



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Acople de redes de regulación de la diferenciación y el ciclo
celular: la raíz de *Arabidopsis thaliana* como modelo.

T E S I S

Que para obtener el título de

Biólogo

P R E S E N T A:

ARCINIEGA GONZÁLEZ JORGE ARTURO

DIRECTORA DE TESIS

Dra. María Elena Álvarez-Buylla Roces



Ciudad Universitaria, CD.MX., 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado.

1. Datos del alumno
Arciniega
González
Jorge Arturo
56 86 57 23
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
308071159
2. Datos del tutor
Dra.
María
Elena
Álvarez-Buylla
Roces
3. Datos del sinodal 1
Dra.
María de la Paz
Sánchez
Jiménez
4. Datos del sinodal 2
Dra.
Elisa
Domínguez
Hüttinger
5. Datos del sinodal 3
Dra.
Elizabeth
Ortiz
Gutiérrez
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Mónica Lisette
García
Gómez
7. Datos del trabajo escrito
Acople de redes de regulación de la diferenciación y el ciclo celular: la raíz de *Arabidopsis thaliana* como modelo.
76 p
2019

A mis padres, gracias.

“La vida existe sólo en este momento, y este momento es infinito y eterno, porque el momento presente es infinitamente pequeño; antes de que podamos medirlo, se ha ido y, sin embargo, existe para siempre.”

Alan Watts

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mis padres por todo el apoyo brindado a lo largo de mi vida, por no permitirme desistir, por siempre tener las palabras adecuadas y sobre todo por darme amor y comprensión aún en los momentos más complicados. A mi madre Francisca González Galicia le agradezco infinitamente todos los abrazos que me dio cuando me sentía ir en picada y por no soltarme, a mi padre Francisco Arciniega Ramos le agradezco sus invaluable palabras y todos los consejos que me brindó en vida, a él le digo: < ¡Si se pudo! Gracias por los consejos que me diste, los llevo todos los días conmigo >.

También quiero darle las gracias a la Dra. Ma. Elena Álvarez-Buylla Roces por confiar en mi desde el principio, por haberme brindado su apoyo y haberme dado la motivación cuando lo necesité.

CONTENIDO

Resumen	
Tabla de abreviaturas	
1. Introducción	1
a. Biología del desarrollo	2
b. Biología de sistemas	4
i. Redes genéticas	4
ii. Modelos booleanos autónomos y acoplados	5
c. La raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i> : Sistema modelo para estudiar la genética molecular del desarrollo	7
i. Desarrollo de <i>Arabidopsis thaliana</i>	7
ii. Emergencia del meristemo apical la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i> y su patrón morfogenético	10
iii. Diferenciación celular y mantenimiento del meristemo apical la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	14
iv. Proliferación celular	16
2. Antecedentes	18
a. Modelo de red de la diferenciación celular a lo largo del eje apico-basal de la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	18
b. Modelo de red del ciclo celular en la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	19
c. Acoplando la diferenciación con el ciclo celular en el meristemo apical la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	20
3. Hipótesis	22
4. Objetivos	23
a. Objetivo general	23
b. Objetivos particulares	23
5. Metodología	24
a. Formalismo de una red booleana	24
b. Integración de un modelo booleano de diferenciación celular	26
6. Resultados	28
a. Tabla de interacciones	28
b. Supuestos del modelo	29
c. Reglas lógicas del modelo de las redes Booleanas acopladas de regulación de la proliferación y diferenciación celular	30
d. Atractores esperados	36
e. Atractores obtenidos	38
f. Análisis de mutantes	42
g. Análisis de Derrida	51
7. Discusión	53
8. Conclusiones	57
9. Apéndices	59
Referencias	61

Resumen

La proliferación y la diferenciación celular son procesos celulares altamente intrincados con un fuerte impacto en la emergencia de la forma orgánica, regulan dinámicamente el crecimiento de los órganos, la especificación de los tejidos y, finalmente, la morfostásis, *i.e.*, la tendencia a preservar la forma (Francis 2008). En *Arabidopsis thaliana* se han caracterizado, a través de la creación de organismos mutantes, los elementos genéticos y no genéticos que tienen un efecto sobre los patrones de diferenciación celular y aquellos que provocan cambios en la tasa proliferativa, ambos procesos estudiados aisladamente (Gutierrez 2005). Aunque los datos experimentales se encuentran disponibles, poco se ha hecho para estudiar sistémicamente la relación entre ambos procesos en la morfostásis de su meristemo apical. Para ello, es indispensable caracterizar la manera en que los elementos de la diferenciación celular están acoplados con los elementos del ciclo celular y cómo se comportan sistémica y dinámicamente a lo largo del eje apico-basal del meristemo apical de *Arabidopsis thaliana*.

El actual trabajo comprende una revisión de los datos experimentales disponibles para definir y formalizar las interacciones funcionales en álgebra booleana que unen el modelo booleano de (García-Gómez et al. 2017), que caracteriza los perfiles de expresión de los tejidos en el meristemo apical de *Arabidopsis thaliana* asociados a las hormonas auxina y citocinina, con el modelo booleano que describe las cuatro fases del ciclo celular propuesto en (Ortiz-Gutiérrez et al. 2015).

Esta investigación se llevó a cabo con el formalismo de redes de regulación genética booleanas y utilizando, para su análisis, el paquete *BoolNet* (Müssel et al. 2010) disponible para el entorno de programación estadística R (www.r-project.org).

Se encontraron y formalizaron 19 interacciones funcionales que unen ambos modelos obteniéndose una red de booleana de 32 elementos. Se recuperaron los perfiles de expresión que caracterizan al centro quiescente, las células iniciales del córtex/endodermis, la columela, células iniciales de la vasculatura central y periférica, células de la vasculatura central en la zona proliferativa y de transición, y finalmente, las células de la vasculatura periférica en la zona de transición. Así mismo, se recuperaron dos perfiles de expresión que caracterizan el proceso endorreduplicativo, el primero mostró concordancia con la región distal y el segundo con la región proximal de la zona de transición del meristemo apical. El modelo construido se validó con las simulaciones de ganancia y pérdida de función de cada elemento que conforma la red y se encontró que 26/64 simulaciones recuperaron lo reportado en la literatura, 15/64 simulaciones recuperaron parcialmente el fenotipo asociado a su alteración, 19/64 simulaciones no son comparables con los resultados del modelo porque los fenotipos asociados a las alteraciones tienen un fenotipo multicelular y 4/64 simulaciones no recuperaron el fenotipo reportado en los experimentos. Sin embargo, en las simulaciones donde no fue posible equiparar los fenotipos, se hallaron predicciones, entre ellas, la pérdida de función de MYB3R1/4, CYCB1;1, CDKB1;1 y CYCD6;1 no recuperaron el perfil que describe el centro quiescente.

Este modelo nos permite evaluar sistémicamente las interacciones dinámicas que existen entre los elementos moleculares descritos para el proceso de proliferación y diferenciación celular involucrados en la morfostásis del meristemo apical de *Arabidopsis thaliana*.

Tabla de abreviaturas

A. thaliana	Arabidopsis thaliana
FT	Factor transcripcional
SAM	Meristemo apical del vástago aéreo
RAM	Meristemo apical de la raíz
miRNA	Micro RNA
ZP	Zona proliferativa
ZT	Zona de transición
ZE	Zona de elongación
ZD	Zona de diferenciación
NCTs	Nicho de células troncales
CQ	Centro quiescente
C/Ei	Células iniciales del córtex/endodermis
Vi	Células iniciales de la vasculatura
Ep/Co	Células iniciales de la epidermis/cofia lateral
Ci	Células iniciales de la columela
P.Vi	Células iniciales de la vasculatura periférica
P.prov	Provasculatura periférica
C.Vi	Células iniciales de la vasculatura central
C.prov	Provasculatura central
End	Endodermis
PF	Perdida de función
GF	Ganancia de función

*“We don't want to focus on the trees
(or their leaves) at the expense of the forest”.*

- Douglas Hofstadter

1. Introducción

La emergencia de la multicelularidad condujo a un considerable aumento en la complejidad organizacional y regulatoria de los organismos. Este fenómeno permitió que distintos mecanismos regulatorios se acoplaran unos sobre otros a lo largo de la evolución, de modo que canalizaran la emergencia de patrones morfogenéticos (Knoll 2011; Nguyen et al. 2017; Niklas & Newman 2013). Entre los mecanismos regulatorios que permiten la emergencia de la forma orgánica se categorizan los bucles de interacción que se crean entre genes, proteínas, campos físicos y químicos en distintas escalas espaciales y temporales que, a su vez, modulan dos procesos importantes; la diferenciación y el ciclo celular.

Estos mecanismos, al estar acoplados, forman asas regulatorias que mantienen a las formas biológicas estables a lo largo del tiempo. Sin embargo, cambios en su dinámica provocan arreglos autoorganizados en dimensiones espaciales y temporales de la diferenciación y el ciclo celular, asegurando el mantenimiento de la dinámica y la morfología de los organismos (Augustin et al. 2009; Green et al. 2010; Guillot & Lecuit 2013). Entonces, entender los procesos sistémicos que subyacen tras la emergencia de la forma orgánica implican estudiar y abstraer los elementos genéticos, proteicos, químicos y físicos que están coordinados en distintas escalas durante la diferenciación, el ciclo celular y por tanto, en la morfogénesis (Lesne & Bourguine 2011).

Este trabajo aborda la escala de redes genéticas regulatorias intracelulares con el fin de entender la manera en que la diferenciación está vinculada con el ciclo celular y viceversa en el contexto de la raíz de la planta *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*). Ambos procesos celulares son relevantes en la emergencia y mantenimiento de la forma de los organismos multicelulares, por un lado, el ciclo celular auto limita la tasa de crecimiento de las estructuras que constituyen al organismo, y por otro, la diferenciación celular les otorga especialización funcional a dichas estructuras emergiendo así, los patrones morfogenéticos (Fleming 2006; Gutierrez 2005).

En *A. thaliana* se han descrito, a través de la caracterización de mutantes, los elementos genéticos y no genéticos que provocan variaciones en los patrones de diferenciación o en la tasa proliferativa, ver por ejemplo (Dewitte & Murray 2003; Francis 2008; Inzé & De Veylder 2006; Sarkar et al. 2007; Sparks et al. 2013; Stahl et al. 2009). Sin embargo, dichos elementos no se han integrado en un modelo que permita para caracterizar, explorar y comprender sistémicamente la manera en que ambos procesos se afectan y autorregulan cuando se alteran los elementos de alguno de estos procesos y cómo son responsables de la emergencia de los patrones proliferativos y de diferenciación celular en el meristemo apical de su raíz principal.

El estudio sistémico de los procesos que originan los patrones morfogenéticos requiere la construcción de modelos matemáticos-computacionales que permitan la integración de los distintos componentes que estén tomando papeles clave en su emergencia, sus restricciones, su dinámica, su invariancia y su evolución en el tiempo (Bornholdt 2008; Fozard et al. 2013; Honda & Nagai 2015; Prusinkiewicz & Runions 2012).

a. Biología del desarrollo

La biología del desarrollo, en términos amplios, estudia las causas próximas y últimas que provocan la emergencia estructural, fisiológica y evolutiva de los organismos. Un objetivo importante de estudio, es tratar de caracterizar y entender los mecanismos que permiten el mapeo de los genotipos a los fenotipos, proceso importante en la generación, mantenimiento y evolución de los patrones en las formas biológicas (Gilbert 2013; W. Slack 2012). Dichos mecanismos implican la acción colectiva de múltiples elementos que interactúan de manera no lineal, produciendo comportamientos complejos que regulan los procesos de diferenciación celular y la morfogénesis en la escala celular, tisular y organísmica.

El *desarrollo* es la emergencia de las formas orgánicas a partir de un huevo fertilizado o cigoto (Hadjantonakis & Solnica-Krezel 2010). Involucra dos tipos de procesos, los implicados en: a) la diferenciación celular y en b) la organización celular en patrones espacio-temporales y estructuras tridimensionales que en conjunto se conocen como procesos morfogenéticos. Algunas preguntas fundamentales de la biología del desarrollo incluyen: 1) ¿Cómo un huevo fertilizado puede dar origen a toda la vastedad de tipos celulares?, 2) ¿Cómo las células se organizan en estructuras tridimensionales para generar una forma biológica?, 3) ¿Cómo se autoorganiza la proliferación y diferenciación celular, o el crecimiento de una célula particular?, 4) ¿Cómo los cambios en los mecanismos del desarrollo dan lugar a nuevas formas biológicas a lo largo de la evolución? y 5) ¿Cómo se integra la información ambiental en un sistema morfogenético a distintas escalas? (Gilbert 2013).

Los cambios fenotípicos que ocurren a lo largo del desarrollo del cigoto preceden un reordenamiento de los patrones de expresión genética que surgen como respuesta a variaciones en el microambiente circundante, a la comunicación celular y su posicionamiento en el espacio. De estos reordenamientos en la expresión genética emergen las especificaciones funcionales de cada tipo celular, de modo que, la coexistencia de distintos grupos celulares permite el surgimiento de estructuras multicelulares que adquieren funciones fisiológicas dentro de un organismo (Müller 1999).

Esta complejidad organizacional, estructural y dinámica no puede ser comprendida en términos de sus componentes individuales *i.e.*, genes, proteínas u hormonas, porque es consecuencia de la interacción colectiva entre todos los elementos que componen a las células. Del mismo modo, el arreglo espacial que estas adoptan resulta de a) la migración celular (ausente

en plantas), b) las interacciones célula-célula, c) la direccionalidad del crecimiento celular y d) el tipo de crecimiento celular *i.e.*, proliferación o endorreduplicación celular que son variaciones del ciclo celular (Edgar et al. 2014).

Estudios sobre el desarrollo embrionario en animales y plantas describen una relación entre la tasa y tipo de crecimiento con los procesos de diferenciación celular (Jakoby & Schnittger 2004; Myster & Duronio 2000; Pauklin & Vallier 2013). Esta relación varía con base en el fenotipo y el momento en el desarrollo, *e.g.*, la fase del ciclo celular en la que se encuentre una célula troncal influye en la adquisición del fenotipo (Jakoby & Schnittger 2004) y el tipo celular influye sobre el tipo de crecimiento. Por ejemplo, en plantas las células vasculares de la región proximal del meristemo apical son propensas a pasar por sucesivas rondas de endorreduplicación (De Jager et al. 2005). Esta evidencia nos indica fuertemente que la dinámica que define los fenotipos celulares y el ciclo celular están coordinados y que colectivamente definen la morfogénesis.

Dada la complejidad de los procesos de desarrollo se han usado herramientas matemáticas y computacionales para entender sus mecanismos sistémicos. También se han propuesto diversas teorías para abordar el problema de la morfogénesis. Por ejemplo, la teoría de los campos morfogenéticos propuesta por Alexander G. Gurwitsch en 1910 (Belousov et al. 1997), la cual postula que un grupo de células tienen la habilidad de responder a señales bioquímicas de manera discreta y de este modo, conducir al desarrollo de alguna estructura u órgano. Posteriormente, Wolpert enuncia su teoría de la información posicional en la que menciona que las células adquieren identidades posicionales como en un sistema de coordenadas y luego interpretan esta información de acuerdo con su constitución genética y su historia de desarrollo (Wolpert 1969). Un modelo clásico para estudiar la emergencia de patrones espacio-temporales aplicable al desarrollo es el de Alan Turing, con el cual se propone una base química para explicar la morfogénesis (Turing 1990). Los sistemas Lindenmayer, o también conocidos como sistemas-L, se plantean como una propuesta matemática para abordar topológicamente la comprensión de los patrones de desarrollo de las plantas (Lindenmayer 1975). Finalmente, los modelos de redes de regulación genética propuestos por Kauffman y la metáfora de Waddington del paisaje epigenético intentan dar una explicación sistémica y dinámica de cómo las células adquieren comportamientos discretos en un sistema morfogenético (Kauffman 1969b; Waddington 1975).

b. Biología de sistemas

La biología de sistemas ha surgido como respuesta a los métodos tradicionales de análisis y modelación en biología. Esta rama emergente trata de comprender a la complejidad de las formas vivas de manera holística, tomando como marco teórico-conceptual la teoría general de sistemas y la teoría de sistemas dinámicos (Thelen & Smith 2007; Von Bertalanffy 1968). Así, la biología de sistemas trata de caracterizar el comportamiento de diversos componentes que están comprometidos en algún fenómeno biológico como parte de un todo a través del tiempo y el espacio. El fin último de la biología de sistemas es entender y caracterizar la complejidad organizacional, el mantenimiento y la evolución de los sistemas biológicos.

Sui Huang ha dividido en cinco dominios al estudio de la complejidad de los sistemas biológicos: (1) complejidad molecular, (2) complejidad estructural, (3) complejidad temporal, (4) abstracción y emergencia, y finalmente (5) complejidad algorítmica (Huang & Wikswo 2006). Cada dimensión tiene sus propios objetivos, sus enfoques y herramientas para solucionar los retos en los que se ven embebidos. Así mismo, las dimensiones que propone Huang no son mutuamente excluyentes, sino que se sobreponen. En este sentido, la biología de sistemas no es sólo la incorporación de herramientas computacionales y el empleo del formalismo matemático, sino más que eso, es la abstracción de procesos modulares dentro de un sistema global, la categorización de elementos, procesos y comportamientos dentro y fuera del sistema.

Entender los procesos biológicos que conllevan hacia la emergencia de comportamientos macroscópicos observables, *i.e.*, procesos o atributos de las células que surgen a partir de la interacción entre sus elementos y/o otras células, requiere trabajo de abstracción, integración y creación simbólica para representar dichas cualidades en modelos matemáticos-computacionales. Los modelos son una parte integral del enfoque de biología de sistemas pues nos permiten abordar gráficamente el comportamiento de procesos biológicos, *e.g.*, proliferación, diferenciación, muerte y senescencia celular. Además, nos posibilitan la exploración de diversas condiciones a través de la manipulación de sus parámetros y finalmente, a consecuencia de esto, nos abre el camino hacia la creación de nuevas hipótesis que confirmen o refuten las existentes.

i. Redes genéticas

Las células se desarrollan en ambientes complejos. Perciben distintos tipos de señales y responden ante las variaciones ambientales, *i.e.*, cambios en la concentración de nutrientes, diferencias en la concentración de sales, modificaciones en los campos de presión mecánica y modificaciones en los campos hormonales (Lesne & Bourguin 2011). Estas señales son integradas a través de intrincadas redes de señalización intracelular que permiten la síntesis apropiada de enzimas, metabolitos, hormonas y factores transcripcionales (FTs) que regulan la respuesta de las células ante las variaciones ambientales.

Los FTs son relevantes en la respuesta que tienen las células ante modificaciones ambientales debido a su cualidad de unirse a segmentos del ADN y promover o reprimir la transcripción de genes, incluyendo genes que codifican para FTs. Esta interacción bidireccional entre FTs y genes forma complejas redes de regulación transcripcional (también denominadas redes de regulación genética) de las cuales, a partir de su dinámica, emergen los patrones de expresión genética, únicos para cada tipo y proceso celular. De modo que se pueden categorizar, a través de la relación entre patrones de expresión genética y la dinámica de la red regulatoria, los comportamientos celulares macroscópicos observables, *e.g.*, el crecimiento, la diferenciación, la migración, la muerte celular y la adquisición de una morfología, estableciendo una correspondencia entre el genotipo y el fenotipo (Peter & Davidson 2016).

Debido a la importancia de esta correspondencia en el establecimiento del fenotipo, poder caracterizar las redes de regulación genética en modelos matemáticos-computacionales se torna prioritario como el paso hacia el entendimiento de la dinámica intracelular. Con tal finalidad, Kauffman introduce los modelos de redes booleanas como una manera de caracterizar matemáticamente la dinámica de estas redes genéticas dentro de las células (Kauffman 1969b). En este tipo de modelos, las redes regulatorias se conceptualizan, con base en la teoría de grafos, como una red compuesta por elementos interactuantes: dicha red formaliza la manera en que un conjunto de distintos elementos (\mathcal{N}), también llamados *nodos*, se influyen mutuamente a través de la modalidad de sus interacciones, *e.g.*, positiva o negativamente. La información capturada en este tipo de redes establece la topología de la red. Debido a que las diversas entradas de señales que arriban a cada nodo determinan su estado de expresión, a cada elemento de la red se le asigna una *función* que caracteriza la manera en que cada nodo integra las señales *rio arriba* (entradas procedentes de K genes reguladores) y determina su estado final, *i.e.*, su salida. Esta integración de la modalidad de la interacción con una función de activación, se le denomina arquitectura de la red, la cual es necesaria para describir su dinámica o comportamiento a lo largo del tiempo (Huang & Kauffman 2012).

ii. Modelos booleanos autónomos y acoplados

Los primeros modelos anclados sobre datos experimentales con base en las observaciones de Kauffman se utilizaron para caracterizar la determinación de la polaridad de los segmentos en *Drosophila melanogaster* (Albert & Othmer 2003) y la determinación del destino celular en el desarrollo de las flores y el desarrollo de los pelos radiculares en *A. thaliana* (Espinosa-Soto 2004; Mendoza & Alvarez-Buylla 2000). La relevancia de estos trabajos yace sobre la reproducibilidad de los datos que reflejan los patrones de expresión genética característicos para cada fenotipo celular tanto en plantas como animales y la exploración de hipótesis relacionadas a su fenomenología (Mendoza & Alvarez-Buylla 2000; von Dassow et al. 2000).

Estos modelos reflejan los primeros esfuerzos por categorizar conjuntos de elementos regulatorios involucrados en la diferenciación celular en ciertas regiones de los organismos

modelo, reforzando la idea sobre la existencia de *módulos regulatorios* como un nivel de organización biológica (Hartwell et al. 1999). Estos módulos se conectan de manera no lineal y se regulan mutuamente, dando lugar a la emergencia de estructuras morfológicas (Bolker 2000). Debido a esto, el acople entre módulos regulatorios o redes genéticas que describen procesos celulares toma un papel importante para entender la morfogénesis y, por tanto, las constricciones que su dinámica impone al *desarrollo*.

c. La raíz de *Arabidopsis thaliana*: Sistema modelo para estudiar la genética molecular del desarrollo.

Las raíces son esenciales en la percepción, adquisición de agua y nutrientes minerales, además de fijar la planta al sustrato. Así mismo, debido a su continuo crecimiento y desarrollo, la arquitectura y morfología de las raíces responden en gran medida a estímulos externos, *e.g.*, gravedad, campos de presión y gradientes químicos. Sin embargo, la caracterización de las raíces de diversas plantas se torna complicado debido a su naturaleza subterránea, su opacidad y a la pérdida de información como consecuencia de su extracción del medio natural (Warren et al. 2015). La planta *A. thaliana*, por otro lado, ha permitido la exploración de patrones del desarrollo y sus alteraciones al poseer raíces translúcidas, tener una organización celular relativamente simple, uno de los genomas vegetales más pequeños, un ciclo de vida corto, un tamaño pequeño y principalmente, se puede hacer crecer en platos de agarosa, un medio translúcido que permite su observación en tiempo real (Benfey et al. 1993; Schmuths et al. 2004; Xu et al. 2013). Todas estas características hacen de esta planta un organismo modelo adecuado para la investigación de procesos del desarrollo, desde su estructura espacial pasando por su fisiología, hasta llegar a la dinámica genética que yace en cada una de las células que constituye su forma.

i. Desarrollo de *A. thaliana*

El plan corporal de la planta es *relativamente* sencillo y muchos de sus rasgos estructurales se desarrollan postembríonicamente, esto permite adaptar su estructura global a las características del ambiente, de modo que se favorece la adquisición de recursos como la luz, el agua y se responde adecuadamente a las señales bióticas y abióticas. Esta plasticidad y dinamismo de su plan corporal es mediada en gran parte por la coordinación de las redes genéticas regulatorias que pertenecen a dos grupos de células troncales ubicadas en los ápices, también denominados *meristemos* (Clowes 1959; Perianez-Rodriguez et al. 2014).

El desarrollo de *A. thaliana* empieza con un evento de doble fecundación que resulta en la formación de una célula progenitora del endospermo y un cigoto que se elonga rápidamente para formar el futuro eje ápico-basal antes de que se produzca su primera división asimétrica. De esta primera división asimétrica, se crean dos células hijas de distinto tamaño: la *célula apical*, aquella que genera propiamente al embrión se origina a partir de la región citoplasmática del cigoto y tiene una síntesis activa de proteínas y la *célula basal*, la más grande, se origina de la región vacuolar y genera al suspensor a partir de una serie de divisiones transversales. El suspensor proyecta físicamente al embrión hacia el endospermo y lo provee de nutrientes y hormonas (Boscá 2011).

La primera división celular es muy importante porque a partir de ella se determinan los ejes de simetría y la orientación de las posteriores divisiones celulares (figura 1a-b). Por ello, en plantas con copias defectuosas del gen GNOM que no presentan las divisiones asimétricas del

zigoto, no se forma el eje ápico-basal en el embrión, lo que conlleva a una organización defectuosa de la raíz y del brote (Mayer et al. 1993). Después de la primera división asimétrica, la célula apical se somete a dos divisiones longitudinales, generando cuatro células del mismo tamaño, y continúa con una división anticlinal creando dos niveles, el superior y el inferior (estadio: octante) (figura 1C). Del nivel superior se generará el meristemo del vástago aéreo y los cotiledones, mientras que del nivel inferior se originará la raíz y el meristemo de la raíz. Posteriormente, todas las células de ambos niveles se dividen tangencialmente dando lugar a ocho células internas y ocho células externas (estadio: dermatógeno) (figura 1D). Esta división separa al protodermo (precursor de la epidermis) y los tejidos precursores de la vasculatura y de la raíz. Al término de este paso, las células protodermales se dividen anticlinalmente y las células internas longitudinalmente, mientras que la célula superior del suspensor forma la hipófisis, la cual se divide asimétricamente generando dos células pequeñas en forma de lente, la más pequeña es la precursora del centro quiescente (CQ) y la más grande de las células troncales distales del meristemo de la raíz (estadio: globular) (figura 1E). Después de una ronda de divisiones polarizadas comienza a ser distinguible que las células de la línea superior han formado dos protocotiledones simétricamente posicionados y las células de la línea inferior forman un cilindro con patrón radial. Cuando el embrión llega a más de cien células, y adquiere forma triangular debido a la proliferación en estos protocotiledones, anatómicamente se puede observar la provasculatura, el protodermo y el córtex (figura 1F). Las rondas de división y diferenciación celular siguen hasta alcanzar los estadios de corazón y torpedo (figura 1G y 1H), en este punto ya se pueden identificar los dos meristemos apicales, los cotiledones propiamente, la vasculatura radial y sus distintas capas (Capron et al. 2009; Souter & Lindsey 2000; West & Harada 1993).

Desde el estadio de corazón (figura 1G) se caracterizan tres regiones principales a lo largo del eje longitudinal del embrión: región apical, región central y región basal. Cada región tiene características morfológicas y dinámicas como consecuencia de la interacción de los elementos involucrados en sus redes genéticas y la interacción con gradientes hormonales. En la región apical se encuentran los cotiledones y el meristemo apical del vástago aéreo (SAM, *por sus siglas en inglés*), en la región central están los tejidos que darán origen a toda la vasculatura de la planta y finalmente en la región basal se ubica el meristemo apical de la raíz (RAM, *por sus siglas en inglés*). Del mismo modo, pero a lo largo del eje radial se clasifican tres capas: el protodermo, el meristemo fundamental y el procambium, tejidos que darán origen a la epidermis, el parénquima - colénquima y finalmente, el floema y xilema respectivamente (Capron et al. 2009; West & Harada 1993).

Dentro de la emergencia de la forma de una planta, los meristemos apicales juegan un papel clave. Dichos meristemos mantienen una población de células indiferenciadas y son fuente de nuevas células que producen nuevos tejidos. Existen dos meristemos principales: el apical de la raíz y el apical del vástago aéreo: el primero es fuente de todos los tejidos vasculares radiculares

que permiten, entre otras tantas cosas, la absorción de nutrientes, y el segundo es fuente de los órganos aéreos que se desarrollan después de la germinación (Nakajima & Benfey 2002).

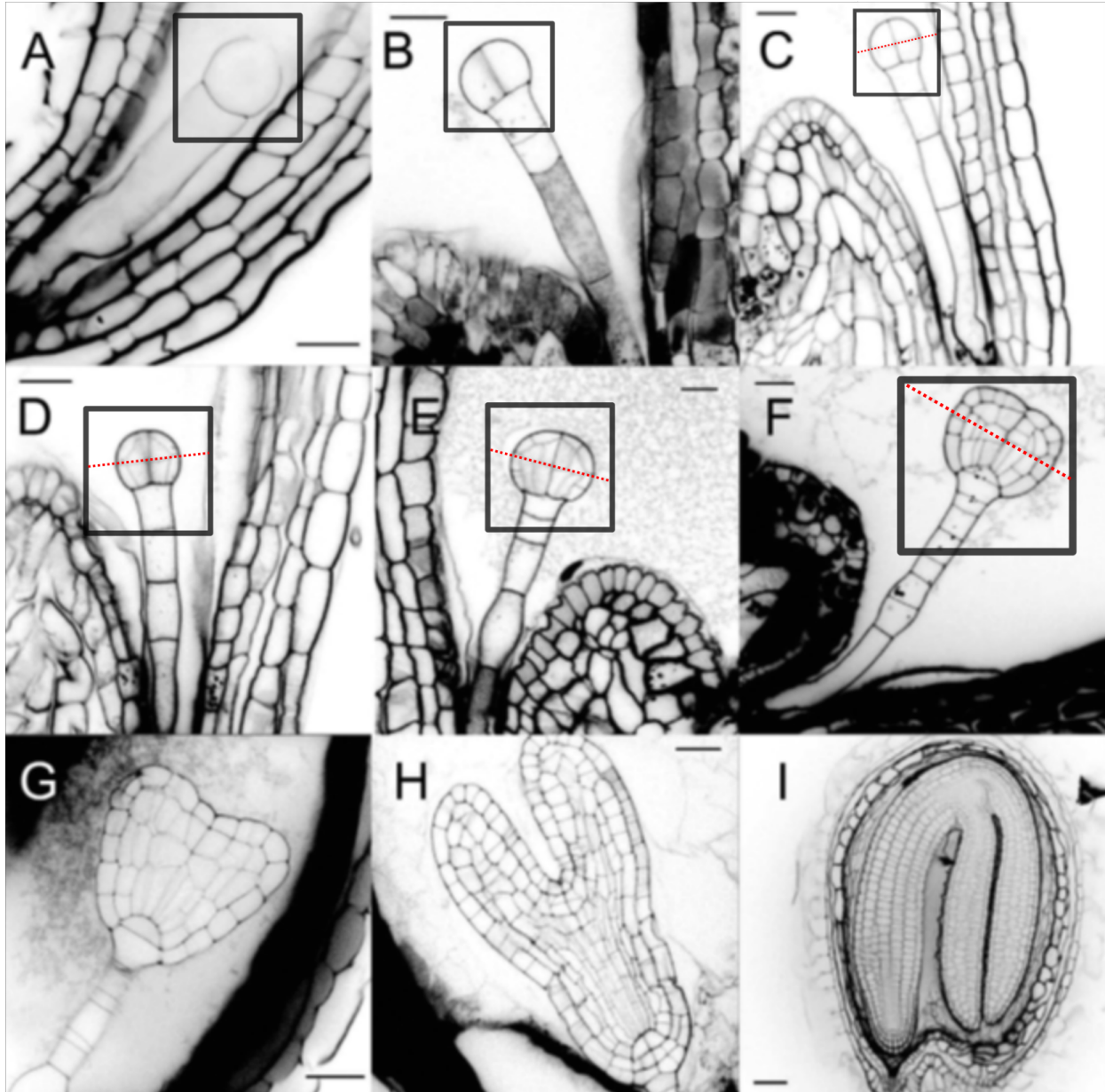


Figura 1. Estadios del embrión de *A. thaliana* a lo largo de su desarrollo, los recuadros negros delimitan al embrión y la línea roja divide los ejes apical y basal. a) embrión unicelular, b) Embrión con dos células, c) estadio octante, d) estadio dermatógeno, e) estadio globular temprano, f) estadio triangular, g) estadio corazón, h) estadio torpedo, i) etapa cotiledón. Las barras indican 5 μm en A, 10 μm en B, G y H, 15 μm en C y E, 20 μm en D y F, 50 μm en I. Tomada y modificada de J. Runions en (Capron et al. 2009).

ii. Emergencia del RAM de *A. thaliana* y su patrón morfogénético

A lo largo del desarrollo de *A. thaliana*, las interacciones locales e interacciones de larga distancia juegan un papel clave durante la emergencia de los patrones morfogénéticos. Dentro de las interacciones de larga distancia podemos integrar a las hormonas, cuyo rol es clave en la regulación de diferentes procesos de desarrollo de las células a lo largo de un campo morfogénético. Por otro lado, las interacciones locales mantienen en todo momento a las células comunicadas, estableciendo flujos de información positiva y negativa, *i.e.*, activando o reprimiendo cascadas de señalización que están mediando la estabilidad estructural y fisiológica de la planta. En las interacciones locales podemos categorizar a la comunicación célula-célula vía plasmodesmos, estructuras que mantienen un continuo citoplasmático entre células y que, además, controlan el tráfico de moléculas entre ellas mismas (Van Norman et al. 2011). Como veremos más adelante, ambos tipos de interacciones están mediando los patrones de diferenciación y proliferación de las células a lo largo del meristemo de la raíz de *A. thaliana*.

La determinación de la raíz se puede trazar una vez que han sido separados anatómicamente el nivel superior e inferior de la planta durante su embriogénesis, *i.e.*, se ha establecido el eje ápico-basal (figura 1D). La emergencia del eje ápico-basal es consecuencia de la expresión diferencial que expresa una misma red genética regulatoria y a la existencia de una mutua exclusión entre elementos regulatorios. En las células superiores se expresa el FT RELATED HOMEBOX 2 (WOX2), necesario para una correcta división de las células del protodermo y las células internas, mientras que en las células inferiores se expresan los FTs WUSCHEL RELATED HOMEBOX 8 Y 9 (WOX8/9), relacionados con la correcta expresión de las proteínas PIN-FORMED1 (PIN1), de este modo, WOX8/9 contribuyen indirectamente en la correcta orientación de las divisiones celulares y en la generación de una direccionalidad de la hormona auxina. Adicionalmente, la expresión de WOX2 en plantas mutantes para *wox8* y *wox9* provoca la reducción de la asimetría ápico-basal y promueve características del dominio apical en el dominio basal (Breuninger et al. 2008; Capron et al. 2009; Ueda et al. 2011). Paralelamente, dos familias de FTs influyen en la determinación de la polaridad de la planta. Por un lado, la familia de FTs HD-ZIP-III regula la formación del meristemo del vástago aéreo y el dominio-AP2-PLETHORA (PLT) regula el desarrollo del dominio basal del embrión, *i.e.*, el RAM y el nicho de células troncales (Smith & Long 2010). La expresión de ambas familias es mutuamente excluyente y sus dominios de expresión están determinados, a la vez, por otro grupo de elementos regulatorios. La familia HD-ZIP III está controlada por los microRNAs 165/166 (miRNA 165/166) y la familia PLT está regulada por el gen TOPLESS (TPL) (Grigg et al. 2009). En plantas mutantes para el gen *tpl*, los genes PLT1 y PLT2 son expresados ectópicamente en ambos polos del embrión, produciendo plantas con doble raíz (Long et al. 2006). Opuestamente, una expresión ectópica de la familia HD-ZIP-III provoca una transformación de la región basal en otro MAV, de modo tal, que el embrión posee

doble dominio apical (Grigg et al. 2009). El dominio basal del embrión, al tener transcripcionalmente activa la familia PLT, permite la expresión del gen de respuesta a auxina 5 MONOPTEROS (ARF5/MP) que, consecuentemente, induce la determinación de la hipófisis a través de la activación del gen TARGET OF MONOPTEROS 7 (TMO7). Plantas con el gen mutado *mp* no son capaces de desarrollar raíces debido a una división aberrante de la hipófisis durante los estadios tempranos de su embriogénesis. MP también activa a TARGET OF MONOPTEROS 5 (TMO5), que codifica para un factor transcripcional bLHL, en las células iniciales de la vasculatura. TMO5 heterodimeriza con otra proteína del tipo bLHL llamada LONESOME HIGHWAY (LHW) (Hardtke & Berleth 1998; Möller 2012; Schlereth et al. 2010). El dímero estimula las divisiones orientadas periclinalmente durante el desarrollo de la vasculatura en estadios tempranos de la embriogénesis, contribuyendo al establecimiento de los patrones correctos del haz vascular.

Una vez establecida la raíz principal en la región distal de la planta, esta comienza a crecer y a autoorganizarse en una estructura cilíndrica como consecuencia de la dinámica entre las asas de retroalimentación moleculares en conjunto con campos físicos y gradientes hormonales (Bassel et al. 2014; Capron et al. 2009). De manera que las tasas de división celular, las características histológicas y químicas de las células de la raíz que emergen de esta interacción dinámica determinan las cuatro zonas que se han categorizado a lo largo del eje ápico-basal de la raíz; zona meristemática o proliferativa (ZP), zona de transición (ZT), zona de elongación (ZE) y finalmente, la zona de diferenciación (ZD), cada zona se caracteriza por poseer células que están en distintos estados proliferativos y de diferenciación celular (figura 2a) (Jacobs 1997; Verbelen et al. 2006). El RAM, estructura subterránea involucrada en el crecimiento continuo y en la morfostásis, anatómicamente comprende el nicho de células troncales (NCTs), la ZP y la ZT (figura 2b). Cada región posee patrones morfológicos propios a consecuencia de su organización celular inicial, la orientación y la tasa a la cual ocurren las divisiones celulares (Ivanov 2007). De manera longitudinal, en la región distal del RAM se encuentra el NCTs, este nicho está compuesto de cuatro a ocho células troncales centrales que forman el centro quiescente (CQ), análogo al organizador central del vástago aéreo, y otro grupo de células circundando al CQ, denominadas células iniciales. La organización espacial de las células iniciales dentro del NCTs influye en la determinación de los tejidos de la raíz y sus nombres están relacionados de acuerdo con el tejido al que darán origen. Tomando como referencia al CQ, obtenemos que, basalmente de izquierda a derecha, se encuentran las células iniciales del córtex-endodermis (C/Ei) y las células iniciales de la vasculatura (Vi), apicalmente de izquierda a derecha se ubican las células iniciales de la epidermis-cofia lateral (Ep/Co) y las células iniciales de la columela (Ci) (figura 3). Las progenies de las células iniciales son desplazadas hacia los distintos dominios como resultado de sus divisiones anticlinales: la progenie de las células Ci son desplazadas apicalmente y forman la columela, estructura que protege la parte distal de la ZP, la progenie de las células Ep/Co se desplazan apical y lateralmente, estas células se dividen asimétricamente dando origen a la cofia lateral y al tejido epidérmico. Por otro lado, las progenies de las células C/Ei y Vi son

desplazadas basalmente hacia la ZP. Las C/Ei se someten a divisiones asimétricas, estableciendo los linajes que darán origen al tejido del córtex y la endodermis y las Vi a los tejidos vasculares, *e.g.*, estela (Clowes 1953, 1959; Dolan et al. 1993). Las células de la ZP se caracterizan por expresar ciclina B1 (CYCB1:1), *i.e.*, están pasando por diversas rondas del ciclo celular y, por tanto, están en estado proliferativo, poseen una geometría cuboide y un núcleo proporcionalmente grande. Estas células provienen del NCTs (figura 3)(Baluška & Mancuso 2013; Capron et al. 2009; Ivanov & Dubrovsky 2013). En la ZT las células son altamente sensibles a diversos factores ambientales, *e.g.*, la luz, la gravedad y la humedad, su crecimiento es lento, poseen una forma isodiamétrica, la posición del núcleo es central. Las células ubicadas en la región proximal de la ZT tienen la capacidad de transitar hacia la fase rápida de elongación, mientras que las células de la parte distal de la ZT hacia el ciclo celular (Baluška & Mancuso 2013). Estos procesos de auto-organización tisular emergen de la retroalimentación entre los mecanismos sistémicos y dinámicos del desarrollo con el ambiente, de tal modo que, las células de esta región se ajustan a las demandas ambientales variando la velocidad y la dirección de su crecimiento (Baluška & Mancuso 2013; Hemerly et al. 1995). La ZE contiene células que han entrado a una variación del ciclo celular llamada ciclo endorreduplicativo, *i.e.*, oscilan entre una fase Gap (G) y una de Síntesis (S) del ciclo celular sin pasar por la fase de mitosis (M), poseen vacuolas que ocupan el 90% de su tamaño y su núcleo se ubica adosado a la pared celular (Hayashi et al. 2013; Ivanov & Dubrovsky 2013). Finalmente, las células transitan hacia la ZD, sitio en el cual las células adquieren características morfológicas de los tejidos diferenciados que constituyen la estructura radial de la raíz. Así mismo, en este dominio se observa el desarrollo de raíces laterales que provienen del periciclo, estas estructuras son importantes en la adquisición de nutrientes y agua y por tanto, en el mantenimiento del crecimiento continuo de la planta (Ivanov & Dubrovsky 2013; Serna 2005).

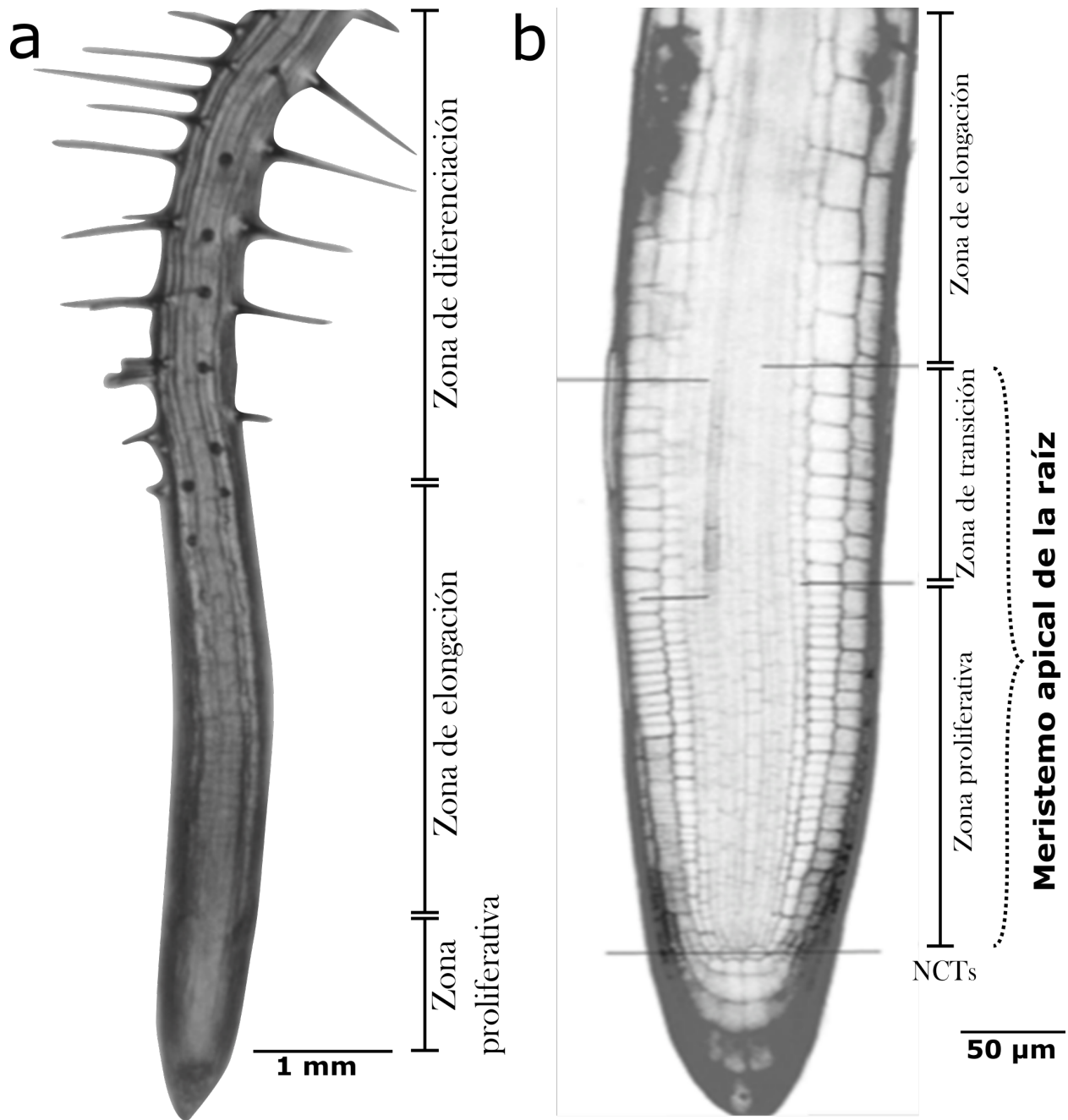


Figura 2. Anatomía de la raíz de *A. thaliana*. Izquierda: Fotografía del eje longitudinal de la raíz donde se muestran las tres zonas; zona de proliferación, zona de elongación y zona de diferenciación. Derecha: Corte longitudinal del RAM, se muestran sus tres zonas; proliferación, transición y elongación. Tomada y modificada de *Cellular patterning in the root epidermis* en (Eshel & Beekman 2013).

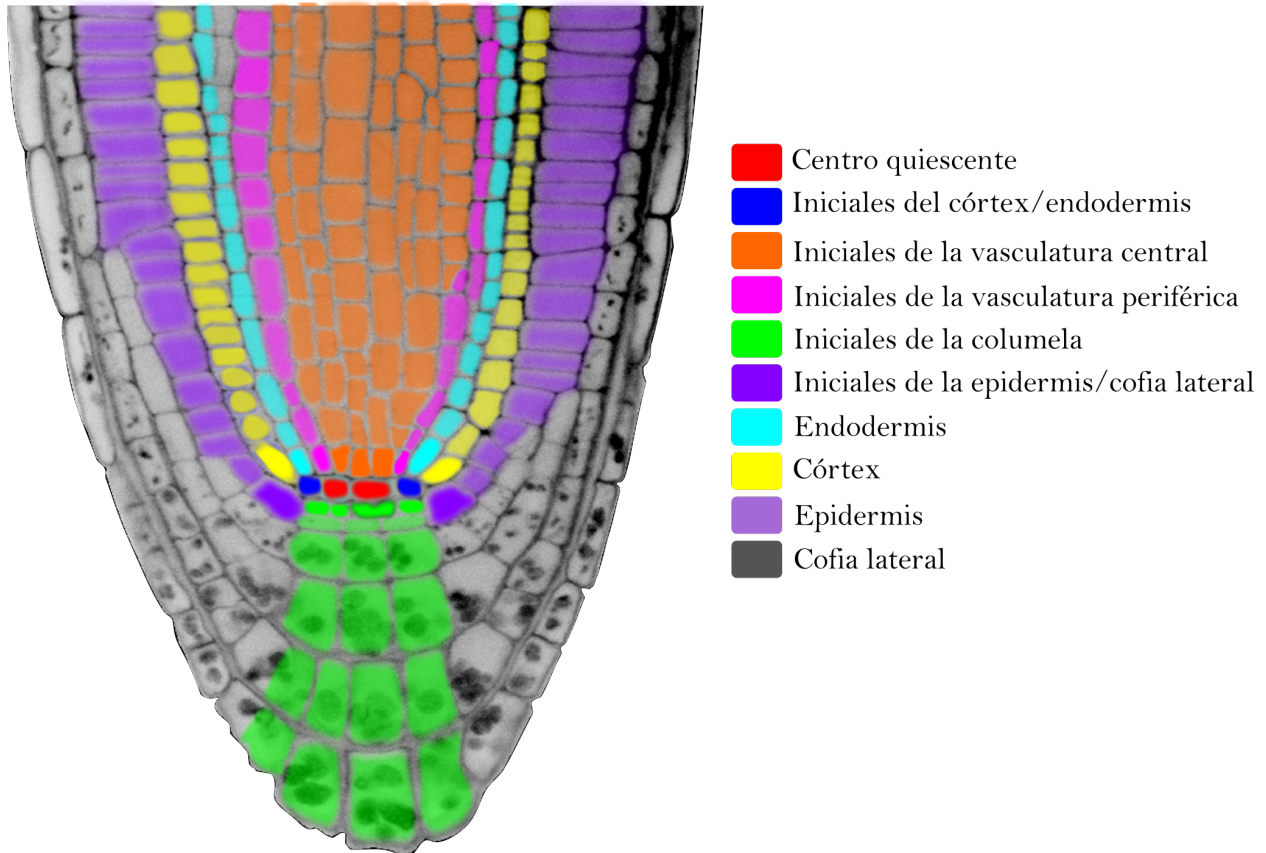


Figura 3. Anatomía del NCTs de *A. thaliana*. Corte longitudinal de la región distal del RAM, en él se muestra con colores fuertes las células iniciales que pertenecen al NCTs y en colores claros sus descendientes. Micrografía cortesía de Yamel Ugartechea Chirino (Laboratorio de *genética molecular, desarrollo y evolución de plantas* del IE, UNAM).

iii. Diferenciación celular y mantenimiento del RAM de *A. thaliana*

La emergencia del patrón morfogénico del RAM y su mantenimiento están ligados a la actividad concertada entre el metabolismo y señalización de hormonas, la dinámica regulatoria de FTs, microRNAs y péptidos móviles, entre otros mecanismos regulatorios y moleculares en retroalimentación con campos fisicoquímicos.

Entre los reguladores transcripcionales, los que pertenecen a la familia GRAS como SHORT ROOT (SHR) y SCARECROW (SCR), que en coordinación con otros elementos regulatorios determinan el patrón radial del RAM. SHR se expresa en la estela y su proteína difunde hacia la endodermis, al CQ y a las C/Ei, donde activa la transcripción de SCR (Sarkar et al. 2007). En estos sitios, la proteína se internaliza al núcleo mediante la formación de complejos con SCR y JACKDAW (JKD). Adicionalmente, JKD, otro FT de la familia GRAS, regula directamente la expresión de SCR y MAGPIE (MGP), debido a que se une a sus secuencias promotoras, sin embargo, JKD necesita la presencia de SHR, SCR y a MGP para un

efecto específico (Ogasawara et al. 2011; Welch et al. 2007). MGP se expresa en las C/Ei y en la endodermis, pero no en el CQ. De manera tal que, SHR, SCR, JKD y MGP son parte de las redes que subyacen tras la especificación del tejido endodermal y SHR, SCR y JKD al CQ en conjunto con otros elementos regulatorios (Sabatini et al. 2003; Sarkar et al. 2007). El complejo SHR/SCR, además, activa la expresión del micro RNA 165a y 166b (miRNA165a y miRNA166b respectivamente) en la endodermis, el cual difunde hacia la estela y promueve la degradación del mRNA del FT PHABULOSA (PHB), un FT de la familia HD-ZIP III. La supresión de PHB se requiere para la especificación del xilema y para la diferenciación del periciclo, del parénquima, colénquima y esclerénquima (Miyashima et al. 2011; Zhou et al. 2010). De manera paralela, las hormonas auxina y citocinina interactúan con la red regulatoria que participa en la especificación de tipos celulares en el desarrollo, siendo parte de los mecanismos sistémicos que subyacen la emergencia del patrón longitudinal de la raíz. Niveles altos de auxina especifican la ubicación del CQ y el NCTs, conforme sus niveles decrecen, se forma la ZP y la ZT (Gao & Zhao 2014), antagónicamente, niveles altos de citocinina empatan con la región distal de la columela, la ZT, la ZE y decrecen conforme nos acercamos al NCTs (Bianco et al. 2013). La auxina, a través de su vía canónica, en conjunto con los FTs de la familia GRAS especifica el CQ, al promover la expresión del FT WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 5 (WOX5) (Kong et al. 2015; Sabatini et al. 2003). El péptido CLAVATA 40 (CLE40) se expresa en la columela y en el tejido vascular maduro, este péptido delimita el dominio de expresión de WOX5 y su adición ectópica provoca la diferenciación de las células troncales determinando el balance entre Ci y células diferenciadas. (Stahl et al. 2009). Por otro lado, la citocinina ejerce su efecto al reducir los niveles de auxina en la ZT. La citocinina promueve la expresión del gen SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2/IAA3), la cual inhibe a las proteínas PIN-FORMED (PINs), involucradas en el transporte de auxinas, y a BREVIS RADIX (BRX) (Mouchel et al. 2004). BRX promueve positivamente la señalización de la auxina en la ZP a través de la regulación positiva de la proteína PIN3. Esta asa positiva aumenta la concentración de auxinas y promueve de la degradación de SHY2/IAA3. Adicionalmente, BRX es inducido por MONOPTEROS (MP), un FT que pertenece a la vía canónica de la auxina, de modo que, se forma un asa de retroalimentación positiva que mantiene un transporte polar de la auxina en la ZP (Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2010). Interesantemente, en la ZT se promueve la síntesis de citocinina a través de PHB, a su vez, la citocinina inhibe a PHB y a su represor, miRNA165a, formando un bucle incoherente. Se ha propuesto que la existencia de este bucle determina el balance entre las divisiones celulares y la diferenciación durante el desarrollo de la raíz, al mismo tiempo que provee de robustez ante fluctuaciones en la concentración de citocinina (Dello Ioio et al. 2012).

iv. Proliferación celular

Una pregunta clave en la biología del desarrollo es conocer y entender de qué manera las redes de regulación genética subyacentes a la proliferación y a la diferenciación celular están acopladas y cómo contribuyen en la emergencia, mantenimiento y arquitectura de los organismos. Las plantas no son la excepción, aunque debido a su continuo crecimiento y a su comportamiento sésil, han emergido estrategias regulatorias a nivel genético, molecular y tisular que le dan robustez a las tasas de proliferación a lo largo de las distintas zonas en el eje ápico-basal de la raíz (Levin 1978). Un ejemplo de estas estrategias es la existencia de la auxina, la cual regula gran proporción del genoma y es capaz de generar respuestas *rápidas* de FTs indicando que existen vías de señalización lo bastante cortas como para tener dicho efecto y promover comportamientos contexto-dependientes de las células al establecer comunicación continua a través de los plasmodesmos (Gao & Zhao 2014). En las plantas se ha desarrollado una red de interacción dinámica entre hormonas y redes de regulación genética muy intrincada que percibe las condiciones ambientales y su propio estado intracelular, se crean flujos de información que perturban los niveles de expresión de conjuntos de genes produciendo cambios celulares y tisulares, *e.g.*, la determinación del plano de división, la inducción de procesos de diferenciación celular y la modificación de la tasa proliferativa (Boer & Does 1990; Hejnowicz 1989).

Dentro de todo este conjunto de redes regulatorias, a lo largo de la evolución, en las plantas ha emergido un módulo genético sumamente intrincado que regula las oscilaciones de los componentes del ciclo celular. Esta red comparte muchas características con la de otros eucariontes porque compartieron un ancestro en común, sin embargo, existen componentes moleculares y asas de regulación específicas de las plantas. Dicha red, en coordinación con el ambiente nutricional, hormonal y de desarrollo, le confiere a la progresión del ciclo celular un comportamiento robusto ante perturbaciones ambientales (Meyerowitz 2002; Planchais et al. 2004).

El ciclo celular comprende cuatro fases secuencialmente ordenadas: 1) Gap 1 (G_1) periodo de crecimiento celular, 2) fase de síntesis donde ocurre la replicación cromosómica (S), 3) Gap 2 (G_2) en la que se revisa la integridad de los cromosomas y 4) se preparan para su segregación en mitosis (M). Diversas hormonas, *e.g.*, citocinina, auxina y brasinoesteroides, y factores de crecimiento, *e.g.*, sacarosa, son importantes reguladores de la transición de la fase G_1 a la S del ciclo celular. Estos factores promueven la expresión y la actividad de las ciclinas tipo D (CYCD) y las cinasas dependientes de ciclinas tipo A (CDKA). La CDKA forma dímeros con las CYCD, posteriormente, la activación del dímero proteico depende de una cinasa de activación de CDK (CAK) la cual fosforila la Thr160 de la CDK (Gutierrez et al. 2002; Inzé & De Veylder 2006). La actividad de las CDK es susceptible a regulación negativa por parte de los inhibidores de CDK, también llamados Kip-related proteins (KRPs) cuya expresión es positivamente regulada por el ácido absicico (ABA) (Verkest 2005; Wang et al. 1998). Los complejos CDKA/CYCD hiperfosforilan e inactivan a la proteína RETINOBLASTOMA-RELATED (RBR) a través del

motivo LxCxE de la CYCD. La hiperfosforilación de RBR permite la liberación de los FT E2F/DP y de esta manera promover la transcripción de los genes de la fase S. *A. thaliana* posee tres FT E2F típicos que pueden interactuar con RBR, estos son E2Fa y E2Fb que dimerizan con DPa, y E2Fc que dimeriza con DPb. E2Fa y E2Fb son reguladores positivos del ciclo celular, estimulan la expresión de la subunidades α de la ADN polimerasa, ORC, MCM y CDC6 permitiendo la ventana de transcripción de diversos FT para la fase G2 (Desvoyes et al. 2014; Gutierrez 2009; Shen 2002). Por otro lado, E2Fc es un regulador transcripcional negativo cuyo rol ha sido relacionado con la entrada al endociclo celular, aunado a esto, el mantenimiento de una concentración adecuada de este FT en el interior de la célula es llevada a cabo vía proteosoma a través de SCF^{SKP2A} (De Veylder et al. 2007; Polyn et al. 2015). De manera análoga a las KRPs, el complejo SCF actúa sobre los reguladores de la progresión del ciclo celular desde la fase tardía de G1 hasta la S. SCF a través de SKP2A degrada a E2Fc, finalmente a través de SKP2B degrada a KRP1 (del Pozo & Manzano 2014; Hirano et al. 2011; Ren et al. 2008). De tal modo que SCF permite, de manera indirecta, la activación de FTs para la progresión a la fase G2. En la fase G2, varios genes que son activados poseen la secuencia mitosis-specific activator (MSA) en su promotor, *e.g.*, ciclinas tipo B (CYCB) y algunas CYCA, la cual es reconocida por los FTs MYB3R. *A. thaliana* codifica para cinco MYB3R; MYB3R2, el cual está involucrado con el ciclo circadiano y los MYB3R1, 3, 4 Y 5 que han sido reportados en la regulación del ciclo celular. MYB3R1 y 4 activan la expresión de genes de la transición G2/M, tal es el caso de KNOLLE, requerido para una citocinesis adecuada. Durante esta fase se observan picos altos de CYCB, CDKA y CDKB los cuales forman complejos para la progresión del ciclo celular, estos complejos son degradados por APC/C y de este modo permitir la salida de la mitosis (Ambawat et al. 2013; Berckmans & De Veylder 2009; Tank & Thaker 2011; Vanstraelen et al. 2009).

2. Antecedentes

a. Modelo de red de la diferenciación celular a lo largo del eje ápico-basal de la raíz de *A. thaliana*

El modelo de regulación genética - hormonal propuesto en (Azpeitia et al. 2010, 2013) que describe la emergencia de las configuraciones de actividad de las células del NCTs en la raíz de *A. thaliana*. Adicionalmente, las zonas del RAM fueron descritos como perfiles de actividad hormonal en el modelo de (García-Gómez et al. 2017). En el trabajo de García-Gómez et. al., se modelaron 16 elementos regulatorios de la especificación celular a lo largo de las distintas zonas del RAM con datos de interacción molecular validados experimentalmente y de datos reportados de análisis bioinformáticos para la construcción de la red. Se obtuvieron 11 atractores de punto fijo que correlacionan con los patrones de expresión del CQ, endodermis en la ZP, vasculatura periférica y central en la ZP, endodermis en la ZT, vasculatura periférica y central en la ZT y la columela. La red se encuentra en la figura 4.

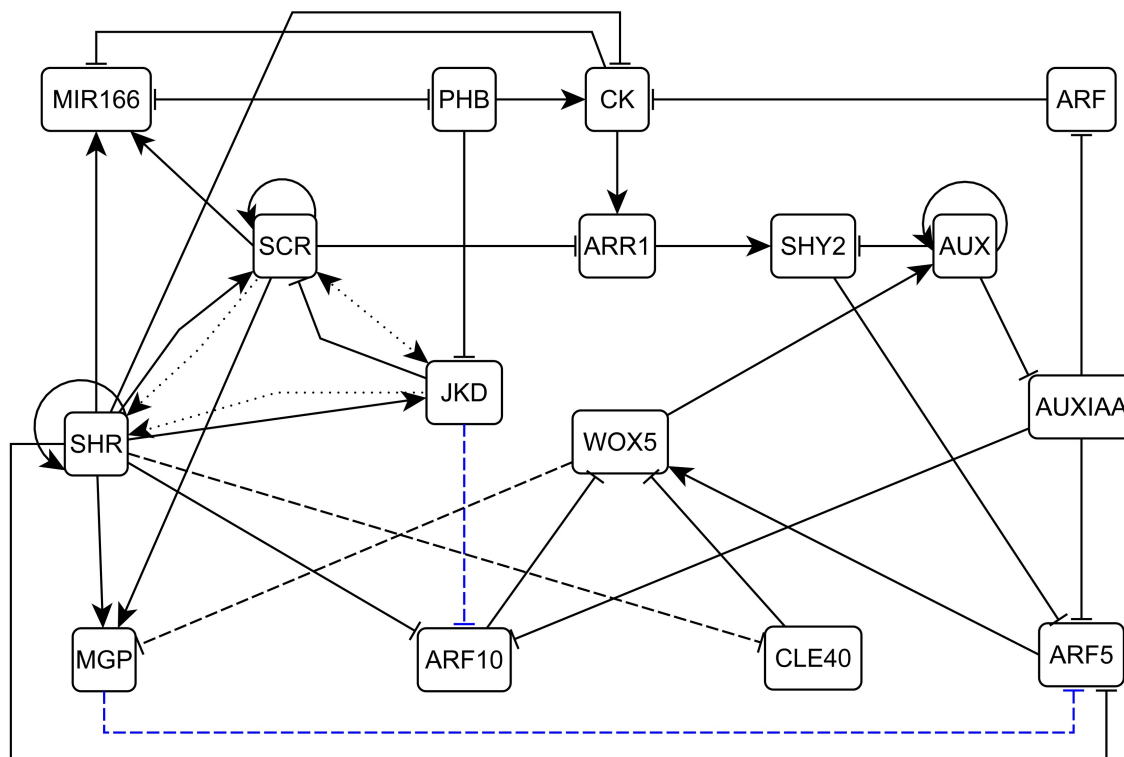


Figura 4. Red genética-hormonal que describe la actividad del meristemo apical de *A. thaliana*. Las líneas sólidas representan interacciones validadas con evidencia experimental, las líneas punteadas representan la regulación del movimiento de proteínas, las líneas rayadas indican interacciones hipotéticas. Imagen tomada de (García-Gómez et al. 2017).

b. Modelo de red del ciclo celular en la raíz de *A. thaliana*

La progresión del ciclo celular está altamente coordinada con la diferenciación celular y la formación de gradientes de hormonas en el RAM. La regulación genética - hormonal establece un equilibrio entre la proliferación y la diferenciación celular que permite un crecimiento sincronizado de las raíces. (Ortiz-Gutiérrez et al. 2015) propuso un modelo dinámico de los componentes moleculares regulatorios necesarios para la descripción del oscilador del ciclo celular en *A. thaliana* en el cual se integraron 14 elementos y 29 interacciones. La red se construyó mediante interacciones demostradas experimentalmente y por análisis bioinformáticos, así mismo, se incorporaron elementos regulatorios de otros organismos modelo. El modelo se corrió con el esquema de actualización síncrono obteniendo un atractor cíclico con 11 estados, estos representan el patrón de expresión observado en cada una de las fases del ciclo celular, *i.e.*, la fase G1, S, G2 y M. Además, se demostró, mediante la transformación de las funciones lógicas a ecuaciones diferenciales con lógica difusa, que las oscilaciones se mantenían y que no eran un artefacto debido al esquema de actualización del modelo discreto. La red se observa en la figura 5.

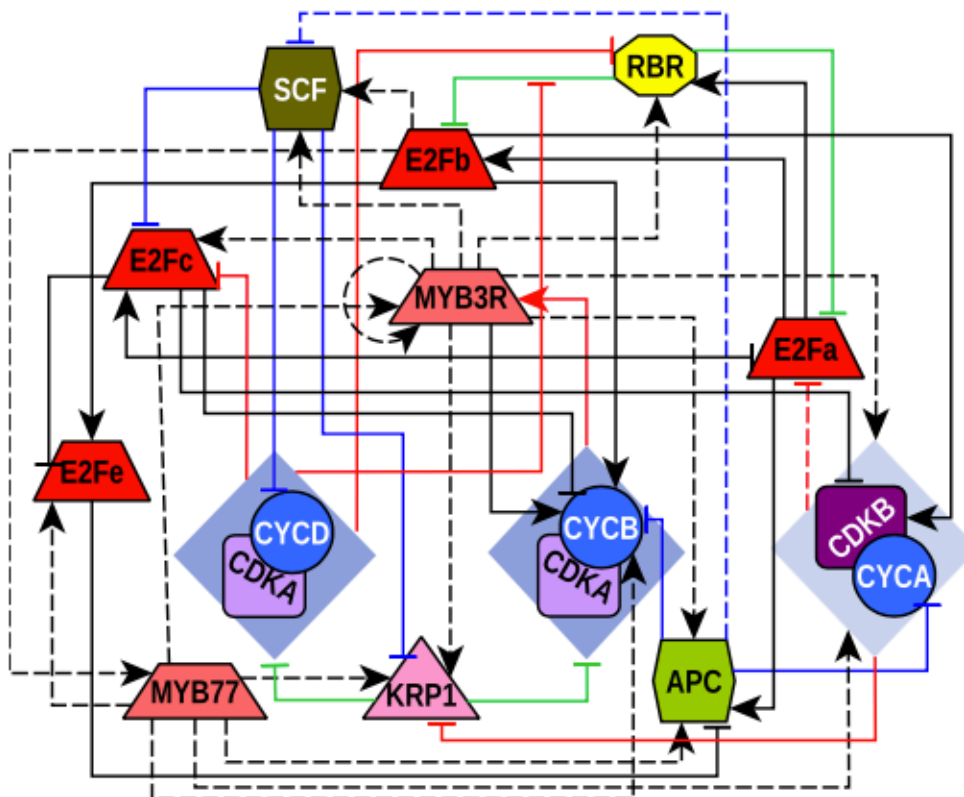


Figura 5. Red que describe el ciclo celular de *A. thaliana*. Los nodos trapezoidales son factores de transcripción, los círculos son ciclinas, los cuadrados son CDK, el triángulo representa el inhibidor estequiométrico de CDK, los hexágonos son complejos E3-ubiquitina ligasa y el octógono es un regulador negativo de las proteínas E2F. Las líneas continuas representan interacciones validadas experimentalmente, las líneas rayadas representan interacciones propuestas basadas en evidencia de otros sistemas modelo o de análisis *in silico*. Imagen tomada de (Ortiz-Gutiérrez et al. 2015)

Estos modelos por separado nos dan un panorama de lo que está ocurriendo con cada proceso, sin embargo, es necesario comprender como los componentes del oscilador del ciclo celular se acoplan con la regulación genética-hormonal en el RAM. Con la finalidad de entender cómo la homeostasis en el crecimiento de la raíz se establece, es fundamental comprender cómo la proliferación celular es dependiente de la diferenciación y viceversa. Para ello es indispensable caracterizar de qué manera los distintos elementos moleculares de las dos redes están interactuando y cómo se comportan sistémica y dinámicamente a lo largo del eje ápico-basal del RAM.

c. Acoplando la diferenciación con el ciclo celular en el RAM de *A. thaliana*

El establecimiento de las distintas zonas celulares a lo largo del eje ápico-basal del RAM, los patrones de diferenciación en el eje radial y el arresto o entrada al endociclo-ciclo celular son resultado emergente de la dinámica colectiva entre hormonas, FTs, miRNAs, péptidos móviles y enzimas (Garay-Arroyo et al. 2012; Scacchi et al. 2010). Las hormonas auxina y citocinina determinan el destino celular y la tasa proliferativa de las células a lo largo de la raíz (Pacifici et al. 2015). La auxina, de manera dosis-dependiente, media la especificación del NCTs en la región más apical del meristemo. Asimismo, en la ZP promueve la entrada al ciclo celular a través de su vía de señalización canónica. Altas concentraciones de auxina estabilizan el complejo SKP-Cullin-F box (SCF) a través de la proteína TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1) promoviendo la degradación de los represores Aux/IAA. Los represores Aux/IAA forman dímeros con los FTs AUXIN RESPONSIVE FACTORS (ARFs), inhibiendo su actividad como reguladores transcripcionales, y por lo tanto su degradación dependiente de las auxinas libera a los ARFs (Gray et al. 2001; Salehin et al. 2015). Estos ARFs reconocen secuencias específicas denominadas Auxin-responsive elements (AuxREs) y tienen un efecto inductor o represor según el dominio central de la proteína (Tiwari et al. 2003; Ulmasov 1995). Secuencias AuxREs han sido encontradas en los promotores de algunas ciclinas; tal es el caso de las ciclinas tipo D, B y A (CYCD6;1, CYCB1 y CYCA2 respectivamente) que tienen un efecto en la progresión del ciclo celular (Hartig & Beck 2006; Roudier 2003). Antagónicamente, la citocinina promueve la entrada al endociclo a través de su vía de señalización compuesta por AHK3/ARR1/ARR2 en la ZT. El FT ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 1 type B (ARR1) directamente promueve la expresión de SHY2, el cual codifica una proteína de la familia Auxin/Indole-3-Acetic Acid (Aux/IAA) que como se mencionó anteriormente, disminuye los niveles de las proteínas PIN, involucradas en el transporte polar de auxinas. Además, SHY2 también inhibe a ARF5/MP, un promotor clave del desarrollo vascular, este ARF aumenta transitoriamente la expresión de la proteína PIN3 manteniendo la proliferación celular en y

evitando la entrada a la endoreduplicación (Dello Ioio et al. 2008; Scacchi et al. 2010; Takahashi et al. 2013). Adicionalmente, el FT ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 2 type B (ARR2) induce la expresión de CELL CYCLE SWITCH PROTEIN 52 A1 (CCS52A1), un activador del complejo activador de la anafase (APC) promoviendo la entrada al endociclo (Takahashi et al. 2013; Vanstraelen et al. 2009). Se encuentran niveles altos de citocinina en la columela y en la cofia lateral, esto se sugirió como causa indirecta de que RBR esté constitutivamente activo y de esta manera, promueva, mediante el arresto del ciclo celular y en conjunto con los FTs ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 12 (ARR12) y AUXIN RESPONSE FACTOR 19 (ARF19), la diferenciación de las células de la columela (Antoniadi et al. 2015; Kuroha et al. 2009; Perilli et al. 2013; Wildwater et al. 2005). Por otro lado, los FTs SHR y SCR tienen una importante actividad en las divisiones asimétricas de las CEi. El complejo SHR/SCR que, en presencia de altas concentraciones de auxinas, promueven la transcripción de CYCD6;1, la cual a su vez se une con una cinasa dependiente de ciclina tipo B (CDKB1;1) para fosforilar a RBR y promover las divisiones asimétricas. De manera opuesta, RBR, en ausencia del complejo CYCD6;1/CDKB1;1, se une a SCR para inhibir la expresión de la CYCD6;1 y frenar dichas divisiones (Cruz-Ramírez et al. 2012; Sozzani et al. 2010; Weimer et al. 2012). Paralelamente, la coincidencia entre SHR/SCR y un máximo de concentración de auxinas definen el NCT en la región apical de la raíz, permitiendo la expresión del FT WOX5, implicado en el establecimiento y mantenimiento del estado troncal en el centro quiescente (Aida et al. 2004; Perilli et al. 2013; Sarkar et al. 2007). Aunque se desconoce el mecanismo exacto de cómo WOX5 promueve el estado troncal, se ha descrito que WOX5 inhibe transcripcionalmente a la ciclina tipo D (CYCD3;1) la cual, en complejo con CDKAs regula la transición de la fase G1 a la fase S del ciclo celular a través de la hiperfosforilación de RBR (Forzani et al. 2014; Menges 2006). De este modo, WOX5 permite la actividad de RBR e inhibe indirectamente a algunos FTs de la familia E2 FACTORS (E2Fs) que están involucrados con la progresión del ciclo celular (Gutierrez et al. 2002) y en la remodelación de la cromatina (Shen 2002).

3. Hipótesis

El acople de los módulos de diferenciación y ciclo celular en un contexto unicelular podrá recuperar el perfil de expresión genética-hormonal de las células y los estados proliferativos como se observa en el meristemo apical de la raíz de *A. thaliana*.

4. Objetivos

a. Objetivo general

Proponer un modelo dinámico discreto unicelular del acople de los módulos de diferenciación y ciclo celular que recupere el perfil de expresión de las células del meristemo apical de la raíz de *A. thaliana* y su estado funcional en términos de proliferación, endorreduplicación y quiescencia como se observa a lo largo de su estructura.

b. Objetivos particulares

- i. Revisar exhaustivamente la literatura, recopilar la información experimental y hallar interacciones funcionales que ligan la red de diferenciación con la red del ciclo celular.
- ii. Determinar la topología y arquitectura de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular propuesta.
- iii. Determinar las funciones lógicas de los elementos de la red dinámica de la regulación de la proliferación y especificación celular
- iv. Realizar simulaciones con el esquema de actualización síncrono y determinar si se recuperan los patrones de expresión reportados en la literatura.
- v. Validar el modelo con simulaciones de ganancia y pérdida de función de cada elemento que conforma la red y contrastar con datos experimentales de raíces de tipos silvestres y mutantes reportados en la literatura.

5. Metodología

a. Formalismo de una red booleana

Una red booleana se define sobre un conjunto de n nodos que representan proteínas, genes, miRNAs o FTs $V = \{x_1, \dots, x_n\}$, $x_i \in \{0,1\}$ donde cada nodo x_i tiene k_i reguladores tomados de V y su valor al $t + 1$ es determinado por sus reguladores al tiempo t a través de una función booleana f_i de la forma $x_i(t + 1) = f_i(x_{i1}(t), x_{i2}(t), \dots, x_{ik_i}(t))$, $\{i1, \dots, ik_i\} \subseteq \{1 \dots n\}$. k_i es la *conectividad* de x_i y f_i es la función de actualización o regulación. Definiendo la función de la red $\mathbf{f} = (f_1 \dots, f_n)$, denotamos a la red booleana como $\beta(V, \mathbf{f})$.

De esta manera, el conjunto de todos los posibles estados que tiene una red, expresado por $\Omega = 2^N$, forma el *espacio de estados* de la red (figura 6). El tiempo de evolución del sistema es representado por una *trayectoria* dentro del espacio de estados, y dado que, el espacio de estados es un conjunto finito y la dinámica de la red es determinista, eventualmente la dinámica de la red converge a un único estado o a un conjunto cíclico de estados a los que se les denomina *atractor de punto fijo* y *atractor cíclico* respectivamente (figura 6). Así mismo, los estados que “conducen” al sistema al mismo atractor son conocidos como la *cuenca de atracción*. Kauffman propone que los atractores de alta dimensionalidad son isomórficos a los patrones de expresión genéticos de distintos tipos celulares en los metazoos (Kauffman 1969a, 1993). Esto proporciona una explicación dinámica y mecanicista de la estabilidad del perfil de expresión genética que caracteriza a los tipos celulares y de cómo se mantienen en coordinación invariante las oscilaciones de la expresión genética de todo el genoma en células que están proliferando. La correspondencia entre los atractores y redes regulatorias con tipos celulares que expresan un perfil de transcripción vincula el trabajo teórico del comportamiento dinámico de redes complejas con los fenómenos experimentales de diferenciación en la biología celular (figura 6).

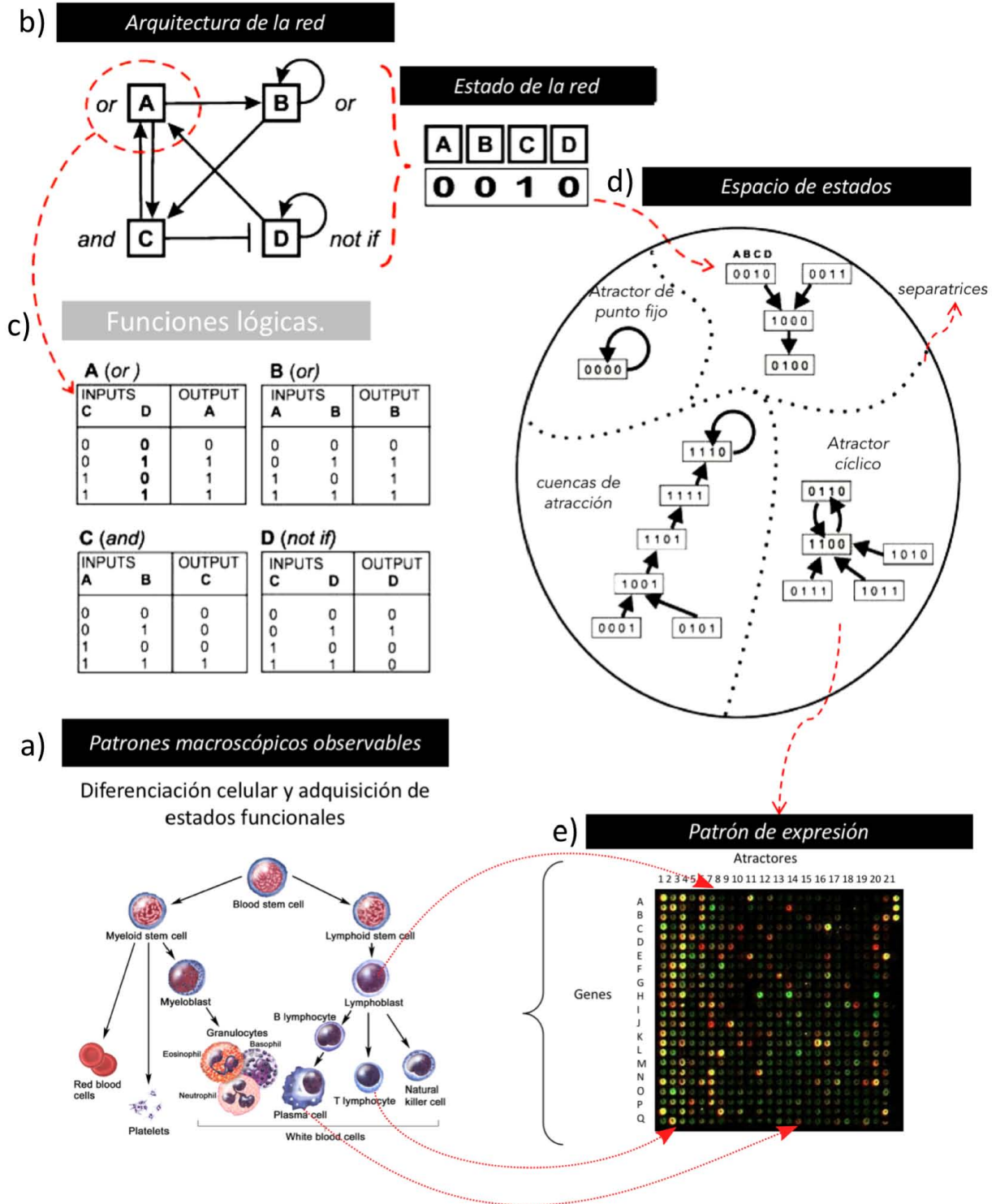


Figura 6. Representación esquemática del formalismo que describe matemáticamente las redes de regulación genética. Tomada y modificada de (Huang & Kauffman 2012)

b. Integración de un modelo booleano de diferenciación celular

Para la construcción de un modelo dinámico de redes booleanas se siguen los siguientes pasos:

1. Identificación de un módulo estructural o funcional.

Se suele empezar por recopilar el conjunto de elementos e interacciones cuyo papel en el proceso biológico a modelar se ha caracterizado experimentalmente están involucrados con la fenomenología que se quiere estudiar. Este primer conjunto se extiende con la adición de nuevos elementos a partir de información causal donde la manipulación de un componente molecular provoca la variación de una proteína, un gen o un fenotipo completo.

2. Determinación de la topología y arquitectura de la red.

Las redes de regulación genética se representan con un grafo dirigido que posee un conjunto de nodos conectados por flechas que representan el tipo de interacción molecular, *i.e.*, activación o inhibición. Estas interacciones se establecen con base en datos experimentales. Para ello, primero se seleccionan los elementos moleculares de acuerdo al paso 1. Se establece qué tipo de interacción tiene cada nodo con el que esté interactuando con base en evidencia física o bioquímica. Posteriormente se construyen tablas con la configuración de activación o represión de los componentes moleculares que se esperan obtener de acuerdo a los datos experimentales (también denominados atractores esperados).

3. Determinación de las funciones lógicas.

Los datos experimentales relativos al fenómeno que se quiere describir se formalizan con los operadores lógicos AND (\wedge), OR (\vee) y NOT (\neg). Se construyen tablas de verdad para verificar la validez de las funciones lógicas. De modo tal que, si por ejemplo el elemento A activa su propia transcripción cuando no está B y además inhibe o degrada al elemento B de la red en el fenotipo X, las reglas lógicas del sistema ejemplo serían:

$$A = A \wedge \neg B$$

$$B = \neg A$$

4. Análisis de la dinámica de la red.

Cuando las funciones lógicas han sido establecidas para cada elemento de la red se establece el esquema de actualización. El esquema síncrono nos permite analizar el espacio completo de estados y asume que la actualización de las funciones lógicas de cada nodo se realiza al mismo tiempo. El esquema asíncrono, por otro lado, puede reproducir la variación diferencial de los componentes de regulación dentro de una célula debido a que la actualización de las funciones lógicas de los nodos se lleva a cabo a distintos tiempos discretos t . El análisis de la red debe ser hecho con ambos esquemas de actualización y compararlos porque tienen efectos distintos sobre su dinámica. La red se inicia en todas las posibles configuraciones hasta que llega a un punto fijo o un atractor cíclico.

5. Validación del modelo.

Se comparan las salidas del modelo de la red, *i.e.*, los atractores, con aquellos fenotipos reportados experimentalmente. Si el modelo captura los fenotipos esperados, sugiere que el conjunto de nodos e interacciones es suficiente, y que los datos experimentales se formalizaron adecuadamente en las funciones booleanas, de lo contrario, se necesitarían agregar nuevos componentes o reevaluar las funciones lógicas. Adicionalmente, se evalúan los fenotipos mutantes con la ganancia o pérdida de función de los elementos moleculares y se cotejan con evidencia experimental.

6. Resultados

En el modelo actual se integraron las interacciones del trabajo de García-Gómez et al 2017 y Ortiz-Gutiérrez et al 2015 con base en evidencia experimental publicada en la literatura. El modelo contiene interacciones de regulación transcripcional, ubiquitinación, fosforilación e interacciones físicas proteína-proteína.

a. Tabla de interacciones

Como se mencionó en la **sección iii**, para la construcción de un modelo booleano es necesario determinar la arquitectura y topología de la red a partir de la evidencia experimental que sustenta las interacciones entre los elementos que conforman el modelo. A continuación, se muestran las interacciones que sustentan la unión de las redes de diferenciación y ciclo celular propuestas por García-Gómez et al 2017 y Ortiz-Gutiérrez et al 2015 respectivamente. La visualización de la red es accesible en la figura 7.

Tabla 1 - Evidencia experimental que sustenta la unión del módulo de diferenciación con el módulo de ciclo celular. → representa la inducción, ¬ indica la represión.

Regulador		Blanco	Descripción de la interacción
Auxina	→	CYCD3;1	La auxina induce la transcripción de CYCD3;1 (Oakenfull et al. 2002)
Auxina	→	E2Fa	Los ARF7 y ARF19 inducen la transcripción de los FTs LBD18 y LBD33, estos forman un dímero que se une directamente al promotor de E2Fa (Komaki & Sugimoto 2012)
Auxina	→	E2Fb	La estabilidad química de E2Fb se favorece en presencia de auxinas y se evita su degradación (Magyar et al. 2005, 2012).
Auxina	¬	E2Fc	A altas concentraciones de auxina SCF ^{SKP2A} degrada a Dpb, proteína que se une funcionalmente a E2Fc. (del Pozo & Manzano 2014; Jurado et al. 2010)
Auxina	→	SCF	A alta concentración de auxina SCF promueve su unión al receptor TIR1 activando su funcionalidad (Benjamins & Scheres 2008).
Auxina	¬	KRP1	Los niveles de KRP1/2 disminuyen en presencia de auxina. El tratamiento con NAA (ácido 1-naftalenácetico) provoca la disminución de KRP1 y KRP2 (Himanen 2002; Sanz et al. 2011).
Auxina	→	CYCD6;1	CYCD6;1 se transcribe en presencia de altas concentraciones de auxina debido a la unión de los ARFs sobre sus secuencias de respuesta a auxinas (Cruz-Ramírez et al. 2012; Komaki & Sugimoto 2012).
Citocinina	→	APC/C	ARR2 (una proteína tipo B de los ARRs) se une a la secuencia promotora de CCS52A1 para iniciar su transcripción en respuesta a citocinina en el medio (Takahashi et al. 2013).
WOX5	¬	CYCD3;1, CYCD1;1	Se demostró experimentalmente que WOX5 se une a la secuencia promotora de CYCD3;1 inhibiendo la expresión proteica de este gen (Forzani et al. 2014).

SHR	→	CYCD6;1	El complejo SCR/SHR activa a CYCD6;1 en presencia de auxina conduciendo la división asimétrica de las células iniciales del córtex/endodermis (Cruz-Ramírez et al. 2012; Komaki & Sugimoto 2012).
SCR	→	CYCD6;1	El complejo SCR/SHR activa a CYCD6;1 en presencia de auxina conduciendo la división asimétrica de las células iniciales del córtex/endodermis (CEI) (Cruz-Ramírez et al. 2012).
ARR1	↯	miRNA165	La expresión en la zona de transición de GFP/miRNA165 / 6-sensible es más fuerte después del tratamiento con citocinina y más débil en plantas deficientes en citocinina. En concordancia con estas observaciones, el tratamiento con esta hormona reduce los niveles de transcripción del primario miRNA165 y la expresión de miRNA165/GFP en la endodermis de la zona de transición de muestras silvestres, pero no en mutantes de arr1. Lo que sugiere que la citocinina reprime la transcripción del miRNA165 a través de una vía dependiente de ARR1 (Dello loio et al. 2012).
ARR1	↯	PHB	ARR1 reprime la transcripción de PHB en la vasculatura de la zona de transición, restringiendo así la expresión de PHB a la parte distal del meristemo proximal (Bianco et al. 2013; Dello loio et al. 2012).
SHY2	↯	BRX	Altos niveles de SHY2 disminuyen la concentración de BRX (Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2010).
ARF5	→	BRX	BRX es activado por ARF5 en la vasculatura a lo largo de la zona de proliferación (Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2010).
BRX	→	Auxina	BRX aumenta la transcripción de las proteínas PIN3 en la vasculatura central de la raíz, y consecuentemente promueve el aumento de la concentración de auxinas (Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2010)
RBR	↯	SCR	RBR se une a SCR e inactiva el complejo SCR/SHR en las células iniciales del córtex/endodermis (Cruz-Ramírez et al. 2012)(Weimer et al. 2012).
CYCD6;1 - CDK1	↯	RBR	Se demostró que CYCD6;1 en complejo con CDKB1 hiperfosforilan a RBR, conduciendo a su inactivación (Cruz-Ramírez et al. 2012; Weimer et al. 2012).
SCF ^{TIR1}	→	AUX/IAA/SHY2	Las AUX/IAA son sustrato de SCF ^{TIR1} a través del degron, dominio II de dichas proteínas. SHY2/IAA3 es poliubiquitinada y degradada en respuesta al incremento en la concentración de TIR1 o auxina (Calderon-Villalobos et al. 2010; Dello loio et al. 2008; dos Santos Maraschin et al. 2009; Gray et al. 2001).

b. Supuestos del modelo

El modelo de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular del RAM de *A. thaliana* contiene supuestos que ayudaron a la determinación de las funciones booleanas de algunos componentes. Estos supuestos permitieron acotar la cantidad de elementos que se integraron en la red. Se enlistan a continuación.

- Por ser un modelo booleano la dinámica de la red es determinista.
- Los atractores son una colección de variables con estados discretos.
- La actualización de las funciones booleanas es síncrona y por tanto todos los elementos se actualizan al mismo tiempo.

- La acción de SCF sobre sus blancos depende de la subunidad a la que se una, teniendo TIR1 y SKP2A como posibles proteínas de unión. Cuando SCF actúa sobre los AUX/IAA la regla lógica supondrá que no está activo el nodo AUX ni SCF porque en altas concentraciones de auxina, el receptor TIR1 es capaz de unirse a SCF y degradar las AUX/IAA. En cambio, en la función lógica de CYCD3;1 se necesita la presencia de la auxina para su expresión y la ausencia de SCF^{SKP2A}, la auxina degrada a su subunidad y no permite su actividad de degradación. De modo similar, E2Fc degrada en conjunto con Dpb y SKP2A en presencia de altas concentraciones de auxinas.
- ARR2, un componente de la vía de señalización de la citocinina, activa a la subunidad CCS52A1 de APC en la zona de transición. Así que, asumimos que la acción recaía sobre la citocinina.
- La dinámica de la formación de complejos se especifica directamente con la incorporación de paréntesis en la función booleana de sus genes blancos, *e.g.*, (AUX \wedge SCF) y (SCR \wedge \neg RBR).

c. Reglas lógicas del modelo de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular.

El modelo booleano incorpora 32 elementos (entre factores transcripcionales, hormonas, enzimas y miRNAs). Las bases experimentales de las relaciones que guardan los elementos de la red de diferenciación con las del ciclo celular están descritas en la tabla 1. Para su formalización se usaron los operadores lógicos AND (\wedge), OR (\vee) y NOT (\neg) que describen de manera proposicional su comportamiento a través del tiempo discreto.

Las funciones booleanas que se mantuvieron sin cambios pertenecen a CK, ARF, ARF10, ARF5, WOX5, CLE40, SCF, E2Fb, E2Fc, MYB77 y MYB3R1/4. Las funciones booleanas que involucran a SCR se modificaron por la incorporación de la interacción negativa que tiene con RBR, por ejemplo; \neg **RBR** \vee (**CDKB1;1** \wedge **CYCD6;1**) ver regla lógica de SCR.

De este modo obtenemos las siguientes funciones lógicas para cada elemento de la red:

1. $CK = (PHB \wedge \neg ARF) \vee \neg SHR$

La biosíntesis de citocinina se activa a través de la vía PHB/IPT7 y contrariamente, SHR promueve la síntesis de CKX1, enzima que degrada a la citocinina. Adicionalmente, cuando existen altos niveles de auxinas, estas reducen los niveles de citocinina.

2. $AUX = WOX5 \vee AUX \vee \mathbf{BRX}$

WOX5 induce la expresión de la enzima YUC1, involucrada en la biosíntesis de auxinas, paralelamente en la zona de transición el FT BRX incrementa la concentración de auxinas a través de la activación de la proteína PIN3.

3. $ARR1 = (\neg \mathbf{SCR} \vee \mathbf{RBR}) \wedge CK$

La citocinina activa la vía de señalización y promueve la fosforilación de ARR1 y SCR libre de RBR la inhibe en el DT.

4. $SHY2 = ARR1 \wedge \neg (\mathbf{AUX} \wedge \mathbf{SCF})$

Su presencia requiere la activación transcripcional por parte de ARR1 y bajas concentraciones de auxinas para que no sea degradada a través del complejo SCF^{TIR1}.

5. $AUXIAA = \neg (\mathbf{AUX} \wedge \mathbf{SCF})$

Su funcionalidad está condicionada por la actividad del complejo SCF^{TIR1} y bajas concentraciones de auxinas.

6. $ARF = \neg AUXIAA$

A bajas concentraciones de auxinas las proteínas AUXIAA se unen a los ARFs, inhibiendo su funcionalidad.

7. $ARF10 = \neg (JKD \wedge SHR) \wedge \neg AUXIAA$

Análisis bio-informáticos predijeron que SHR inhibe a ARF10 indirectamente, por otro lado, JKD se une a su promotor y se hipotetizó que inhibe su acción en el modelo de García et al 2017. Al ser un ARF, este pierde su funcionalidad cuando se le une un AUX/IAA.

8. $ARF5 = \neg (SHR \wedge MGP) \wedge \neg SHY2 \wedge \neg AUXIAA$

Análisis bioinformáticos predijeron que SHR inhibe a ARF5 indirectamente y la interacción negativa con MGP se hipotetizó en el modelo de García et al 2017.

Adicionalmente, las AUX/IAA dimerizan con los ARFs, particularmente SHY2 se une directamente a ARF5.

9. BRX = ARF5 \wedge \neg SHY2

ARF5 es un regulador positivo de BRX y sus niveles decrecen en el DT vía SHY2.

10. SCR = SHR \wedge JKD \wedge (SCR \wedge (\neg RBR \vee (CDKB1;1 \wedge CYCD6;1) \wedge (\neg KRP1 \vee CYCD3;1))

La actividad de SCR depende de la formación de los complejos proteicos entre sí mismo, SHR y JKD. Así mismo, que RBR se encuentre en su forma inactiva para evitar su unión con el complejo SHR/SCR.

11. SHR = SHR \vee (JKD \wedge (SCR \wedge \neg RBR))

JKD y SCR libre de RBR secuestran a SHR en el núcleo, limitando de esta manera su difusión.

12. miR165 = (SHR \wedge (SCR \wedge \neg RBR) \wedge \neg ARR1) \vee \neg PHB

La expresión del miR165 depende de la formación del complejo proteico SHR/SCR libre de RBR y la ausencia de su represor transcripcional ARR1.

13. PHB = \neg miR165 \wedge \neg ARR1 \vee PHB

El miR165 delimita la expresión de PHB a la vasculatura central a través de su inhibición postranscripcional y ARR1 limita su expresión en la región de transición.

14. JKD = \neg PHB \wedge SHR \wedge (SCR \wedge \neg RBR)

Los niveles de JKD se redujeron en los mutantes *shr* y *scr* y en presencia de PHB. Adicionalmente, para su transcripción, es necesario que el complejo SHR/SCR esté presente y suponemos, esté libre de RBR.

15. MGP = \neg WOX5 \wedge SHR \wedge (SCR \wedge \neg RBR)

El complejo SHR/SCR se une directamente a su promotor y suponemos que este complejo tiene que estar libre de RBR para ejercer su función. Adicionalmente, de acuerdo a la complementariedad de los dominios de expresión de WOX5 y MGP, se hipotetizó que se regulan indirectamente.

16. WOX5 = \neg ARF10 \wedge ARF5 \wedge \neg CLE40

ARF10 inhibe a WOX5 para dar paso a la diferenciación de las células iniciales en la región distal del NCT, además ARF5 necesita estar presente para que WOX5 se exprese y CLE40 reprime la expresión de WOX5 en la columela.

17. $CLE40 = \neg SHR$

Esta interacción es una predicción que se hizo a partir de la complementariedad de los dominios de expresión.

18. $CYCD6;1 = AUX \wedge (SHR \wedge (SCR \wedge \neg RBR) \& \neg APC$

Su activación requiere la presencia del complejo SHR/SCR y suponemos que requiere la ausencia de RBR, un pico alto de concentración de auxinas y que APC/C no esté presente.

19. $CYCD3;1 = (\neg SCF \wedge AUX) \wedge \neg WOX5$

La activación transcripcional de CYCD3;1 requiere la presencia de auxinas y la ausencia de su represor WOX5, así mismo que no sea degradada por SCF.

20. $SCF = \neg APC/C \wedge ((E2Fb \wedge (\neg RBR \vee (\neg KRP1 \wedge CYCD3;1))) \vee MYB3R1/4)$

La activación de SCF es llevada a cabo por E2Fb libre de RBR o MYB3R1/4 y la ausencia de APC.

21. $RBR = (KRP1 \vee \neg CYCD3;1) \wedge ((E2Fa \wedge \neg RBR) \vee MYB3R1/4) \wedge \neg (CDKB1;1 \wedge CYCD6;1)$

Se necesita la activación transcripcional por parte de E2Fa libre de RBR o MYB3R1/4, así mismo, la ausencia de los complejos CDKA;1/CYCD3;1 o CDKB1;1 \wedge CYCD6;1 para evitar su inactivación debida a hiperfosforilación.

22. $E2Fa = (AUX \vee \neg E2Fc) \wedge \neg (CDKB1;1 \wedge CYCA2;3)$

Las auxinas regulan positivamente a E2Fa a través del dímero LBD18/LBD33 y la ausencia de E2Fc incrementa la concentración de E2Fa, y la actividad de CDKB1;1-CYCA2;3 correlacionan con niveles bajos de E2Fa.

23. $E2Fb = (E2Fa \wedge \neg RBR) \wedge AUX$

La estabilidad de E2Fb es favorecida por la presencia de auxinas y E2Fa, libre de RBR, activa su expresión.

24. $E2Fc = \neg (SCF \wedge AUX \wedge \neg KRP1 \wedge CYCD3;1) \wedge ((E2Fa \wedge \neg RBR) \vee MYB3R1/4)$

Su presencia depende de la activación transcripcional por parte de E2Fa libre de RBR o de MYB3R1/4 y de que SCF no la ubiquitinice para su posterior degradación. El reconocimiento por parte de SCF depende de la actividad de CDKA;1-CYCD3;1.

25. $E2Fe = (\neg E2Fc \vee (E2Fb \wedge (\neg RBR \vee (\neg KRP1 \wedge CYCD3;1)))) \vee MYB77$

Su activación transcripcional depende de MYB77 y de E2Fe libre de RBR y que E2Fc no compita con E2Fb por el sitio de unión.

26. $MYB77 = E2Fb \wedge (\neg RBR \vee (\neg KRP1 \wedge CYCD3; 1))$

MYB77 es inducido por E2Fb libre de RBR.

27. $MYB3R1/4 = MYB77 \vee (MYB3R1/4 \wedge CYCB1; 1 \wedge \neg KRP1)$

La transcripción de MYB3R1/4 es promovida por sí mismo cuando es fosforilada por CDKA/CYCB1;1 y por MYB77.

28. $CYCB1; 1 = \neg APC/C \wedge (MYB3R1/4 \vee (MYB77 \wedge ARF)) \vee ((\neg RBR \vee (\neg KRP1 \wedge CYCD3; 1)) \wedge E2Fb \wedge \neg E2Fc)$

Esta ciclina posee AuxREs que son detectados por los ARFs para inducir su activación. Adicionalmente, necesita la presencia de MYB3R1/4, MYB77 o E2Fb y que APC/C no la degrade.

29. $CDKB1;1 = ((\neg RBR \vee (\neg KRP1 \wedge CYCD3;1)) \wedge E2Fb \wedge \neg E2Fc) \vee MYB3R1/4 \vee (MYB77 \wedge ARF)$

La expresión de CDKB1;1 necesita de E2Fb libre de RBR y la ausencia de E2Fc, de MYB3R1/4 y MYB77 en respuesta a auxinas.

30. $CYCA2; 3 = \neg APC/C \wedge (MYB3R1/4 \vee (MYB77 \wedge ARF))$

Es inducida por MYB77 o MYB3R1/4 y se sobre expresa cuando en el medio están presentes los ARFs como respuesta a altas concentraciones de auxinas. Esta proteína es degradada por APC/C.

31. $KRP1 = (MYB77 \vee MYB3R1/4) \wedge \neg (CDKB1;1 \wedge CYCA2;3 \wedge SCF) \wedge \neg AUX$

Está presente a bajas concentraciones de auxinas, cuando activada por alguna de las proteínas MYB y cuando no es modificada post-transcripcionalmente por SCF y el complejo CDKB1;1 \wedge CYCA2;3.

32. $APC/C = \neg E2Fe \wedge ((E2Fa \wedge \neg RBR) \vee MYB3R1/4 \vee MYB77) \wedge CK$

La activación de APC/C necesita la presencia de CCS52A1 que es activado por un ARR tipo B (ARR2) de la vía de la citocinina, MYB77, MYB3R1/4 y cuando E2Fe no está presente para reprimir su transcripción.

Las reglas lógicas que se enlistan se establecieron a través de la determinación de sus respectivas tablas de verdad que se resolvieron con base en evidencia experimental recopilada de las bases de

datos. Se conservaron los supuestos de los modelos de García-Gómez et al 2017 y Ortíz-Gutiérrez et al 2015.

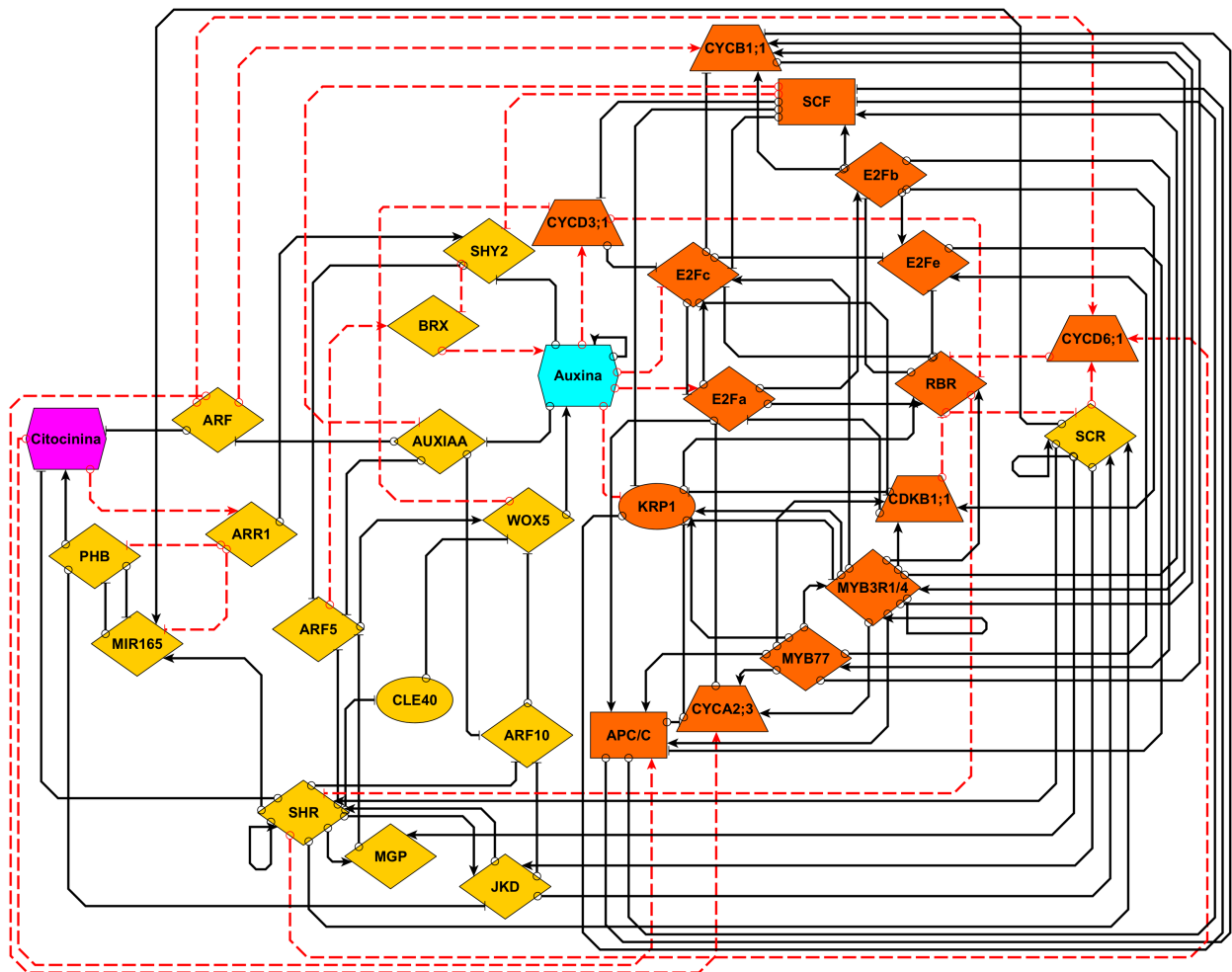


Figura 7. Topología de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular del RAM. Los nodos de color amarillo pertenecen al módulo de diferenciación celular y los anaranjados pertenecen al módulo de ciclo celular. Los círculos representan péptidos, los rombos representan FTs, los rectángulos representan las ligasas de ubiquitinas, los trapecios representan las ciclina y las quinasas dependientes de ciclina y finalmente, los hexágonos representan las hormonas citocinina y auxina. Las interacciones rojas/punteadas muestran las interacciones que fueron agregadas para unir los módulos de diferenciación y el oscilador del ciclo celular, las flechas indican activación y las flechas tope represión.

d. Atractores esperados

De acuerdo con lo expuesto en la sección **1.c.iii** los patrones de expresión que esperamos en cada uno de los tejidos que conforman el meristemo apical de la raíz de *A. thaliana* y su perfil proliferativo se muestra en la figura 8,9,10 y 11, para información más detallada referirse a la tabla 2.

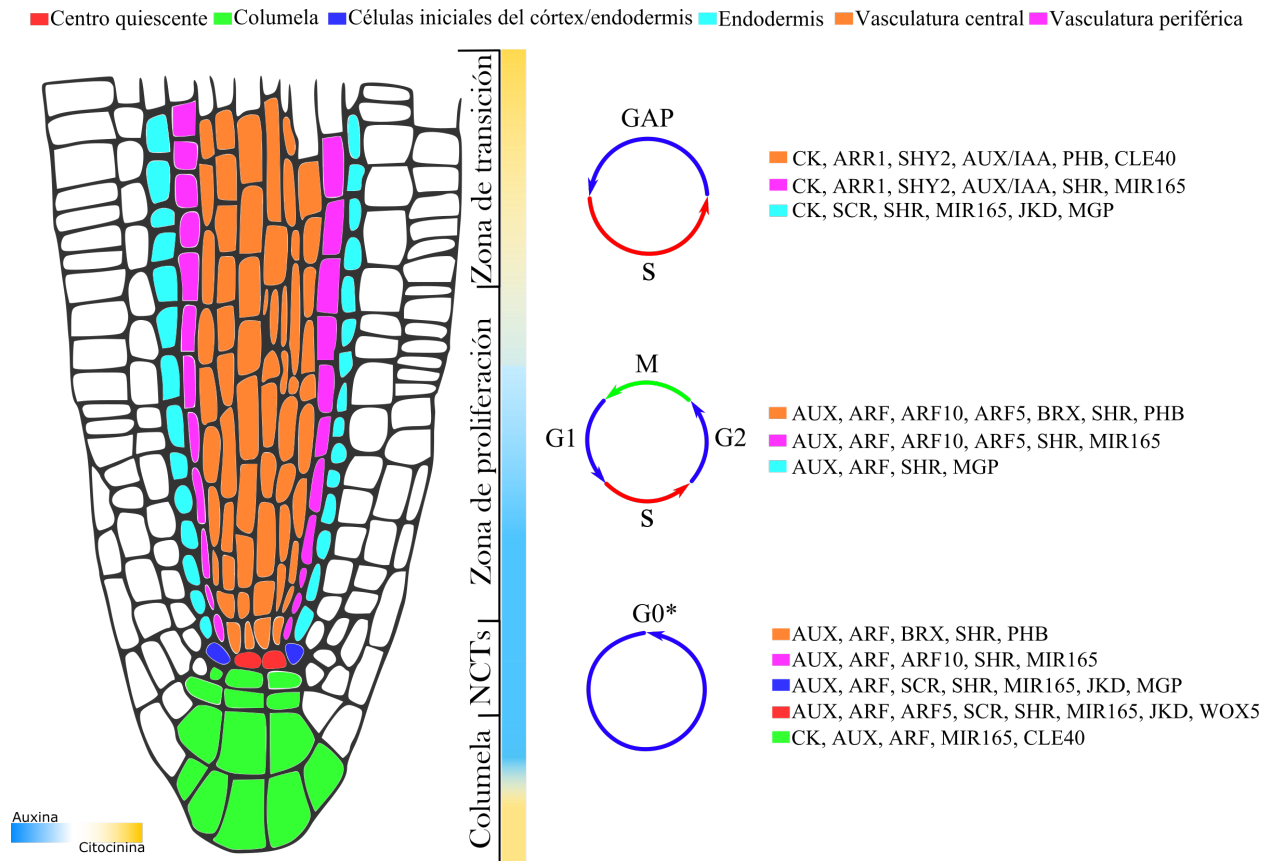


Figura 8. Perfiles de expresión genética-hormonal y estado proliferativo relacionados a cada zona de la raíz de *A. thaliana*. Cada zona se caracteriza por poseer células en distintos estados proliferativos; la zona de transición tiene células en endorreduplicación, la zona proliferativa tiene células en proliferación, el NCTs tiene células detenidas en una G0* o GAP* y la columela en diferenciación terminal o GAP*. Con color azul (auxina) y amarillo (citocinina) se esquematizan los gradientes hormonales a lo largo del eje longitudinal del meristemo apical.

Tabla 2 - Lista de atractores esperados de la red dinámica de la regulación de la proliferación y especificación celular. Cada atractor contiene las configuraciones que corresponden a los patrones de actividad genética y hormonal de las siguientes células: centro quiescente (CQ), células iniciales del córtex-endodermis (CEi), células iniciales de la columela (Ci), columela (Col), endodermis (End), células iniciales de la vasculatura (Vi), tejidos de la provasculatura periférica (P.Prov.), tejidos de la provasculatura central (C.Prov.). La terminación ZP indica *zona de proliferación* y ZT *zona de transición*. Los asteriscos indican que la actividad del no0do puede ser 1 o 0. En la fila **ciclo celular**, se señalan las fases del ciclo celular en las que se espera encontrar los atractores, teniendo el símbolo CC como un ciclo celular completo.

Atractores esperados	CQ	CEi	Ci	Columela	End.ZP	End.ZT	P.Vi	P.Prov.ZP	P.Prov.ZT	C.Vi	C.Prov.ZP	C.Prov.ZT
CK	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1
AUX	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0
ARR1	0	0	*	1	0	0	0	0	0	0	0	1
SHY2	0	0	*	*	0	*	0	0	1	0	0	1
AUXIAA	0	0	*	*	0	*	0	0	1	0	0	1
ARF	1	1	1	0	1	*	1	1	0	1	1	0
ARF10	0	0	*	0	0	0	1	1	0	*	1	0
ARF5	1	0	*	0	0	*	*	1	0	1	1	0
BRX	*	*	*	0	0	0	0	0	0	*	1	0
SCR	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
SHR	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	*
MIR165	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
PHB	0	0	*	0	0	0	0	0	0	1	1	1
JKD	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
MGP	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
WOX5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CLE40	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	*	1
Ciclo celular	G1	G1	G1	G2	CC	Endociclo	G2	CC	Endociclo	G2	CC	Endociclo

Ciclo celular	G1	S	G2	M
CK	*	0	0	*
AUX	1	1	1	1
CYCD6;1	1	1	0	1
CYCD3;1	0	1	1	0
SCF	0	0	0	1
RBR	1	1	0	1
E2Fa	0	0	1	0
E2Fb	0	0	1	0
E2Fc	1	1	0	1
E2Fe	0	0	1	0
MYB77	0	0	1	0
MYB3R1/4	1	0	0	1
CYCB1;1	0	0	1	1
CDKB1;1	1	1	1	1
CYCA2;3	0	0	1	1
KRP1	0	1	0	0
APC	1	1	0	1

Figura 9. Atractor esperado para el ciclo celular. El atractor esperado contiene las configuraciones de actividad de los componentes del ciclo celular que se obtuvieron en el trabajo de Ortiz et al 2015. En la parte superior se muestran las fases del ciclo celular.

Endociclo	Gap-S	
CK	1	(Takahashi et al. 2013)
AUX	0	(Ishida et al. 2010)
CYCD6;1	*	
CYCD3;1	*	
SCF	0	(Jurado et al. 2008)
RBR	1	(Perilli et al. 2013)
E2Fa	1	(De Veylder et al. 2002)
E2Fb	0	(Magyar et al. 2005)
E2Fc	1	(del Pozo et al. 2007)
E2Fe	0	(Lammens et al. 2008)
MYB77	*	
MYB3R1/4	*	
CYCB1;1	0	(Richard et al. 2001)
CDKB1;1	0	(Boudolf et al. 2009)
CYCA2;3	0	(Imai et al. 2006)
KRP1	1	(Weinl et al. 2005)
APC	1	(Takahashi et al. 2013)

Figura 10. Configuración de los componentes del ciclo celular que describe el atractor para el proceso endorreduplicativo. Los asteriscos indican que no se tiene información o que no es relevante para el atractor.

Quiescencia	G0 o G1	
CK	0	(Takatsuka & Umeda 2014)
AUX	1	(Ding & Friml 2010)
CYCD6;1	*	
CYCD3;1	0	(Forzani et al. 2014)
SCF	0	(Vodermaier 2004)
RBR	1	(Wildwater et al. 2005)
E2Fa	*	
E2Fb	*	
E2Fc	1	(Kobayashi et al. 2015)
E2Fe	0	(Lammens et al. 2008)
MYB77	*	
MYB3R1/4	*	
CYCB1;1	0	(Richard et al. 2001)
CDKB1;1	1	(Boudolf et al. 2009)
CYCA2;3	0	(Imai et al. 2006)
KRP1	1	(Zhang et al. 2010)
APC	1	(Heyman et al. 2013)

Figura 11. Configuración de los componentes del ciclo celular que describe el atractor para la quiescencia. Los asteriscos indican que no se tiene información o que no es relevante para el atractor.

e. Atractores obtenidos

Después realizar la simulación de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular se recuperaron distintos atractores que corresponden a los fenotipos: CQ, C/Ei, columela 1,2 y 3, células iniciales de la vasculatura periférica (P.Vi), P.prov. de la ZT, células iniciales de la vasculatura central (C.Vi), C.prov. de la ZP y tres variaciones de C.prov. en la ZT. Los atractores no recuperados corresponden a las células iniciales de la columela (Ci), a la endodermis (End) y a la P.prov. de la ZP (tabla 3 y figura 12).

Tabla 3 - Atractores obtenidos de la simulación de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular de la raíz de *A. thaliana*. Los valores 0 <-> 1 indican que el nodo está oscilando entre los estados activo e inactivo a lo largo del periodo del atractor. En la parte inferior se especifica en qué variación del ciclo celular se recuperaron los atractores.

WT	CQ	CEi	Columela1	Columela2	Columela3	P.Vi	P.Prov.ZT	C.Vi	C.Prov.ZP	C.Prov.ZT1	C.Prov.ZT2	C.Prov.ZT3
CK	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
AUX	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0
ARR1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
SHY2	0	0	0<->1	1	0<->1	0	0	0	0<->1	0<->1	1	1
AUXIAA	0	0	0<->1	1	0<->1	0	1	0	0<->1	0<->1	1	1
ARF	1	1	0<->1	0	0<->1	1	0	1	0<->1	0<->1	0	0
ARF10	0	0	0<->1	0	0<->1	1	0	1	0<->1	0<->1	0	0
ARF5	1	0	1	0	0<->1	1	0	1	0<->1	1	0	0
BRX	1	0	0<->1	0	0<->1	1	0	1	0<->1	0<->1	0	0
SCR	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SHR	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0
MIR165	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
PHB	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
JKD	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MGP	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WOX5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CLE40	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
Ciclo celular	G2	G2	Endociclo 1	Endociclo 2	Ciclo celular	G2	Endociclo 2	G2	Ciclo celular	Endociclo 1	Endociclo 2	Endociclo 2

■ Centro quiescente ■ Columela ■ Células iniciales del córtex/endodermis ■ Endodermis ■ Vasculatura central ■ Vasculatura periférica

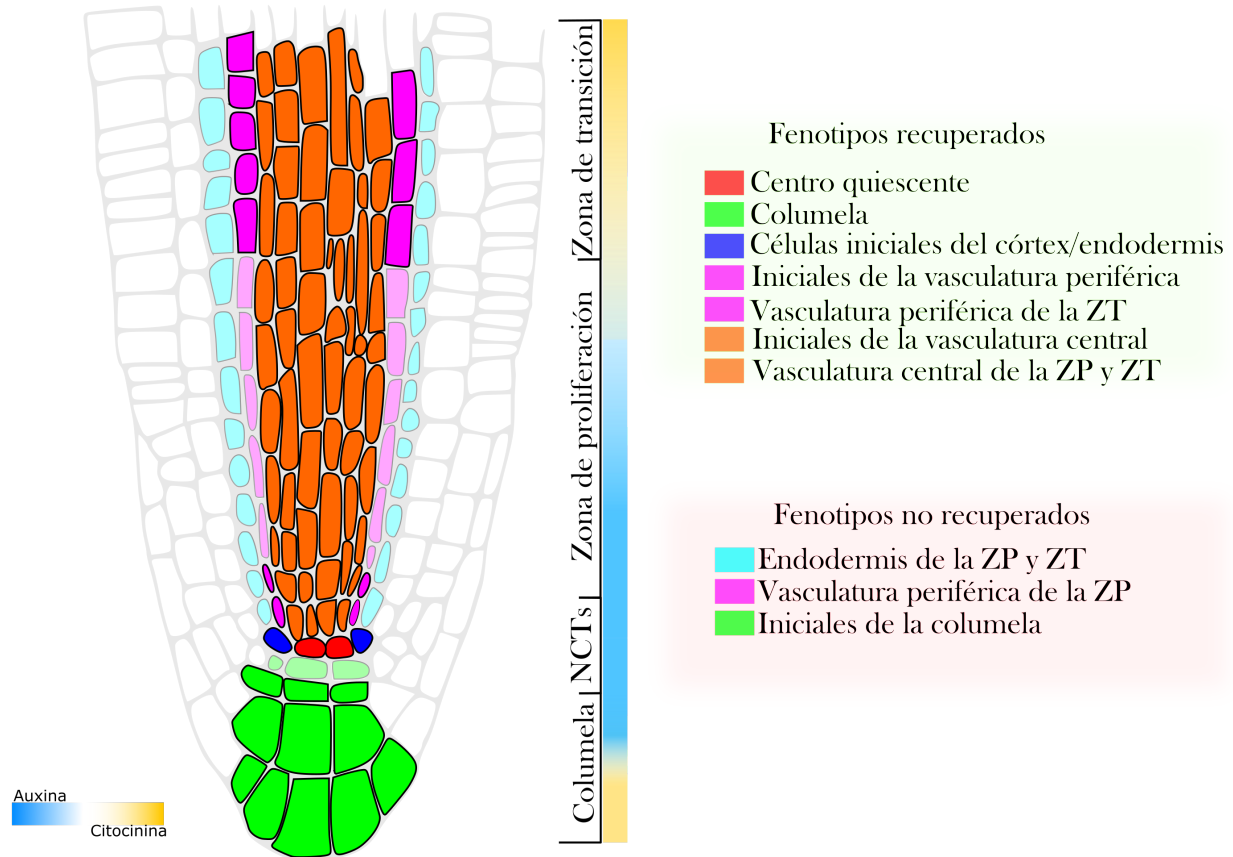


Figura 12. Representación gráfica de los fenotipos recuperados en la simulación de la red dinámica de la regulación de la proliferación y diferenciación celular.

Para las células quiescentes e iniciales, QC, C/Ei, C.Vi y P.Vi, se recuperó un atractor de punto fijo con su correspondiente patrón de activación que describe su fenotipo (tabla 3). El atractor del CQ presenta la actividad de *WOX5*, *JKD*, *SCR* y *SHR* y ausencia de *CYCD3;1*, cómo se ha verificado con evidencia experimental (Forzani et al. 2014). El atractor de CEi tiene la actividad de *JKD*, *MGP*, *SHR*, *SCR* y *CYCD6;1*, los tres últimos se han relacionado con las divisiones asimétricas que originan al córtex y la endodermis, e interesantemente, en este atractor no está presente *RBR* (Cruz-Ramírez et al. 2012; Welch et al. 2007). Las CVi y PVi presentan actividad de los elementos *SHR/PHB* y *SHR/miRNA165* respectivamente, estas proteínas han sido caracterizadas como marcadores para delimitar los tejidos de la vasculatura central y periférica (Miyashima et al. 2011; Pauluzzi et al. 2012). Para los atractores descritos anteriormente se recuperó la vía de las auxinas encendida y la vía de la citocinina apagada. El patrón de expresión del ciclo celular para todos estos fenotipos es muy similar a una fase G2 (figura 13c), en esta configuración se mantuvieron activos los nodos *SCF*, *E2Fc*, *MYB3R1/4*, *CYCB1;1*, *CDKB1;1* y *CYCA2;3*. En el CQ y C/Ei el nodo *CYCD6;1*, a diferencia de las células vasculares, se mantuvo encendido.

Se obtuvieron tres atractores que correlacionan con el fenotipo de las células de la columela, en todos estos se recuperaron expresados los nodos *miRNA165* y *CLE40*, elementos que le dan identidad a este tejido. Para columela 1 se obtuvo un atractor cíclico de 3 estados en el cuál las vías de las auxinas y la vía de la citocinina se sostuvieron activas simultáneamente, los nodos *SHY2*, *AUX/IAA*, *ARF*, *ARF10* y *BRX* oscilaron, y *ARF5* se mantuvo activo a lo largo de todo el periodo del atractor. Los elementos del ciclo celular describieron oscilaciones que caracterizan transiciones entre una fase S y una G2, manteniendo a la familia *E2F*, *MYB3R1/4*, *MYB77*, *CYCB1;1*, *CDKB1;1*, *CYCA2;3* oscilando (tabla 3 y figura 12 y 13b). Para columela 2 se obtuvo un atractor cíclico de 3 estados en la que la vía de las auxinas permaneció apagada y los elementos de la vía de citocinina encendida, entre estos *ARR1*, *SHY2* y *AUX/IAA*. Los elementos del ciclo celular *RBR*, *E2Fa*, *E2Fc* y *E2Fe* se recuperaron oscilando a lo largo del periodo del atractor y en su estado actual difícilmente se podrían clasificar con exactitud las fases de endoreduplicación (figura 13b). Para columela 3 se obtuvo un atractor cíclico de 11 estados, en este atractor, al igual que en columela 1, la vía de las auxinas y citocinina se recuperaron oscilando conjuntamente a lo largo de su periodo y el patrón de expresión del módulo del ciclo celular describe un ciclo celular completo, *i.e.*, pasa ordenadamente por sus 4 fases como en el atractor esperado (tabla 3 y figura 13a).

Se recuperó un atractor cíclico de 3 estados para P.Prov. de la ZT, este atractor posee los marcadores fenotípicos *SHR* y *miRNA165* y sólo el nodo *AUX/IAA* de la vía de las auxinas se sostuvo a lo largo de su periodo. Este atractor se caracterizó en un endociclo 2 (tabla 3 y figura 13b)

El atractor cíclico para C.Prov. de la ZP posee 11 estados y sostuvo el nodo *PHB* activo a lo largo de todo su periodo y las vías de las auxinas y citocinina oscilaron entre los estados encendido y apagado recuperando un ciclo celular completo (tabla 3 y figura 13a). Para el fenotipo C.Prov. de la ZT se recuperaron tres atractores cíclicos de 3 estados: C. Prov de la ZT1,2 y 3 (tabla 3). El atractor que caracteriza el tejido C.Prov. de la ZT2 difiere de C.Prov. de

la ZT1 y 3 al tener activos simultáneamente PHB y SHR. C.Prov. de la ZT1 sostuvo activas las vías de auxinas y citocinina con un patrón de activación que describe un ciclo celular completo. Por otro lado, el atractor que describe al tejido C.Prov. de la ZT2 y 3 recuperaron la vía de la citocinina activa y auxinas apagada con un patrón de activación que describe a un endociclo2 (tabla 3 y figura 13b)

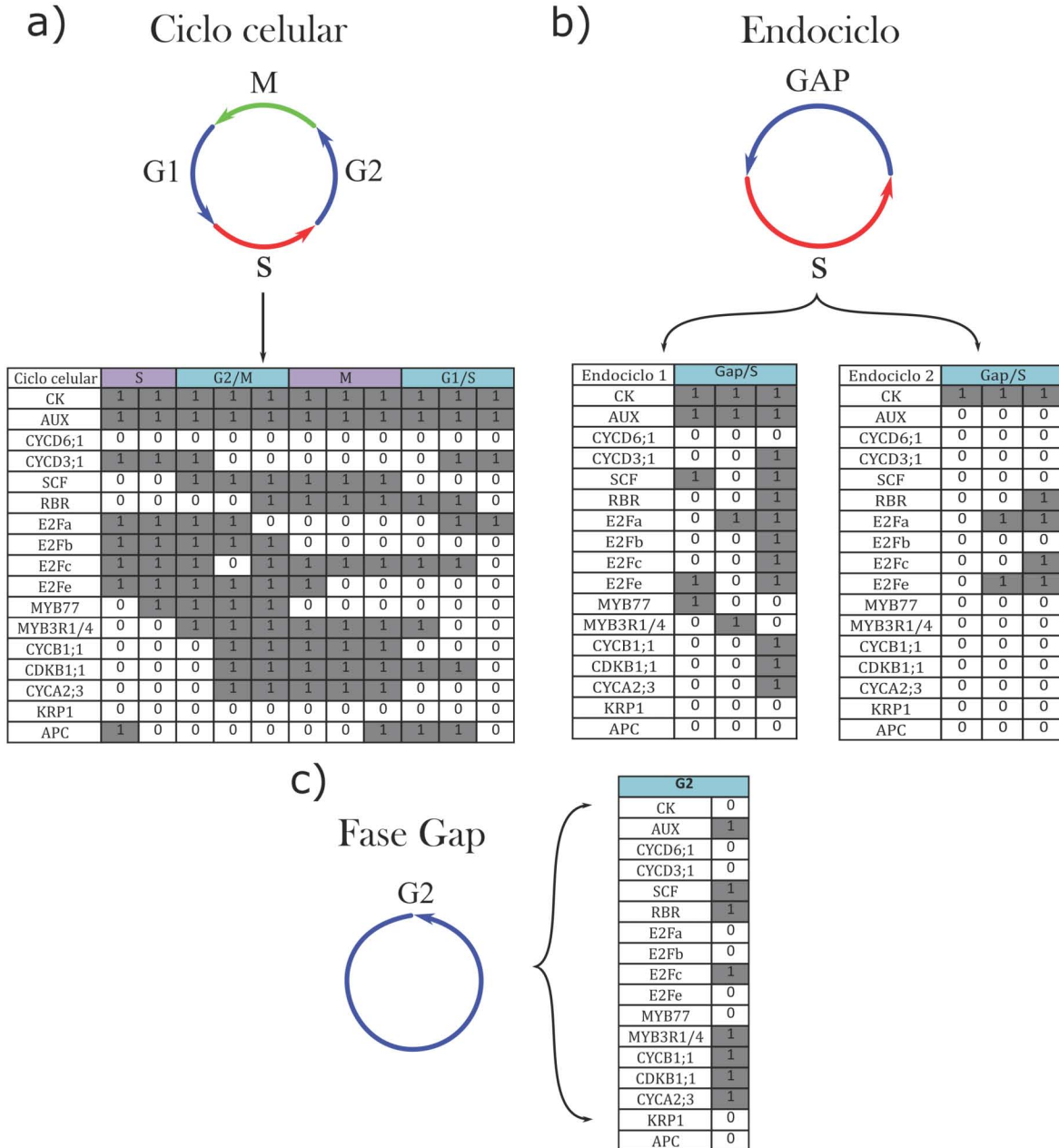


Figura 13. Variaciones del ciclo celular recuperadas después de la simulación de la red dinámica de la regulación de la proliferación y especificación celular. a) patrón de expresión que caracteriza el ciclo celular en la ZP, b) dos patrones de expresión que caracterizan al endociclo celular, c) patrón de expresión que caracteriza a una fase GAP/GAP2.

f. Análisis de mutantes

La validación del modelo se llevó a cabo con la simulación de pérdida y ganancia de función (PF y GF respectivamente) de los elementos que conforman la red de regulación de la proliferación y especificación celular fijando los nodos con el valor 0 y 1 respectivamente, y se compararon con evidencia experimental disponible de fenotipos mutantes de la raíz de *A. thaliana*. El resumen de las simulaciones de GF y PF se encuentra en la tabla 4. Cabe mencionar que nuestro modelo describe el comportamiento de una red regulatoria dentro de una célula, es decir, es un modelo unicelular. Por lo que, algunos fenotipos mutantes que expresan cambios morfológicos multicelulares no son equiparables a nuestros resultados obtenidos (tabla 4).

La disrupción del patrón fenotípico en eje radial del RAM ha sido evaluada a través de la perturbación sistémica de distintos componentes que conforman su red regulatoria multiestable. Algunos fenotipos como la GF de miRNA169 (Miyashima et al. 2011), PHB (Lee 2012), CYCD6;1 (Cruz-Ramírez et al. 2012), y la PF de SCR (Pauluzzi et al. 2012) y SHR (Ogasawara et al. 2011) tienen un rol importante en la determinación del tejido endodérmico, vasculatura central y periférica. La pérdida de función de SHR y SCR resultan en la pérdida de la endodermis y la sobre expresión conlleva a divisiones periclinales ectópicas generando varias capas de tejido endodermal (Miyashima & Nakajima 2011). miRNA165 y PHB tienen dominios de expresión complementarios, la sobre expresión de miRNA165 genera la pérdida de la vasculatura central o metaxilema, contrariamente la sobre expresión de PHB conlleva a la pérdida de la vasculatura periférica o protoxilema como lo recuperado por nuestro modelo (tabla 4) (Kong et al. 2018b; Miyashima et al. 2011; Zhou et al. 2007). La sobreexpresión de PHB reduce los niveles de WOX5 provocando que no se especifique el CQ adecuadamente (Grigg et al. 2009). En la simulación de ganancia de función de PHB también observamos que los atractores que caracterizan el CQ y las C/Ei se pierden. En esta misma línea, la GF de SCR, CYCD3;1, E2Fc y la PF de RBR y E2Fb recuperaron el atractor para la endodermis, de estas proteínas SCR y RBR se ha descrito su actividad en la especificación de los tejidos del córtex y la endodermis a través del complejo CDKB1/CYCD6;1 (Cruz-Ramírez et al. 2012). Así mismo, CYCD3;1, E2Fb y E2Fc tienen relevancia en las transiciones de la fase G1-S o al proceso endorreduplicativo (del Pozo et al. 2007; Magyar et al. 2005) y no directamente en la especificación del tejido endodermal, estos resultados forman parte de las predicciones del modelo multiestable (tabla 4)

La especificación y mantenimiento del CQ ha sido descrita a través de mutantes para la PF de ARF5 (Wolters & Jürgens 2009), SCR (Sarkar et al. 2007), SHR (Sarkar et al. 2007), JKD (Welch et al. 2007), WOX5 (Kong et al. 2015), CCS52A/APC (Heyman et al. 2013), la GF de CLE40 (Chu et al. 2013), ARF10 (Ding & Friml 2010) y CYCD3;1 (Forzani et al. 2014) y este atractor se perdió en las simulaciones correspondientes (tabla 4), contrariamente, las simulaciones de PF de APC y GF de CYCD3;1 no concordaron con las observaciones experimentales, donde plantas mutantes para *ccs52a2* poseen una desorganización del CQ y las células iniciales

(Vanstraelen et al. 2009), así mismo, en la GF de APC/C se perdió el atractor para el CQ, sugiriendo la falta de datos experimentales que puedan ser agregados al modelo para recuperar mayor detalle de explicación. Interesantemente, en las simulaciones de GF de KRP1 y la PF de CYCD6;1, MYB3R1/4, CYCB1;1 y CDKB1;1 perdieron los atractores para el CQ y las CEi. KRP1, represor de CDKs, y la reducción o inhibición de MYB3R1/4, CYCB1;1 y CDKB1;1 promueven la entrada al proceso endorreducativo y no directamente al establecimiento y mantenimiento del CQ y CEi. Estas observaciones se suman a las predicciones de nuestro modelo multiestable (Boudolf et al. 2009; Cheng et al. 2013; Ito 2005; Verkest 2005). El establecimiento de la columela se ha descrito a través de la presencia del péptido CLE40 y el FT ARF10, bajas concentraciones del péptido resulta en la inducción de la proliferación y un retraso en la diferenciación de este tejido, en dicha simulación no se recuperó el atractor para columela (tabla 4) (Stahl et al. 2009). De modo similar, plantas mutantes para *arf10* y *arf16* muestran un aumento de filas con células troncales de la columela (Ding & Friml 2010; Wang et al. 2005).

El establecimiento del patrón en el eje longitudinal del RAM se ha mapeado a través de los gradientes en concentración de las hormonas auxina y citocinina y su correlación con el estado proliferativo de las células (figura 8) (Ishida et al. 2010; Moubayidin et al. 2009). Altas concentraciones de auxina poseen correspondencia con el establecimiento del NCTs y se promueve la proliferación de las descendientes de las células iniciales formando la ZP del RAM. La adición de auxinas produce raíces más largas y plantas con reducción de los niveles de auxinas poseen una ZP más pequeña comparada con raíces silvestres. De modo antagónico, altas concentraciones de citocinina y bajas concentraciones de auxina favorecen la entrada al proceso endorreducativo, emergiendo así, la ZT en el RAM y se producen raíces más cortas (Bianco et al. 2013; Dello Ioio et al. 2007, 2008; Ding & Friml 2010; Hartig & Beck 2006; Ishida et al. 2010; Rahman et al. 2007; Takahashi et al. 2013). Estos fenotipos multicelulares no son totalmente comparables con nuestro modelo unicelular, sin embargo, en la simulación de GF de AUX se perdieron los atractores que describen la ZT y se mantuvieron el CQ y las células iniciales en fase G2 (Willemse et al. 2008). Complementariamente, en la simulación de PF de AUX se perdieron los atractores que describen el CQ, CEi y la ZP y se mantuvieron los de la ZT (tabla 4). En la simulación de GF de CK los atractores que describen el CQ y las CEi se perdieron, pero se sostuvieron aquellos que describen la ZP y ZT, los nodos ARR1, SHY2, AUX/IAA y ARFs oscilaron a lo largo del periodo de los atractores de la ZP y en la PF de CK desaparecieron los atractores que describen la ZP del RAM, así mismo SHY2 y ARR1 se mantuvieron inactivos, sugiriendo que se necesita la presencia de citocinina, auxina y las oscilaciones de ARR1, SHY2, AUX/IAA y ARFs para promover la proliferación de las células, contrariamente a lo publicado en la literatura (Bishopp et al. 2009; Moubayidin et al. 2009; Schaller et al. 2014).

La actividad de los elementos de la maquinaria del ciclo celular han sido estudiados a través de alteraciones que afectan la proliferación de las células, algunos de estos promueven la progresión del ciclo celular tal como; CYCD3;1, SCF, E2Fa, E2Fb, E2Fe, MYBs, CYCA2;3,

CDKB1;1, CYCB1;1 (Boudolf et al. 2009; De Veylder et al. 2002; Dewitte et al. 2007; Imai et al. 2006; Kobayashi et al. 2015; Ren et al. 2008; Salehin et al. 2015; Shin et al. 2007). Otros elementos favorecen la entrada al proceso endorreducativo o que el ciclo celular quede arrestado en alguna fase, tal es el caso de RBR, E2Fa, E2Fc, KRP1, APC/C (Cheng et al. 2013; del Pozo et al. 2002, 2006, 2007; Gutierrez et al. 2002; Lammens et al. 2008; Magyar et al. 2012; Park et al. 2005; Ren et al. 2008; Takahashi et al. 2013). Esto se corroboró con las simulaciones de GF de APC/C, KRP1, RBR, E2Fe, CYCD3;1, MYB77, SCF y la PF de MYB3R1/4, E2Fa, E2Fb, E2Fe, CYCB1;1, CYCD3;1, dichas simulaciones no recuperaron los atractores para la ZP y se favoreció el estado endorreducativo observado en la ZT (tabla 4). Es interesante notar que la GF de E2Fe haya perdido los atractores para la ZP y recuperado los atractores de columela en fase G1, G2 y los de la ZT en fase G2 y en estado endorreducativo cuando se ha asociado al estado proliferativo (Lammens et al. 2008; Vlieghe et al. 2005). Así mismo, esta proteína se expresa en las transiciones G1/S y G2/M, teniendo un pico alto en G2 (Mariconti et al. 2002). Otra observación interesante es la GF de CYCD3;1 al no haber recuperado los atractores de la ZP pero haber recuperado los atractores de células troncales en fase G1, pues esta ciclina participa en la entrada al ciclo celular y se mantiene oscilando a lo largo de este, su sobreexpresión provoca un retraso en la expresión de los genes de la fase G2/M (Dewitte et al. 2003). Así mismo, la simulación de GF de BRX canalizó los atractores a CQ, columela 2 y 3, CVi, PVi, C.Prov. de la ZP y C.Prov. de la ZT perdiendo los atractores para la ZT2, ZT3 y CEi. Aunque nuestro modelo no es completamente equiparable a fenotipos multicelulares, plantas mutantes para *brx* poseen menos cantidad de raíces y estas tienen menor número de células sugiriendo la baja tasa de proliferación (Mouchel et al. 2004). Adicionalmente, su expresión promueve la presencia de PIN3, afectando la concentración de auxinas intracelulares y de este modo teniendo un efecto sobre el tamaño final de la raíz (Scacchi et al. 2009, 2010). De modo similar, las simulaciones de GF y PF de PHB, además de tener un efecto sobre la adquisición del fenotipo de la vasculatura central y el CQ, mostraron la pérdida de los atractores para la ZP. Este comportamiento puede deberse a que PHB induce la síntesis de citocininas en la ZT y de este modo las células entran en estado endorreducativo haciendo cambios en el tamaño del RAM (Drisch & Stahl 2015; Hayashi et al. 2013; Miyashima & Nakajima 2011; Miyashima et al. 2011).

La existencia de varias ZT es consecuencia de que el modelo recuperó dos variaciones del proceso endorreducativo (figuras 13b). El *endociclo 1* emergió cuando se obtuvieron oscilaciones de los nodos SHY2, AUX/IAA, ARFs, BRX y se mantuvieron activas simultáneamente las hormonas auxina y citocinina, esta configuración representaba una fase S/GAP/M (figura 13b) y el endociclo 2 emergió cuando la citocinina, SHY2 y ARR1 se sostuvieron activos a lo largo del periodo del atractor (figuras 13b). Para el endociclo 1, su configuración representa la transición entre el proceso proliferativo y la reorganización de la arquitectura de la célula que permite la entrada al proceso endorreducativo en la región apical de la ZT donde coexisten ambas hormonas (Baluška & Mancuso 2013; Kong et al. 2018a). Los elementos activos en el módulo de

ciclo celular cotejan este resultado, mostrando la competencia a proliferar o al proceso endorreducativo (tabla 3 y figura 13b) (Baluška & Mancuso 2013; Verbelen et al. 2006). Dicho atractor sostuvo activos a E2Fa, E2Fe y RBR, relacionados con la tasa proliferativa, en el que se encontró a E2Fe activo constitutivamente y a E2Fa y RBR oscilando entre los estados activos e inactivos en la medida que los ARFs y AUX/IAA oscilaban, esto se relaciona con lo reportado sobre la acción de estos elementos; la concentración del complejo E2Fa/RBR cuando CYCD3;1 tiene niveles de actividad reducidos promueve la entrada al proceso endorreducativo y E2Fe induce la proliferación celular a través de la represión de la subunidad CCS52A de APC (De Veylder et al. 2002; Lammens et al. 2008; Magyar et al. 2012). Para el endociclo 2, el atractor representa la región distal de la ZT donde la actividad de la citocinina fue preponderante, inhibiendo la acción de los elementos río debajo de auxina, sosteniendo ARR1, AUX/IAA y SHY2 constitutivamente activos mientras que E2Fa, E2Fc, E2Fe y RBR, involucrados en la regulación de la endorreducativa, estuvieron oscilando entre una fase GAP y una S, resultado cotejable con lo reportado en la literatura (figura 13b) (Park et al. 2005; Takahashi et al. 2013).

Tabla 4 - Resumen del análisis de pérdida y ganancia de función. R indica que el fenotipo se recuperó, PR indica que el fenotipo se recuperó parcialmente, NR indica que el fenotipo no se recuperó, NC indica que el fenotipo no es comparable con la evidencia experimental.

Nodo	+	Resultado de la ganancia de función	-	Resultado de la pérdida de función
CK	PR	CK reduce la concentración de WOX5, SCR y los transportadores de auxinas LAX2 y AUX1. La reducción de WOX5 promueve la proliferación del CQ. Esto concuerda con la simulación en la que se recupera un atractor cíclico que describe la proliferación del CQ. La simulación presentó el nodo ARR1 con valor constante de 1 en todos los atractores que describen los fenotipos de la ZP y ZT. Los atractores que describen las células iniciales se perdieron con respecto a la simulación WT. (Zhang et al. 2013)	NC	La reducción de la concentración de CK promueve la proliferación de las células iniciales y produce plantas con una ZP más grande y una ZT más pequeña que las WT. La simulación presentó atractores que describen una fase G2 del ciclo celular y una de endorreducativa que oscila entre una fase S y una G2 (Dello Ioio et al. 2007).
AUX	PR	Plantas tratadas con auxinas exógenas poseen menos cantidad de células en estado endorreducativo y una columela con mayor grado de diferenciación (Ding & Friml 2010; Sabatini et al. 1999). La simulación no caracterizó los atractores que describen la ZT, la columela 1 y 2.	PR	La simulación no caracterizó los atractores que describen el CQ, CEi, C.Vi, P.Vi y los atractores de la ZP. Plantas con bajas concentraciones de auxinas poseen meristemas más cortos como consecuencia de una entrada prematura a la endorreducativa celular (Ishida et al. 2010).
ARR1	NC	Plantas que contenían una construcción genética de ARR1 inducible por glucocorticoides presentaron una reducción del tamaño de la raíz después de 8 horas de tratamiento con dexametasona. La simulación de ARR1 caracterizó los mismos atractores que la WT a diferencia que el valor de ARR1 es igual a 1 en todos los atractores. No podemos comparar el	NC	Plantas mutantes para <i>arr1</i> contienen más células meristemáticas y un RAM más largo (Dello Ioio et al. 2007). Este es un fenotipo multicelular y no es comparable con nuestros resultados. La simulación caracterizó atractores muy similares a los WT, pero en ellos los valores de ARR1 y SHY2 son iguales a 0.

		resultado de ganancia de función de ARR1 porque sólo se caracterizó la reducción del tamaño y no la adición o pérdida de fenotipos celulares (Dello Ioio et al. 2008)		
SHY2	PR	Plantas que sobre expresan SHY2 poseen raíces más cortas comparadas con las WT. Además, SHY2 regula negativamente a ARF5 disminuyendo sus niveles de expresión. La simulación no caracterizó el atractor que describe el CQ y el valor de ARF5 fue 0 en todos los atractores (Dello Ioio et al. 2008; Moubayidin et al. 2010).	NC	Plantas mutantes para <i>shy2</i> tienen una zona proliferativa más grande comparada con las WT. Este fenotipo multicelular no es comparable con nuestra simulación porque no podemos cuantificar la longitud de la ZP (Dello Ioio et al. 2008; Moubayidin et al. 2010).
AUXIAA	PR	Plantas tratadas con un antagonista de auxinas producen raíces con una ZP más corta que las WT. La simulación caracterizó la pérdida de la expresión de ARF5 y los atractores que describen a los fenotipos del CQ y las células iniciales de la vasculatura (Scacchi et al. 2010).	PR	La degradación de las proteínas AUX/IAA ocurre a través de TIR1 y SCF en presencia de altas concentraciones de auxinas produciendo raíces con una ZP más grande que la WT. La simulación caracterizó a los atractores que describen las células troncales pero no aquellos que describen el proceso endorreduplicativo de la ZT (Dello Ioio et al. 2008; Takahashi et al. 2013).
ARF	NC	La simulación no caracterizó los atractores que describen a la columela 1 y la C.Prov. de la ZT1. La vía de señalización de las auxinas y citocininas mantienen valores igual a 0. No es comparable a los fenotipos reportados porque el efecto de los ARF depende muchos otros elementos regulatorios no descritos en sus reglas lógicas.	NC	La simulación no caracterizó el atractor que describe las C.Vi. La redundancia del efecto de los ARFs no permite una comparación fiable con los fenotipos reportados en la literatura.
ARF10	R	Plantas que sobre expresan el FT ARF10 tienen una expresión más baja de WOX5 comparadas con plantas WT. La simulación caracterizó la ausencia del atractor que describe el CQ (Ding & Friml 2010).	NC	En plantas mutantes para <i>arf10</i> las células de la columela no se diferencian correctamente. En estas mutantes no se observa una variación del dominio de expresión de WOX5 (Bennett et al. 2014). Estos resultados no son comparables con nuestro modelo porque dicho comportamiento de estas mutantes podría deberse a variaciones en la concentración de auxinas a lo largo de la raíz. La simulación caracterizó a WOX5 con valor igual a 1 en los atractores que describen la vasculatura central y periférica.
ARF5	PR	ARF5/MP está asociado a la proliferación de las células en la ZP (Scacchi et al. 2010). La simulación no caracterizó los patrones de expresión que describen los atractores CEi y P.Prov. de la ZT. La pérdida de los atractores que describen la región distal de la ZT prueba parcialmente este resultado.	R	Plantas mutantes para <i>arf5</i> no muestran actividad de WOX5. Las raíces muestran una pronta entrada al proceso endorreduplicativo comparadas con las WT (Sarkar et al. 2007). Se pierde atractor para el CQ. ARF5 está involucrado en la correcta expresión de WOX5 (Sarkar et al. 2007).
BRX	NC	En plantas mutantes <i>shy2</i> BRX expande su dominio de expresión hasta la zona de elongación. Plantas que sobre expresan BRX	NC	La homocigosidad para el alelo <i>brx</i> reduce el tamaño de la ZE y el meristemo en aproximadamente un 50% y un 70%,

		tienen un meristemo más grande comparado con plantas WT (Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2009, 2010). No se recuperaron los atractores para CEi, columela 1, ni C.Prov.ZT2 y 3. BRX está relacionado con el tamaño del RAM (Scacchi et al. 2010).		respectivamente, en comparación con plantas WT (Eshel & Beeckman 2013; Mouchel et al. 2004; Scacchi et al. 2009). Se recuperó un atractor adicional para P.Prov.ZT con un patrón del ciclo celular similar a C.Prov.ZT1.
SCR	NC	No se han analizado estas estos mutantes en el RAM. Se obtuvieron más atractores que describen la vasculatura periférica. Adicionalmente, se recuperó el atractor para la endodermis en el DT (Kajala et al. 2014).	R	En plantas mutantes para <i>scr</i> el CQ, las C/Ei y los tejidos provasculares son mal especificados. La simulación no caracterizó el CQ y C/Ei. Sin embargo, caracterizó los atractores que describen la vasculatura periférica y central (Sarkar et al. 2007; Zhou et al. 2010).
SHR	R	SHR reprime la expresión de CK en la columela. La simulación no caracterizó los atractores que describen la columela y la C.Prov.ZT2,3, C.Prov.DP (Cui et al. 2011; Hao & Cui 2012).	R	En plantas mutantes para <i>shr</i> no se especifica correctamente el CQ, la endodermis y el patrón de la vasculatura. La simulación caracterizó este fenómeno al no obtener el atractor CQ, CEi y la vasculatura periférica. SHR es necesario para su establecimiento (Hao & Cui 2012; Ogasawara et al. 2011).
MIR165	R	La sobre expresión de MIR165 difunde hacia la vasculatura central e impide su correcta diferenciación. La simulación no caracteriza los atractores que describen la vasculatura central (Miyashima et al. 2011).	R	Plantas con copias de <i>phb-mu</i> resistentes a la degradación por mir165 expresaron PHB en el RAM especificando los tejidos provasculares en metaxilema. La simulación caracterizó este fenómeno y adicionalmente no describió los atractores CQ, C/Ei, y la vasculatura periférica (Miyashima et al. 2011).
PHB	R	La sobre expresión de PHB hay un decremento en los niveles de expresión del mRNA de WOX5, los tejidos provasculares se especifican como metaxilema. Adicionalmente, la sobre expresión de PHB se ve una reducción de JKD. La simulación caracterizó la ausencia de WOX5 y por tanto la no presencia del CQ. También describió la no expresión de JKD y la ausencia del atractor C/Ei. El atractor que describe la columela y la vasculatura periférica no son descritos por la simulación. La vasculatura central presenta un ciclo celular completo y otro similar a un estado endorreduplicativo (Miyashima et al. 2011; Sebastian et al. 2015).	R	Plantas mutantes para <i>phb</i> muestran una especificación de protoxilema en la provasculatura. La vasculatura central no adquiere su identidad fenotípica. La simulación no caracterizó el atractor que describe la provasculatura central (Miyashima et al. 2011; Sebastian et al. 2015).
JKD	NC	No se ha analizado una línea mutante para JKD. La simulación caracterizó la expresión de ARF10 sólo en aquellos atractores que describen la endorreduplicación o el ciclo celular.	R	Plantas mutantes para <i>jdk</i> poseen defectos en la especificación del CQ y el tejido endodermal. La simulación no recuperó el atractor del CQ y C/Ei. Así mismo, el nodo SCR tuvo un valor igual a 0 en todos los atractores. (Ogasawara et al. 2011; Welch et al. 2007).
MGP	NC	No se han analizado líneas mutantes para MGP. La simulación caracterizó los atractores WT con	NC	MGP se expresa en las células que se dividen asimétricamente. Plantas mutantes para <i>mgp</i>

		la diferencia que en todos ellos MGP sostuvo un valor igual a 1 indicando que se expresaba constantemente.		no expresan cambios fenotípicos. La simulación caracterizó la ausencia de C/Ei. La especificación de este tejido depende también de la concentración de auxinas, atributo que este modelo no es capaz de caracterizar por ello no es comparable con los datos experimentales (Welch et al. 2007).
WOX5	PR	La sobre expresión de WOX5 provoca un retraso en la diferenciación celular de la progenie de las células iniciales de la columela. La simulación no caracterizó los atractores que describen la vasculatura central, periférica en las ZP, ZT y la columela (Sarkar et al. 2007)	R	Plantas mutantes para <i>wox5</i> poseen un nicho de células troncales desorganizado con células más grandes comparadas con las WT. La simulación no caracterizó el atractor que describe el CQ (Kong et al. 2015)(Sarkar et al. 2007)
CLE40	R	La sobre expresión del péptido CLE40 reduce los niveles de WOX5. La simulación caracterizó la no adquisición fenotípica del CQ. Adicionalmente, se caracterizaron dos atractores para C/Ei, estos difieren en la presencia simultánea de ARF5 y ARF10 (Stahl et al. 2009)	R	Niveles bajos de CLE40 retarda la diferenciación de las células de la columela. La simulación no caracterizó los atractores que describen la columela (Stahl et al. 2009)
CYCD6;1	R	El fenotipo resulta en más capas de córtex o endodermis (Sozzani et al. 2010). La simulación caracterizó dos atractores que describen las C/Ei, el primero es igual al WT y el segundo el nodo AUX/IAA está encendido en fase G2 del ciclo celular.	NC	Mutantes para <i>cycd6;1</i> tienen menos divisiones periclinales. En estadios del desarrollo el mutante muestra menos divisiones formativas (Sozzani et al. 2010). La simulación no caracterizó el atractor del CQ y las C/Ei.
CYCD3;1	NR	La sobre expresión de CYCD3 provoca que el CQ se divida, además la fase G1 se hace más corta en comparación con la fase G2 (Dewitte et al. 2007; Forzani et al. 2014). La simulación caracterizó un atractor que describe la endodermis en la ZT y en fase G2 del ciclo celular. Adicionalmente, la simulación caracterizó un segundo atractor para las C/Ei y ninguno de los fenotipos de la vasculatura tuvo un ciclo celular completo.	PR	Mutantes para <i>cycd3</i> poseen órganos más pequeños con menor cantidad de células. Niveles bajos provocan que las células se detengan en la fase G1 (Dewitte et al. 2007; Menges 2006; Planchais et al. 2004). En la simulación se obtuvieron los atractores de las células iniciales y la vasculatura en la ZT. No se recuperaron atractores que describieran los fenotipos en la ZP.
SCF	NC	SCF, a través de distintos factores, posee diversos roles sobre el ciclo celular. TIR1 controla la degradación de las AUX/IAA y con SKP2A/B la degradación de los FT E2Fs(Gray et al. 2001; Jurado et al. 2010). La simulación no caracteriza el ciclo celular para los fenotipos de la vasculatura central y periférica, los atractores oscilan entre una fase G1 y G1/S. Sólo caracterizó un atractor que describe la columela en estado endorreduplicativo.	NC	Plantas con niveles reducidos de TIR1 tienen un desarrollo afectado. Niveles bajos de SKP2A no tienen alteraciones en su desarrollo pero aumentan los niveles de AUX/IAA (Gray et al. 2001; Salehin et al. 2015). En los atractores de la ZP no se expresa RBR y tampoco los ARFs. Se caracterizó un atractor similar a P.Vi pero con la expresión de WOX5. Este fenotipo no es comparable con evidencia experimental porque depende de gradientes de concentración y el modelo debido a su naturaleza discreta no puede caracterizar este comportamiento.
RBR	R	Plantas que sobre expresan localmente RBR detienen el ciclo celular y permite la	RBR PR	La pérdida de RBR conlleva a la proliferación de las células de la columela y evita su

		diferenciación de los tejido en conjunto con ARF19 (Gutierrez et al. 2002; Perilli et al. 2013). La simulación caracterizó los atractores que describen las células iniciales de la vasculatura central, periférica y columela en fase G1 o G2 del ciclo celular.		diferenciación terminal, así mismo induce las divisiones asimétricas de las C/Ei (Gailloch et al. 2015). La simulación caracterizó los atractores que describen la vasculatura central con ciclos celulares completos y se caracterizó también el atractor para la endodermis en la ZT.
E2Fa	PR	La sobre expresión de E2Fa produce plantas con mayor cantidad de células. En las zonas de elongación produce células con ploidia de hasta 64C y retrasa la diferenciación celular (De Veylder et al. 2002). La simulación caracterizó atractores que describen la columela, el CQ y las C/Ei detenidos en fase G1.	R	En plantas mutantes <i>e2fa</i> , se sobre expresan CC5S2A1 y CC5S2A2, se observa una salida prematura de la fase proliferativa (De Veylder et al. 2002; Magyar et al. 2012). La mayoría de los atractores están detenidos en una fase GAP similar a una G2.
E2Fb	PR	E2Fb induce la transición a la fase S y M e inhibe la endorreducción, niveles altos de E2Fb provocan un acortamiento del ciclo celular (Magyar et al. 2005, 2012). Los atractores caracterizados por la simulación caracterizaron la C.Prov y la P.Prov de la ZT con una variación del ciclo celular similar a un endociclo. Se mantienen los atractores que describen el CQ, las C/Ei, C.Vi y P.Vi. Con el actual modelo no podemos caracterizar el tiempo o la longitud del ciclo celular debido a la naturaleza discreta del modelo.	R	La represión de E2Fb resulta en el cambio de la progresión del ciclo celular a endorreducción (Kobayashi et al. 2015; Magyar et al. 2005). La simulación caracterizó la pérdida de los atractores que describen la ZP y columela 3. Pero caracterizó el atractor que describe la endodermis en fase G1, atractor que no se caracteriza en la versión WT del modelo, y se mantienen los atractores para la vasculatura en la ZP.
E2Fc	PR	E2Fc es un inhibidor del ciclo celular, su sobre expresión incrementa el tamaño de las células porque favorece la endorreducción. La simulación caracteriza el tejido endodermal en una fase G2 del ciclo celular. Además, los atractores cíclicos que describen la vasculatura central y periférica en la ZP tienen al nodo auxina y CK con valores igual a 1 y el nodo SHY2 un valor igual a 0. Los atractores de la ZT también tienen el nodo SHY2 con valor igual a 0. La adquisición de los fenotipos de la ZP dependen de concentraciones de auxinas y es por eso que se puede comparar parcialmente con los datos experimentales (del Pozo et al. 2002, 2006, 2007; Jurado et al. 2010).	NR	Niveles bajos de E2Fc provocan la sobre expresión de CYCB1 y se obtienen plantas con células pequeñas, así mismo, mostraron una mayor proliferación en hojas, meristemas y células del periciclo. La simulación no caracterizó los atractores que describen la ZP y la columela. Sin embargo, caracterizó atractores con menor longitud de la vasculatura en la ZT comparados con los WT. (del Pozo et al. 2006, 2007; Jurado et al. 2010)
E2Fe	PR	La sobre expresión de E2Fe reduce la cantidad de células en estado endorreduccionativo y disminuye la ploidia. La simulación caracterizó los atractores de la ZT en una fase G2/M del ciclo celular y en estado endorreduccionativo. Los atractores que describen las células iniciales caracterizaron una fase G1 del ciclo celular. (Lammens et al. 2008; Vlieghe et al. 2005).	R	En plantas deficientes de E2Fe se favorece la entrada al endociclo (Lammens et al. 2008; Vlieghe et al. 2005). La simulación no caracterizó los atractores que describen la ZP pero sí los atractores que describen las células iniciales de la columela, la C:prov y P.Prov de la ZT en fase G1 del ciclo celular.

MYB77	NC	Plantas que sobre expresan MYB77 exhiben raíces atrofiadas (Shin et al. 2007). La simulación no caracterizó los atractores de la ZP pero si los de la ZT y células iniciales en una fase G2/M del ciclo celular. Este resultado no es comparable con la evidencia experimental porque es un fenotipo multicelular no caracterizable por nuestro modelo.	NC	En plantas mutantes para <i>myb77</i> la respuesta a auxinas se atenuó y produjeron plantas más pequeñas comparadas con las WT (Shin et al. 2007). La simulación caracterizó los atractores de la ZP con un ciclo celular de siete configuraciones distintas a la simulación WT. La acción de la auxina es dependiente de su concentración y no es comparable con el modelo.
MYB31/4	NC	No hay datos sobre estos mutantes y el ciclo celular. La simulación caracterizó el CQ, las células iniciales y las células de la columela en diferenciación terminal. Adicionalmente, caracterizó dos atractores de la ZT con un endociclo de cuatro configuraciones oscilando entre una fase G1 y G2/M.	R	Plantas mutantes para <i>myb31/4</i> presentan bajas concentraciones de los transcritos de los genes involucrados en la transición de la fase G2/M del ciclo celular. La simulación no caracterizó los atractores de la ZP, CQ y las células iniciales de la vasculatura central y periférica. Los atractores de la ZT caracterizaron el estado endorreduplicativo y una variación con 13 configuraciones (Haga et al. 2011).
CYCB1;1	R	Su sobre expresión produce células más pequeñas y se asocia a ciclos celulares muy activos. La simulación caracterizó los atractores WT con una expresión de MYB3R1/4, CDKB1;1 igual a 1 en la ZP (Ferreira et al. 2007; Richard et al. 2001)	R	Bajas concentraciones de esta ciclina se correlacionan con la entrada al endociclo o la adquisición fenotípica. La simulación no caracterizó las células iniciales de la vasculatura, el CQ y los atractores de la ZP (Ferreira et al. 2007)
CDKB1;1	R	CDKB1;1 tiene picos máximos en la fase G2-M del ciclo celular, su sobre expresión en conjunto con CYCA2A correlaciona con una alta tasa proliferativa. La simulación caracterizó los atractores WT, con la diferencia que CDKB1;1 posee un valor igual a 1 en todas las configuraciones (Boudolf et al. 2009; Magyar et al. 2005)	R	La sobre expresión del alelo dominante negativo favorece la entrada a la endorreduplicación. La simulación no caracterizó el CQ y las CEi. Los atractores de la ZP tienen un ciclo celular incompleto, falta la activación de los elementos de la fase M del ciclo celular (Boudolf et al. 2009).
CYCA2;3	PR	Su sobreexpresión provoca la transición del proceso endorreduplicativo al proliferativo en tricomas. No hay cambios significativos en la longitud de la raíz cuando se comparan con las WT (Imai et al. 2006). La simulación caracterizó los mismos atractores que los WT a diferencia de que CYCA2;3 tuvo valor igual a 1 en los atractores.	NR	En las mutantes se ve favorecida la endorreduplicación e incrementa los niveles de ploidia (Imai et al. 2006). La simulación caracterizó los atractores WT con la única diferencia de que en la ZP KRP1 posee un valor igual a 0 y la fase G1 tiene más configuraciones.
KRP1	R	La sobre expresión favorece la entrada al proceso endorreduplicativo (Ren et al. 2008). La simulación no caracterizó los atractores que describen el CQ, las CEi, Vi y los atractores para la ZP. Y el nodo AUX/IAA poseen un valor igual a 1 en todos los atractores.	R	En plantas mutantes para <i>krrp</i> presentan células más proliferativas (Cheng et al. 2013). No se afectaron los atractores, son similares a los WT.
APC/C	R	La ganancia de función de APC/C favorece la entrada al endociclo y permite que se mantenga	NR	Mutantes para <i>ccs52a</i> propicia la emergencia de raíces laterales en la porción de la ZP. Así

el CQ en estado quiescente (Vanstraelen et al. 2009). La simulación caracterizó el CQ en fase G1 del ciclo celular, y no los atractores que describen la ZP.

mismo se observa una organización aberrante del CQ y promueve su proliferación (Vanstraelen et al. 2009). La simulación caracterizó el atractor que describe el CQ y no aquellos de la ZP.

g. Análisis de Derrida

La prueba de Derrida se utiliza para observar el comportamiento de redes booleanas, *i.e.*, la propiedad de mantener la expresión coordinada de distintos genes bajo perturbaciones aleatorias. Las redes genéticas, al enfrentar una amplia variabilidad de condiciones externas, deben presentar dos propiedades muy importantes: a) debe ser lo suficientemente robusta y garantizar su estabilidad ante un amplio intervalo de condiciones externas y b) debe ser lo suficientemente flexible para evolucionar y adaptarse a nuevas condiciones. Para evaluar este comportamiento, consideramos una cantidad de pares de estados elegidos aleatoriamente $x(t)$ y $y(t)$ con n genes. Para cada uno de estos pares se calcula la distancia de Hamming:

$$h_t = H(x(t), y(t)) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i(t) \oplus y_i(t) \quad (2)$$

Además, se determina la distancia de Hamming después de una transición de estado:

$$h_{t+1} = H(x(t+1), y(t+1)) \quad (3)$$

Para todos los posibles valores de h_t , los valores de h_{t+1} se promedian sobre los pares de estados correspondientes. Posteriormente, los valores de h_t son graficados en el eje x , y el promedio h_{t+1} se grafica en el eje y . En esencia determina la relación de la distancia de Hamming entre dos estados elegidos aleatoriamente en el tiempo t al tiempo $t+1$: $S = H(t+1) / H(t)$ [en el límite de pequeñas distancias de Hamming es decir, la pendiente inicial en la curva de Derrida en la que todos los valores de $H(t+1)$ se representan frente a todos los valores de $H(t)$ correspondientes. Si la red es caótica, las transiciones de estado tienden a aumentar la distancia de Hamming, de modo que los valores se posicionarían por encima de la diagonal. Cuando la red es ordenada, los puntos se ubican por debajo de la diagonal y no divergen o divergen ligeramente. Kauffman postuló que las redes biológicas se ubican cerca del régimen crítico, entre el orden y el caos. Las redes ubicadas en este régimen presentan propiedades tales como una capacidad máxima de procesamiento de la información y una combinación entre robustez y evolvabilidad (Nykter et al. 2008; Torres-Sosa et al. 2012). En la gráfica se muestra que al principio la curva que describe a la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular está por encima de la línea identidad, rápidamente converge hacia ella y posteriormente diverge (figura 14).

Test de Derrida

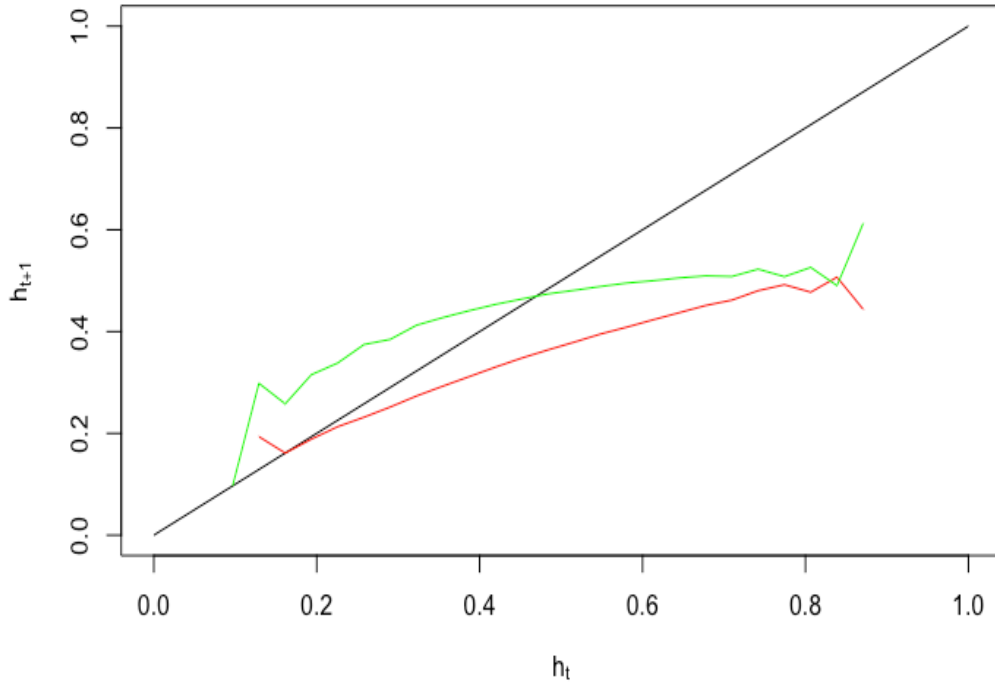


Figura 14. Curva de Derrida de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular. La línea verde representa las redes booleanas aleatorias y la línea roja la red dinámica de la proliferación y especificación celular.

7. Discusión

El establecimiento de cada zona en el meristemo apical de la raíz de *A. thaliana* sugiere la existencia de un dinamismo autorregulado y robusto capaz de determinar la longitud de estos mismos, el comportamiento de las células, la direccionalidad de las hormonas y establecer, a nivel macroscópico, un campo morfogenético. La red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular nos posibilita evaluar de manera mecanicista y a nivel de sistema la dinámica que subyace entre las hormonas auxina-citocinina, la diferenciación y el ciclo celular en el meristemo apical de la raíz de *A. thaliana*.

En este estudio proponemos una red booleana de 32 nodos que proporciona una explicación de la convergencia entre las redes de regulación genética que especifican la diferenciación en el RAM y la red de regulación que describe el ciclo celular en *A. thaliana*. Además, soporta que la red que regula la diferenciación celular determina el estado proliferativo de las células y, de manera contraria, la red que regula el ciclo celular afecta la accesibilidad hacia los fenotipos celulares. Algunos elementos puntuales que afectan este dinamismo son RBR, CYCD6;1, APC/C, KRP1, PHB, BRX, E2FC y E2Fb, referirse a la tabla 4.

Los atractores que se recuperan poseen configuraciones que corresponden a distintos fenotipos celulares asociados al patrón celular del RAM y su estado proliferativo. El modelo recupera 12 atractores que corresponden al CQ, C/Ei, C.Vi, P.Vi, Columela 1, 2 y 3, C.Prov de la ZP y ZT1, 2 y 3, finalmente, P.Prov. de la ZT (tabla 3 y figura 12). La simulación silvestre de la red no recupera el atractor para la endodermis en ninguna zona, pero las simulaciones de la GF de SCR, CYCD3;1, E2Fc y la PF de RBR lo hicieron, sugiriendo la existencia un asa de retroalimentación positiva para CYCD3;1 y/o E2Fc que estén mediando la proliferación y especificación de este tejido a través de la supresión de RBR, más datos deberán ser analizados y recabados para fortalecer esta hipótesis. En adición a la hipótesis anterior, la presencia del atractor para las C/Ei y la pérdida del atractor para la endodermis en la ZP y ZT también está ligado a dos causas: 1) la naturaleza discreta del modelo no permite caracterizar los gradientes hormonales que determinan el comportamiento de las células a lo largo del RAM como ya se ha reportado anteriormente (Garay-Arroyo et al. 2012). Por ejemplo, la proliferación de las células endodermales son dependientes de la concentración de auxinas que están influyendo sobre los niveles de CDKs y por tanto, en el estado de fosforilación de RBR que mantiene niveles bajos de CYCD6;1 y de este modo, previene las divisiones asimétricas de las C/Ei que dan origen al tejido del córtex y la endodermis (Miyashima & Nakajima 2011; Weimer et al. 2012). 2) la ciclina CYCD6;1 se expresa en C/EI y sus niveles se van reduciendo mientras se transita hacia la ZT, el modelo no posee reguladores que mantengan su dominio de expresión restringido de modo que cese la acción negativa sobre RBR y se continúe con el ciclo celular (Koizumi & Gallagher 2013).

En la simulación silvestre de la red, los atractores para CQ, C/Ei y Vi se encuentran en fase G2, lo que concuerda parcialmente a lo reportado experimentalmente donde demuestran

que las células iniciales de la vasculatura están predominantemente en fase G2 del ciclo celular y el CQ, las C/Ei se encuentran en una fase G1 muy larga y que del 13 al 25% de esta población se están en fase S o G2 (Willemse et al. 2008). Este resultado podría estar ligado a la acción de CYCD6;1, esta ciclina esta activa en los atractores de CQ y C/Ei inhibiendo la acción de RBR y, por tanto, deteniéndose en la siguiente fase Gap. Aunado a esto, no se ha detectado CYCD6;1 en el CQ, sugiriendo la existencia de su regulación espacial que delimite su presencia a C/Ei y la endodermis (Sozzani et al. 2010). De modo similar, los atractores para la columela poseen perfiles de expresión que caracterizan al proceso endorreduplicativo y proliferativo, pero no la fase G1 de acuerdo con lo reportado en el trabajo de (Willemse et al. 2008). El estado proliferativo de las células de la columela es dependiente de la concentración de la forma activa de la proteína RBR, concentraciones bajas de esta proteína en su forma activa conducen al incremento de capas en la columela de células con fenotipo troncal (Wildwater et al. 2005). Adicionalmente, los FTs ARF10 y ARF16, en conjunto con el miRNA160, están involucrados en controlar las divisiones de las Ci, plantas mutantes para *arf10/16* presentan capas adicionales de la columela con células en estado troncal (Wang et al. 2005), además, han identificado otros elementos regulatorios que controlan el comportamiento de las células de la columela, *e.g.*, el FT SBM relacionado con el proceso de diferenciación de las células de la columela, y su acción está restringida por WOX5, en este mismo estudio se observó que cuando WOX5 no se expresa correctamente, el gen SMB difunde hacia toda la región de la columela (Bennett et al. 2014). Sumado a la acción de SBM, se sabe que el FT FEZ contribuye al fenotipo mutante de *arf10/16* e interesantemente, se demostró que no está bajo la influencia de RBR (Bennett et al. 2014). En nuestro modelo no incorporamos la acción de miRNA160, SBM ni FEZ, elementos regulatorios importantes en el mantenimiento y desarrollo de la columela, además, no conocemos cuál es el efecto de estos FTs sobre los elementos regulatorios del ciclo celular. Otra posibilidad, involucra la vía RBR-E2F, esta vía actúa de distintas maneras para promover la diferenciación celular y la entrada al ciclo celular o a la endorreduplicación. En animales, la afinidad de RBR por las proteínas E2F cambia de acuerdo al contexto celular provocando distintas respuestas proliferativas, por un lado permitiendo grandes concentraciones de E2F para promover la entrada a la fase S del ciclo celular, promover o mantener el estado diferenciado y proteger a las células del proceso apoptótico (Lipinski & Jacks 1999). En plantas podría estar ocurriendo un proceso similar al que ocurre en animales y estar regulando procesos importantes durante el desarrollo embrionario.

La inactivación de KRP1 en los atractores proliferativos podría ser consecuencia de su regulación negativa por las auxinas (ver reglas lógicas en la sección 6c). En estos atractores, el nodo AUX se sostiene activo e influye en la represión del nodo KRP1. Cabe mencionar, que la regulación de KRP1, además de sus reguladores propuestos en la sección 5c, depende de SCF en complejo con SKP2B y por RKP, una enzima RING-E3 (Ren et al. 2008). Interesantemente, KRP1 posee un AuxRE y un sitio de unión E2F, lo que indicaría la falta de datos experimentales adicionales sobre la regulación de este importante elemento de la maquinaria del ciclo celular

(del Pozo & Manzano 2014; Ren et al. 2008). Del mismo modo, se encontraron secuencias AuxRE en RBR introduciendo mayor complejidad en su regulación a lo largo del ciclo celular (del Pozo & Manzano 2014).

La ZT es descrita como una zona muy dinámica donde las concentraciones de los elementos regulatorios de las vías de la auxina y citocinina se sobreponen (Baluška & Mancuso 2013; Kong et al. 2018a). Nuestro modelo describe esta zona con dos variaciones de endorreducción; endociclo 1 y 2, para el primer caso, el atractor caracteriza una fase G2/M y es acompañada por oscilaciones de activación y represión de SHY2, AUX/IAA, ARF, ARF10, ARF5 y BRX en presencia constante de auxina, citocinina y ARR1 (figura 13b). Este resultado, hipotetizamos, representa la región distal de la ZT donde las células son competentes para retornar al ciclo celular al tener presente CYCA2, relacionada al estado proliferativo y competente de las células (Bursens et al. 2000) y CYCA2;3, activa en el desarrollo de tricomas al finalizar la endorreducción y en tejidos que están proliferando (Imai et al. 2006). Adicionalmente, la presencia constante de E2Fe fortalece esta hipótesis al estar relacionado con el control de la periodicidad y la inhibición de la endorreducción celular, este elemento podría estar coadyuvando a mediar la respuesta en la velocidad y dirección del crecimiento de la raíz ante modificaciones ambientales (Mariconti et al. 2002; Vlieghe et al. 2005). El endociclo 2 por el contrario, caracteriza la región proximal de la ZT al poseer la vía de la citocinina activa (CK, ARR1, SHY2 y AUX/IAA) donde se prepondera la entrada al proceso de elongación a través de la sucesión de diversas rondas de endorreducción (figura 13b) (Kong et al. 2018a; Verbelen et al. 2006). En este atractor los elementos RBR, E2Fa, E2Fc y E2fe oscilan (un endociclo que fluctúa entre una fase G1 y una S) e interesantemente los componentes de las vías de la citocina permanecen activos (figura 13b y tabla 3). Así, nuestro modelo resalta que la ZT es una región donde las concentraciones de auxina y citocinina coexisten provocando las oscilaciones de ARFs y AUX/IAAs. Este fenómeno permite a las células mantener una propensión a seguir dividiéndose o iniciar el proceso endorreducativo.

La poliploidía celular es consecuencia de la endorreducción, esta a su vez, dependiendo de las fases del ciclo celular que visite, se divide en *endomitosis* y *endociclo* (Fox & Duronio 2013). La endomitosis presenta características de una mitosis pero sin pasar por la citocinesis y produce células con varios núcleos o con duplicación de cromosomas segregados envueltos en una misma membrana nuclear, el endociclo por otro lado, pasa por una fase S y una GAP y produce células con varias copias cromosómicas sin segregarse (Fox & Duronio 2013; Frawley & Orr-Weaver 2015). El endociclo 1 muestra una sucesión de activación similar a una endomitosis, pasa por una fase S/GAP/M muy cortas, el atractor es de 3 estados (figura 13b). Así mismo, el endociclo 2 representa transiciones entre una fase GAP y una S, caracterizando un endociclo. Estas diferencias en el proceso endorreducativo podrían tener consecuencias importantes en la respuesta ante condiciones ambientales en la ZT. Fox et al mencionan a la endorreducción como una respuesta de adaptación o amortiguamiento ante el estrés, aunque aún no se tiene claro cómo actúa la endorreducción durante el *desarrollo*, además de contribuir al crecimiento

de los órganos (Fox & Duronio 2013). Este proceso es relacionado también con la inestabilidad cromosómica y consecuentes patologías como el cáncer (Lee et al. 2009). El modelo nos brinda una predicción sobre la dinámica celular en la ZT, tener claro las diferencias entre endomitosis y endociclo en la ZT nos brindaría un mayor entendimiento sobre los mecanismos moleculares y la respuesta de las redes de regulación genética en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular. Así mismo, poder extrapolar estos resultados a otros sistemas de estudio como la homeostasis de los tejidos, la regeneración celular y el desarrollo embrionario en diversos organismos modelo (Fox & Duronio 2013; Øvrebø & Edgar 2018).

8. Conclusiones

El formalismo de redes booleanas permite integrar gran cantidad de datos que describen interacciones moleculares provenientes de la evidencia experimental y de análisis bioinformáticos para abstraer y entender como la dinámica de estas intrincadas redes da lugar a los patrones de expresión genética que representan distintos estados celulares. Su uso nos permitió caracterizar cualitativamente la emergencia y mantenimiento de los patrones de expresión genética-hormonal que dan identidad a los tejidos que conforman el meristemo apical de *Arabidopsis thaliana* y su estado proliferativo, *i.e.*, entender la relación que existe entre la diferenciación y el ciclo celular.

El análisis de la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular agrega datos en la relación ciclo celular y la adquisición fenotípica al evaluar a los mutantes del módulo regulatorio del ciclo celular. La alteración de estos elementos permite el acceso a distintos fenotipos celulares, *e.g.*, la ganancia de función de KRP1, E2Fc, CYCD3;1 y la pérdida de función de RBR, E2Fb y CYCD6 (ver tabla 4). De manera similar, los elementos regulatorios de la diferenciación determinan el estado proliferativo, *e.g.*, la ganancia de función de PHB, SHR, BRX y la pérdida de función de AUX/IAA y WOX5 (ver tabla 4). Estos resultados confirman la existencia de constricciones o una canalización a la accesibilidad de los patrones de expresión que especifican tipos celulares y estados funcionales de las células en un sistema morfogénico.

La red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular modela una red genética-hormonal regulatoria dentro de una célula, *i.e.*, es un modelo unicelular y por ello no es posible validar completamente las alteraciones que reflejan fenotipos multicelulares o cuantitativos, *e.g.*, modificaciones en la longitud del meristemo apical y el tamaño celular como consecuencia de la endorreduplicación. Sin embargo, alteraciones como la de CK, AUX, PHB, MYB3R1/4, KRP1, ARFs y AUX/IAA caracterizaron la pérdida o adición de fenotipos asociados a las ZP y ZT describiendo indirectamente un acortamiento o alargamiento del meristemo apical de la raíz, de esta manera se validó parcialmente lo observado en la evidencia experimental (ver tabla 4).

El modelo en la versión *silvestre* no caracterizó todos los *fenotipos esperados*, la naturaleza discreta del formalismo limitó que se recuperara el patrón de expresión que representa a la endodermis de la ZP y la ZT (ver figura 12). No obstante, la evaluación de mutantes para SCR, CYCD3;1, RBR, E2Fb y E2Fc permitió establecer predicciones sobre posibles asas regulatorias entre estos elementos que estén mediando la adquisición y mantenimiento del fenotipo endodermal en el meristemo apical de la raíz. De manera similar, la red dinámica de regulación de la proliferación y especificación celular predijo el patrón de expresión de la endomitosis y el endociclo celular en la ZT, dos maneras distintas de endorreduplicación que podrían estar relacionadas en la regulación y especificación de la orientación y la tasa de crecimiento de la raíz ante variaciones ambientales.

La *accesibilidad* a los fenotipos celulares está acotada por la relación no lineal entre los marcadores moleculares fenotípicos y las proteínas del ciclo celular. Una vez adquirido el fenotipo celular, la célula puede transitar hacia la proliferación o alguna variación de endorreproducción dependiendo de la presencia o ausencia de las hormonas y sus vías de señalización. Cuando la citocinina y la auxina coexisten emerge la endomitosis y si sólo la citocinina se expresa conduce hacia el endociclo celular. El meristemo apical de la raíz de *Arabidopsis thaliana* es una estructura relativamente sencilla, no obstante, posee módulos regulatorios robustos y flexibles que permiten la adaptabilidad a las variaciones ambientales de modo que se asegura su morfostasis.

La aplicación del pensamiento sistémico y el uso de herramientas matemático-computacionales permiten la abstracción, representación simbólica, la integración de datos y la construcción de modelos para representar, analizar y entender la fenomenología biológica. Los sistemas biológicos no son entes aislados, por tanto, su mantenimiento y evolución en el tiempo depende de la entrada y salida de energía, así como del tipo de interacciones que estos mantengan con su entorno. De modo que se torna importante estudiar no sólo las propiedades intrínsecas de los elementos que los componen sino también sus relaciones y su dinámica.

9. Apéndices

a. Código análisis de Derrida

```
# Obtain the points of a Derrida curve from <numberOfStates>
# Random state transitions of <network>

# Function 1

derridaCurve <- function(network, numberOfStates)
{
  points <- sapply(1:numberOfStates,function(i)
  {
    # sample random initial states
    state1_init <- round(runif(n=length(network$genes)))
    state2_init <- round(runif(n=length(network$genes)))
    # calculate state transitions
    state1_next <- stateTransition(network,state1_init)
    state2_next <- stateTransition(network,state2_init)
    # return the Hamming distances (x and y value)
    return(c(sum(state1_init != state2_init),
             sum(state1_next != state2_next)))
  })
  # calculate the means of the y values for all possible x values,
  # and normalize by the number of genes
  curve <- sapply(1:length(network$genes), function(i)
  {
    indices <- which(points[1,] == i)
    return(c(i,mean(points[2,indices])))
  })/length(network$genes)
  # return a matrix with the x values in the first row
  # and the y values in the second row
  curve <- cbind(c(0,0),curve)
  return(curve)
}

# Function 2

compareToRandom <- function(network)
{
  # generate a random network with the same function in-degrees
```

```

randomNetwork <- generateRandomNKNetwork(n=length(network$genes),
                                         k=sapply(network$interactions,
                                                  function(int)length(int$input)))

# calculate the two Derrida curves
points1 <- derridaCurve(network, 10000)
points2 <- derridaCurve(randomNetwork, 10000)
# plot the diagonal
plot(c(0,1), c(0,1), type="l", xlim=c(0,1), ylim=c(0,1), xlab=expression(h[t]),
     ylab=expression(h[t+ 1]), main = "Test de Derrida")
# plot the curves
lines(points1[1,], points1[2,], col="red")
lines(points2[1,], points2[2,], col="green")
}

```

Referencias

- Aida M, Beis D, Heidstra R, Willemsen V, Blilou I, et al. 2004. The PLETHORA Genes Mediate Patterning of the Arabidopsis Root Stem Cell Niche. *Cell*. 119(1):109–20
- Albert R, Othmer HG. 2003. The topology of the regulatory interactions predicts the expression pattern of the segment polarity genes in *Drosophila melanogaster*
- Ambawat S, Sharma P, Yadav NR, Yadav RC. 2013. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 19(3):307–21
- Antoniadi I, Plačková L, Simonovik B, Doležal K, Turnbull C, et al. 2015. Cell-Type-Specific Cytokinin Distribution within the Arabidopsis Primary Root Apex. *Plant Cell*. 27(7):1955–67
- Augustin HG, Young Koh G, Thurston G, Alitalo K. 2009. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin–Tie system. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10(3):165–77
- Azpeitia E, Benítez M, Vega I, Villarreal C, Alvarez-Buylla ER. 2010. Single-cell and coupled GRN models of cell patterning in the Arabidopsis thaliana root stem cell niche. *BMC Syst. Biol.* 4(1):134
- Azpeitia E, Weinstein N, Benítez M, Mendoza L, Alvarez-Buylla ER. 2013. Finding Missing Interactions of the Arabidopsis thaliana Root Stem Cell Niche Gene Regulatory Network. *Front. Plant Sci.* 4(April):1–20
- Baluška F, Mancuso S. 2013. Root apex transition zone as oscillatory zone. *Front. Plant Sci.* 4:354
- Bassel GW, Stamm P, Mosca G, Barbier de Reuille P, Gibbs DJ, et al. 2014. Mechanical constraints imposed by 3D cellular geometry and arrangement modulate growth patterns in the Arabidopsis embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(23):8685–90
- Belousov L V, Opitz JM, Gilbert SF. 1997. Life of Alexander G. Gurwitsch and his relevant contribution to the theory of morphogenetic fields. *Int. J. Dev. Biol.* 41(6):771–77; comment 778-9
- Benfey PN, Linstead PJ, Roberts K, Schiefelbein JW, Hauser M-T, Aeschbacher RA. 1993. Root development in Arabidopsis: four mutants with dramatically altered root morphogenesis. *Development*. 119:57–70
- Benjamins R, Scheres B. 2008. Auxin: The Looping Star in Plant Development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59(1):443–65
- Bennett T, van den Toorn A, Willemsen V, Scheres B. 2014. Precise control of plant stem cell activity through parallel regulatory inputs. *Development*. 141(21):4055–64
- Berckmans B, De Veylder L. 2009. Transcriptional control of the cell cycle. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12(5):599–605
- Bianco M Del, Giustini L, Sabatini S. 2013. Spatiotemporal changes in the role of cytokinin during root development. *New Phytol.* 199(2):324–38
- Bishopp A, Help H, Helariutta Y. 2009. Cytokinin Signaling During Root Development. In *International Review of Cell and Molecular Biology*, Vol. 276, pp. 1–48. Elsevier Inc. 1st ed.
- Boer MJM de, Does M de. 1990. The Relationship between Cell Division Pattern and Global Shape of Young Fern Gametophytes. I. A Model Study. *Bot. Gaz.* 151(4):423–34
- Bolker JA. 2000. Modularity in Development and Why It Matters to Evo-Devo. *Am. Zool.* 40(5):770–76
- Bornholdt S. 2008. Boolean network models of cellular regulation: prospects and limitations. *J. R. Soc. Interface.* 5(Suppl_1):S85–94
- Boscá S. 2011. Embryonic development in Arabidopsis thaliana: from the zygote division to the shoot meristem. *Front. Plant Sci.* 2:
- Boudolf V, Lammens T, Boruc J, Van Leene J, Van Den Daele H, et al. 2009. CDKB1;1 Forms a Functional Complex with CYCA2;3 to Suppress Endocycle Onset. *PLANT Physiol.* 150(3):1482–93
- Breuninger H, Rikirsch E, Hermann M, Ueda M, Laux T. 2008. Differential expression of WOX genes mediates apical-basal axis formation in the Arabidopsis embryo. *Dev. Cell*. 14(6):867–76
- Bursens S, de Almeida Engler J, Beeckman T, Richard C, Shaul O, et al. 2000. Developmental expression of the Arabidopsis thaliana CycA2;1 gene. *Planta*. 211(5):623–31
- Calderon-Villalobos LI, Tan X, Zheng N, Estelle M. 2010. Auxin Perception--Structural Insights. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(7):a005546–a005546
- Capron A, Chatfield S, Provart N, Berleth T. 2009. Embryogenesis: Pattern Formation from a Single Cell. *Arab. B.* 7:e0126
- Cheng Y, Cao L, Wang S, Li Y, Shi X, et al. 2013. Downregulation of multiple CDK inhibitor ICK/KRP genes upregulates the E2F pathway and increases cell proliferation, and organ and seed sizes in Arabidopsis. *Plant J.* 75(4):642–55
- Chu H, Liang W, Li J, Hong F, Wu Y, et al. 2013. A CLE-WOX signalling module regulates root meristem maintenance and vascular tissue development in rice. *J. Exp. Bot.* 64(17):5359–69

- Clowes FAL. 1953. The cytogenerative centre in roots with broad columellas. *New Phytol.* 52(1):48–57
- Clowes FAL. 1959. Apical meristems of roots. *Biol. Rev.* 34(4):501–27
- Cruz-Ramírez A, Díaz-Triviño S, Blilou I, Grieneisen VA, Sozzani R, et al. 2012. A bistable circuit involving SCARECROW-RETINOBLASTOMA integrates cues to inform asymmetric stem cell division. *Cell.* 150(5):1002–15
- Cui H, Hao Y, Kovtun M, Stolz V, Deng X-W, et al. 2011. Genome-Wide Direct Target Analysis Reveals a Role for SHORT-ROOT in Root Vascular Patterning through Cytokinin Homeostasis. *PLANT Physiol.* 157(3):1221–31
- De Jager SM, Maughan S, Dewitte W, Scofield S, Murray JAH. 2005. The developmental context of cell-cycle control in plants. *Semin. Cell Dev. Biol.* 16(3):385–96
- De Veylder L, Beeckman T, Beemster GTS, De Almeida Engler J, Ormenese S, et al. 2002. Control of proliferation, endoreduplication and differentiation by the Arabidopsis E2Fa-DPa transcription factor. *EMBO J.* 21(6):1360–68
- De Veylder L, Beeckman T, Inzé D. 2007. The ins and outs of the plant cell cycle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8(8):655–65
- del Pozo JC, Boniotti MB, Gutierrez C. 2002. Arabidopsis E2Fc functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF(AtSKP2) pathway in response to light. *Plant Cell.* 14(12):3057–71
- del Pozo JC, Diaz-Trivino S, Cisneros N, Gutierrez C. 2006. The balance between cell division and endoreplication depends on E2FC-DPB, transcription factors regulated by the ubiquitin-SCFSKP2A pathway in Arabidopsis. *Plant Cell.* 18(9):2224–35
- del Pozo JC, Diaz-Trivino S, Cisneros N, Gutierrez C. 2007. The E2FC-DPB Transcription Factor Controls Cell Division, Endoreplication and Lateral Root Formation in a SCF-Dependent Manner. *Plant Signal. Behav.* 2(4):273–74
- del Pozo JC, Manzano C. 2014. Auxin and the ubiquitin pathway. Two players—one target: the cell cycle in action. *J. Exp. Bot.* 65(10):2617–32
- Dello Ioio R, Galinha C, Fletcher AG, Grigg SP, Molnar A, et al. 2012. A PHABULOSA/Cytokinin Feedback Loop Controls Root Growth in Arabidopsis. *Curr. Biol.* 22(18):1699–1704
- Dello Ioio R, Linhares FS, Scacchi E, Casamitjana-Martinez E, Heidstra R, et al. 2007. Cytokinins Determine Arabidopsis Root-Meristem Size by Controlling Cell Differentiation. *Curr. Biol.* 17(8):678–82
- Dello Ioio R, Nakamura K, Moubayidin L, Perilli S, Taniguchi M, et al. 2008. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science.* 322(5906):1380–84
- Desvoyes B, Fernández-Marcos M, Sequeira-Mendes J, Otero S, Vergara Z, Gutierrez C. 2014. Looking at plant cell cycle from the chromatin window. *Front. Plant Sci.* 5(July):369
- Dewitte W, Murray JAH. 2003. The plant cell cycle. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54(1):235–64
- Dewitte W, Riou-Khamlichi C, Scofield S, Healy JMS, Jacquard A, et al. 2003. Altered cell cycle distribution, hyperplasia, and inhibited differentiation in Arabidopsis caused by the D-type cyclin CYCD3. *Plant Cell.* 15(1):79–92
- Dewitte W, Scofield S, Alcasabas AA, Maughan SC, Menges M, et al. 2007. Arabidopsis CYCD3 D-type cyclins link cell proliferation and endocycles and are rate-limiting for cytokinin responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104(36):14537–42
- Ding Z, Friml J. 2010. Auxin regulates distal stem cell differentiation in Arabidopsis roots. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107(26):12046–51
- Dolan L, Janmaat K, Willemsen V, Linstead P, Poethig S, et al. 1993. Cellular organisation of the Arabidopsis thaliana root. *Development.* 119(1):71–84
- dos Santos Maraschin F, Memelink J, Offringa R. 2009. Auxin-induced, SCF TIR1-mediated poly-ubiquitination marks AUX/IAA proteins for degradation. *Plant J.* 59(1):100–109
- Drisch RC, Stahl Y. 2015. Function and regulation of transcription factors involved in root apical meristem and stem cell maintenance. *Front. Plant Sci.* 6:1–8
- Edgar B a, Zielke N, Gutierrez C. 2014. Endocycles: a recurrent evolutionary innovation for post-mitotic cell growth. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15(3):197–210
- Eshel A, Beeckman T. 2013. *Plant Roots: The Hidden Half*
- Espinosa-Soto C. 2004. A Gene Regulatory Network Model for Cell-Fate Determination during Arabidopsis thaliana Flower Development That Is Robust and Recovers Experimental Gene Expression Profiles. *PLANT CELL ONLINE.* 16(11):2923–39
- Ferreira PCG, Hemerly AS, de Almeida Engler J, Montagu M Van, Engler G, Inze D. 2007. Developmental Expression of the Arabidopsis Cyclin Gene cyc1At. *Plant Cell.* 6(12):1763

- Fleming AJ. 2006. The co-ordination of cell division, differentiation and morphogenesis in the shoot apical meristem: a perspective. *J. Exp. Bot.* 57(1):25–32
- Forzani C, Aichinger E, Sornay E, Willemsen V, Laux T, et al. 2014. Report WOX5 Suppresses CYCLIN D Activity to Establish Quiescence at the Center of the Root Stem Cell Niche. *Curr. Biol.* 24(16):1939–44
- Fox DT, Duronio RJ. 2013. Endoreplication and polyploidy: insights into development and disease. *Development.* 140(1):3–12
- Fozard J a, Lucas M, King JR, Jensen OE. 2013. Vertex-element models for anisotropic growth of elongated plant organs. *Front. Plant Sci.* 4(July):233
- Francis D. 2008. Cell cycle control and plant development. Annual Plant Reviews, Volume 32. *Ann. Bot.* 101(7):356
- Frawley LE, Orr-Weaver TL. 2015. Polyploidy. *Curr. Biol.* 25(9):R353–58
- Gaillochet C, Lohmann JU. 2015. The never-ending story: from pluripotency to plant developmental plasticity. *Development.* 142(13):2237–49
- Gao Y, Zhao Y. 2014. *Auxin and Its Role in Plant Development*, Vol. 33. Vienna: Springer Vienna
- Garay-Arroyo A, De La Paz Sánchez M, García-Ponce B, Azpeitia E, Álvarez-Buylla ER. 2012. Hormone symphony during root growth and development. *Dev. Dyn.* 241(12):1867–85
- García-Gómez ML, Azpeitia E, Álvarez-Buylla ER. 2017. A dynamic genetic-hormonal regulatory network model explains multiple cellular behaviors of the root apical meristem of Arabidopsis thaliana. *PLoS Comput. Biol.* 13(4):e1005488
- Gilbert SF. 2013. Developmental Biology. *Dev. Biol.* (1994):
- Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M. 2001. Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature.* 414(6861):271–76
- Green KJ, Getsios S, Troyanovsky S, Godsel LM. 2010. Intercellular Junction Assembly, Dynamics, and Homeostasis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2(2):a000125–a000125
- Grigg SP, Galinha C, Kornet N, Canales C, Scheres B, Tsiantis M. 2009. Repression of apical homeobox genes is required for embryonic root development in Arabidopsis. *Curr. Biol.* 19(17):1485–90
- Guillot C, Lecuit T. 2013. Mechanics of Epithelial Tissue Homeostasis and Morphogenesis. *Science (80-).* 340(6137):1185–89
- Gutierrez C. 2005. Coupling cell proliferation and development in plants. *Nat. Cell Biol.* 7(6):535–41
- Gutierrez C. 2009. The Arabidopsis cell division cycle. *Arab. B.* 7:e0120
- Gutierrez C, Ramirez-Parra E, Castellano MM, del Pozo JC. 2002. G(1) to S transition: more than a cell cycle engine switch. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5(6):480–86
- Hadjantonakis K, Solnica-Krezel L. 2010. Developmental biology 50 years-investigating the emergence of shape. Introduction. *Dev. Biol.* 341(1):2–4
- Haga N, Kobayashi K, Suzuki T, Maeo K, Kubo M, et al. 2011. Mutations in MYB3R1 and MYB3R4 cause pleiotropic developmental defects and preferential down-regulation of multiple G2/M-specific genes in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 157(2):706–17
- Hao Y, Cui H. 2012. SHORT-ROOT regulates vascular patterning, but not apical meristematic activity in the Arabidopsis root through cytokinin homeostasis. *Plant Signal. Behav.* 7(3):314–17
- Hardtke CS, Berleth T. 1998. The Arabidopsis gene MONOPTEROS encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J.* 17(5):1405–11
- Hartig K, Beck E. 2006. Crosstalk between Auxin, Cytokinins, and Sugars in the Plant Cell Cycle. *Plant Biol.* 8(3):389–96
- Hartwell LH, Hopfield JJ, Leibler S, Murray AW. 1999. From molecular to modular cell biology. *Nature.* 402(6761supp):C47–52
- Hayashi K, Hasegawa J, Matsunaga S. 2013. The boundary of the meristematic and elongation zones in roots: endoreduplication precedes rapid cell expansion. *Sci. Rep.* 3(1):2723
- Hejnowicz Z. 1989. Differential growth resulting in the specification of different types of cellular architecture in root meristems. *Environ. Exp. Bot.* 29(1):85–93
- Hemerly A, Engler J de A, Bergounioux C, Van Montagu M, Engler G, et al. 1995. Dominant negative mutants of the Cdc2 kinase uncouple cell division from iterative plant development. *EMBO J.* 14(16):3925–36
- Heyman J, Cools T, Vandebussche F, Heyndrickx KS, Van Leene J, et al. 2013. ERF115 controls root quiescent center cell division and stem cell replenishment. *Science.* 342(6160):860–63
- Himanen K. 2002. Auxin-Mediated Cell Cycle Activation during Early Lateral Root Initiation. *PLANT CELL ONLINE.* 14(10):2339–51
- Hirano H, Shinmyo A, Sekine M. 2011. Arabidopsis G1 cell cycle proteins undergo proteasome-dependent degradation during sucrose starvation. *Plant Physiol. Biochem. PPB.* 49(6):687–91

- Honda H, Nagai T. 2015. Cell models lead to understanding of multi-cellular morphogenesis consisting of successive self-construction of cells. *J. Biochem.* 157(3):129–36
- Huang S, Kauffman SA. 2012. ComplexGRN complex GeneComplex GRN Regulatory Networks – from Structure to Biological Observables: Cell Fate Determination Gene regulation, cell fate determination. In *Computational Complexity*, pp. 527–60. New York, NY: Springer New York
- Huang S, Wiksw J. 2006. Dimensions of systems biology. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 157(July):81–104
- Imai KK, Ohashi Y, Tsuge T, Yoshizumi T, Matsui M, et al. 2006. The A-type cyclin CYCA2;3 is a key regulator of ploidy levels in Arabidopsis endoreduplication. *Plant Cell.* 18(2):382–96
- Inzé D, De Veylder L. 2006. Cell Cycle Regulation in Plant Development. *Annu. Rev. Genet.* 40(1):77–105
- Ishida T, Adachi S, Yoshimura M, Shimizu K, Umeda M, Sugimoto K. 2010. Auxin modulates the transition from the mitotic cycle to the endocycle in Arabidopsis. *Development.* 137(1):63–71
- Ito M. 2005. Conservation and diversification of three-repeat Myb transcription factors in plants. *J. Plant Res.* 118(1):61–69
- Ivanov VB. 2007. Stem cells in the root and the problem of stem cells in plants. *Russ. J. Dev. Biol.* 38(6):338–49
- Ivanov VB, Dubrovsky JG. 2013. Longitudinal zonation pattern in plant roots: Conflicts and solutions
- Jacobs T. 1997. Why Do Plant Cells Divide? *Plant Cell.* 9(7):1021–29
- Jakoby M, Schnittger A. 2004. Cell cycle and differentiation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7(6):661–69
- Jurado S, Abraham Z, Manzano C, López-Torrejón G, Pacios LF, Del Pozo JC. 2010. The Arabidopsis cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin. *Plant Cell.* 22(12):3891–3904
- Jurado S, Díaz-Triviño S, Abraham Z, Manzano C, Gutierrez C, del Pozo C. 2008. SKP2A, an F-box protein that regulates cell division, is degraded via the ubiquitin pathway. *Plant J.* 53(5):828–41
- Kajala K, Ramakrishna P, Fisher A, C. Bergmann D, De Smet I, et al. 2014. Omics and modelling approaches for understanding regulation of asymmetric cell divisions in arabidopsis and other angiosperm plants. *Ann. Bot.* 113(7):1083–1105
- Kauffman S. 1969a. Homeostasis and differentiation in random genetic control networks. *Nature.* 224(5215):177–78
- Kauffman SA. 1969b. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *J. Theor. Biol.* 22(3):437–67
- Kauffman SA. 1993. *The Origins of Order*
- Knoll AH. 2011. The Multiple Origins of Complex Multicellularity. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 39(1):217–39
- Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, et al. 2015. Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J.* 34(15):1992–2007
- Koizumi K, Gallagher KL. 2013. Identification of SHRUBBY, a SHORT-ROOT and SCARECROW interacting protein that controls root growth and radial patterning. *Development.* 140(6):1292–1300
- Komaki S, Sugimoto K. 2012. Control of the Plant Cell Cycle by Developmental and Environmental Cues. *Plant Cell Physiol.* 53(6):953–64
- Kong X, Liu G, Liu J, Ding Z. 2018a. The Root Transition Zone: A Hot Spot for Signal Crosstalk. *Trends Plant Sci.* 23(5):403–9
- Kong X, Lu S, Tian H, Ding Z. 2015. WOX5 is Shining in the Root Stem Cell Niche. *Trends Plant Sci.* 20(10):601–3
- Kong X, Tian H, Yu Q, Zhang F, Wang R, et al. 2018b. PHB3 Maintains Root Stem Cell Niche Identity through ROS-Responsive AP2/ERF Transcription Factors in Arabidopsis. *Cell Rep.* 22(5):1350–63
- Kuroha T, Tokunaga H, Kojima M, Ueda N, Ishida T, et al. 2009. Functional Analyses of LONELY GUY Cytokinin-Activating Enzymes Reveal the Importance of the Direct Activation Pathway in Arabidopsis. *Plant Cell.* 21(10):3152–69
- Lammens T, Boudolf V, Kheibarshekan L, Zalmas LP, Gaamouche T, et al. 2008. Atypical E2F activity restrains APC/CCCS52A2 function obligatory for endocycle onset. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105(38):14721–26
- Lee HO, Davidson JM, Duronio RJ. 2009. Endoreplication: polyploidy with purpose. *Genes Dev.* 23(21):2461–77
- Lee U. 2012. *Role of PHABULOSA in Arabidopsis root vascular differentiation*
- Lesne A, Bourguin P. 2011. *Morphogenesis: Origins of Patterns and Shapes*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg
- Levin DA. 1978. Some Genetic Consequences of Being a Plant. , pp. 189–212
- Lindenmayer A. 1975. Developmental algorithms for multicellular organisms: A survey of L-systems. *J. Theor. Biol.* 54(1):3–22
- Lipinski MM, Jacks T. 1999. The retinoblastoma gene family in differentiation and development. *Oncogene.* 18(55):7873–82
- Long JA, Ohno C, Smith ZR, Meyerowitz EM. 2006. TOPLESS regulates apical embryonic fate in Arabidopsis. *Science.* 312(5779):1520–23
- Magyar Z, De Veylder L, Atanassova A, Bakó L, Inzé D, Bögre L. 2005. The role of the Arabidopsis E2FB

- transcription factor in regulating auxin-dependent cell division. *Plant Cell*. 17(9):2527–41
- Magyar Z, Horváth B, Khan S, Mohammed B, Henriques R, et al. 2012. Arabidopsis E2FA stimulates proliferation and endocycle separately through RBR-bound and RBR-free complexes. *EMBO J*. 31(6):1480–93
- Mariconti L, Pellegrini B, Cantoni R, Stevens R, Bergounioux C, et al. 2002. The E2F family of transcription factors from Arabidopsis thaliana. Novel and conserved components of the retinoblastoma/E2F pathway in plants. *J. Biol. Chem*. 277(12):9911–19
- Mayer U, Büttner G, Jürgens G. 1993. Apical-basal pattern formation in the Arabidopsis embryo: studies on the role of the *gnom* gene. *Development*. 117:149–62
- Mendoza L, Alvarez-Buylla ER. 2000. Genetic regulation of root hair development in Arabidopsis thaliana: A network model. *J. Theor. Biol*. 204(3):311–26
- Menges M. 2006. The D-Type Cyclin CYCD3;1 Is Limiting for the G1-to-S-Phase Transition in Arabidopsis. *PLANT CELL ONLINE*. 18(4):893–906
- Meyerowitz EM. 2002. Plants compared to animals: the broadest comparative study of development. *Science*. 295(5559):1482–85
- Miyashima S, Koi S, Hashimoto T, Nakajima K. 2011. Non-cell-autonomous microRNA165 acts in a dose-dependent manner to regulate multiple differentiation status in the Arabidopsis root. *Development*. 138(11):2303–13
- Miyashima S, Nakajima K. 2011. The root endodermis: A hub of developmental signals and nutrient flow. *Plant Signal. Behav*. 6(12):1954–58
- Möller BK. 2012. *Identification of novel MONOPTEROS target genes in embryonic root initiation*
- Moubayidin L, Di Mambro R, Sabatini S. 2009. Cytokinin–auxin crosstalk. *Trends Plant Sci*. 14(10):557–62
- Moubayidin L, Perilli S, Dello Ioio R, Di Mambro R, Costantino P, Sabatini S. 2010. The Rate of Cell Differentiation Controls the Arabidopsis Root Meristem Growth Phase. *Curr. Biol*. 20(12):1138–43
- Mouchel CF, Briggs GC, Hardtke CS. 2004. Natural genetic variation in Arabidopsis identifies BREVIS RADIX, a novel regulator of cell proliferation and elongation in the root. *Genes Dev*. 18(6):700–714
- Müller WA. 1999. Differentiation: A central topic in developmental and cell biology. *Naturwissenschaften*. 86(10):457–67
- Müssel C, Hopfensitz M, Kestler HA. 2010. BoolNet - an R package for generation, reconstruction and analysis of Boolean networks. *Bioinformatics*
- Myster DL, Duronio RJ. 2000. Cell cycle: To differentiate or not to differentiate? *Curr. Biol*. 10(8):R302–4
- Nakajima K, Benfey PN. 2002. Signaling In and Out: Control of Cell Division and Differentiation in the Shoot and Root. *Plant Cell*. 14(90001):S265-276
- Nguyen TA, Cissé OH, Yun Wong J, Zheng P, Hewitt D, et al. 2017. Innovation and constraint leading to complex multicellularity in the Ascomycota. *Nat. Commun*. 8:14444
- Niklas KJ, Newman SA. 2013. The origins of multicellular organisms. *Evol. Dev*. 15(1):41–52
- Nykter M, Price ND, Aldana M, Ramsey SA, Kauffman SA, et al. 2008. Gene expression dynamics in the macrophage exhibit criticality. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 105(6):1897–1900
- Oakenfull EA, Riou-Khamlichi C, Murray JAH. 2002. Plant D-type cyclins and the control of G1 progression. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*. 357(1422):749–60
- Ogasawara H, Kaimi R, Colasanti J, Kozaki A. 2011. Activity of transcription factor JACKDAW is essential for SHR/SCR-dependent activation of SCARECROW and MAGPIE and is modulated by reciprocal interactions with MAGPIE, SCARECROW and SHORT ROOT. *Plant Mol. Biol*. 77(4–5):489–99
- Ortiz-Gutiérrez E, García-Cruz K, Azpeitia E, Castillo A, Sánchez M de la P, Álvarez-Buylla ER. 2015. A Dynamic Gene Regulatory Network Model That Recovers the Cyclic Behavior of Arabidopsis thaliana Cell Cycle. *PLOS Comput. Biol*. 11(9):e1004486
- Øvrebø JI, Edgar BA. 2018. Polyploidy in tissue homeostasis and regeneration. *Development*. 145(14):dev156034
- Pacifici E, Polverari L, Sabatini S. 2015. Plant hormone cross-talk: the pivot of root growth. *J. Exp. Bot*. 66(4):1113–21
- Park JA, Ahn JW, Kim YK, Su JK, Kim JK, et al. 2005. Retinoblastoma protein regulates cell proliferation, differentiation, and endoreduplication in plants. *Plant J*. 42(2):153–63
- Pauklin S, Vallier L. 2013. XThe cell-cycle state of stem cells determines cell fate propensity. *Cell*. 155(1):135
- Pauluzzi G, Divol F, Puig J, Guiderdoni E, Dievart A, Périn C. 2012. Surfing along the root ground tissue gene network. *Dev. Biol*. 365(1):14–22
- Perianez-Rodríguez J, Manzano C, Moreno-Risueno MA. 2014. Post-embryonic organogenesis and plant regeneration from tissues: two sides of the same coin? *Front. Plant Sci*. 5:219
- Perilli S, Perez-Perez JM, Di Mambro R, Peris CL, Díaz-Triviño S, et al. 2013. RETINOBLASTOMA-RELATED

- protein stimulates cell differentiation in the Arabidopsis root meristem by interacting with cytokinin signaling. *Plant Cell*. 25(11):4469–78
- Peter IS, Davidson EH. 2016. Implications of Developmental Gene Regulatory Networks Inside and Outside Developmental Biology. In *Current Topics in Developmental Biology*, Vol. 117, pp. 237–51. Academic Press
- Planchais S, Samland AK, Murray JAH. 2004. Differential stability of Arabidopsis D-type cyclins: CYCD3;1 is a highly unstable protein degraded by a proteasome-dependent mechanism. *Plant J*. 38(4):616–25
- Polyn S, Willems A, De Veylder L. 2015. Cell cycle entry, maintenance, and exit during plant development. *Curr. Opin. Plant Biol*. 23:1–7
- Prusinkiewicz P, Runions A. 2012. Computational models of plant development and form. *New Phytol*. 193(3):549–69
- Rahman A, Bannigan A, Sulaman W, Pechter P, Blancaflor EB, Baskin TI. 2007. Auxin, actin and growth of the Arabidopsis thaliana primary root. *Plant J*. 50(3):514–28
- Ren H, Santner A, del Pozo JC, Murray JAH, Estelle M. 2008. Degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor KRP1 is regulated by two different ubiquitin E3 ligases. *Plant J*. 53(5):705–16
- Richard C, Granier C, Inzé D, Veylder L De. 2001. Analysis of cell division parameters and cell cycle gene expression during the cultivation of Arabidopsis thaliana cell suspensions. *J. Exp. Bot*. 52(361):1625–33
- Roudier F. 2003. The Medicago Species A2-Type Cyclin Is Auxin Regulated and Involved in Meristem Formation But Dispensable for Endoreduplication-Associated Developmental Programs. *PLANT Physiol*. 131(3):1091–1103
- Sabatini S, Beis D, Wolkenfelt H, Murfett J, Guilfoyle T, et al. 1999. An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. *Cell*. 99(5):463–72
- Sabatini S, Heidstra R, Wildwater M, Scheres B. 2003. SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem. *Genes Dev*. 17(3):354–58
- Salehin M, Bagchi R, Estelle M. 2015. SCFTIR1/AFB-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development. *Plant Cell*. 27(1):9–19
- Sanz L, Dewitte W, Forzani C, Patell F, Nieuwland J, et al. 2011. The Arabidopsis D-type cyclin CYCD2;1 and the inhibitor ICK2/KRP2 modulate auxin-induced lateral root formation. *Plant Cell*. 23(2):641–60
- Sarkar AK, Luijten M, Miyashima S, Lenhard M, Hashimoto T, et al. 2007. Conserved factors regulate signalling in Arabidopsis thaliana shoot and root stem cell organizers. *Nature*. 446(7137):811–14
- Scacchi E, Osmont KS, Beuchat J, Salinas P, Navarrete-Gómez M, et al. 2009. Dynamic, auxin-responsive plasma membrane-to-nucleus movement of Arabidopsis BRX. *Development*. 136(12):2059–67
- Scacchi E, Salinas P, Gujas B, Santuari L, Krogan N, et al. 2010. Spatio-temporal sequence of cross-regulatory events in root meristem growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 107(52):22734–39
- Schaller GE, Street IH, Kieber JJ. 2014. Cytokinin and the cell cycle. *Curr. Opin. Plant Biol*. 21:7–15
- Schlereth A, Möller B, Liu W, Kientz M, Flipse J, et al. 2010. MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature*. 464(7290):913–16
- Schmuths H, Meister A, Horres R, Bachmann K. 2004. Genome Size Variation among Accessions of Arabidopsis thaliana. *Ann. Bot*. 93(3):317–21
- Sebastian J, Ryu KH, Zhou J, Tarkowská D, Tarkowski P, et al. 2015. PHABULOSA Controls the Quiescent Center-Independent Root Meristem Activities in Arabidopsis thaliana. *PLoS Genet*. 11(3):1–27
- Serna L. 2005. Epidermal cell patterning and differentiation throughout the apical-basal axis of the seedling. *J. Exp. Bot*. 56(418):1983–89
- Shen W-H. 2002. The plant E2F–Rb pathway and epigenetic control. *Trends Plant Sci*. 7(11):505–11
- Shin R, Burch AY, Huppert KA, Tiwari SB, Murphy AS, et al. 2007. The Arabidopsis transcription factor MYB77 modulates auxin signal transduction. *Plant Cell*. 19(8):2440–53
- Smith ZR, Long JA. 2010. Control of Arabidopsis apical–basal embryo polarity by antagonistic transcription factors. *Nature*. 464(7287):423–26
- Souter M, Lindsey K. 2000. Polarity and signalling in plant embryogenesis. *J. Exp. Bot*. 51(347):971–83
- Sozzani R, Cui H, Moreno-Risueno M a, Busch W, Van Norman JM, et al. 2010. Spatiotemporal regulation of cell-cycle genes by SHORTROOT links patterning and growth. *Nature*. 466(7302):128–32
- Sparks E, Wachsman G, Benfey PN. 2013. Spatiotemporal signalling in plant development. *Nat. Rev. Genet*. 14(9):631–44
- Stahl Y, Wink RH, Ingram GC, Simon R. 2009. A Signaling Module Controlling the Stem Cell Niche in Arabidopsis Root Meristems. *Curr. Biol*. 19(11):909–14
- Takahashi N, Kajihara T, Okamura C, Kim Y, Katagiri Y, et al. 2013. Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in Arabidopsis roots. *Curr. Biol*. 23(18):1812–17
- Takatsuka H, Umeda M. 2014. Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in

- roots. *J. Exp. Bot.* 65(10):2633–43
- Tank JG, Thaker VS. 2011. Cyclin dependent kinases and their role in regulation of plant cell cycle. *Biol. Plant.* 55(2):201–12
- Thelen E, Smith LB. 2007. Dynamic Systems Theories. In *Handbook of Child Psychology*
- Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle T. 2003. The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *Plant Cell.* 15(2):533–43
- Torres-Sosa C, Huang S, Aldana M. 2012. Criticality Is an Emergent Property of Genetic Networks that Exhibit Evolvability. *PLoS Comput. Biol.* 8(9):e1002669
- Turing AM. 1990. The chemical basis of morphogenesis. 1953. *Bull. Math. Biol.* 52(1–2):153–97; discussion 119–52
- Ueda M, Zhang Z, Laux T. 2011. Transcriptional activation of Arabidopsis axis patterning Genes WOX8/9 links zygote polarity to embryo development. *Dev. Cell.* 20(2):264–70
- Ulmasov T. 1995. Composite Structure of Auxin Response Elements. *PLANT CELL ONLINE.* 7(10):1611–23
- Van Norman JM, Breakfield NW, Benfey PN. 2011. Intercellular communication during plant development. *Plant Cell.* 23(3):855–64
- Vanstraelen M, Balaban M, Da Ines O, Cultrone A, Lammens T, et al. 2009. APC/C CCS52A complexes control meristem maintenance in the Arabidopsis root. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106(28):11806–11
- Verbelen J-P, De Cnodder T, Le J, Vissenberg K, Baluska F. 2006. The Root Apex of Arabidopsis thaliana Consists of Four Distinct Zones of Growth Activities: Meristematic Zone, Transition Zone, Fast Elongation Zone and Growth Terminating Zone. *Plant Signal. Behav.* 1(6):296–304
- Verkest A. 2005. Switching the Cell Cycle. Kip-Related Proteins in Plant Cell Cycle Control. *PLANT Physiol.* 139(3):1099–1106
- Vlieghe K, Boudolf V, Beemster GTS, Maes S, Magyar Z, et al. 2005. The DP-E2F-like gene DEL1 controls the endocycle in Arabidopsis thaliana. *Curr. Biol.* 15(1):59–63
- Vodermaier HC. 2004. APC/C and SCF: controlling each other and the cell cycle. *Curr. Biol.* 14(18):R787–96
- Von Bertalanffy L. 1968. General System Theory. *Georg. Braziller New York.* 1:289
- von Dassow G, Meir E, Munro EM, Odell GM. 2000. The segment polarity network is a robust developmental module. *Nature.* 406(6792):188–92
- W. Slack J. 2012. *Essential Developmental Biology.* Blackwell Publishing. 3rd ed.
- Waddington CH. 1975. *The Strategy of the Genes: A Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology.* London: Allen & Unwin
- Wang H, Qi Q, Schorr P, Cutler AJ, Crosby WL, Fowke LC. 1998. ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from Arabidopsis thaliana interacts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. *Plant J.* 15(4):501–10
- Wang J-W, Wang L-J, Mao Y-B, Cai W-J, Xue H-W, Chen X-Y. 2005. Control of root cap formation by MicroRNA-targeted auxin response factors in Arabidopsis. *Plant Cell.* 17(8):2204–16
- Warren JM, Hanson PJ, Iversen CM, Kumar J, Walker AP, Wullschleger SD. 2015. Root structural and functional dynamics in terrestrial biosphere models - evaluation and recommendations. *New Phytol.* 205(1):59–78
- Weimer AK, Nowack MK, Bouyer D, Zhao X, Harashima H, et al. 2012. Retinoblastoma related1 regulates asymmetric cell divisions in Arabidopsis. *Plant Cell.* 24(10):4083–95
- Weinl C, Marquardt S, Kuijt SJH, Nowack MK, Jakoby MJ, et al. 2005. Novel functions of plant cyclin-dependent kinase inhibitors, ICK1/KRP1, can act non-cell-autonomously and inhibit entry into mitosis. *Plant Cell.* 17(6):1704–22
- Welch D, Hassan H, Blilou I, Immink R, Heidstra R, Scheres B. 2007. Arabidopsis JACKDAW and MAGPIE zinc finger proteins delimit asymmetric cell division and stabilize tissue boundaries by restricting SHORT-ROOT action. *Genes Dev.* 21(17):2196–2204
- West M, Harada JJ. 1993. Embryogenesis in Higher Plants: An Overview. *plant cell online.* 5(10):1361–69
- Wildwater M, Campilho A, Perez-Perez JM, Heidstra R, Blilou I, et al. 2005. The RETINOBLASTOMA-RELATED Gene Regulates Stem Cell Maintenance in Arabidopsis Roots. *Cell.* 123(7):1337–49
- Willemsse J, Kulikova O, de Jong H, Bisseling T. 2008. A new whole-mount DNA quantification method and the analysis of nuclear DNA content in the stem-cell niche of Arabidopsis roots. *Plant J.* 55(5):886–94
- Wolpert L. 1969. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J. Theor. Biol.* 25(1):1–47
- Wolters H, Jürgens G. 2009. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nat. Rev. Genet.* 10(5):305–17
- Xu W, Ding G, Yokawa K, Baluška F, Li Q-F, et al. 2013. An improved agar-plate method for studying root growth and response of Arabidopsis thaliana. *Sci. Rep.* 3(1):1273
- Zhang H, Han W, De Smet I, Talboys P, Loya R, et al. 2010. ABA promotes quiescence of the quiescent centre and

- suppresses stem cell differentiation in the Arabidopsis primary root meristem. *Plant J.* 64(5):764–74
- Zhang W, Swarup R, Bennett M, Schaller GE, Kieber JJ. 2013. Cytokinin Induces Cell Division in the Quiescent Center of the Arabidopsis Root Apical Meristem. *Curr. Biol.* 23(20):1979–89
- Zhou GK, Kubo M, Zhong R, Demura T, Ye ZH. 2007. Overexpression of miR165 affects apical meristem formation, organ polarity establishment and vascular development in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 48(3):391–404
- Zhou J, Lindgren O, Moreno-risueno MA, Vatén A, Benfey PN, et al. 2010. Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature.* 465(7296):316–21