi)} + \nabla^2 \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla^2 \phi)}$$

tiene la siguiente expresión:

$$\begin{aligned} \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \phi} = & (\phi^2 - 1) [2\phi(3\phi^2 - 1) - 2(3\phi^2 - 1)\epsilon^2 \nabla^2 \phi] + (\phi^2 - 1) [-4\phi^2 - 2(3\phi^2 - 1)] \epsilon \beta u^2 + \\ & (\phi^2 - 1) 4\phi \epsilon^2 \beta^2 u^4 + 4\phi \epsilon^2 \nabla^2 \phi \epsilon^2 \beta^2 u^2 + \rho_\phi \nabla^2 \phi - 2\epsilon^2 \nabla^2 \mu, \end{aligned} \quad (\text{A5})$$

donde el laplaciano del potencial, $\nabla^2 \mu$, se expresa como

$$\begin{aligned} \nabla^2 \mu = & (\phi^2 - 1) \nabla^2 \phi + 6\phi |\nabla \phi|^2 + 2\phi^2 \nabla^2 \phi - \epsilon^4 \nabla^4 \phi - 2 |\nabla \phi|^2 \epsilon \beta u^2 - 2(\phi^2 - 1) \epsilon \beta |\nabla u|^2 \\ & - 8\phi \epsilon \beta u \nabla_\alpha u \nabla_\alpha \phi - 2\phi \epsilon \beta u^2 \nabla^2 \phi - 2(\phi^2 - 1) \epsilon \beta u \nabla^2 u. \end{aligned} \quad (\text{A6})$$

Para escribir las expresiones anteriores de una forma más adecuada haremos uso de las propiedades de la parametrización que se elige para ϕ , en términos de la función distancia con signo a la interfase $d(\mathbf{x})$:

$$\phi(\mathbf{x}) = f\left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}}\right) = \tanh\left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}}\right). \quad (\text{A7})$$

Las derivadas parciales de ϕ en términos de $d(\mathbf{x})$ son

$$\nabla_\alpha \phi = \frac{1}{\sqrt{2\epsilon}} f' \nabla_\alpha d(\mathbf{x}) = \frac{(1 - \phi^2)}{\sqrt{2\epsilon}} \hat{e}_\alpha, \quad (\text{A8})$$

donde f' es la derivada de ϕ respecto a su argumento, es decir, $f'\left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}}\right) = 1 - f^2\left(\frac{d(\mathbf{x})}{\sqrt{2\epsilon}}\right) = 1 - \phi^2$, y el vector dirección \hat{e}_α se obtiene como $\hat{e}_\alpha = \nabla_\alpha d(\mathbf{x})$ (recordemos

que la función $d(\mathbf{x})$ cumple que su derivada es el vector normal unitario a la interfase: $\nabla d(\mathbf{x}) = \hat{n}$. Por simplicidad, redefinimos el grosor ϵ como $\epsilon = \sqrt{2}\epsilon$ para escribir (A8) como $\nabla_\alpha \phi = \frac{(1-\phi^2)}{\epsilon} \hat{e}_\alpha$ y sustituyendo en (A5) obtenemos el primer término del tensor de esfuerzos $\sigma_{\alpha\beta}$:

$$\begin{aligned} \mathcal{L} - \phi \frac{\delta \mathcal{L}}{\delta \phi} &= (\phi^2 - 1) [\phi^2(-5\phi^2 + 1) + 2\phi(3\phi^2 - 1)\epsilon^2 \nabla^2 \phi + 12\phi^2(\phi^2 - 1)] - 2\phi\epsilon^4 \nabla^4 \phi + \epsilon^4 (\nabla^2 \phi)^2 + \\ & (\phi^2 - 1) [4\phi^3 + 2\epsilon^2 \nabla^2 \phi + 4\phi] \epsilon \beta u^2 + (\phi^2 - 1) [-3\phi^2 - 1] \epsilon^2 \beta^2 u^4 + \\ & (\phi^2 - 1)(-4)\phi \epsilon^3 \beta |\nabla u|^2 - \frac{1}{2} \rho_u |\nabla \phi|^2 - \frac{1}{2} \rho_\phi (|\nabla \phi|^2 + 2\phi \nabla^2 \phi) + \\ & \phi^2(-16)\epsilon^3 \epsilon \beta u \nabla_\alpha u \nabla_\alpha \phi - 8\phi^2 \epsilon^2 \epsilon \beta u^2 \nabla^2 \phi - 4\phi \epsilon^2 (\phi^2 - 1) \epsilon \beta u \nabla^2 u. \end{aligned} \quad (\text{A9})$$

Obsérvese ahora que $\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_\alpha \phi)} = -\rho_\phi \nabla_\alpha \phi$, por lo que el segundo término de $\sigma_{\alpha\beta}$ está dado por:

$$\begin{aligned} -\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_\beta \phi)} \nabla_\alpha \phi &= \rho_\phi \nabla_\beta \phi \nabla_\alpha \phi \\ &= \rho_\phi \frac{(1-\phi^2)}{\epsilon} \hat{e}_\beta \frac{(1-\phi^2)}{\epsilon} \hat{e}_\alpha \\ &= \rho_\phi \frac{-(\phi^2 - 1)}{\epsilon} \cdot \frac{-(\phi^2 - 1)}{\epsilon} \hat{e}_\beta \hat{e}_\alpha \\ &= (\phi^2 - 1) \rho_\phi \frac{(\phi^2 - 1)}{\epsilon^2} \hat{e}_\beta \hat{e}_\alpha. \end{aligned} \quad (\text{A10})$$

Para obtener el tercer término de (A1) obsérvese que $\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_{\alpha\alpha} \phi)} = -2\epsilon^2 \mu$. Por lo tanto,

$$\begin{aligned} \nabla_\beta \frac{\partial \mathcal{L}}{\partial (\nabla_{\alpha\alpha} \phi)} \nabla_\alpha \phi &= \nabla_\beta (-2\epsilon^2 \mu) \nabla_\alpha \phi \\ &= 2 [-\epsilon^2 (\phi^2 - 1) - 2\epsilon^2 \phi^2] \nabla_\beta \phi \nabla_\alpha \phi + 4\epsilon^3 \beta u^2 \phi \nabla_\beta \phi \nabla_\alpha \phi + \\ & (\phi^2 - 1) 4\epsilon^3 \beta u \nabla_\beta u \nabla_\alpha \phi + 2\epsilon^4 \nabla_\beta (\nabla^2 \phi) \nabla_\alpha \phi. \end{aligned} \quad (\text{A11})$$

Desarrollemos una expresión para el término $\nabla_\beta (\nabla^2 \phi)$, presente en la ecuación (A11). Utilizando la identidad (A8) y la relación $\hat{e}_\alpha = \nabla_\alpha d(\mathbf{x})$ se tiene que

$$\nabla_\beta(\nabla^2\phi) = \nabla_\beta(\nabla_\alpha\nabla_\alpha\phi) = \nabla_\alpha\nabla_\alpha(\nabla_\beta\phi) = \nabla_\alpha\nabla_\alpha\left(\frac{(1-\phi^2)}{\epsilon}\nabla_\beta d(\mathbf{x})\right). \quad (\text{A12})$$

Entonces,

$$\begin{aligned} \nabla_\beta(\nabla^2\phi) &= \nabla_\alpha\left[\frac{-2\phi(\nabla_\alpha\phi\nabla_\beta d(\mathbf{x}))}{\epsilon} + \frac{(1-\phi^2)}{\epsilon}\nabla_\alpha\nabla_\beta d(\mathbf{x})\right] \\ &= \frac{-2|\nabla\phi|^2 - 2\phi\nabla^2\phi}{\epsilon}\nabla_\beta d(\mathbf{x}) + \frac{-4\phi\nabla_\alpha\phi}{\epsilon}\nabla_\alpha\nabla_\beta d(\mathbf{x}) + \frac{(1-\phi^2)}{\epsilon}\nabla_\alpha\nabla_\alpha\nabla_\beta d(\mathbf{x}). \end{aligned} \quad (\text{A13})$$

Haciendo uso de las propiedades de la función distancia con signo a la interfase, a saber,

$$\nabla\nabla d(\mathbf{x}) = Q_{\alpha\beta}, \quad (\text{A14})$$

donde $Q_{\alpha\beta}$ es el tensor de curvatura (Campelo [2008]), y considerando que la divergencia de un tensor simétrico es cero ($\nabla_\alpha \cdot Q_{\alpha\beta} = 0$), se tiene que

$$\nabla_\beta(\nabla^2\phi) = \frac{1}{\epsilon}\left[\frac{-2(1-\phi^2)^2}{\epsilon^2} - 2\phi\nabla^2\phi\right]\hat{e}_\beta - \left[\frac{4\phi(1-\phi^2)}{\epsilon^2}\right]Q_{\alpha\beta}\hat{e}_\alpha. \quad (\text{A15})$$

Sustituyendo (A15) en (A11) y agrupando, se obtiene el tercer término del tensor de esfuerzos:

$$\begin{aligned} \nabla_\beta\frac{\partial\mathcal{L}}{\partial(\nabla_{\alpha\alpha}\phi)}\nabla_\alpha\phi &= (\phi^2 - 1)\left[-2(\phi^2 - 1)^2 - 4\phi^2(\phi^2 - 1)\right]\hat{e}_\beta\hat{e}_\alpha + \\ &\quad (\phi^2 - 1)\left[\phi(\phi^2 - 1)\right]\epsilon\beta u^2\hat{e}_\beta\hat{e}_\alpha + \\ &\quad (\phi^2 - 1)\left[(-4(1 - \phi^2)^2 - 4\epsilon^2\phi\nabla^2\phi)\hat{e}_\beta\hat{e}_\alpha - 8\phi(1 - \phi^2)Q_{\alpha\beta}\right]. \end{aligned} \quad (\text{A16})$$

Obsérvese que en esta expresión hay términos dependientes de $\hat{e}_\alpha\hat{e}_\beta$, que define al plano tangente a la interfase en cada punto, y términos dependientes del tensor de curvatura $Q_{\alpha\beta}$.

Para calcular el último término de $\sigma_{\alpha\beta}$ recordemos que $\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial(\nabla_{\alpha\alpha}\phi)} = -2\epsilon^2\mu$. Luego:

$$-\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial(\nabla_{\alpha\alpha}\phi)} \nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi = 2\epsilon^2 [2\epsilon^2 \phi(\phi^2 - 1) - 2\epsilon^2(\phi^2 - 1)\epsilon\beta u^2 - 2\epsilon^4 \nabla^2 \phi] \nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi. \quad (\text{A17})$$

Nuevamente haremos uso de las propiedades de la función distancia en relación con el tensor de curvatura (Campelo [2008]) para desarrollar la expresión anterior. De la relación

$$\nabla_{\alpha\beta}^2 d(\mathbf{x}) = \frac{\sqrt{2}\epsilon}{1 - \phi^2} \left[\nabla_{\alpha\beta}^2 \phi + \frac{2\phi}{1 - \phi^2} \nabla_{\alpha} \phi \nabla_{\beta} \phi \right] = Q_{\alpha\beta} \quad (\text{A18})$$

se obtiene

$$\nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi = \frac{(1 - \phi^2)}{\epsilon} Q_{\alpha\beta} - 2\phi \frac{(1 - \phi^2)}{\epsilon^2} \hat{e}_{\alpha} \hat{e}_{\beta}, \quad (\text{A19})$$

entonces,

$$\begin{aligned} -\frac{\partial \mathcal{L}}{\partial(\nabla_{\alpha\alpha}\phi)} \nabla_{\alpha} \nabla_{\beta} \phi &= 2\epsilon^2 [2\epsilon^2 \phi(\phi^2 - 1) - 2\epsilon^2(\phi^2 - 1)\epsilon\beta u^2 - 2\epsilon^4 \nabla^2 \phi] \cdot \left[\frac{(1 - \phi^2)}{\epsilon} Q_{\alpha\beta} - 2\phi \frac{(1 - \phi^2)}{\epsilon^2} \hat{e}_{\alpha} \hat{e}_{\beta} \right] \\ &= (\phi^2 - 1) [2\epsilon\phi(\phi^2 - 1) + 2\epsilon^3 \nabla^2 \phi] Q_{\alpha\beta} + \\ &\quad (\phi^2 - 1) [2(\phi^2 - 1)\epsilon\beta u^2] Q_{\alpha\beta} + \\ &\quad (\phi^2 - 1) [-4\phi^2(1 - \phi^2) - 4\phi\epsilon^2 \nabla^2 \phi] \hat{e}_{\alpha} \hat{e}_{\beta} + \\ &\quad (\phi^2 - 1) [4\phi(1 - \phi^2)\epsilon\beta u^2] \hat{e}_{\alpha} \hat{e}_{\beta}. \end{aligned} \quad (\text{A20})$$

En conjunto, las ecuaciones (A9), (A10), (A16), (A20) definen al tensor de esfuerzos para la densidad de energía (A3) de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
\sigma_{\alpha\beta} = & \{(\phi^2 - 1) [\phi^2(-5\phi^2 + 1) + 2\phi(3\phi^2 - 1)\epsilon^2\nabla^2\phi + 12\phi^2(\phi^2 - 1)] - 2\phi\epsilon^4\nabla^4\phi + \epsilon^4(\nabla^2\phi)^2 + \\
& (\phi^2 - 1) [4\phi^3 + 2\epsilon^2\nabla^2\phi + 4\phi] \epsilon\beta u^2 + (\phi^2 - 1) [-3\phi^2 - 1] \epsilon^2\beta^2 u^4 + \\
& (\phi^2 - 1)(-4)\phi\epsilon^3\beta |\nabla u|^2 - \frac{1}{2}\varrho_u |\nabla\phi|^2 - \frac{1}{2}\varrho_\phi (|\nabla\phi|^2 + 2\phi\nabla^2\phi) + \\
& \phi^2(-16)\epsilon^4\beta u\nabla_\alpha u\nabla_\alpha\phi - 8\phi^2\epsilon^3\beta u^2\nabla^2\phi - 4\phi\epsilon^3(\phi^2 - 1)\beta u\nabla^2 u\} \delta_{\alpha\beta} + \\
& (\phi^2 - 1) \left[\frac{\varrho_\phi}{\epsilon^2}(\phi^2 - 1) + 2(\phi^2 - 1)^2 - 8\phi\epsilon^2\nabla^2\phi \right] \hat{e}_\alpha\hat{e}_\beta + \\
& (\phi^2 - 1) [4(\phi^2 - 1)\epsilon^2\beta u\nabla_\beta u] \hat{e}_\alpha + \\
& (\phi^2 - 1) [2\epsilon\phi(\phi^2 - 1) + 2\epsilon^3\nabla^2\phi] Q_{\alpha\beta} + \\
& (\phi^2 - 1) [2(\phi^2 - 1)\epsilon^2\beta u^2] Q_{\alpha\beta}.
\end{aligned} \tag{A21}$$

Vemos que es posible escribir el tensor de esfuerzos en términos de funciones dependientes de ϕ , u y sus derivadas de la siguiente manera: sean F_i y G_i las funciones definidas por

$$\begin{aligned}
F_1(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi, \nabla^4\phi) = & (\phi^2 - 1) [\phi^2(-5\phi^2 + 1) + 2\phi(3\phi^2 - 1)\epsilon^2\nabla^2\phi + 12\phi^2(\phi^2 - 1)] - 2\phi\epsilon^4\nabla^4\phi + \\
& \epsilon^4(\nabla^2\phi)^2 - \frac{1}{2}\varrho_u |\nabla\phi|^2 - \frac{1}{2}\varrho_\phi (|\nabla\phi|^2 + 2\phi\nabla^2\phi),
\end{aligned} \tag{A22}$$

$$F_2(\phi, \nabla^2\phi) = (\phi^2 - 1) [4\phi^3 + 2\epsilon^2\nabla^2\phi + 4\phi] - 8\phi^2\epsilon^2\nabla^2\phi, \tag{A23}$$

$$F_3(\phi) = (\phi^2 - 1) [-3\phi^2 - 1], \tag{A24}$$

$$F_4(\phi) = (\phi^2 - 1)(16\epsilon\phi), \tag{A25}$$

$$F_5(\phi) = (\phi^2 - 1)(-4\epsilon^2\phi), \tag{A26}$$

$$G_1(\phi, \nabla^2 \phi) = (\phi^2 - 1) \left[\frac{\rho\phi}{\epsilon^2} (\phi^2 - 1) + 2(\phi^2 - 1)^2 - 8\phi\epsilon^2 \nabla^2 \phi \right], \quad (\text{A27})$$

$$G_2(\phi) = (\phi^2 - 1) [4\epsilon(\phi^2 - 1)], \quad (\text{A28})$$

$$G_3(\phi, \nabla^2 \phi) = (\phi^2 - 1) [2\epsilon\phi(\phi^2 - 1) + 2\epsilon^3 \nabla^2 \phi], \quad (\text{A29})$$

$$G_4(\phi) = (\phi^2 - 1) [2\epsilon(\phi^2 - 1)]. \quad (\text{A30})$$

Escribimos entonces

$$\begin{aligned} \sigma_{\alpha\beta} = & \{F_1(\phi, \nabla\phi, \nabla^2\phi, \nabla^4\phi) + \epsilon\beta u^2 (F_2(\phi, \nabla^2\phi) + F_3(\phi)\epsilon\beta u^2) + \epsilon^2\beta u F_4(\phi)\nabla_\beta u \hat{e}_\alpha + \\ & \epsilon\beta (F_5(\phi) |\nabla u|^2 + u F_5(\phi)\nabla^2 u)\} \delta_{\alpha\beta} + \\ & G_1(\phi, \nabla^2\phi) \hat{e}_\alpha \hat{e}_\beta + \epsilon^2\beta u G_2(\phi)\nabla_\beta u \hat{e}_\alpha + G_3(\phi, \nabla^2\phi) Q_{\alpha\beta} + \epsilon^2\beta u^2 G_4(\phi) Q_{\alpha\beta}. \end{aligned} \quad (\text{A31})$$

Nótese que la delta de Kronecker, $\delta_{\alpha\beta}$, define la presión hidrostática y que todas las funciones F_i y G_i contienen el factor $(\phi^2 - 1)$, lo cual indica que el tensor de esfuerzos actúa únicamente en la interfase. Nótese, además, que el tensor de curvatura y los términos que definen al plano tangente aparecen solamente fuera de la parte diagonal de $\sigma_{\alpha\beta}$ que define la presión hidrostática.

Apéndice B

Armónicos esféricos para un sistema de Turing

En esta sección derivamos la relación que existe entre las soluciones del sistema de reacción-difusión (2-50), que define al modelo químico, y los armónicos esféricos Υ_l^m , que serán definidos en esta sección. Para obtener las condiciones de inestabilidad conducida por difusión, es necesario hallar las soluciones de la ecuación de Helmholtz en coordenadas esféricas

$$\nabla^2 \mathbf{Y}(x) + k^2 \mathbf{Y}(x) = 0. \quad (\text{B1})$$

Aquí, el operador ∇^2 es el laplaciano esférico

$$\nabla^2 \mathbf{Y} = \frac{1}{r^2} (r^2 \mathbf{Y}_r)_r + \frac{1}{r^2} \left[\frac{1}{\sin^2 \theta} \mathbf{Y}_{\varphi\varphi} + \frac{1}{\sin \theta} (\sin \theta \mathbf{Y}_\theta)_\theta \right], \quad (\text{B2})$$

con $\theta \in [0, \pi]$, $\varphi \in [0, 2\pi]$.

Nos interesan solamente los patrones que puedan formarse en la superficie de la esfera, luego, consideramos la ecuación (B1) sólo en la superficie, fijando el radio r . En ese caso, se tiene que $\mathbf{Y}_r = 0$ y el laplaciano es

$$\nabla^2 \mathbf{Y} = \frac{1}{\sin^2 \theta} \mathbf{Y}_{\varphi\varphi} + \frac{1}{\sin \theta} (\sin \theta \mathbf{Y}_\theta)_\theta, \quad (\text{B3})$$

Nos interesa resolver la ecuación de Helmholtz con condiciones de frontera periódicas para φ y condiciones acotadas para $\theta = 0, \pi$. Las soluciones de (B1) con el laplaciano (B3)

se conocen como armónicos esféricos. Obsérvese que (B1) es lineal, luego, sus soluciones pueden hallarse por el método de separación de variables:

$$T(\theta, \varphi) = T(\theta)F(\varphi). \quad (\text{B4})$$

El operador laplaciano esférico (B3) se escribe entonces como

$$\nabla^2 \mathbf{Y} = \frac{1}{\sin^2 \theta} T F'' + \frac{1}{\sin \theta} (\sin \theta T' F)_\theta. \quad (\text{B5})$$

Por otro lado, la ecuación de Helmholtz se puede expresar como

$$\frac{1}{\sin^2 \theta} T F'' + \frac{1}{\sin \theta} (T' F)_\theta + k^2 T F = 0. \quad (\text{B6})$$

Dividiendo ambos lados de la ecuación por $T F / \sin^2 \theta$ se tiene

$$\frac{F''}{F} + \frac{\sin \theta (\sin \theta T')_\theta}{T} + k^2 \sin^2 \theta = 0. \quad (\text{B7})$$

El primer sumando es una función de φ , mientras que los demás términos son funciones de θ . Luego, ambos deben ser iguales a una constante $-\lambda$ y, por lo tanto, se obtiene un conjunto de dos ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$F'' + \lambda F = 0. \quad (\text{B8})$$

donde F es 2π -periódica, y

$$\frac{\sin \theta (\sin \theta T')_\theta}{T} + k^2 \sin^2 \theta + \lambda = 0, \quad (\text{B9})$$

con T finita en $\theta = 0, \pi$.

Las soluciones de la primera ecuación son las eigen-funciones

$$F(\varphi) = A e^{im\varphi} + B e^{-im\varphi}, \quad (\text{B10})$$

donde $\lambda = m^2$ son los eigenvalores ($m = 0, 1, 2, \dots$).

Con ello, la ecuación para T puede escribirse como

$$\frac{(\sin \theta T')_\theta}{\sin \theta} + \left(k^2 - \frac{m^2}{\sin^2 \theta} \right) T = 0. \quad (\text{B11})$$

Sea $s = \cos \theta$. La ecuación diferencial de T puede reescribirse entonces como

$$((1-s)^2 T_s)_s + \left(k^2 - \frac{m^2}{1-s^2} \right) T = 0, \quad (\text{B12})$$

con $T(s)$ finito para $s = \pm 1$. Esta expresión se conoce como la ecuación de Legendre asociada, que puede resolverse por el método de series de potencias cuyos eigenvalores asociados son $k^2 = l(l+1)$, $l \in \mathbb{Z}$, $|m| \leq l$. Las eigenfunciones son las funciones de Legendre asociadas

$$P_l^m(s) = \frac{(-1)^m}{2^l l!} (1-s^2)^{m/2} \frac{d^{l+m}}{ds^{l+m}} \left((1-s^2)^l \right). \quad (\text{B13})$$

Agrupando, finalmente, se obtienen los armónicos esféricos:

$$\Upsilon_l^m(\theta, \varphi) = P_l^{|m|}(\cos \theta) e^{im\varphi}, \quad (\text{B14})$$

para $|m| \leq l$, y $0 \leq l \leq \infty$, con constantes de normalización

$$c_l^m = \int_0^\pi [P_l^m(\cos \theta)]^2 \sin \theta d\theta = \frac{2}{2l+1} \cdot \frac{(l+m)!}{(l-m)!}. \quad (\text{B15})$$

Bibliografía

- AIRY, H. On leaf-arrangement. *Proceedings of the Royal Society* **21**:176 (1873)
- ARAGÓN, J., TORRES, M., GIL, D., BARRIO, R., Y MAINI, P. Turing patterns with pentagonal symmetry. *Physical Review E* **65**:051913 (2002)
- BARRIO, R., VAREA, C., ARAGÓN, J., Y MAINI, P. A two-dimensional numerical study of spatial pattern formation in interacting Turing systems. *Bulletin of Mathematical Biology* **61**(3):483–505 (1999)
- BASKIN, T. Anisotropic expansion of the plant cell. *Annual Reviews of Cell and Developmental Biology* **21**:203–222 (2005)
- BERNAL, R., ROJAS, E., Y DUMAIS, J. The mechanics of tip growth morphogenesis: what we have learned from rubber balloons. *Journal of Mechanics of Materials and Structures* **2**(6):1157–1168 (2007)
- BHATIA, N., BOZORG, B., LARSSON, A., OHNO, C., JÖNSSON, H., Y HEISLER, M. Auxin acts through MONOPTEROS to regulate plant cell polarity and pattern phyllotaxis. *Current Biology* **26**:3202–3208 (2016)
- BRAVAIS, L. Y BRAVAIS, A. Essai sur la disposition des feuilles curvisries. *Annales des Sciences Naturelles Botanique* **7**:42–110 (1837)
- BRAYBROOK, S. Y PEAUCELLE, A. Mechano-Chemical Aspects of Organ Formation in *Arabidopsis thaliana*: The Relationship between Auxin and Pectin. *PLoS ONE* **8**(3) (2013)

- CAHN, J. Y HILLIARD, J. Free energy of a nonuniform system. I. Interfacial energy. *The Journal of Chemical Physics* **28** (1958)
- CAMPELO, F. Y HERNÁNDEZ-MACHADO, A. Dynamic model and stationary shapes of fluid vesicles. *The European Physical Journal E* **20**(1):37–45 (2006)
- CAMPELO, F. *Shapes in cells. Dynamic instabilities, morphology, and curvature in biological membranes*. Tesis Doctoral, Universitat de Barcelona (2008)
- CANHAM, P. The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human blood cell. *Journal of Theoretical Biology* (26):61–81 (1970)
- CARMO, M.D. *Differential geometry of curves and surfaces*. Prentice-Hall, New Jersey (1976)
- CHRISTENSEN, S., DAGENAIS, N., CHORY, J., Y WEIGEL, D. Regulation of auxin response by the protein kinase PINOID. *The Arabidopsis Book* **100**:469–478 (2000)
- COSGROVE, D. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **6**:850–861 (2005)
- DOUADY, S. Y COUDER, Y. Phyllotaxis as a dynamical self organizing process. Part I: The Spiral Modes Resulting from Time-periodic Iterations. *J. Theor. Biol.* **178**:255–274 (1996)
- DUMAIS, J. Y STEELE, C. New evidence for the role of mechanical forces in the shoot apical meristem. *Journal of Plant Growth Regulation* **19**:7–18 (2000)
- DUMAIS, J., SHAW, S., STEELE, C., LONG, S., Y RAY, P. An anisotropic-viscoplastic model of plant cell morphogenesis by tip growth. *The International Journal of Developmental Biology* **50**(2-3):209–222 (2006)
- FERARU, E., FERARU, M., KLEINE-VEHN, J., MARTINIERE, A., MOUILLE, G., VANNESTE, S., VERNHETTES, S., RUNIONS, J., Y FRIML, J. PIN polarity maintenance by the cell wall in Arabidopsis. *Current Biology* **21**:338–343 (2011)

- FLEMING, A., MCQUEEN-MASON, S., MANDEL, T., Y KUHLEMEIER, C. Induction of leaf primordia by the cell wall protein expansin. *Science* **276**:249–253 (1997)
- FRIML, J., BENKOV, E., BLILOU, I., WISNIEWSKA, J., HAMANN, T., LJUNG, K., WOODY, S., SANDBERG, G., SCHERES, B., JÜRGENS, G., Y PALME, K. AtPIN4 mediates skin-driven auxin gradients and root patterning in Arabidopsis. *Cell* **108**:661–673 (2002)
- FUNG, Y. *A First Course in Continuum Mechanics for Physical and Biological Engineers and Scientists*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ (1994)
- GJORGJIEVA, J. *Turing pattern dynamics for spatiotemporal models with growth and curvature*. Tesis Doctoral, Harvey Mudd College (2006)
- GREEN, P. Expression of form and pattern in plants - a role for biophysical fields. *Seminars in cell and developmental biology* **7**:903–911 (1996)
- GROOT, S.D. Y MAZUR, P. *Non-equilibrium thermodynamics*. Dover Publications, New York (1984)
- HAMANT, O. Y TRAAS, J. The mechanics behind plant development. *New Phytologist* **185**(2):369–385 (2010)
- HAMANT, O., TRAAS, J., Y BOUDAUD, A. Regulation of shape and patterning in plant development. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **20**:454–459 (2010)
- HEISLER, M., OHNO, C., DAS, P., SIEBER, P., REDDY, G., LONG, J., Y MEYEROWITZ, E. Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the Arabidopsis inflorescence meristem. *Current Biology* **15**:1899–1911 (2005)
- HEISLER, M., HAMANT, O., KRUPINSKI, P., UYTTEWAAL, M., OHNO, C., JÖNSSON, H., TRAAS, J., Y MEYEROWITZ, E. Alignment between PIN1 Polarity and Microtubule Orientation in the Shoot Apical Meristem Reveals a Tight Coupling between Morphogenesis and Auxin Transport. *PLoS Biology* **8**(10) (2010)

- HEJNOWICZ, Z. Growth distribution and cell arrangements in apical meristems. *Acta Soc Bot Pol* **XXIV**(3):583–608 (1955)
- HEJNOWICZ, Z. Differential growth resulting in the specification of different types of cellular architecture in root meristems. *Differential Growth in Plants* **29**(1):85–93 (1989)
- HEJNOWICZ, Z. Y ROMBERGER, J. Growth tensor of plant organs. *Journal of Theoretical Biology* **110**(1):93–114 (1984)
- HEJNOWICZ, Z., NAKIELSKI, J., Y HEJNOWICZ, K. Modeling of spatial variations of growth within apical domes by means of the growth tensor. II. Growth specified on dome surface. *Acta Soc Bot Pol* **53**(3):301–316 (1984)
- HELFRICH, W. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Z. Naturforsch* **28**:693–703 (1973)
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, V., RUEDA, D., CABALLERO, L., Y ALVAREZ-BUYLLA, E. Mechanical forces as information: an integrated approach to plant and animal development. *Frontiers in plant science* **5**:265 (2014)
- HOFMEISTER, W. *Allgemeine morphologie der Gewachse*. W. Engelmann, Leipzig, Germany (1868)
- HUSH, J., HAWES, C., Y OVERALL, R. Interphase microtubule re-orientation predicts new cell polarity in wounded pea roots. *Journal of Cell Science* **96**:47–61 (1990)
- JÖNSSON, H., MARCUS, G., SHAPIRO, B., BRUCE, E., MEYEROWITZ, E., Y MJOLNESS, E. An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**(5):1633–1638 (2006)
- KELLY, W. Y COOKE, T. Geometrical relationships specifying the phyllotactic pattern of aquatic plants. *American Journal of Botany* **90**:1131–1143 (2003)

- KIERZKOWSKI, D., NAKAYAMA, N., ROUTIER-KIERZKOWSKA, A., WEBER, A., BAYER, E., SCHORDERET, M., REINHARDT, D., KUHLEMEIER, C., Y SMITH, R. Elastic Domains Regulate Growth and Organogenesis in the Plant Shoot Apical Meristem. *Science* **335**(6072):1096–1099 (2012)
- KOCH, J. Y MEINHARDT, H. Biological pattern formation: from basic mechanisms to complex structures. *Reviews of Modern Physics* **66**:1481–1504 (1994)
- KUTSCHERA, U. Y NIKLAS, K. The epidermal-growth-control theory of stem elongation: an old and a new perspective. *J Plant Physiol* **164**(11):395–409 (2007)
- KWIATKOWSKA, D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments. *Am J Bot* **91**(9):1277–1293 (2004)
- KWIATKOWSKA, D. Flowering and apical meristem growth dynamics. *J. Exp. Bot.* **59**(2):187–201 (2008)
- LANDAU, L. Y LIFSHITZ, E. *Statistical Physics. Volume 5*. Butterworth-Heinemann, Oxford (1980)
- LÁZARO, G., PAGONABARRAGA, I., Y HERNÁNDEZ-MACHADO, A. Phase-field theories for mathematical modeling of biological membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* **185**:46–60 (2015)
- LEPPÄNEN, T. *Computational studies of pattern formation in Turing systems*. Tesis Doctoral, Helsinki University of Technology (2004)
- LIU, C., XU, Z., Y CHUAB, N. Auxin Polar Transport Is Essential for the Establishment of Bilateral Symmetry during Early Plant Embryogenesis. *Plant Cell* **5**:621–630 (1993)
- LJUNG, K., BHALERAO, R., Y SANDBERG, G. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in Arabidopsis during vegetative growth. *The Plant Journal* **28**(4):465–474 (2001)

- MATTSSON, J., CKURSHUMOVA, W., Y BERLETH, T. Auxin signaling in Arabidopsis leaf development. *Plant Physiology* **131** (2003)
- MICHNIEWICZ, M., BREWER, P., Y FRIML, J. Polar auxin transport and asymmetric auxin distribution. *The Arabidopsis Book* **5** (2007)
- MIRABET, V., DAS, P., BOUDAUD, A., Y HAMANT, O. The Role of Mechanical Forces in Plant Morphogenesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* **62**(1):365–385 (2013)
- MURRAY, J. *Mathematical Biology II: Spatial Models and Biomedical Applications*. Springer-Verlag, New York (1993)
- NAKIELSKI, J. Y HEJNOWICZ, Z. *The description of growth of plant organs: a continuous approach based on the growth tensor*. In: *Formal description of developing systems, NATO science series II*. Kluwer Academic, Dordrecht (2003)
- NIKLAS, K. Y SPATZ, H. *Plant physics*. The University of Chicago Press, Chicago (2012)
- PEAUCELLE, A., LOUVET, R., JOHANSEN, J., HFTE, H., LAUFS, P., PELLOUX, P., Y MOUILLE, G. Arabidopsis phyllotaxis is controlled by the methyl-esterification status of cell-wall pectins. *Curr. Biol.* **18**:1943–1948 (2008)
- PIEN, S., WYRZYKOWSKA, J., MCQUEEN-MASON, S., SMART, C., Y FLEMING, A. Local expression of expansin induces the entire process of leaf development and modifies leaf shape. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**:11812–11817 (2001)
- RAYLE, D. Y CLELAND, R. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol* **99**:1271–1274 (1992)
- REINHARDT, D., MANDEL, T., Y KUHLEMEIER, C. Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *The Plant Cell* **12**:507–518 (2000)
- REINHARDT, D., STIEGER, P., BALTENSPERGER, K., Y TRAAS, J. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature* **426**(6964):255–260 (2003)

- RIDLEY, J. Packing efficiency in sunflower heads. *Math. Bio.* **58**:129–139 (1981)
- SAFRAN, S. *Statistical Thermodynamics of Surfaces, Interfaces, and Membranes*. Frontiers in physics. Avalon Publishing (2003)
- SAMPATHKUMAR, A., YAN, A., KRUPINSKI, P., Y MEYEROWITZ, E. Physical forces regulate plant development and morphogenesis. *Current Biology* **24**:475–483 (2014)
- SAUNDERS, P. *Collected Works of A. M. Turing: Morphogenesis*, tomo 3. North Holland, P. T. Saunders ed., Amsterdam (1992)
- SCHIMPER, C. Beschreibung des Symphytum Zeyheri und seiner zwei deutschen Verwandten der *S. bulbosum*. *Geiger's Magazin für Pharmacie* **29**:1–92 (1830)
- SCHOPFER, P. Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening in vitro and in vivo: implications for the control of elongation growth. *The Plant Journal* **28**(6):679–688 (2001)
- SHANI, E., YANAI, O., Y ORI, N. The role of hormones in shoot apical meristem function. *Current Opinion in Plant Biology* **9**:484–489 (2006)
- SMITH, R., GUYOMARCH, S., MANDEL, T., REINHARDT, D., KUHLEMEIER, C., Y PRUSINKIEWICZ, P. A plausible model of phyllotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**(5):1301 (2006)
- STEELE, C. Shell stability related to pattern formation in plants. *Journal of Applied Mechanics* **67**:237–247 (2000)
- TAKADA, S., HIBARA, K., ISHIDA, T., Y TASAKA, M. The CUP-SHAPED COTYLEDON1 gene of *Arabidopsis* regulates shoot apical meristem formation. *Development* **128**:1127–1135 (2001)
- TRAAS, J. Phyllotaxis. *Development* **140**:249–253 (2013)
- TURING, A. The chemical basis of morphogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. London B* **237**(641):37–72 (1952)

- VIETEN, A., VANNESTE, S., WISNIEWSKA, J., BENKOV, E., BENJAMINS, R., BEECKMAN, T., LUSCHNIG, C., Y FRIML, J. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression. *Development* **132**:4521–4531 (2005)
- WOJTASZEK, P. *Mechanical Integration of Plant Cells and Plants*. Springer-Verlag, Berlin (2011)
- WOODWARD, A., , Y BARTEL, B. Auxin: regulation, action and interaction. *Annals of Botany* **95**:707–735 (2005)
- ZONIA, L. Y MUNNIK, T. Life under pressure: hydrostatic pressure in cell growth and function. *Trends in Plant Science* **12**:90–97 (2007)