

00322

46



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

UN MODELO DE RED DE REGULACIÓN  
GÉNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE  
ÓRGANOS FLORALES EN ARABIDOPSIS  
THALIANA.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGO

P R E S E N T A :  
CARLOS ARTURO ESPINOSA SOTO

DIRECTORA DE TESIS: MA. ELENA  
ÁLVAREZ - BUYLEA ROCES



FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

H



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.

# **PAGINACION DISCONTINUA**



**DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA**  
**Jefa de la División de Estudios Profesionales de la**  
**Facultad de Ciencias**  
**Presente**

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

Un modelo de red de regulación génica para la determinación de órganos florales en Arabidopsis thaliana

realizado por Carlos Arturo Espinosa Soto

con número de cuenta 9853890-4, quien cubrió los créditos de la carrera de:  
 Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis

Propietario

Dra. Ma. Elena Alvarez-Buylla Roces

Propietario

Biol. León Patricio Martínez Castilla

Propietario

Dr. Luis Medrano González

Suplente

Dr. Víctor Manuel Valdés López

Suplente

Biol. Enrique Ortiz Moreno

*[Handwritten signatures of the members of the Departmental Council]*

**Consejo Departamental de**  
 Biología

*[Handwritten signature of Juan Manuel Rodríguez Chávez]*  
 Dr. Juan Manuel Rodríguez Chávez

I - A

**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 UNAM



**DEPARTAMENTO**

*"Y en medio destas dos cosas le puse más de  
trescientas almas, y vidas, y ojos míos."*

**El Ingenioso Hidalgo Don Quijote de la Mancha.**

## Resumen

La velocidad con la que crecen las bases de datos de genes y moléculas que participan en procesos de desarrollo nos obliga a construir herramientas que permitan integrar esta información. Hay indicios de que el obtener toda la información de cada uno de los elementos que participan en un proceso complejo (como el desarrollo) no es suficiente para comprenderlo cabalmente: es necesario estudiar al sistema completo para poder entender como se originan las propiedades que radican en el conjunto y no en un elemento particular.

En *Arabidopsis thaliana*, un sistema modelo en estudios de genética del desarrollo de Angiospermas, se ha recabado mucha información sobre los genes que participan en la determinación del destino celular en las flores, y se ha propuesto un marco fenomenológico, el modelo ABC, que describe como el destino de los órganos florales depende de las combinaciones en la actividad de tres clases de factores de transcripción. Sin embargo, la propuesta del modelo ABC no explica como es que se generan heterogeneidades tan estables en el patrón de actividad génica en las flores, ni si esto es una consecuencia de la dinámica de la red de genes que interactúan con los genes A, B y C.

Para avanzar en esta dirección, en este trabajo se propone un modelo discreto para la determinación genética del destino de los órganos florales. En este modelo tanto la arquitectura de la red génica como las reglas lógicas que en el modelo caracterizan a las interacciones fueron construidas usando la evidencia experimental reportada por los laboratorios que trabajan con estos genes en *A. thaliana*. Aunque se infirió la arquitectura de la red que comprende también a los genes que participan en la inducción a la floración (evento que depende tanto de factores ambientales como internos), en este trabajo solamente se presentan las simulaciones que no consideran estos factores. La inclusión en un trabajo posterior de las cuatro rutas de inducción de la floración permitirá estudiar cómo afecta cada una de ellas a la transición entre el crecimiento vegetativo y el crecimiento reproductivo.

Ya con esta base de datos construida, se hizo un programa en el lenguaje de programación LISP que permite seguir el estado de cada uno de los genes de la red de determinación de órganos florales hasta que el sistema llega a un punto estacionario, que corresponde a un patrón de actividad génica estable, como el que tienen las células diferenciadas.

Se ejecutó el programa en todas las condiciones posibles del sistema y se encontró una relación causal entre la actividad de dos genes (*UFO* y *WUS*) y el destino de los órganos florales, y que las 209,952 condiciones iniciales posibles del sistema convergen a únicamente ocho estados estables, a todos los cuales se les haya correspondencia con patrones de actividad génica que se dan naturalmente en *A. thaliana*. Se concluye que la robustez en los procesos de formación de las flores se debe, al menos parcialmente, a la dinámica de esta red. La dependencia del destino celular con respecto a la actividad de *UFO* y *WUS* da sustento a la hipótesis de que la formación del patrón floral depende de factores que se expresan de forma heterogénea en los meristemas apicales vegetativos.

Se hicieron también simulaciones de mutantes, obteniéndose resultados equiparables a los que se observa en las plantas con esos genotipos, lo que sugiere que el modelo es coherente con la evidencia experimental.

## Agradecimientos

Antes que a los demás, gracias a la familia. A mi abuelo (por portarse como abuelo), mis padres (que fueron padres, mecenas y *sparrings* (lo de *sparrings* es por permitirme frecuentemente sacar la neurosis con ustedes, vale un perdón)). A mi papá además porque, aunque él probablemente no lo sepa, tal vez es el principal culpable de que yo pretenda hacer investigación.

También va para los sobrinos (Mauri y Santi) y mis hermanos Ana Elena, Cecilia y Arturo (por las porras y regaños, y por no decepcionarse tanto (tanto, tanto) de que no estoy en camino de ser un biólogo que va a perseguir jaguares, o que expone su vida haciendo experimentos con sustancias mortales). A Arturo además por salvar frecuentemente a las *compus* de mí y a mí de las *compus*.

A los amigos (resaltando por mucho Anidia, Vanesa, e Hiram) por hablar y por escuchar principalmente.

A toda la gente en el laboratorio, por sus consejos y comentarios. A Elena principalmente por su confianza, apoyo y entusiasmo (y por haberme presentado a esta forma de hacer ciencia). Gracias también a Víctor Guraieb y a Pablo Padilla, que en distintas fases del proyecto me sugirieron ideas, ayudaron y aconsejaron facilitándome mucho el trabajo.

Gracias también a mis sinodales, Elena Álvarez-Buylla, León Martínez, Enrique Ortiz, Luis Medrano y Víctor Valdés, que con consejos y recomendaciones mejoraron este trabajo.

Que el agradecimiento también llegue a maestros de la carrera. Pero sobre todo a la Universidad pública, que me convenció de la necesidad de vivir tratando de desfacer entuertos.

Un mensaje de nuestro patrocinador: este trabajo fue apoyado por una beca de la UNAM (PROBETEL).

# Índice general

<b>Resumen</b>	<b>II</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>III</b>
<b>Índice de figuras</b>	<b>VI</b>
<b>Índice de cuadros</b>	<b>VII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Redes Lógicas de Regulación Génica . . . . .	6
1.2. Modelos de Redes de Regulación Génica en otros Organismos . . . . .	8
1.3. El Modelo ABC de la Determinación de los Órganos Florales . . . . .	11
1.4. Modelos Formales para la Determinación Genética de los Órganos Florales .	14
<b>2. Evidencia Experimental</b>	<b>20</b>
2.1. Inducción a la Floración: Las Cuatro Rutas . . . . .	20
2.2. ¿Flor o no Flor?: Identidad del Meristemo Apical Aéreo . . . . .	26
2.3. ¿Qué Órgano?: Determinación Genética de los Órganos Florales . . . . .	32
<b>3. Implementación del Modelo</b>	<b>39</b>
3.1. Obtención de las Reglas Lógicas . . . . .	39
3.2. Espacio Fase del Sistema . . . . .	40
3.3. Implementación del Modelo . . . . .	41
3.4. Simulación de Mutantes . . . . .	43
<b>4. Resultados</b>	<b>45</b>

4.1. Simulación de Plantas Silvestres . . . . .	45
4.2. Simulación de Mutantes: Mutantes <i>leunig</i> . . . . .	48
4.3. Simulación de Mutantes: Mutantes <i>apetala2</i> . . . . .	51
<b>5. Discusión y Conclusiones</b>	<b>54</b>
5.1. Supuestos del Modelo . . . . .	54
5.2. El Papel de la Robustez en el Destino de los Órganos Florales . . . . .	56
5.3. Formación del Patrón Espacial en las Flores . . . . .	57
5.4. Hipótesis para el Origen de la Inversión Floral en <i>Lacandonia schismatica</i> . . . . .	60
5.5. Coherencia del Modelo con Observaciones Experimentales . . . . .	63
5.6. Conclusiones y Perspectivas . . . . .	64
<b>Bibliografía</b>	<b>67</b>
<b>A. Reglas Lógicas.</b>	<b>78</b>
<b>B. Código Fuente del Programa</b>	<b>81</b>
B.1. Programa para la Simulación de Plantas Silvestres . . . . .	81
B.2. Funciones para el Análisis de Resultados . . . . .	86

# Índice de figuras

1.1. Modelo ABC de la determinación de los órganos florales. . . . .	13
1.2. Arquitectura de la red de determinación de órganos florales usada en Mendoza y Álvarez-Buylla, 1998. . . . .	15
2.1. Arquitectura actualizada de la red de floración, incluyendo a las rutas de inducción. . . . .	27
2.2. Arquitectura actualizada de la red de determinación de órganos florales. . .	38
4.1. Patrón de expresión de <i>UFO</i> y de <i>WUS</i> en los meristemas apicales aéreos. . .	46
5.1. Patrón espacial de actividad esperado de los genes A, B, y C en <i>Lacandonia schismatica</i> . . . . .	61
5.2. Patrón espacial de actividad de <i>UFO</i> en dos etapas consecutivas de la floración en <i>A. thaliana</i> . . . . .	61
5.3. Patrón espacial hipotético de un ortólogo de <i>UFO</i> en <i>L. schismatica</i> , de acuerdo a la hipótesis de heterocronía . . . . .	62

# Índice de cuadros

4.1. Estados estables en la simulación de plantas silvestres y correspondencia con estructuras de la planta. . . . .	45
4.2. Tamaño de las cuencas de atracción en las plantas silvestres. . . . .	46
4.3. Condiciones iniciales que conducen a destinos vegetativos en la simulación de plantas silvestres. . . . .	47
4.4. Patrón de actividad de <i>UFO</i> y <i>WUS</i> en todas las condiciones iniciales que conducen a atractores de órganos florales. . . . .	48
4.5. Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas silvestres. . . . .	48
4.6. Estados estables en la simulación de mutantes <i>lug</i> , y correspondencia con estructuras de la planta. . . . .	49
4.7. Tamaño de las cuencas de atracción en las plantas <i>lug</i> . . . . .	50
4.8. Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas <i>lug</i> . . . . .	50
4.9. Estados estables en la simulación de mutantes <i>ap2</i> , y correspondencia con estructuras de la planta. . . . .	51
4.10. Tamaño de las cuencas de atracción en las plantas <i>ap2</i> . . . . .	52
4.11. Condiciones iniciales que conducen a destinos vegetativos en la simulación de plantas <i>ap2</i> . . . . .	52
4.12. Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas <i>ap2</i> . . . . .	53

# Capítulo 1

## Introducción

Una consecuencia de la observación de la naturaleza es el interés en comprender cómo se origina la diversidad de formas de los seres vivos. Darwin, basándose en la limitación de recursos, la variabilidad en características entre individuos de la misma especie y la heredabilidad de estas características, propuso a la selección natural como uno de los mecanismos responsables de la producción de la diversidad. La gran aceptación de su teoría conduce a que la biología sea considerada como una ciencia histórica: los individuos que comparten un pasado tienen características comunes, pues, por efectos de la selección natural, aparecen en los ancestros y se mantienen después. Para explicar el origen de las diversas estructuras sólo habría que conocer la historia de los organismos. Sin embargo, la explicación histórica no es suficiente para entender cómo se generan las formas en los organismos, ya que no describe los mecanismos que las producen, por lo tanto, también es necesario conocer los procesos que hacen posibles a las estructuras (24).

La forma de los organismos depende de varios factores:

-Genotipo o herencia genética.- La variabilidad necesaria para la existencia de la selección natural depende, de manera muy importante, del genotipo. Pero cambios pequeños en la

secuencia de bases nucleotídicas del DNA, en el genotipo, pueden tener efectos enormes en la forma de los organismos (por ejemplo en los mutantes homeóticos), y cambios grandes en el genotipo pueden tener efectos pequeños en el fenotipo (por ejemplo, en la poliploidia de algunas especies de plantas). Esto, solamente se explica si la relación entre la variación genotípica y fenotípica no es lineal.

-Medio ambiente.- Tal vez este es el factor causal más obvio para la formación de los fenotipos, después del genotipo. Sabemos que características fenotípicas como la talla o el peso dependen de factores ambientales como la alimentación, que el color de piel puede ser afectado por la exposición a la luz solar, que el tipo de suelo altera los fenotipos de las plantas. Un efecto más sutil es el que se da en los huevos de los erizos, en los que se generan asimetrías a partir del punto de entrada del espermatozoide, lo que finalmente es una fuente de información externa no heredable.

-Herencia no genética.- No todos los elementos que heredan los seres vivos se heredan a través de la copia de secuencias de DNA. Hay condiciones estructurales que afectan la formación de los fenotipos para los cuales no existen "instrucciones" en los genomas de los individuos, y citaré algunos ejemplos de esto: a) Las células huevo fecundadas no son homogéneas en la composición de citoplasma, existen factores (llamados productos de genes maternos en *Drosophila*) cuya distribución es producto de la dinámica celular de la madre. En este mismo contexto, el sentido del giro de las conchas de caracoles no está determinado por alelos del individuo, sino por alelos de la madre. b) Para la formación de ciertas estructuras es necesaria la preexistencia de otras estructuras. No hay un gen que determina la presencia del aparato de Golgi, sino que hay genes que codifican para proteínas y enzimas que producen lípidos que se agregarán a las membranas internas del aparato de Golgi de la

célula madre para hacerlo crecer y poder ser repartido en las dos células hijas después de la mitosis (71). c) La orientación de los cilios en *Paramecium* no depende del genotipo, sino de la orientación de los cilios en la célula madre (citado en 25).

El desarrollo es el proceso que cataliza las interacciones entre estos tres tipos de factores, haciendo que de configuraciones relativamente poco diferenciadas se genere orden, surgiendo las estructuras complejas que se observan en los organismos adultos. Además, aún en un contexto histórico, la historia de la vida no es una serie de formas adultas relacionadas, sino ontogenias que generan a otras ontogenias (97). Es por esto que si queremos entender como se origina la diversidad de las formas en los seres vivos es fundamental que entendamos los mecanismos de desarrollo y la liga causal entre genotipo y fenotipo.

En los últimos años ha habido un gran avance en la caracterización de genes que participan en el desarrollo de plantas y animales, los grupos en los que se dan los procesos de desarrollo más complejos (60). Estos avances han sido impulsados por la importancia del genotipo en la generación de los fenotipos, por la utilización de técnicas de biología molecular más rápidas y eficientes, y por el desarrollo de programas de secuenciación de genomas completos. La abundancia de datos disponibles hace que ahora sea inminente el uso de herramientas que permitan integrar y organizar esta información (6).

Por otra parte, existen muchas evidencias que indican que la relación entre genotipo y fenotipo es compleja y no lineal. Por ejemplo, la pleiotropía es la condición habitual en la actividad génica (25), se necesita un umbral mínimo en el número de interacciones para que una red de regulación sea funcional, estable y permita variaciones (38), el tamaño del genoma no es un indicador fiel de la complejidad del organismo, en especies cercanas puede haber mecanismos diferentes que producen estructuras homólogas (79), y la abundancia de

mutantes nulos a nivel de mRNA sin alteraciones fenotípicas. Esta complejidad provoca que existan propiedades emergentes en los procesos, que sólo se pueden estudiar desde un punto de vista holista (39).

La causa de la no-linearidad en la relación genotipo-fenotipo es que las características fenotípicas no están determinadas por la actividad de productos génicos aislados, sino que son la consecuencia de la dinámica de redes de interacciones de productos génicos (63). Sin embargo, los métodos bioquímicos tradicionales, por su naturaleza reduccionista, están sesgados hacia la identificación de causas aisladas para cada característica biológica (94). Entonces, para entender entonces la forma en que el genotipo afecta al fenotipo y las propiedades de esta relación debemos estudiar la dinámica de las redes génicas.

No se tiene la información necesaria para hacer estudios formales que involucren a todos los genes de un genoma, pero debido a que el desarrollo consiste en procesos que se pueden separar lógicamente, se puede asumir que esta disociabilidad refleja una modularidad subyacente (104), es decir, el hecho de poder distinguir diferentes procesos de desarrollo en la ontogenia de un organismo, nos permite inferir que podemos analizar los mecanismos que los generan por separado. La dinámica de las redes génicas se puede estudiar a través de la modelación en computadoras con redes de nodos interactuando. En estos modelos se consideran las interacciones de los genes que participan en un proceso dado y se estudia el comportamiento de la red como un todo, permitiendo buscar las propiedades del proceso que no radican en elementos particulares del sistema, sino que emanan de las interacciones de los elementos del conjunto.

Se ha publicado varios estudios de redes de regulación génica en animales, donde se empieza a mostrar la utilidad de este tipo de enfoques (11; 14; 18; 20; 64; 77; 78; 103).

Estos estudios han mostrado, por ejemplo, que la red génica que determina la polaridad de segmentos en *Drosophila* es extraordinariamente robusta a variaciones en sus parámetros, y que esta es probablemente la razón de su presencia en distintos taxa y de su participación en diferentes procesos de desarrollo (103). En otro estudio se ha demostrado que es posible el cambio en la arquitectura y en las propiedades de las redes de regulación conservando el patrón de segmentación en los insectos (78). Finalmente, se ha mostrado que la progresividad del desarrollo del endomesodermo en erizos depende únicamente de la arquitectura de red y de las condiciones iniciales del sistema (18). Sin embargo, en plantas solamente se ha publicado los estudios de redes del laboratorio de Elena Álvarez-Buylla (57-59).

Se debe hacer estudios de redes de regulación génica en ambos grupos taxonómicos para poder realizar un verdadero estudio comparativo del desarrollo en plantas y animales. Esto es porque diversos experimentos en genética del desarrollo y los estudios de secuenciación de genomas completos indican que en plantas y animales el desarrollo surgió de forma independiente (4; 60). Por esto, es muy probable que tomando en cuenta únicamente a los animales (o únicamente a las plantas), se considere, tal vez de forma errónea, que muchos de los mecanismos que regulan el desarrollo son similares por ancestría común, y no porque son consecuencias altamente probables y robustas (i.e. difíciles de alterar) en los organismos complejos.

El realizar este tipo de estudios permitirá, a largo plazo, distinguir dentro del conjunto de los mecanismos conservados a aquellos que persisten por ser accidentes históricos de aquellos que son requerimientos indispensables para el desarrollo de organismos multicelulares complejos (96), o que son consecuencias naturales (casi inevitables) de la pluricelularidad.

## 1.1. Redes Lógicas de Regulación Génica

Para describir a los sistemas de redes de elementos que interactúan y se afectan entre ellos, como las redes de regulación génica, no es suficiente hacerlo de forma verbal, ya que frecuentemente, su comportamiento no es intuitivo (100). Para estudiar a estos sistemas la alternativa obvia es el uso de ecuaciones diferenciales, sin embargo, debido a su no-linealidad, es difícil abordar estos sistemas de una forma analítica (99; 110). Sin embargo, es posible analizar las características dinámicas esenciales de este tipo de sistemas de maneras más simples, y es por esto que se ha propuesto el uso de aproximaciones lógicas para abordar estos problemas.

En las descripciones lógicas se utilizan variables con un número limitado de valores. En el caso en que las variables únicamente tomen dos valores, se estará construyendo una descripción binaria o Booleana. Pero el uso de variables binarias puede resultar insuficiente cuando los elementos del sistema provocan más de un efecto y se necesitan diferentes niveles de activación de los elementos para producir cada efecto, por lo que en ocasiones es necesario describir el estado de una variable con más de dos niveles (100).

Una posibilidad para estudiar a ciertos sistemas es el uso de autómatas celulares. Los autómatas celulares son sistemas dinámicos discretos en los que hay una regla universal de actualización de estados para todos los elementos, y un patrón de conexiones uniformes. Tienen la ventaja de ser muy sencillos, sin embargo, en la modelación de algunos sistemas biológicos, como las redes neuronales, génicas, o inmunológicas es necesario prescindir de la uniformidad en reglas y en patrones de conexión (110), ya que el sistema tampoco es uniforme.

Las redes lógicas permiten construir modelos discretos en los que cada elemento puede tener diferentes patrones de interacción con los demás elementos y diferentes reglas de actualización. En una red lógica el estado del sistema en cierto tiempo puede ser descrito por una lista de los estados de cada una de las variables que lo componen, cada uno de los cuales es regulado por otras variables del sistema. El estado de cada variable está controlado por una función lógica, que especifica su actividad como una consecuencia de la combinación de estados de las variables que inciden en ella, por lo que los cambios son determinísticos. La serie de estados del sistema en periodos sucesivos es la trayectoria de la red (38). Dado un conjunto particular de elementos, reglas y conexiones, se puede calcular una trayectoria particular o todas las trayectorias posibles de la red (49).

Una trayectoria de la red conduce, en algún momento, a un estado que el sistema ya había tenido previamente, pues la red tiene un número finito de estados ( $2^n$ , en las redes binarias con  $n$  elementos). A partir de entonces el sistema, si no sufre perturbaciones, permanece en un ciclo repetitivo de estados, pues siempre que adquiere el mismo estado se comporta de la misma forma. A este ciclo repetitivo se le llama atractor. Un atractor puede tener un sólo estado (un ciclo de periodo uno, al que se le llama atractor de punto fijo, que corresponde a un estado estacionario) o puede comprender varios estados (un atractor dinámico) (49).

Más de una trayectoria pueden converger en el mismo atractor; en este caso al conjunto de trayectorias que conducen al mismo atractor se le llama la cuenca de atracción de ese atractor (39). La estabilidad de un atractor, es decir, la probabilidad de que el sistema regrese al mismo atractor después de perturbaciones en el patrón de actividad, es directamente proporcional al tamaño de su cuenca de atracción (38).

Suponiendo que un tipo celular se puede describir por su patrón de expresión génica, y

que, los elementos de la red corresponden a genes, los estados de las variables representan niveles de actividad génica y las reglas lógicas de cambio caracterizan a la actividad génica en función de las combinaciones de actividades de otros elementos, entonces, un atractor representa, en el modelo, a un patrón de actividad génica estable, como el de una célula diferenciada (38; 39; 49).

Usando modelos de redes lógicas como los aquí descritos es posible estudiar las principales características dinámicas del sistema en su conjunto: estudiar de qué factores dependen las decisiones entre las diferentes rutas hacia distintos destinos celulares, analizar la robustez de la determinación de los tipos celulares cuyas diferencias dependen de los estados de actividad de la red de regulación génica que se modela, determinar si la evidencia experimental disponible es suficiente para explicar la especificación de esos tipos celulares, y en caso de que no sea así, se pueden usar estos modelos para proponer hipótesis de genes e interacciones no descubiertas.

## 1.2. Modelos de Redes de Regulación Génica en otros Organismos

Recientemente ha empezado a publicarse aplicaciones de modelos de redes a eventos particulares en el desarrollo de organismos modelo (principalmente animales) basándose en datos reales obtenidos de la evidencia experimental. En esta sección se describirán brevemente tres de estos trabajos para ejemplificar las aportaciones que pueden resultar de este tipo de estudios.

En el trabajo de von Dassow *et al.* (103) se usa un modelo de red de regulación génica para estudiar al mantenimiento de la polaridad antero-posterior en los segmentos de los embriones de *Drosophila*. A partir de la evidencia experimental los autores construyen una

red considerando a los genes que participan en la formación de esta asimetría, y desarrollan ecuaciones diferenciales para caracterizar a sus interacciones.

El objetivo de von Dassow y colaboradores es averiguar si la red que determina la polaridad de segmentos es un módulo evolutivo y de desarrollo. Ellos argumentan que un módulo de este tipo debería ser robusto con respecto a los valores de los parámetros de las ecuaciones que definen a sus interacciones, pues solamente así la red podría seguir siendo funcional en un gran número de taxa, en los que, muy probablemente, los parámetros no son idénticos. Para poder averiguar esto, los autores hacen una búsqueda de los valores de los parámetros de las ecuaciones que permiten recuperar el patrón espacial de actividad génica que se observa experimentalmente en *Drosophila*.

von Dassow y colaboradores encuentran que es asombrosa la proporción de las combinaciones en los valores de los parámetros que permiten recuperar este patrón. Eligiendo el valor de un parámetro al azar, se tiene una probabilidad cercana al 90 % de que ese valor sea compatible con la conducta esperada. Dado que la robustez de esta red no depende de valores precisos en los parámetros, sino únicamente de la arquitectura de la red, los autores proponen que esta es la razón de su conservación (en presencia y en función) en tantos taxa, por lo que debe constituir un módulo evolutivo y de desarrollo.

Salazar-Ciudad y Jernvall (77) construyen un modelo espacial para la morfogénesis de dientes. Inferen la arquitectura de la red que sintetiza a las interacciones que se han reportado experimentalmente, considerando a las proteínas que participan tanto en la diferenciación como en la replicación de las células de los primordios de dientes. Esto les permite ligar a la formación de patrones con el cambio de forma, obteniéndose así un modelo en el que la diferenciación afecta a la forma, y el cambio de forma afecta a la diferenciación.

Con este modelo, Salazar-Ciudad y Jernvall pueden reproducir la morfogénesis de los dientes de diferentes especies (con cambios ligeros en los parámetros), reproduciéndose incluso los cambios que se observan a lo largo de la ontogenia de los individuos, y en los tiempos correctos.

A partir de sus resultados, sugieren que se necesitan cambios ligeros en los parámetros para cambiar la forma de los dientes (lo que explicaría la alta diversidad en las formas de los dientes de los mamíferos), y que el desarrollo de estructuras complejas puede depender de principios de organización en las redes relativamente simples (por ejemplo, en su modelo se consideran únicamente las interacciones entre dos tipos de moléculas y el crecimiento).

Eldar y colaboradores (20) se preguntan cuáles son los mecanismos que definen la polaridad dorso-ventral en *Drosophila*. Basándose en observaciones experimentales, saben que la red de interacciones génicas que regula la formación de gradientes dorso-ventrales es resistente, dentro de ciertos rangos, a la concentración de proteínas, pues los heterocigotos para la mayoría de los genes involucrados tienen fenotipos idénticos al de las moscas silvestres.

Recopilando la información que se tenía a partir de los datos experimentales, construyen un modelo, y escogen valores de parámetros al azar, buscando las combinaciones de estos que producen redes robustas con respecto a la concentración de proteínas. Encuentran que todas las redes que resisten los cambios de dosis en las simulaciones comparten ciertas características, pues todas tienen un patrón de actividad de la familia de proteínas BMP similar al que se observa en las moscas. Los elementos de estas redes tienen características bioquímicas similares que no se habían observado previamente (por ejemplo, la formación de cierto heterodímero facilita su difusión, o la formación de otro heterodímero facilita

su degradación). Es por esto que la construcción de este modelo permitió que los autores diseñaran el experimento que les permitió demostrar estas propiedades bioquímicas en el sistema.

Con estos tres trabajos se muestran aquí tres de las principales aportaciones que se pueden hacer con este tipo de estudios: se pueden estudiar propiedades que dependen de todo el sistema, y no de unos pocos elementos (como la robustez en 103), se pueden explorar distintos escenarios evolutivos, y la relación de los mecanismos de desarrollo y la evolución de las formas (como en 77), o se puede usar estos modelos para la predicción de características particulares de los elementos de un sistema que no han sido demostrados experimentalmente (como en 20).

### 1.3. El Modelo ABC de la Determinación de los Órganos Florales

Las flores son las estructuras más llamativas de las angiospermas. En parte por esto, dentro de los genes que participan en el desarrollo de las plantas, los genes que actúan en el proceso de diferenciación celular de los órganos florales son los que están mejor caracterizados. En *Arabidopsis thaliana* se ha tratado sistemáticamente de entender la genética y la biología molecular de la floración (17).

Además, se ha propuesto un marco fenomenológico para la determinación de los órganos florales, el modelo ABC (ver figura 1.1). En este modelo se postula que el destino de los órganos florales depende de la combinación de actividades de tres clases de genes. Puesto que se han demostrado todas sus predicciones, y que se piensa que está conservado en todas las Angiospermas, se le puede usar para hacer corresponder los resultados de los modelos dinámicos con la identidad de órganos florales, con base en los estados de actividad de los

genes de las tres clases.

De acuerdo al modelo ABC de la morfogénesis floral, los cinco genes homeóticos de *Arabidopsis thaliana* están agrupados en 3 clases, aunque se han llegado a proponer más (95; 98). Estos genes son: *APETALA1* y *APETALA2* (clase A), *APETALA3* y *PISTILLATA* (clase B), y *AGAMOUS* (clase C). Excluyendo a *APETALA2*, todos los genes ABC pertenecen a la familia multigénica MADS-box, que tiene un papel fundamental en la formación del plan corporal de las plantas, equivalente al papel de los genes homeobox en el desarrollo de los animales (97).

Las flores típicas, como las de *Arabidopsis thaliana*, están compuestas de órganos dispuestos en 4 anillos concéntricos o verticilos. Los genes de las tres clases actúan en dominios precisos: según este modelo los genes de la clase A actúan en los 2 verticilos más externos de la flor, los genes B en los órganos del segundo y tercer verticilos, y los genes de la clase C en los verticilos internos. Además, los genes de las clases C y A se reprimen mutuamente. Así, la expresión de los genes de las distintas clases es lo que determina la identidad de los órganos florales (29).

De esta forma, la actividad de los genes de la clase A, cuando no están activos los genes de las otras dos clases, determina el destino de sépalos en el primer verticilo. La acción conjunta de genes de las clases A y B provoca que se formen pétalos en el segundo verticilo, mientras que en el tercer verticilo, donde se expresan genes de las clase B y C, se desarrollan estambres. En el cuarto verticilo, donde los genes de la clase C son los únicos genes ABC que se expresan, se determinan carpelos (45).

Irish y Kramer argumentan que el modelo ABC no está conservado en todas las Angiospermas, basándose en la hipótesis de que los pétalos no son homólogos en todos los

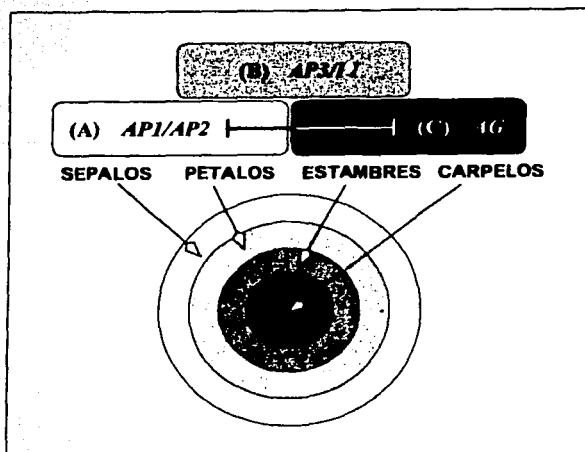


Figura 1.1: Modelo ABC de la determinación de los órganos florales. Explicación en el texto.

grupos de plantas con flores y en patrones de expresión anormales de genes homólogos a genes de la clase B en especies de *Ranunculidae* (35; 43; 44). Sin embargo, el patrón de expresión de los genes B en las *Ranunculidae* podría ser una característica derivada de ese linaje (95). En el trabajo de Ambrose y colaboradores (3) se sustenta la conservación del modelo ABC en monocotiledóneas, ya que se demuestra que en los mutantes en maíz de un gen ortólogo a los genes B de *A. thaliana* en lugar de estambres aparecen carpelos, y en lugar de lodículos (que son los órganos situados por debajo de los estambres, es decir, al menos topológicamente son equivalentes a los pétalos) aparecen palea y lemma, que son los órganos más externos de la flor del maíz. Incluso la función de los genes C como determinantes de estructuras reproductivas y de los genes B como determinantes de estructuras reproductivas masculinas está conservada en gimnospermas (109).

El modelo ABC de la morfogénesis floral, a pesar de propuestas de ligeras modificaciones, (33; 69; 95; 98) es una representación abstracta de la red génica de la morfogénesis floral

(102). Sin embargo, el modelo ABC es sólo una descripción fenomenológica. No explica las causas de la activación de los genes A, B y C ni aclara el contexto molecular en el que se da la activación, y mucho menos de qué dependen las diferencias en los estados de actividad de los determinantes genéticos en las distintas regiones del meristemo floral.

Aunque la forma de determinar el destino de los órganos florales está conservada en todas las Angiospermas, su disposición espacial no. Casi todas las flores hermafroditas tienen el patrón espacial de distribución de los órganos florales que se observa en el esquema de la figura 1.1. La única excepción es *Lacandonia schismatica*, una monocotiledónea endémica de México, cuyas flores presentan en el centro a los órganos masculinos (los estambres), y alrededor de ellos a los órganos femeninos (los carpelos). La forma más fácil de explicarse esta inversión homeótica es un cambio en la expresión de los genes B, de forma que se expresen en el centro de las flores (102). Debido a que no se puede cultivar esta planta en el laboratorio, es imposible inducir en ella mutaciones. Esto hace que sea necesario proponer hipótesis de cambios en los mecanismos que dirigen la formación del patrón floral, que pudieran subyacer el cambio en el dominio de expresión de los genes B, y por lo tanto de la formación de las flores de *L. schismatica*. La implementación de estas hipótesis en un modelo que considere al espacio (que se realizará en un trabajo posterior a este) permitirá poner a prueba en un sistema dinámico la compatibilidad del modelo ABC de la determinación de los órganos florales con este fenotipo.

#### 1.4. Modelos Formales para la Determinación Genética de los Órganos Florales

Este trabajo no es el primer intento del uso de un sistema formal para estudiar la dinámica de la red de determinación del destino de los órganos florales. En el laboratorio de Elena

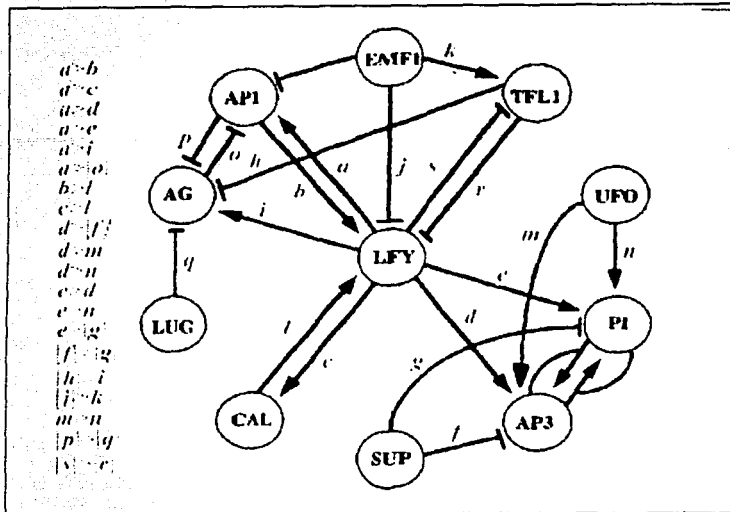


Figura 1.2: Arquitectura de la red de determinación de órganos florales usada en Mendoza y Álvarez-Buylla, 1998.

Álvarez-Buylla ya se han publicado dos estudios con esta intención (57; 59).

En el primer trabajo (57), Mendoza y Álvarez-Buylla se basan en la evidencia experimental publicada hasta entonces para construir una red discreta de interacciones usando como elementos los once genes que se conocía que afectaban a la determinación de los órganos florales en ese entonces. Esta arquitectura se puede observar en la figura 1.2, donde las flechas representan activaciones, y las flechas achatadas representan inhibiciones. Usan también la evidencia experimental para encontrar las magnitudes relativas de estas interacciones, es decir, hacen explícito qué interacciones se dan con mayor fuerza que otras.

También proponen una ecuación para determinar el estado de actividad de los genes (activo 1, inactivo 0). El estado de cada gen depende de la comparación entre la suma de la magnitud de las interacciones de los genes activos que inciden en ellos (positivo para las

activaciones, y negativo para las inhibiciones) y un umbral que es necesario sobrepasar para que un gen esté activo.

Para encontrar las magnitudes de las interacciones y los umbrales de cada gen, se usó un algoritmo genético. Los algoritmos genéticos son métodos que permiten cambiar los valores de parámetros de modo que se obtengan resultados óptimos en una función de adecuación. En el algoritmo genético empleado por Mendoza y Álvarez-Buylla sólo se aceptaban cambios en los valores de interacciones y umbrales que respetaran la arquitectura de la red, las magnitudes relativas basadas en la evidencia experimental, y el signo de las interacciones. Después de cada mutación se determinaba si la red tenía como patrones de actividad estables los que correspondían a los 4 estados de actividad de los genes A, B y C que se predicen en el modelo ABC, con todos los demás genes inactivos. Es decir, se usaba a las predicciones del modelo ABC como función de adecuación del algoritmo genético.

Mendoza y Álvarez-Buylla satisfacen su objetivo, ya que probando las 4096 posibilidades de condiciones iniciales en los estados de activación de los genes, encuentran en el sistema dinámico que todas estas convergen a únicamente 6 estados estables de actividad génica. A cinco de estos estados les encuentran correspondencia con células de las plantas, basándose en las predicciones del modelo ABC de la morfogénesis floral. Estos cinco estados son los que corresponden a sépalos (actividad de los genes A), pétalos (actividad de los genes A y B), estambres (actividad de genes B y C), carpelos (actividad de los genes C), y células de órganos vegetativos (actividad de los represores florales *EMF1* y *TFL1*).

Aquí se aprecia una limitación importante del modelo. El modelo ABC se usó en el algoritmo genético para hallar las magnitudes de las interacciones y los umbrales de activación que pudieran recuperar los estados estables de activación. Es por esto que con este modelo

no podemos saber si los resultados de la dinámica del modelo se deben a los valores que se obtienen con el método de optimización, o si son un reflejo de la dinámica de la red génica de *Arabidopsis thaliana*.

El sexto estado estable de sus resultados no se observa en la naturaleza. Consiste en actividad sostenida de los genes de la clase B y de los represores florales. Este sexto estado estable se ocasiona por el asa de retroalimentación positiva en la actividad de los genes B que, en este modelo, los mantiene activos a pesar de la actividad de los represores florales. Además, el número de condiciones iniciales (C.I.) que conducen al sexto estado estable es 256 (1/16 de las posibles condiciones iniciales). Mientras tanto, el número de condiciones iniciales que conducen a estambres es 64 (es decir 1/64 del total de C.I.), a carpelos 448 (1/9.14 del total), a pétalos 192 (1/21.33 del total), a sépalos 1344 (1/3.047) y a células vegetativas 1792 (1/2.28 del total). Puesto que el número de condiciones iniciales que conducen a un atractor es un índice de robustez, entonces bajo estas condiciones del modelo, el destino celular que no se observa en la naturaleza es más robusto (y por lo tanto más probable) que el destino de estambres o de pétalos, por lo que se esperaría que este estado estable se pudiera observar frecuentemente. Esto nos indica que la presencia de este estado estable, puede deberse a la falta de evidencia experimental (que de añadirse modificaría la arquitectura de la red) o a errores en los valores de los parámetros obtenidos con el algoritmo genético.

En un trabajo posterior de Mendoza y colaboradores (59), se usa la misma topología de la red de determinación de órganos florales (el único cambio es la eliminación de un gen con funciones redundantes a otro elemento de la red). A través de un formalismo lógico se determinan las características que deben tener las interacciones para que las asas de retroalimentación positivas (estructuras que generan multiestacionariedad y diferenciación)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

del sistema sean funcionales y se puedan obtener los estados estables que correspondan a las predicciones del modelo ABC (considerando que los genes que no pertenecen a las clases A, B, y C deben estar apagados en el estado estable). En este modelo vuelven a encontrar los mismos seis estados estables, incluyendo a aquel en el que hay actividad de los genes B y de los represores florales. Esto indica que la presencia del sexto atractor en los modelos no se debe a errores en los parámetros, sino a la no inclusión de interacciones desconocidas en el sistema.

Después de la publicación de estos artículos (57; 59) se han publicado trabajos experimentales que sustentan la necesidad de la actividad de otros factores específicos de flor para que el asa de retroalimentación positiva de los genes B sea funcional (33; 69; 70). Es por esto que la adición de nueva información experimental podría ayudar a entender mejor la dinámica de la red de determinación de órganos florales.

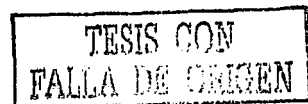
El primer objetivo del trabajo que aquí se presenta es el de proponer una actualización de los modelos anteriores y averiguar si la adición de la información publicada recientemente permite eliminar el estado estable sin correspondencia con células de la planta de esos modelos y así obtener resultados que reproduzcan con mayor fidelidad la determinación de los órganos florales y poder estudiar la dinámica del sistema.

Debido a que los modelos de procesos de desarrollo se pueden usar para investigar escenarios evolutivos (91), en este trabajo se pretende poner a prueba una hipótesis propuesta por biólogos experimentales que plantea que para la determinación del patrón de actividad génica en el meristemo floral se ha cooptado el sistema de formación de patrones del meristemo apical aéreo (52; 53; 68), de modo que el destino de los órganos florales depende de genes que se expresan de forma heterogénea en meristemos apicales aéreos vegetativos

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

y reproductivos. Se usarán los resultados que se obtengan para proponer una hipótesis para el origen de la inversión en las flores de *Lacandonia schismatica* (la única especie de Angiospermas cuyas flores tienen estambres en el centro, rodeados por carpelos).

Para elaborar el nuevo modelo se ha obtenido una versión actualizada de la arquitectura de la red que determina el destino de los órganos florales, a partir de la evidencia experimental publicada. También se ha incluido en la arquitectura los genes de las cuatro rutas de inducción a la floración que interactúan con la red de determinación de los órganos florales. Sin embargo, el análisis aquí presentado no considera a las rutas de inducción; esta parte de la arquitectura de la red se utilizará en trabajos posteriores. El sustento experimental para la arquitectura de la red se plantea en el capítulo 2 de este trabajo, mientras que en el capítulo 3 se presenta la forma en que se construyó el modelo. En el capítulo 4 se exponen los resultados, que se discuten en el capítulo 5, en el que también se presenta una conclusión general.



## Capítulo 2

# Evidencia Experimental

A pesar de que la información que se obtiene experimentalmente de la caracterización funcional de genes y de fenotipos de mutantes no es suficiente para entender los procesos que a nivel genético causan el desarrollo de una estructura compleja, este tipo de información es imprescindible e insustituible, pues los datos particulares de la actividad génica señalan hechos comprobados que deben ser integrados en una explicación holista del proceso. Debido a que se pretende que el modelo que aquí se presenta se convierta en una herramienta útil para la predicción, tanto de genes e interacciones no descubiertos como de fenotipos posibles de mutantes múltiples, es necesario que sea congruente con toda la información disponible.

Este modelo está completamente sustentado en los datos experimentales (que se refieren al efecto de diferentes versiones alélicas de cada gen en los otros genes de la red) reportados en la bibliografía. Además, se construyó de forma tal que es posible su actualización de una manera sencilla cada vez que aparezca nueva evidencia experimental.

### 2.1. Inducción a la Floración: Las Cuatro Rutas

La transición a la floración se determina por la interacción de factores intrínsecos de la planta con señales ambientales (89). El gran número de loci identificados que actúan en

la transición a la floración y el hecho de que no se han encontrado mutaciones en un solo gen que impidan la floración, indica que son varias las rutas genéticas que intervienen en el proceso (42) y que hay redundancia funcional entre ellas.

Se han definido 4 rutas de inducción de la floración en *Arabidopsis thaliana*. Estas son las rutas de fotoperiodo, vernalización, giberelinas y la ruta autónoma. Dos de estas rutas (la ruta de fotoperiodo y la de vernalización) responden a condiciones ambientales. La ruta del fotoperiodo se activa dependiendo de la duración de los días, y los genes sensibles a la transición día-noche son los primeros en activarse en esta ruta. La vernalización, en cambio, favorece la floración en muchos ecotipos tardíos en respuesta a una exposición a bajas temperaturas. Este es un mecanismo que les permite a las plantas de climas fríos florecer preferentemente después de que ha pasado el invierno. En contraste, las giberelinas son hormonas cuya acción acelera la transición a la floración. Finalmente, la actividad de los genes de la ruta autónoma favorece la inducción de la floración, independientemente de señales ambientales por lo que es probable que estos genes respondan a señales endógenas, como lo podría ser un reloj ontogenético. Los mutantes de los genes de la ruta autónoma florecen tardíamente independientemente de la duración del día, pero este fenotipo puede ser suprimido por la vernalización, lo que indica la interacción de ambas rutas (46; 89).

Después de la inducción, la floración involucra a 2 grupos de genes: los que cambian el destino de meristemo vegetativo a meristemo reproductivo (genes de identidad meristemática) y los genes que dirigen la formación de los órganos de la flor (genes de identidad de órganos florales o genes homeóticos). Los genes de las rutas de inducción interactúan directa o indirectamente con los genes de identidad meristemática que a su vez regulan a los genes de identidad de órganos florales (48; 89).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La evidencia experimental indica que *FRIGIDA* (*FRI*) actúa favoreciendo la expresión del gen MADS-box *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*). Tanto *FRI* como *FLC* son genes de la ruta autónoma, y los mutantes de cualquiera de los dos genes tienen fenotipo de floración temprana, lo que implica que el papel habitual de estos genes es retrasar la floración. Los ecotipos de *Arabidopsis thaliana* con floración tardía tienen alelos dominantes tanto de *FRI* como de *FLC*. En plantas tipo silvestre con alelo funcional de *FLC* pero mutantes recesivos *fri*<sup>1</sup>, el mRNA de *FLC* no se detecta (61; 90). Esto aunado a que el efecto de floración tardía ocasionado por la proteína de *FRI* funcional es eliminado totalmente en plantas que tienen versiones activas de *FRI*, pero que son mutantes nulas *frc* (62) nos indica que el único efecto importante de *FRI* es favorecer la expresión de *FLC*.

*LUMINIDEPENDENS* (*LD*) es otro gen de la ruta autónoma. El fenotipo de los mutantes *ld* es de floración tardía, por lo que tiene una actividad contraria a la de *FRI* y *FLC*. Se ha observado que el mRNA de *FLC* únicamente se encuentra en mutantes *ld* que no tienen alelo dominante de *FRI*, indicando que *LD* reprime ya sea directa o indirectamente la transcripción de *FLC* (61).

Se ha identificado más genes que pertenecen a la ruta autónoma (como *FCA*, *FPA*, *FVE*), pero las interacciones entre estos genes es muy poco clara. Al menos algunos de ellos, como *FCA*, *LD*, *FVE*, tienen como actividad principal la represión de *FLC*, pues el fenotipo de floración tardía de los mutantes de estos genes es suprimido por la presencia de un alelo nulo de *FLC* (62). Como dentro de este grupo de genes de la ruta autónoma no se ha establecido qué interacciones son directas y cuáles son mediadas por otros genes, en el modelo se deja por el momento a *LD* como el único representante de estos genes.

<sup>1</sup> Cuando se escribe el nombre de un gen en minúsculas, se hace referencia a mutaciones en este gen. Todas las mutaciones que se denotan así en este trabajo son mutaciones de pérdida de función.

Debido a que los mutantes *fca* florecen tardíamente y a que este fenotipo puede ser completamente suprimido por la vernalización, se escogió a estos mutantes para hacer una búsqueda de genes que participaran en la respuesta a la exposición a temperaturas frías. En un contexto genético *fca* se encontraron mutantes que no son sensibles a la vernalización, entre ellos los mutantes *vrn2*. Estos mutantes podrían presentar defectos en la percepción de las temperaturas frías o en la transducción de la señal causada por la temperatura (48).

*VRN2* es el único gen de la ruta de vernalización que se considera hasta el momento en el modelo, y esto es debido a que hay más información para este gen que para otros genes de la misma ruta (como *VRN1*). Sabemos que *VRN2* actúa reprimiendo a *FLC*, pues la cantidad de mRNA de *FLC* es mayor en los dobles mutantes *vrn2 fca* que en los mutantes sencillos *fca* (87), y porque el fenotipo de floración tardía producido por la presencia de un alelo dominante de *FLC* se suprime por vernalización (61).

En la ruta del fotoperiodo, la cascada de inducción comienza con genes que codifican para fotorreceptores, que son proteínas sensibles a la luz. Entre estas proteínas sobresalen los fitocromos (sensibles a luz roja y luz roja lejana) y los criptocromos (sensibles a luz azul). Los mutantes de los criptocromos y del fitocromo considerados en este modelo tienen menos sensibilidad al fotoperiodo que las plantas silvestres (28; 65). La luz azul es necesaria para la actividad de dos criptocromos (*CRY1* y *CRY2*) que participan en esta ruta, ya que en presencia de luz roja y azul los mutantes dobles *cry1 cry2* florecen tan tardíamente como plantas con los genes *CRY1* y *CRY2* funcionales en condiciones en las que solamente hay luz roja (65). Cuando las plantas *cry2* son expuestas únicamente a luz roja florecen tardíamente, sin diferencia significativa en el tiempo de floración con respecto a las silvestres. Cuando las plantas *phyB*, mutantes para el fitocromo B, son expuestas solamente a la luz roja florecen

antes que la silvestre, lo que indica que la proteína *PHYB* es necesaria para el retraso en floración dependiente de luz roja (28).

Sabemos también que hay interacciones genéticas entre los fotorreceptores. Mientras que en condiciones y contextos genéticos en los que *PHYB* no está activo (plantas *cry2*, silvestres y mutantes *phyB*, todas en condiciones de luz azul) las plantas florecen tardíamente sin diferencias significativas en sus retrasos. A diferencia de lo anterior, en condiciones de luz blanca o de luz roja y azul (cuando sí hay actividad de *PHYB*) las plantas *cry2* florecen después que las plantas silvestres. Este hecho señala que *CRY2* reprime a *PHYB*, pues se demuestra que un alelo funcional de *PHYB* es necesario para que se pueda dar la actividad de *CRY2* a favor de la floración (28). Además, en los dobles mutantes *cry2 phyB*, la mutación *phyB* es epistática, pues los dobles mutantes florecen tan tarde como las plantas *phyB* (65).

En condiciones de luz azul, los mutantes *cry2* y los mutantes *cry1* florecen al mismo tiempo que las plantas silvestres, pero los dobles mutantes *cry2 cry1* florecen más tarde. Estos datos implican que, puesto que *PHYB* está inactivo cuando no hay luz roja, *CRY2* tiene una actividad, independiente de *PHYB*, que es redundante con la actividad de *CRY1* a favor de la floración (65). Esta acción es promover la expresión del gen *CONSTANS (CO)*, pues sabemos que tanto en los mutantes *cry2* como en los mutantes *co* que crecen en luz blanca, los niveles de mRNA de *FT* son menores que en las plantas silvestres. El efecto de *CRY2* sobre *FT* es mediado por *CO* ya que no hay diferencias en los niveles de mRNA de *FT* en las plantas *co* y silvestres que crecen en la oscuridad, donde no hay actividad de *CRY2* (112).

Pero la inhibición de la floración debida a *PHYB* muy probablemente se da también a través de *CONSTANS*, pues en condiciones de luz blanca las plantas *phyB* florecen más

tempranamente que las silvestres, y se ha visto que la inducción de la floración en luz blanca es mediada por *CO* (28). Estos datos concuerdan con el papel de *CO* como transductor de las señales del fotoperiodo sugerido por el hecho de que las plantas *35S::CO<sup>2</sup>* son casi insensibles a la duración del día (67), y porque los niveles de mRNA de *CO* varían a lo largo del día (93), como se esperaría de un gen influenciado por el fotoperiodo.

*FLC* y *CO* regulan la expresión de 2 genes, pero lo hacen de forma antagónica. *CO* favorece la expresión del gen MADS-box *SOC1* (*SUPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*) y de *FT* (*FLOWERING LOCUS T*), mientras que *FLC* los reprime.

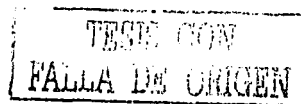
La activación de *FT* por *CO* está sustentada en que en los mutantes *co* el incremento en los niveles de mRNA de *FT* se retrasa y son más bajos que en las plantas silvestres (37; 41); además, en plantas con el transgen *35S::CO:GR<sup>3</sup>* solamente hay expresión de *FT* después de un tratamiento con dexametasona (41; 80). También el fenotipo de las plantas transgénicas *35S::CO* es suprimido parcialmente por la mutación *ft* (41; 67) y el fenotipo de las plantas *35S::FT* y *co 35S::FT* es idéntico (37), mostrando que el producto de *FT* es necesario para la actividad de *CO*.

Los experimentos de Samach y colaboradores (80) demuestran la interacción entre *CO* y *SOC1*. Estos autores reportan que la mutación *soc* suprime parcialmente el fenotipo de las plantas *35S::CO*. En otro experimento, usando la construcción *35S::CO:GR* y tratando a las plantas con dexametasona y cicloheximida <sup>4</sup> encuentran que la cantidad de RNA de

<sup>2</sup> Cuando se escribe *35S::(nombre-de-gen)* se está hablando de un transgen, o de plantas en las que se insertó un transgen, en el que se pone al gen bajo el control del promotor *35S* del virus del mosaico de la coliflor, lo que provoca que se transcriba en toda la planta y en todo momento (i.e. constitutivamente).

<sup>3</sup> *35S::(nombre-de-gen):GR* es una construcción que provoca que las plantas transcriban constitutivamente al gen dando lugar a una proteína fusionada a un receptor de glucocorticoides, que es funcional solamente en presencia de dexametasona, que es el ligando del receptor. Esto permite inducir de forma constitutiva la expresión del gen con la aplicación de dexametasona, en el momento en que el experimento lo requiera.

<sup>4</sup> La cicloheximida es un inhibidor de la traducción.



*SOC1* es tres veces mayor con respecto a las plantas silvestres. Este trabajo no solo indica la existencia de la interacción entre *CO* y *SOC1*, sino que también prueba que es una activación directa, pues no se necesita síntesis de otras proteínas que pudieran mediar la acción entre *CO* y *SOC1*.

En el mismo artículo de Samach y colaboradores se concluye que *FLC* reprime la expresión de *SOC1* y de *FT*. Ellos llegan a esta conclusión tomando en cuenta que la actividad de *FCA* es mediada por *FLC* y que las mutaciones *fca* provocan que disminuyan los niveles de mRNA de *FT* y de *SOC1*. Además, la mutación *fca* aumenta el efecto de la mutación *ft* en el fenotipo de las plantas *35S::CO* (67).

## 2.2. ¿Flor o no Flor?: Identidad del Meristemo Apical Aéreo

En el modelo que aquí se presenta se consideran 6 genes de identidad meristemática: *EMF1* (*EMBRYONIC FLOWER 1*), *TFL1* (*TERMINAL FLOWER 1*), *LFY* (*LEAFY*), *FRUITFULL* (*FUL*), *AP1* (*APETALA1*) y *AP2* (*APETALA2*). *LFY*, *FUL*, *AP1* y *AP2* promueven la identidad de meristemo floral, mientras que *TFL1* promueve la identidad de meristemo de inflorescencia (7-10; 16; 17; 21; 29; 48; 50; 54; 56; 66; 68; 72-74; 76; 83; 85; 86; 89; 105; 106; 108). El fenotipo de las plantas *emf1* consiste en iniciar la floración muy tempranamente, sin haber producido hojas, lo que nos indica que el gen *EMF1* codifica para un represor floral y que regula el desarrollo de la inflorescencia (13; 30; 72; 111). El hecho de que los niveles de RNA de *EMF1* permanezcan constantes a través del desarrollo de las plantas silvestres y de que las plantas *35S::EMF1* no tengan fenotipo de floración tardía nos indica que su actividad puede estar regulada por fosforilaciones, por su localización en la célula, o por otros mecanismos de control post-transcripcional (5).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



para que pueda darse esta interacción (88).

Los mutantes dobles *emf1 co* son indistinguibles de los mutantes sencillos *emf1* (17; 30). Aunque no sabemos si la disminución en la expresión de *EMF1* debida a *CONSTANS* sea mediada por *SOC1*, hay datos que sugieren que esta relación es así. La mutación *emf1* es epistática a *co*, pero no a *ft*; y por lo tanto, la actividad de *EMF1* no está determinada por la actividad de *FT*. Además, *SOC1* actúa a favor de la floración, pero no sabemos sobre qué genes actúa. Dado el fenotipo tan dramático de las plantas *emf1*, es de esperarse que sea necesaria la inhibición de *EMF1* para que se pueda llevar a cabo la transición del crecimiento vegetativo al crecimiento reproductivo.

El efecto de *FT* sobre el tiempo de floración parece estar mediado por *AP1*, un gen que además de ser gen de identidad meristemática pertenece a la clase A del Modelo ABC de la morfogénesis floral. Se establece esta interacción ya que en los dobles mutantes *ft ap1* la mutación *ft* es epistática en lo que a tiempo de floración se refiere (76).

Por otra parte, en los mutantes *emf1* hay actividad ectópica del promotor de *AP1*, señalando que *EMF1* normalmente reprime la transcripción de *AP1*. Sin embargo, es poco probable que esta relación sea directa, ya que las flores de las plantas que sobreexpresan *LFY* y *FT* (pero no las que sobreexpresan *LFY* y *AP1*) de forma constitutiva desarrollan flores inmediatamente después de la germinación, produciendo un fenotipo parecido al de los mutantes *emf1* (37; 41). Este experimento sugiere que la principal actividad de *EMF1* en el desarrollo es la represión de *LFY* y *FT*. Además, los mutantes dobles *emf1 ft* no desarrollan flores germinales (30); es decir, la actividad de *FT* es necesaria para que se pueda observar el fenotipo de las plantas *emf1*. Es por estos datos, que para el modelo se considera que la represión de *EMF1* sobre *AP1* se da a través de *FT*.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La represión de *EMF1* sobre *LFY*, se sustenta en el fenotipo de las plantas que sobreexpresan tanto a *LFY* como a *FT* y además en que en las dobles mutantes *emf1 lfy*, las flores que se desarrollan se parecen a las flores de las mutantes *lfy*, con órganos que presentan características de hojas (111). Esto demuestra que en las flores embrionarias de las plantas *emf1* hay actividad ectópica y temprana de *LFY*.

*EMF1* activa a otro represor floral que es *TFL1*. Esta interacción se sustenta porque en los dobles mutantes *emf1 tfl1*, la adición de la mutación *tfl1* no tiene ningún efecto sobre el fenotipo de las plantas *emf1*, es decir, la mutación *emf1* es epistática a la mutación *tfl1* (13).

Por otra parte, el tratamiento de las plantas con giberelinas induce que haya una floración temprana. En cambio, las mutantes *gal* (en las que se afecta la síntesis de giberelinas) presentan un retraso en la floración en días largos o que se evite la floración en días cortos. Sin embargo, la introducción del transgen *35S::LFY* hace que las plantas mutantes *gal* desarrollen flores en días cortos. Esto nos indica que el efecto de las giberelinas sobre el tiempo de floración es mediado por *LEAFY*. Además, sabemos que la expresión del gen reportero GUS (una proteína marcadora) es menor en las plantas *gal LFY::GUS* que en las plantas *LFY::GUS*<sup>5</sup> (8).

Otro de los genes que regula la identidad meristemática es *TERMINAL FLOWER 1* (*TFL1*). En las plantas mutantes *tfl1*, *LFY* y *AP1* se expresan ectópicamente en el meristemo apical aéreo (73). Además, las flores terminales ectópicas de las dobles mutantes *tfl1 ap2* o *tfl1 ap1* carecen de pétalos, lo que no pasa en las flores terminales ectópicas de las plantas *tfl1*. Esto sugiere que la ausencia de actividad de *TFL1* en las mutantes *tfl1* permite la

<sup>5</sup> La construcción (*gen-z*)::GUS tiene al gen de la proteína GUS bajo el control del promotor del *gen z*.

actividad de *AP2* y *AP1* en el meristemo apical aéreo (86). Además, las dobles mutantes *tfl1 lfy* forman meristemos con características de meristemos florales en los ápices de las inflorescencias, pero esto no sucede en las triples mutantes *tfl1 lfy ap2* ó *tfl1 lfy ap1* (86). Esto demuestra tanto el papel de *AP2* como gen de identidad meristemática, como la represión de *AP1* y *AP2* por parte de *TFL1*.

Existen más datos que demuestran la represión de *TFL1* sobre *APETALA1*: en los mutantes *tfl1* hay expresión ectópica de *AP1* tanto en los meristemos laterales basales como en las flores terminales que se desarrollan en el meristemo apical (29), y aunque hay expresión de *AP1* en las mutantes *lfy*, no la hay en las plantas mutantes *lfy* que sobreexpresan de forma constitutiva a *TFL1* (73).

*AP2* también reprime a *TFL1*. Las mutantes *ap2* que crecen en un fotoperiodo de días cortos tienen una filotaxia helicoidal en las flores, y tienen flores secundarias en las axilas de las primeras flores laterales. Este fenotipo se logra revertir con la presencia de la mutación *tfl1* (85; 86). Si los mutantes *ap2* tienen un fenotipo que se evita con la mutación *tfl1*, se puede asumir que ese fenotipo de las mutantes *AP2* se debe a una actividad ectópica de *TFL1*.

En las dobles mutantes *lfy ap1* no se observan estructuras carpeloides terminales con estigmas y estilos bien formados, pero en los triples mutantes *lfy ap1 tfl1* sí se observan. Además, mientras que en las triples mutantes *tfl1 ap1 ap2* hay carpelos rodeados de estambres y estambres carpeloides, en los dobles mutantes *ap1 ap2*, no hay flores con estas características (86). Ya que la presencia de *AGAMOUS* (el único gen en *Arabidopsis* de la clase C) es necesaria para la determinación de carpelos y estambres, se infiere que *TFL1* reprime la actividad de *AGAMOUS*.

TRABAJOS CON  
FALLA DE ORIGEN

La represión de *TFL1* y *EMF1* sobre *LFY* es recíproca. En las plantas que sobreexpresan de forma constitutiva a *LFY* no se observa la expresión de *TFL1*, y las fases de crecimiento se acortan, como en los mutantes *lfl1* (73); además, *TFL1* se expresa ectópicamente en los mutantes *lfy* (50).

En cuanto a la represión de *EMF1* por *LFY*, sabemos que el fenotipo de un alelo débil de *emf1* (*emf1-1*) se incrementa con la introducción del transgen *35S::LFY*, haciendo que el fenotipo se parezca al de un alelo fuerte de *emf1* (13). Sabemos que este incremento se debe a la represión de *EMF1*, ya que la proteína *LFY* no es necesaria para el fenotipo de los alelos fuertes de *emf1*.

*LFY* no sólo reprime a represores florales, también activa la expresión de otros genes que favorecen el destino floral, como *AP1*. Para sustentar esta última interacción están los datos que demuestran que no hay actividad de *AP1* en fases tempranas de la floración en las mutantes *lfy*, pero en las plantas *lfy 35S::LFY:GR* tratadas con dexametasona y cicloheximida (que se usan para probar que la interacción es directa) si hay expresión de *APETALA1* (105). Además, la construcción *LFY:VP16*<sup>6</sup> produce un aumento en la expresión de *AP1* (68), y hay expresión ectópica de *AP1* en plantas en las que se sobreexpresa *LFY* (50).

Pero *AP1* también activa a *LFY* y reprime a *TFL1*, formándose así asas de retroalimentación positivas (en las que la actividad de un gen se fomenta a si misma). Estas interacciones se establecen ya que sabemos que la expresión de *LFY* está reducida en las plantas *ap1 cal* (72), y porque la expresión de *LFY* empieza antes en las plantas que sobreexpresan

<sup>6</sup> Las construcciones (*gen-x*):*VP16* garantizan que la proteína conserve el patrón de expresión de las plantas silvestres, pero que cuando se sintetice proteína del gen X se promueva la transcripción de manera constitutiva de los genes a cuyos promotores se une, si es que es un factor de transcripción.

a *AP1* que en las silvestres (50). Además, en las plantas transgénicas *35S::AP1* el ápice del meristemo apical se convierte en una flor terminal, fenotipo idéntico al de las mutantes *tfl1* (54). Lo anterior se debe a que en las plantas que sobreexpresan constitutivamente a *AP1*, la expresión de *TFL1* se reduce mucho (50). Además *LFY* y *TFL1* se expresan en los mismos lugares al mismo tiempo en los dobles mutantes *ap1 cal* (21; 50), demostrando que *LFY* no es suficiente para reprimir a *TFL1*, y que este papel recae al menos parcialmente en *AP1*.

Otro gen que activa a *LFY* es *FRUITFULL*. Aunque la expresión de GUS en las plantas *LFY::GUS* es igual a la de las plantas *ful LFY::GUS*, se encuentra reducida en las plantas *ful ap1 cal LFY::GUS* con relación a la expresión de GUS en las plantas *ap1 cal LFY::GUS* (21). Pero *FUL* es reprimido por *AP1*, pues *FUL* se expresa ectópicamente en las plantas *ap1* (21).

La expresión de *FUL* aumenta considerablemente después de la inducción de la floración (27). Sin embargo, se desconoce de que depende este incremento en la regulación, por lo que en este trabajo se decide usar a la ausencia de actividad de *TFL1* como un marcador del destino floral en el meristemo, y se considera que *TFL1* reprime a *FUL*. Esta suposición permite que en el modelo se vea reflejado el incremento en la expresión de *FUL* después de la inducción de la floración (lo que coincide con la disminución en la actividad de *TFL1*).

### 2.3. ¿Qué Órgano?: Determinación Genética de los Órganos Florales

Uno de los papeles más importantes de *LFY* como gen de identidad meristemática es el desencadenar el inicio de la expresión de genes determinantes de la identidad de órganos florales. En los mutantes nulos *lfy*, el inicio de la expresión de *AG* se retrasa, y cuando se

puede detectar por primera vez el RNA de *AG*, está confinado a una región más pequeña que en las plantas silvestres (107). Además, la construcción *LFY:VP16* provoca una expresión aumentada y ectópica de *AGAMOUS* (68), lo que permite inferir que *LFY* es necesario, aunque no suficiente, para que se inicie la transcripción de *AG*. Se ha demostrado también que *LFY* se une a una secuencia reguladora (*enhancer*) en el primer intrón de *AG* (12).

*LFY* también regula la actividad de *APETALA3* y *PISTILLATA*. La cantidad de RNA de *AP3* y de *PI* y el dominio de expresión de este último están muy reducidos en las plantas mutantes *lfy* (107). Además en estas plantas no se desarrollan pétalos ni estambres, que son determinados por los genes de la clase B, *AP3* y *PI*. Las plantas *lfy 35S::LFY:GR*, que carecen de pétalos y estambres, rescatan el fenotipo silvestre cuando son tratadas con dexametasona, es decir, cuando la versión de *LFY* que se expresa constitutivamente se hace funcional (105). En las plantas *lfy PI::GUS* no hay tinción de GUS en las primeras etapas de la floración (32), y en las plantas que sobreexpresan tanto a *LFY* como a *UFO* (*UNUSUAL FLOWER ORGANS*), hay actividad del promotor de *AP3* en el embrión (68). Todos estos datos nos permiten inferir la activación de *LFY* sobre *PI* y *AP3*.

Estos datos de las plantas que sobreexpresan tanto a *LFY* como a *UFO*, así como el hecho de que el dominio de expresión de *AP3* en las flores de los mutantes *ufo* es más pequeño que en las plantas silvestres, que el fenotipo de las plantas mutantes *ufo* es eliminado con la sobreexpresión de *AP3*, (81), que no haya expresión de GUS en las plantas *ufo 5D6::GUS*<sup>7</sup> (31), y el que el doble transgénico *35S::UFO 35S::PI* tenga un fenotipo similar al de las plantas *35S::AP3 35S::PI* (32) nos indican que *UFO* también es necesario para la activación del gen de la clase B *AP3*. *UFO* es un gen que se expresa de forma heterogénea en los

<sup>7</sup> En esta construcción se tiene al gen de la proteína GUS bajo el control de *5D6*, que es una parte del promotor de *AP3* que es capaz de recuperar su patrón de expresión en las plantas silvestres.

meristemas apicales. Con base en los resultados arriba expuestos se ha propuesto que la formación del patrón espacial en las flores depende de prepatrones formados por genes que se expresan de forma heterogénea en el meristemo apical.

El fenotipo de las plantas *ufo* no se elimina con la sobreexpresión de *PI* (81), y es por esto que sabemos que *PI* no es regulado por *UFO*, a diferencia de *AP3*. Además *PI* no se expresa exactamente en los mismos lugares que *AP3*; *PI* se expresa en los 3 verticilos centrales (81). Esto implica que el inicio de su expresión no puede ser regulado exclusivamente por *LFY*, que se expresa en todo el meristemo floral. Es por esto que, tomando en cuenta los patrones de expresión, se ha establecido para el modelo de forma provisional (por falta de evidencia experimental) que la actividad de *AP3* o de *AG* son condiciones indispensables para el inicio de la expresión de *PI* pues estos dos genes no se expresan en el primer verticilo (el único lugar de la flor donde hay mRNA de *LFY*, pero no de *PI*).

*WUSCHEL* es otro gen que se expresa en los ápices del meristemo apical, donde junto con otros genes, como *CLV1* y *CLV3*, regula la producción de células meristemáticas. *WUS* también tiene un papel en la regulación de los determinantes genéticos del destino de los órganos florales. Las flores de los mutantes *wus* no presentan carpelos, y les falta la mayoría de los estambres. En las plantas a las que se les introduce el transgen *LFY::WUS* (es decir, con *WUSCHEL* bajo el control del promotor de *LFY*, lo que hace que *WUSCHEL* se exprese en todo el meristemo floral) se desarrollan varios verticilos de estambres, carpelos, y carpelos estaminoides; además, en las dobles transgénicas *LFY::WUS AG::GUS* se observa actividad de *GUS* en todo el meristemo floral (52). También, en las flores *AP3::WUS* (construcción con la cual se provoca que *WUS* se exprese en el segundo y tercer verticilos florales) aparecen estambres carpeloides en el segundo y tercer verticilos (47; 52), lo que no pasa en las plantas

*AP3::WUS ag* (47). Dado que *AG* es un gen de la clase C, que determina el destino de carpelos y , cuando actúa junto a genes de la clase B, estambres, a partir de estos datos se deduce que *WUS* activa a *AG*.

*AP1*, como *LFY*, también participa en la regulación de otros genes de identidad de órganos. *AP1* reprime a *AG*, ya que la expresión ectópica de *AG* en los mutantes *lug* o *ap2* es incrementada por la mutación *AP1*, y en ocasiones, en los mutantes *ap1*, los órganos florales del primer verticilo tienen características carpeloides y los del segundo verticilo características estaminoides (51).

*AP2*, al igual que *AP1*, además de tener funciones como gen de identidad meristemática, tiene funciones como gen de identidad de órganos. En los mutantes fuertes *ap2*, el mRNA de *AG* se acumula en los 4 verticilos florales, y hay transformaciones homeóticas, parciales o completas, de sépalos a carpelos y de pétalos a estambres (19; 51). Pero *AG* reprime a *AP1* en los verticilos centrales de la flor. Evidencia de esto es el hecho de que en las mutantes *ag* se observa RNA de *AP1* en los verticilos internos (29).

*LEUNIG (LUG)* y *CURLY LEAF (CLF)* son dos genes que reprimen a *AGAMOUS*. En los mutantes *lug* o en los mutantes *clf*, los sépalos adquieren características carpeloides, y los pétalos adquieren características estaminoides (23; 51). Por otra parte, los dobles mutantes *lug ag* o *clf ag* son muy similares a los mutantes *ag*, es decir, la mutación *ag* es epistática a la mutación *lug* o a la mutación *clf* (23; 51).

Lo que se ha mencionado líneas arriba sobre la regulación de *PI* y de *AP3* sólo es suficiente para describir los factores que intervienen en el inicio de su expresión, pero hay otro evento, distinguible en una fase posterior (31; 32) que se regula de forma diferente: el mantenimiento de la expresión de los genes B. El mantenimiento de *PI* y de *AP3* de-

pende de su autorregulación. Sabemos que estos genes se autorregulan, formando un asa de retroalimentación positiva, pues en plantas en las que se introdujo el transgen *35S::AP3:GR* aumenta la expresión de *PI* y de *AP3* cuando se tratan con dexametasona. Además, en plantas transgénicas *35S::AP3 35S::PI PI::GUS*, se observa expresión de GUS en toda la flor (32), mostrando que dentro de la flor, la actividad de *PI* y de *AP3* es suficiente para que se activen los promotores de *PI* y de *AP3*. Pero el que únicamente se expresen en la flor nos indica que para que esta asa de retroalimentación positiva sea funcional es necesaria la presencia de factores que en las plantas silvestres únicamente se encuentran en las flores.

Los genes MADS-box *SEPALLATA* (*SEPALLATA1*, *SEPALLATA2*, *SEPALLATA3*) son altamente redundantes, pues sólo cuando los tres están mutados se observa un fenotipo claro, que consiste en que todos los órganos florales se desarrollan como sépalos (69). Es por eso que, en aras de la simplicidad, en este trabajo se agrupa a estos genes en un solo elemento (*SEP*). Estos genes no se expresan en estructuras vegetativas, sino únicamente en el meristemo floral, poco después de que empieza la actividad de los genes de identidad del meristemo floral (55; 69; 82). Debido a este patrón de expresión espacial y temporal, es de suponerse que la expresión de los genes *SEP* está regulada por los genes de identidad meristemática; por esto, en este modelo se usa la ausencia de actividad del gen *TFL1* como marcador del destino floral, y a partir de esto se establece para el modelo que es necesario que *TFL1* esté inactivo para que pueda haber actividad de los genes *SEP*.

En plantas *35S::PI 35S::AP3 35S::SEP3 AP3::GUS* se observa actividad de GUS en varios tejidos vegetativos (33), y las hojas de las plantas *35S::PI 35S::AP3 35S::SEP3* se convierten en órganos con características petaloides (33; 70). Entonces los genes *SEPALLATA* son al menos unos de los factores específicos de flor necesarios para la funcionalidad del asa de

retroalimentación positiva de los genes B.

*AG* actúa favoreciendo la expresión de los dos genes B ya que es muy débil la tinción de GUS en el tercer verticilo de las plantas *ag 5D6::GUS* (*5D6* es una parte del promotor de *AP3*), mientras que en las plantas *5D6::GUS* la expresión es más fuerte (31). Por otra parte, las hojas caulinares de las plantas *35S::PI 35S::AP3 35S::SEP3 35S::AG* son convertidas en órganos estaminoides (33). A partir de esto se deduce que *AG* es otro factor específico de flor que es necesario para que *AP3* y *PI* se puedan autoactivar. Sin embargo, *AG* solamente está presente en los dos verticilos centrales, por lo que su dominio de acción solamente se intersecta con el dominio de expresión de los genes B en el tercer verticilo, por lo tanto es necesario otro factor que pueda explicar la expresión estable de los genes B en el segundo verticilo.

Este otro factor es *API*. *API* activa a *AP3* y a *PI*, pues la expresión ectópica de *PI*, *AP3* y *API* es suficiente para transformar las hojas en pétalos, y en las plantas *AP3::GUS 35S::PI 35S::AP3 35S::API* se observa tinción de GUS en varios tejidos vegetativos, por lo que se infiere que *API* es un cofactor necesario para la funcionalidad del asa de retroalimentación positiva que hace estable la expresión de los genes B (33). Además, las plantas *ap1 5D6::GUS* tienen una expresión reducida de GUS, comparadas con las plantas *5D6::GUS* (31).

Se ha presentado brevemente la evidencia experimental en que se ha basado la construcción de la arquitectura de la red y a partir de la cual se han inferido las reglas lógicas que caracterizan las interacciones entre genes en el modelo. Es con base en esta evidencia que se ha probado la coherencia del modelo, y con la que se comparan los resultados. La arquitectura de la red completa, incluyendo a las 4 rutas de inducción a la floración se puede observar en la figura 2.1. Sin embargo, esta arquitectura se analizará en estudios posteriores.

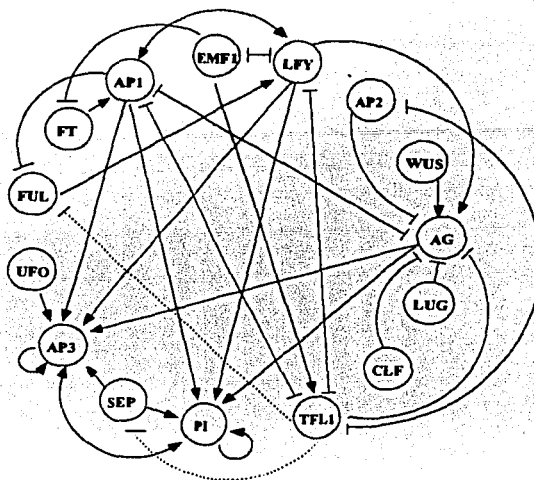


Figura 2.2: Arquitectura actualizada de la red de determinación de órganos florales. Las flechas representan activaciones, y las flechas achatadas inhibiciones. Las líneas punteadas representan interacciones supuestas (ver texto).

En este trabajo solamente se analiza una parte de esta arquitectura, que no incluye a las rutas de inducción a la floración. Esta arquitectura, corresponde a las interacciones génicas que subyacen la determinación de órganos florales, y se muestra en la figura 2.2.

## Capítulo 3

# Implementación del Modelo

### 3.1. Obtención de las Reglas Lógicas

Mientras se construía la arquitectura de la red de determinación de órganos florales, se fue estableciendo la forma en que interactuaban los productos génicos en la regulación de otros genes. A partir de la evidencia experimental se definieron a las funciones lógicas que caracterizan a las interacciones entre combinaciones de productos génicos activos y la regulación de la actividad de cada gen. El uso de las funciones lógicas para la descripción de las interacciones entre los nodos de la red permite evitar el uso de métodos de optimización con el resultado esperado como función de adecuación, y así evitar la circularidad del trabajo de Mendoza y Álvarez-Buylla (57).

A continuación se menciona un ejemplo de cómo se infirieron las reglas lógicas de las que depende la actividad del gen *APETALA3*, uno de los genes de la clase B:

Parcy y colaboradores (68), como se menciona en el capítulo anterior, demostraron que la actividad constitutiva de *LFY* y de *UFO* en el embrión de *Arabidopsis thaliana* es suficiente para inducir la expresión de *AP3*. Sin embargo, no hay actividad de *AP3* cuando se expresa en el embrión únicamente uno de los dos genes. Estos datos indican que el inicio de la

actividad de *AP3* está regulado por la función lógica "Y". Pero esta regla no es suficiente para describir el control de la expresión de *APETALA3* ya que se pueden distinguir dos diferentes eventos que regulan transiciones en su actividad: el inicio, y el mantenimiento de su expresión (31; 32). El inicio de la expresión es desencadenado por la acción de *LFY* y *UFO* que actúan de acuerdo a la regla lógica "Y", pero el mantenimiento es controlado por la autorregulación de *AP3* (32), que como se vio en el capítulo anterior, necesita de la actividad de *PI*, *SEP* y *AG*, o, de *PI*, *SEP* y *AP1*.

Los resultados experimentales indican que para poder describir correctamente el estado de activación de *AP3*, es necesario establecer 3 niveles (0, 1 y 2) en su actividad. En este caso, la variable *AP3* toma valor de 0 en los casos en que *LFY* o *UFO* tienen un valor de 0, de acuerdo con la regla que rige el inicio de la expresión de *AP3*; pero si *UFO* y *LFY* están activos, la variable *AP3* tiene dos posibilidades: si se dan las condiciones para el asa de retroalimentación positiva entonces *AP3* toma valor de 2, pero si esto no es así entonces toma el valor de 1. De forma similar a esta se dedujeron a todas las funciones lógicas que determinan la actividad de todos los nodos del sistema. Estas funciones se muestran resumidas en el Apéndice de este trabajo.

### 3.2. Espacio Fase del Sistema

De los 15 nodos que incluye este modelo, siete son variables binarias (es decir, que únicamente pueden presentar dos estados: 0 o 1). Estos nodos son: *EMF1*, *UFO*, *WUS*, *SEP*, *AP2*, *LUG*, y *CLF*. Dos de estas siete variables (*LUG* y *CLF*) tienen valores fijos de 1, ya que debido a que el RNA mensajero de estos genes está presente tanto en órganos vegetativos como en todos los órganos florales (15; 23) se consideran, para los fines del modelo,

activos permanentemente en toda la planta, sin embargo, pueden tomar valores de 0 en las simulaciones de los mutantes *clf* y *lug*.

Dos estados son suficientes para describir la actividad de estas siete variables ya que, en lo que respecta a la red de determinación de órganos florales, actúan únicamente sobre un nodo (que es el caso para *UFO*, *WUS*, *CLF* y *LUG*), o experimentalmente no se ha podido distinguir niveles intermedios de expresión génica en los que se ejecuten actividades de forma diferencial (*SEP*, *AP2*, *EMF1*).

Los ocho nodos restantes (*FT*, *TFL1*, *LFY*, *AP1*, *FUL*, *AP3*, *PI*, *AG*) tienen 3 diferentes niveles de activación (0, 1 y 2). Lo que implica que todo el sistema tiene 209,952 ( $2^5 \times 3^8$ ) posibles estados. Entonces el estado del sistema en un tiempo dado se puede describir por un vector que incluye 15 números enteros (de 0 a 1 para las variables binarias, y de 0 a 2 para las demás) que representan a las variables en el siguiente orden: *FT EMF1 TFL1 LFY FUL AP1 AP3 PI AG UFO WUS AP2 SEP LUG CLF*.

### 3.3. Implementación del Modelo

Una vez que se tienen definidas las reglas lógicas y una condición que defina al sistema en un instante dado, hay que considerar la forma en que el sistema cambia de estado. Estas transiciones, en un sistema discreto, podrían ser de dos maneras igualmente válidas: de forma sincrónica o asincrónica (99; 100; 110). De acuerdo a la forma sincrónica, partiendo de una condición inicial dada en el tiempo  $t$ , todos los elementos del sistema actualizan su estado al mismo tiempo. En cambio, en la forma asincrónica, se considera que la velocidad en los cambios en el estado de actividad en respuesta a las combinaciones de factores de transcripción activos no es necesariamente igual para todos los genes (100).

Sin embargo, la actividad génica a nivel molecular consiste de eventos discretos que ocurren al mismo tiempo (110), y además no existe evidencia experimental que nos pudiera indicar cuales de los genes que participan en la determinación genética de los órganos florales se activan de forma más rápida que otros. Por lo tanto, se optó por la forma de actualización sincrónica para este modelo.

Se construyó en el lenguaje LISP un programa que permite analizar los estados por los que transita el sistema, a partir de todas las condiciones iniciales posibles.

Para la actualización del sistema, se evalúa el estado futuro de cada uno de los nodos a partir de las combinaciones de actividades de los otros nodos. Pero si conforme se van evaluando los nodos, fueran adquiriendo su nuevo estado, entonces la actualización sería completamente asincrónica. Es por esto que cada vez que se evalúa el estado de un nodo, este conserva su estado de actividad (que seguirá teniendo el efecto correspondiente sobre los otros nodos) y se registra el resultado de la evaluación (i.e. la imagen, el estado que tendrá en el siguiente período) como un dato por separado. Una vez que se ha hecho esto con todos los nodos, los estados son sustituidos con las imágenes de las variables. De esta forma, todos los nodos adquieren los nuevos estados al mismo tiempo.

Empezando en una condición inicial dada, el programa actualiza iterativamente el estado del sistema, y se detiene hasta que el sistema adquiere un estado que ya había tenido previamente en su trayectoria, es decir, cuando el sistema entra a un atractor.

Para cada condición inicial posible el programa registra: (a) la condición de la que parte, (b) el atractor al que llega y (c) el número de veces que el sistema tuvo que actualizar su estado para poder converger al atractor (a partir de ahora llamaremos a este número el número de pasos al atractor).

Una vez que el programa ha obtenido esta información para todas las condiciones iniciales posibles del sistema, se compara cada uno de los atractores con los patrones de actividad génica reportados experimentalmente en los órganos florales y en el ápice del meristemo apical vegetativo, para así poder encontrar una correspondencia entre los estados estables de actividad génica de acuerdo al modelo y los tipos celulares diferenciados (considerando únicamente a la red de determinación de órganos florales).

También se cuenta y se agrupa a las condiciones iniciales que convergen a los mismos atractores para así poder establecer y comparar los tamaños de las cuencas de atracción de los distintos atractores (y usar esta magnitud como un índice de la robustez con respecto a condiciones iniciales).

### 3.4. Simulación de Mutantes

Haciendo ligeros cambios en el programa se puede estudiar la dinámica de la red en mutantes. Esto nos sirve para poder probar la coherencia del modelo con la evidencia experimental: es necesario que el modelo no contradiga los resultados experimentales y hacer pruebas al respecto.

Se consideran dos tipos de mutaciones: mutaciones de ganancia de función y mutaciones de pérdida de función. En las mutaciones de ganancia de función hay expresión ectópica y/o constitutiva anormal del gen mutado. En las mutaciones de pérdida de función el nivel de expresión o de actividad del producto del gen mutado está reducido (o ausente), en comparación con el de las plantas silvestres.

Hasta ahora no se han realizado simulaciones de mutantes por ganancia de función, pero el procedimiento sería muy similar al de la simulación de mutantes por pérdida de función.

Para la construcción de los programas de simulación de mutantes por pérdida de función, lo único que es necesario hacer es modificar las funciones lógicas que regulan la actividad del gen "mutado" para que, sin importar el estado del sistema, ese gen permanezca inactivo. También se modifica el programa para que no se consideren las condiciones iniciales en las que el gen "mutado" está activo. Finalmente, se hace el mismo análisis que se ha descrito para las simulaciones de plantas silvestres.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Capítulo 4

# Resultados

### 4.1. Simulación de Plantas Silvestres

Se encontraron los atractores para las 209,952 posibles condiciones iniciales de la simulación de la red de plantas silvestres. Todos los atractores resultaron ser estacionarios.

Las 209,952 condiciones iniciales de la red de determinación de órganos florales convergen a únicamente 8 atractores. Los estados de la variable para cada uno de estos atractores se muestran en el cuadro 4.1.

PT	BNPI	TPLI	LPY	PUL	API	APB	PI	AG	UPO	WUS	APB	SEP	LUG	CLF	Órgano
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	Veg1
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	Veg2
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	Veg3
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	Veg4
2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	Sep
2	0	0	2	0	2	2	2	0	1	0	1	1	1	1	Pet
2	0	0	2	2	0	2	2	2	1	1	1	1	1	1	Est
2	0	0	2	2	0	0	1	2	0	1	1	1	1	1	Car

Cuadro 4.1: Estados estables en la simulación de plantas silvestres y correspondencia con estructuras de la planta. *Veg* hace referencia a estructuras vegetativas *Sep* a sépalos, *Pet* a pétalos, *Est* a estambres y *Car* a carpelos.

De estos ocho atractores, los cuatro últimos tienen correspondencia con células de cada uno de los cuatro tipos de órganos florales de acuerdo con patrones de expresión de mRNA y con las predicciones del modelo ABC de la morfogénesis floral.

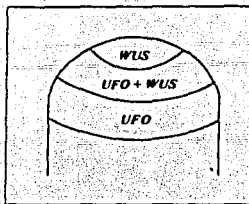


Figura 4.1: Patrón de expresión de *UFO* y de *WUS* en los meristemos apicales aéreos.

Los cuatro primeros atractores son iguales entre ellos, excepto por los estados de actividad de *UFO* y *WUS*, y corresponden a estructuras vegetativas. En los meristemos apicales aéreos vegetativos existen esos patrones de expresión de *UFO* y de *WUS* (Figura 4.1), por lo que los ocho atractores tienen correspondencia con células de la planta. A partir de este momento nos referiremos a los estados estables de acuerdo con esta correspondencia.

En el cuadro 4.2 se muestra el tamaño de las cuencas de atracción que, de acuerdo con la dinámica del sistema, desembocan en cada uno de los ocho estados estables.

Atractores	N
Vegetativo 1	1782
Vegetativo 2	1782
Vegetativo 3	1782
Vegetativo 4	1782
Sépalos	50706
Pétalos	50706
Estambres	50706
Carpelos	50706

Cuadro 4.2: Número de condiciones iniciales (*N*) que conducen a cada uno de los atractores del sistema.

Se determinaron las condiciones iniciales en la actividad génica de las que depende la decisión destino floral / destino vegetativo. Debido a que, como se ve en el cuadro 4.2, es mucho menor el número de condiciones que lleva a un destino vegetativo, únicamente se determinaron cuales eran estas condiciones. Para hacerlo se buscaron a las combinaciones de

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

estados de activación que eran suficientes para garantizar el destino vegetativo. El complemento de este conjunto de condiciones, son las que propiciarán que el sistema se estabilice en un atractor que corresponda a uno de los cuatro tipos de órganos florales.

Se puede separar a las cuencas de atracción que conducen a atractores vegetativos en dos subconjuntos, cuyas condiciones iniciales de cada uno de ellos tienen en común uno de los perfiles de estados de activación que se presentan en el cuadro 4.3.

FT	EMPI	TFL1	LFY	FUL	API	APS	PI	AG	UFO	WUS	AP2	SEP	LUG	CLF
X	1	>0	0	<2	0	X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	1	2	0	X	1	X	X	X	X	X	0	X	X	X

Cuadro 4.3: Condiciones iniciales que conducen a destinos vegetativos en la simulación de plantas silvestres. *X* significa que esa variable puede tomar cualquier valor.

Las cuencas de atracción de los cuatro atractores vegetativos son del mismo tamaño porque el conjunto de condiciones que se mencionan en el cuadro 4.3 está dividido en cuatro subconjuntos, de acuerdo a la actividad de dos variables binarias: *UFO* y *WUS*, que también es lo que distingue entre ellos a los estados estables vegetativos (cuadro 4.1).

Debido a estos resultados, así como a (a) la hipótesis planteada por biólogos experimentales (52; 53; 68) que sugiere que la formación del patrón espacial de los órganos florales depende de la actividad de genes de identidad de meristemo floral y de la heterogeneidad en la distribución de ciertos factores en todos los meristemos aéreos vegetativos y reproductivos, (b) a que se han identificado estos factores con *UFO* (68) y con *WUS* (52; 53), y (c) a que las cuencas de atracción de los cuatro órganos florales tienen el mismo tamaño, se decidió analizar el estado de actividad de *UFO* y *WUS* en los atractores correspondientes a órganos florales. A este respecto se encontró que todas las condiciones iniciales que llevan al mismo atractor tienen el mismo patrón de actividad de *UFO* y *WUS*, de acuerdo al cuadro

4.4.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Atractores	UFO	WUS
Sépalos	0	0
Pétalos	1	0
Estambres	1	1
Carpelos	0	1

Cuadro 4.4: Patrón de actividad de *UFO* y *WUS* en todas las condiciones iniciales que conducen a cada atractor de órganos florales.

Por último, en lo que respecta a la simulación de la dinámica de la red en plantas silvestres, se determinó el número de condiciones iniciales que están a  $n$  número de iteraciones del atractor. Estos resultados se pueden observar en el cuadro 4.5.

Pasos al atractor	Número de C.I. para cada atractor				
	Vegetativos	Sépalos	Pétalos	Estambres	Carpelos
0	1	1	1	1	1
1	1103	35	23	239	1127
2	678	180	120	6942	15630
3		216	288	18600	10728
4		216	216	13746	12042
5		2268	2268	2286	2286
6		7290	7290	5184	5184
7		25866	25866	2196	2196
8		5634	5634	1512	1512
9		5292	5292		
10		2196	2196		
11		1512	1512		

Cuadro 4.5: Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas silvestres. Sólo se muestran los resultados para un atractor vegetativo, ya que los cuatro son iguales.

## 4.2. Simulación de Mutantes: Mutantes *leunig*

En los mutantes *leunig* hay formación de órganos quiméricos, pues los órganos del primer verticilo son sépalos con características carpeloides, mientras que los órganos del segundo verticilo son pétalos con características estaminoides. Estas transformaciones homeóticas parciales se deben a que hay un incremento en el dominio de expresión de *AGAMOUS*, el

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

gen de la clase C, de modo que también se expresa en los dos verticilos más externos de la flor (15; 51).

En la simulación de los mutantes *lug* el espacio fase del sistema permanece del mismo tamaño que en la simulación de las plantas silvestres, pues *LUG*, aunque ahora solamente toma valor de 0, para los fines del modelo en las plantas silvestres solamente toma valor de 1 (ver capítulo 3). En esta simulación se obtuvieron, al igual que en el caso de las plantas silvestres, ocho atractores, que se muestran en el cuadro 4.6.

PT	BMFI	TFLI	LPY	FUL	API	APS	PI	AG	UPO	WUS	APB	SBP	LUG	CLP	Órgano
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	Veg1
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	Veg2
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	Veg3
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	Veg4
2	0	0	2	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	SC
2	0	0	2	1	1	2	2	1	1	0	1	1	0	1	PE
2	0	0	2	2	0	2	2	1	1	1	1	1	0	1	E
2	0	0	2	2	0	0	1	2	0	1	1	1	0	1	C

Cuadro 4.6: Estados estables en la simulación de mutantes *lug*, y correspondencia con estructuras de la planta. *Veg.* hace referencia a estructuras vegetativas, *SC* a sépalos carpeloides, *PE* a pétalos estaminoides, *E* a estambres, y *C* a carpelos. En negrillas están marcadas las diferencias con respecto a los atractores de la simulación de las plantas silvestres.

Se deduce la correspondencia de los sépalos carpeloides y de los pétalos estaminoides con el quinto y sexto atractor del cuadro 4.6 respectivamente pues la expresión ectópica de *AG* (clase C) es lo suficientemente ligera para permitir la expresión de *API* (clase A). La distinción entre sépalos carpeloides y pétalos estaminoides se hace de acuerdo a la actividad de los genes de la clase B, *APS* y *PI*. Los demás atractores no ven alterada su correspondencia, ya que la única diferencia con respecto a sus contrapartes de la simulación de las plantas silvestres es el estado de *LUG* pero los efectos fenotípicos de la mutación *lug* solamente se distinguen en los órganos del primer y del segundo verticilo (15).

En el cuadro 4.7 se puede observar el tamaño de las cuencas de atracción de la simulación de mutantes *lug*, que coinciden con los datos de la simulación de las plantas silvestres.

Atractores	N
Vegetativo 1	1782
Vegetativo 2	1782
Vegetativo 3	1782
Vegetativo 4	1782
Sépalos carpeloides	50706
Pétalos estaminoides	50706
Estambres	50706
Carpelos	50706

Cuadro 4.7: Número de condiciones iniciales ( $N$ ) que conducen a cada uno de los atractores del sistema en las plantas *lug*.

Las condiciones iniciales que conducen a atractores vegetativos son las mismas en los mutantes *lug* y en las plantas silvestres, indicando que *LUG* no participa en la decisión de destino reproductivo o no reproductivo.

En el cuadro 4.8 se observa como están distribuidas las condiciones iniciales en los mutantes *lug*, de acuerdo a la distancia en número de iteraciones al punto estable.

Pasos al atractor	Número de C.I. para cada atractor				
	Vegetativos	Sépalos carpeloides	Pétalos estaminoides	Estambres	Carpelos
0	1	1	1	1	1
1	1103	83	23	239	1127
2	678	240	300	6942	15630
3		2592	2592	18600	10728
4		7290	7290	13746	12042
5		25866	25866	2286	2286
6		5634	5634	5184	5184
7		5292	5292	2196	2196
8		2196	2196	1512	1512
9		1512	1512		

Cuadro 4.8: Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas *lug*. Sólo se muestran los resultados para un atractor vegetativo, ya que los cuatro son iguales.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

4.3. Simulación de Mutantes: Mutantes *apetala2*

Las plantas mutantes *apetala2* tienen conversiones homeóticas completas, pues los sépalos son sustituidos por carpelos, y los pétalos por estambres, y hay expresión ectópica de *AGAMOUS* en el primer y segundo verticilos (19; 51).

En este caso, también se obtienen 8 atractores, que se muestran en el cuadro 4.9. En la simulación se observa que los atractores de sépalos y pétalos son sustituidos por atractores que, de no ser por la actividad de *WUS*, serían idénticos a los atractores de carpelos y estambres. Es por esta diferencia en la actividad de *WUS* (que se expresa en el centro del meristemo floral) que se puede reconocer a los atractores de estambres y carpelos del tercer y cuarto verticilos de los estambres y carpelos ectópicos.

FT	EMF1	TPL1	LPY	PUL	API	AP3	PI	AG	UFO	WUS	AP2	SBP	LUG	CLF	Órgano
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	Veg1
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	Veg2
0	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	Veg3
0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	Veg4
2	0	0	2	2	0	2	2	2	1	0	0	1	1	1	Ec
2	0	0	2	2	0	2	2	2	1	1	0	1	1	1	E
2	0	0	2	2	0	0	1	2	0	0	0	1	1	1	Ce
2	0	0	2	2	0	0	1	2	0	1	0	1	1	1	C

Cuadro 4.9: Estados estables en la simulación de mutantes *ap2*, y correspondencia con estructuras de la planta. *Veg.* hace referencia a estructuras vegetativas, *Ce* a carpelos ectópicos, *Ec* a estambres ectópicos, *E* a estambres, y *C* a carpelos. En negrillas están marcadas las diferencias con respecto a los atractores de la simulación de las plantas silvestres.

En esta simulación, el espacio fase del sistema se reduce a la mitad, pues *AP2*, deja de tener la posibilidad de tomar dos valores (0 o 1) para tener siempre estado de 0. Es por esto que el tamaño de las cuencas de atracción también se reduce, si se comparan con las de la simulación de las plantas silvestres. En el cuadro 4.10 se muestra el tamaño de las cuencas, y se observa que estos números no son simplemente una reducción a la mitad con respecto a los resultados de la simulación de las plantas silvestres: se ve alterada ligeramente la tasa

vegetativo / órganos florales.

Atractores	N
Vegetativo 1	1134
Vegetativo 2	1134
Vegetativo 3	1134
Vegetativo 4	1134
Estambres	25110
Estambres ectópicos	25110
Carpelos	25110
Carpelos ectópicos	25110

Cuadro 4.10: Número de condiciones iniciales ( $N$ ) que conducen a cada uno de los atractores del sistema en las plantas *ap2*.

La causa de esta alteración debe ser el papel de *AP2* como gen de identidad meristemática. Al saber que la proporción entre el tamaño de las cuencas que dan origen a estructuras florales y estructuras vegetativas se determinaron las condiciones iniciales que, de acuerdo al modelo, conducen a las plantas a atractores vegetativos. Estas condiciones se muestran en el cuadro 4.11.

FT	EMF1	TFL1	LFY	FUL	AP1	AP3	PI	AG	UFO	WUS	AP2	SEP	LUG	GLF
X	1	> 0	0	< 2	0	X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	1	2	0	X	1	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Cuadro 4.11: Condiciones iniciales que conducen a destinos vegetativos en la simulación de plantas *ap2*. X significa que esa variable puede tomar cualquier valor. En negrillas están marcadas las diferencias con respecto a los resultados de la simulación de las plantas silvestres.

En el cuadro 4.12 se observa la distribución de todas las distintas condiciones iniciales de acuerdo a la distancia al atractor, medida en el número de actualizaciones del sistema. La transformación de sépalos en carpelos ectópicos y de pétalos en estambres ectópicos hace que las cuencas de atracción de sépalos y pétalos adquieran la forma de las cuencas de atracción de carpelos y estambres, respectivamente.

Pasos al atractor	Número de C.I. para cada atractor				
	Vegetativos	Estambres	Estambres ectópicos	Carpelos	Carpelos ectópicos
0	1	1	1	1	1
1	551	119	119	563	563
2	582	3300	3300	8382	8382
3		10620	10620	6498	6498
4		5670	5670	4320	4320
5		900	900	846	846
6		2160	2160	2160	2160
7		1098	1098	1098	1098
8		1242	1242	1242	1242

Cuadro 4.12: Número de condiciones iniciales por número de iteraciones (pasos) al atractor para cada estado estable en las plantas *ap2*. Sólo se muestran los resultados para un atractor vegetativo, ya que los cuatro son iguales.

## Capítulo 5

# Discusión y Conclusiones

### 5.1. Supuestos del Modelo

El comprender los mecanismos de desarrollo nos permitirá entender como se originan sus variaciones, que a su vez son la fuente para el cambio morfológico (104). La genética del desarrollo ahora nos informa qué hacen los genes, sus productos y cómo interactúan. Pero falta una forma de ir de este tipo de conocimiento a un entendimiento formal de los fenómenos del desarrollo, pues aunque estas explicaciones describen a las interacciones entre los elementos, no permite entender la relación entre estas interacciones y las estructuras. Esto sólo se puede conseguir integrando la información en explicaciones mecanicistas (104). Para entender estos mecanismos, es importante conocer la información de los genes, pero también lo es el conocer la dinámica que se genera a partir de sus interacciones (2).

Es por esto que en este trabajo se ha abordado el estudio de la dinámica de la red de interacciones génicas que regula a la determinación genética de los órganos florales de *Arabidopsis thaliana*, buscando la integración en explicaciones mecanicistas de los datos obtenidos a través de los experimentos en diversos laboratorios alrededor del mundo.

Un modelo es una forma abstracta de describir un sistema complicado (22), pero para

poder hacer una descripción de este tipo es necesario hacer varios supuestos, que permitan simplificar el sistema.

En este trabajo se ha supuesto que:

- La red de determinación genética de los órganos florales es un módulo de desarrollo <sup>1</sup> y es autónoma, *i.e.* relativamente independiente de otras redes de regulación génica.
- Independencia del proceso de determinación de órganos florales con respecto a la acción de mecanismos genéricos (por ejemplo la acción de RNA polimerasas). Únicamente se considera la acción de factores que no tienen el mismo efecto en todos los elementos de la red (como los factores de transcripción).
- Se asume la validez del uso de estados discretos para describir la actividad génica y de la forma de actualización sincrónica, basándose en el trabajo de otros autores (por ejemplo en: 38; 39; 100).
- Son válidas las suposiciones hechas en la forma de interacción de ciertos genes. Fue necesario hacer estas suposiciones debido a huecos en la evidencia experimental (ver capítulo 2).

Si alguna de estas suposiciones resultara falsa, entonces posiblemente también serían falsos los resultados del modelo. Sin embargo, esto es una característica de todos los modelos, en los que se parte de premisas cuya certeza se considera más probable que su falsedad. De todos modos, es sorprendente la coherencia de los resultados de este trabajo con las observaciones experimentales. Es por esto que todo lo que se discute a continuación se escribe considerando ciertos todos estos supuestos.

---

<sup>1</sup> Un módulo de desarrollo es un conjunto de elementos cuyas conductas intrínsecas e interacciones funcionales nos dan una explicación mecanicista de un proceso de desarrollo identificable (104).

## 5.2. El Papel de la Robustez en el Destino de los Órganos Florales

Se ha encontrado que ciertas redes, como por ejemplo redes metabólicas (36), o Internet (1) y otras (92) pertenecen a la clase de redes llamadas redes libres de escala, que no tienen un patrón aleatorio en sus conexiones. En este tipo de redes hay pocos elementos muy conectados y muchos poco conectados, y la distribución de estos tipos de nodos sigue una ley de potencia, de forma que, si  $a$  es una constante positiva y  $P(k)$  es la probabilidad de que un nodo tenga  $k$  conexiones, entonces  $P(k) \sim k^{-a}$  (92; 101). Aunque las redes libres de escala presentan una sensibilidad alta a ataques dirigidos a los nodos más conectados, presentan muy pocos cambios como efecto de perturbaciones al azar (1). Lo anterior implica que es posible ligar características en la topología de una red a propiedades emergentes del sistema, como su robustez (101).

La robustez es una característica indispensable en los procesos de desarrollo, pues es lo que garantiza que estos no sean eventos únicos, sino que sean repetibles en diferentes individuos, diferentes condiciones ambientales, diferentes contextos genotípicos, o incluso, en individuos que pertenezcan a diferentes taxa. Esta repetitividad permite que haya continuidad en la presencia de una característica a lo largo de un linaje, i.e. que sea heredable.

A todos los atractores que se obtienen con el modelo que aquí se presenta se les puede encontrar relación con patrones de expresión génica que existen en células de *Arabidopsis thaliana*, eliminándose, con la adición de la nueva información, el atractor que no tiene correspondencia con células de la planta de Mendoza y Álvarez-Buylla (57). Esto significa que en lo que se refiere a la red de determinación de órganos florales, las posibilidades del destino celular están completamente acotadas por la dinámica de la red: los destinos

celulares habituales son los únicos que pueden existir (ver cuadro 4.1).

Podemos decir que el establecimiento de los patrones de expresión génica en los ocho atractores es espontáneo, pues no es necesaria información externa al sistema para restringir los posibles destinos celulares. Esto quiere decir que la arquitectura de la red de determinación de órganos florales hace que resulte mucho más "fácil" y probable el desarrollo de las flores (al menos al nivel de determinación del destino de los verticilos), pues restringe las opciones de los elementos que se organizan en el patrón floral a únicamente ocho posibilidades.

Además, comparando el tamaño de las cuencas de atracción de los estados estables vegetativos y reproductivos, observamos que la razón vegetativo:reproductivo es menor a 1:25 (ver cuadro 4.2). Ya que se puede usar a las cuencas de atracción como índices de estabilidad, podemos inferir (tanto a partir de esto, como de la identificación completa de los estados estables con tipos celulares) que la flor es una estructura robusta.

La estabilidad de los destinos de los órganos florales, comparada con la estabilidad del destino de estructuras vegetativas podría ser la causa de que no se hayan encontrado mutaciones de un solo gen que impidan la floración (42): en este escenario, la robustez en la formación de las flores hace que se necesiten perturbaciones muy grandes para poder evitarlas.

### 5.3. Formación del Patrón Espacial en las Flores

La distribución en el tamaño de las cuencas de atracción de los ocho atractores es muy poco usual: todas las cuencas de atractores vegetativos son del mismo tamaño, y lo mismo pasa con las cuencas de los atractores de órganos florales (ver cuadro 4.2).

El conjunto de todas las condiciones que conducen a destinos vegetativos se divide en

4 subconjuntos de acuerdo a la actividad de *UFO* y *WUS*. Como *UFO* y *WUS* son dos variables binarias, únicamente hay cuatro combinaciones posibles respecto a sus estados de actividad: 00, 10, 11 y 01. Debido a que se prueban todas las condiciones iniciales posibles, entonces los cuatro tipos de combinaciones son equiprobables, y es por esto que las cuencas de atracción vegetativas son del mismo tamaño.

Se encontró también que en los atractores que corresponden a órganos florales pasa lo mismo. Si una condición pertenece a la cuenca de algún órgano floral (cuando es un elemento del complemento del conjunto de condiciones que conducen a atractores vegetativos), entonces el estado estable en el que desemboca depende únicamente de las combinaciones de actividad de *UFO* y *WUS*, pues los elementos de una cuenca de atracción se pueden identificar por los estados de actividad de estas dos variables (ver cuadro 4.4).

De acuerdo a los resultados de este modelo y a las predicciones del modelo ABC, una vez que una célula ha tomado la "decisión" de formar parte de la flor, se reconoce que la actividad de los genes B (en pétalos y estambres) depende exclusivamente de la actividad de *UFO*, mientras que la actividad de los genes C (en estambres y carpelos) depende exclusivamente de la actividad de *WUS*.

Por otra parte, *WUSCHEL* actúa en el centro de los meristemos (75). *UFO* en cambio, en los meristemos vegetativos se expresa en el ápice del embrión en la etapa de corazón, y después se expresa en un dominio en forma de anillo con centro en la punta del meristemo apical en los meristemos vegetativos. En los meristemos florales se observa mRNA de *UFO* en el centro, y después su dominio de expresión adquiere también una forma de anillo (81), semejando con sus cambios en el patrón de expresión la transición embrión-meristemo apical aéreo. En la figura 4.1 se pueden observar los patrones de actividad de *UFO* y *WUS*

en meristemo apical y en el meristemo floral en la etapa 3 de la floración.

Tanto la regulación demostrada experimentalmente de *AP3* por *UFO* y de *AG* por *WUS* (ver última parte de capítulo 2), como el hecho de que estos dos genes actúan en los lugares adecuados para ser los factores meristemáticos indispensables para definir los dominios de expresión de los genes B y C respectivamente (47; 68), así como la dependencia de las actividades de genes B y C de la actividad de *UFO* y *WUS* que sugieren los resultados de este trabajo sustentan convincentemente la hipótesis de que los meristemos florales son meristemos apicales aéreos modificados, y que para la formación de heterogeneidades en el meristemo floral se ha "reciclado" el sistema que forma patrones en el meristemo apical (68). En particular, en este trabajo se da una prueba, en un sistema dinámico, de la coherencia y viabilidad de esta hipótesis.

Bajo este supuesto, la formación del patrón espacial de actividad de los genes A, B, y C en las flores es el producto de la acción de factores específicos de flores (como *LFY*), distribuidos homogéneamente en el meristemo floral, y del sistema que forma patrones en el meristemo vegetativo que establecen un vínculo entre el funcionamiento del meristemo y la distribución espacial de los órganos florales (47; 52; 53; 68; 75).

A partir de la homología de meristemo floral y meristemo apical y del empleo del mismo mecanismo y los mismos elementos en ambos meristemos para la formación de patrones se pueden explicar algunos fenotipos: en las plantas en las que hay expresión de genes de identidad meristemática floral (como *LFY*) en el meristemo apical (como por ejemplo en las plantas *35S::LFY*, *35S::AP1* o *tf1*) se forman flores terminales incluso en plantas diferentes a *A. thaliana* (16; 54; 73; 86; 108). Esto ocurre ya que al compartir un sistema de formación de patrones en ambos meristemos, la expresión de genes de identidad meristemática floral

hace que el sistema "crea" que el meristemo apical vegetativo es un meristemo floral.

El uso de circuitos regulatorios preexistentes podría ser un mecanismo común en el origen de novedades evolutivas (40). En plantas hay otros sistemas que se han "reciclado" en diferentes procesos, por ejemplo en la formación de patrones de distribución de tricomas en la epidermis de las hojas, y de tricoblastos en la epidermis de la raíz (84). Pero es en animales, principalmente en *Drosophila*, donde se ha avanzado más al respecto, demostrando la cooperación de un mismo sistema para dirigir diferentes procesos. Por ejemplo, en la formación del patrón de la lámina de las alas y el desarrollo de manchas oculares en las mariposas (40), o el hecho establecido de que rutas de señalización (como *Notch/Delta* o el sistema *wingless/hedgehog/patched*) se usan en diversos procesos, como la oogénesis, determinación del neuroectodermo, formación de órganos sensoriales, segmentación y formación de apéndices (34).

#### 5.4. Hipótesis para el Origen de la Inversión Floral en *Lacandonia schismatica*

Casi todas las angiospermas con flores hermafroditas tienen el mismo patrón espacial en la distribución de órganos que *A. thaliana*, con carpelos en el centro, y estambres alrededor de ellos. La única excepción a este patrón es *Lacandonia schismatica*, que es una monocotiledónea mexicana, cuyas flores tienen estambres en el centro de la flor, rodeados por carpelos.

Partiendo de la conservación del control del destino de los órganos florales por parte de los genes A, B, y C en monocotiledóneas (3), la hipótesis más simple para explicar el origen de este fenotipo es un cambio en el dominio de expresión de los genes B, de modo que ahora se expresen en el centro de la flor (102). Esto haría que los patrones de actividad de los

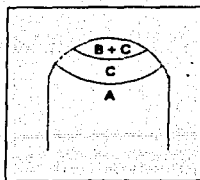


Figura 5.1: Patrón espacial de actividad esperado de los genes A, B, y C en *Lacandonia schismatica*.

genes A, B, y C tuvieran una distribución como la de la figura 5.1. Sin embargo, no hay datos experimentales que sugieran qué es lo que originó este cambio en *L. schismatica*.

Por otra parte, la función de *UFO* como desencadenante indispensable de la expresión de los genes B, que resalta en los resultados de este trabajo, motiva la búsqueda de las causas posibles para la inversión en *Lacandonia* alrededor de la actividad de este gen.

Como se puede ver en la figura 5.2, en *Arabidopsis thaliana*, el patrón de expresión de *UFO* en el meristemo floral cambia de la etapa 2 a la etapa 3 de la floración (81), de la misma forma en que cambia en la transición embrión-meristemo apical vegetativo: primero se expresa en el ápice del meristemo, y cuando el meristemo es un poco mayor adquiere un patrón de expresión en forma de anillo.

Es a partir de estos datos que se sugiere la posibilidad de que la inversión homeótica en

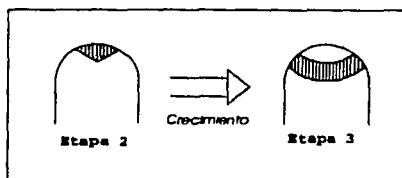


Figura 5.2: Patrón espacial de actividad de *UFO* en dos etapas consecutivas de la floración en *A. thaliana*.

*L. schismatica* haya sido desencadenada por una heterocronía <sup>2</sup>, en la que se modificara la relación temporal entre el cambio de expresión de *UFO* y el crecimiento del meristemo floral, de modo que *UFO* permaneciera activo en el centro del meristemo en el momento de la determinación de los órganos florales (ver figura 5.3).

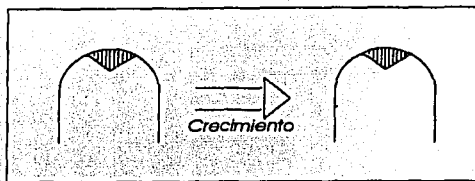


Figura 5.3: Patrón espacial hipotético de un ortólogo de *UFO* en *L. schismatica*, de acuerdo a la hipótesis de heterocronía

De acuerdo con los resultados de este modelo (ver cuadro 4.1), y a reportes de trabajos experimentales (ver capítulo 2), en *Arabidopsis thaliana* *UFO* controla directamente a *AP3*, pero no a *PI*. Esta es la razón por la cual *PI* se expresa en los tres verticilos centrales, mientras que *AP3* se expresa en el dominio que se intersecta con la actividad de *UFO* (aunque debido al asa de retroalimentación positiva dependiente de *AP3*, *PI* solamente rebasa el segundo umbral de su actividad en el segundo y tercer verticilos).

Hay barruntos de que en *L. schismatica* pasa algo semejante, y que por lo tanto, es probable la hipótesis de heterocronía para la inversión homeótica en *Lacandonia*. Al parecer, el gen ortólogo de *AP3* en *L. schismatica* se expresa únicamente en estambres (en el centro de la flor), mientras que el ortólogo de *PI* se expresa en estambres y carpelos (F. Vergara-Silva, com. pers.). Esto es exactamente lo que predice la hipótesis que aquí se propone: debido a que *UFO* no regula el inicio de la transcripción de *PI*, pero si el de *AP3*, al cambiar el patrón espacial de expresión de *UFO*, solamente cambia el patrón espacial de *AP3*. Como

<sup>2</sup> Heterocronía es el nombre que se le da a los cambios en el tiempo relativo de aparición y en la velocidad de desarrollo de caracteres presentes en los ancestros de un grupo (26).

los dos genes (*AP3* y *PI*) son indispensables para la función B (32), sólo habrá función B en la región en la que se intersecten sus dominios de expresión.

Con base en estos resultados se vuelve importante averiguar el patrón de expresión del ortólogo de *UFO* durante el desarrollo floral de *Lacandonia schismatica*, para así poner a prueba esta hipótesis.

### 5.5. Coherencia del Modelo con Observaciones Experimentales

El modelo replica los procesos que se presentan en la naturaleza en la determinación genética de los órganos florales de *A. thaliana* con fidelidad. A pesar de que esto ya es indicativo de que se están considerando los factores más importantes en la determinación del destino de las células en los órganos florales, se hicieron las simulaciones de mutantes, buscando discordancias del modelo con la evidencia experimental. Hasta el momento sólo se ha realizado la simulación de dos mutaciones por pérdida de función, pero los resultados son alentadores.

En la simulación de mutantes *lug* y *ap2* se encuentra lo mismo que en la simulación de plantas silvestres: no hay destinos celulares posibles que no se observen en la naturaleza (ver cuadros 4.6 y 4.9). Además, en ambas simulaciones de mutantes se obtienen las transformaciones homeóticas que hay en las plantas con esos genotipos: a) en la simulación de mutantes *lug* ya no hay atractor que corresponda a sépalos o a pétalos, sino que, al igual que en las plantas, son sustituidos por atractores que corresponden a órganos quiméricos (sépalos carpeloides y pétalos estaminoides, cuadro 4.6); b) en la simulación de mutantes *ap2* hay transformaciones homeóticas completas, pues los atractores de sépalos y pétalos son reemplazados por atractores de carpelos y estambres (cuadro 4.9).

Asimismo, en la simulación de plantas *ap2*, los resultados no son iguales a los de la simulación de plantas silvestres, pues hay diferencias en la relación que hay entre el tamaño de las cuencas de atracción vegetativas y las cuencas de atracción que corresponden a órganos florales (cuadros 4.10 y 4.11 por las plantas *ap2* y 4.2 y 4.3 por las plantas silvestres), sustentando la actividad de *AP2* como gen de identidad meristemática.

## 5.6. Conclusiones y Perspectivas

Para entender el comportamiento de sistemas complejos (como los animales o las plantas) no basta conocer el comportamiento de cada uno de sus elementos; es necesario estudiar la dinámica de sus interacciones y las propiedades que emanan de ella. Los modelos de redes de regulación génica son herramientas útiles para estudiar este tipo de propiedades en el desarrollo de los seres vivos, y por lo tanto también en su evolución. Además, cuando este tipo de modelos está basado en evidencia experimental permiten también organizar e integrar la información en explicaciones mecanicistas de eventos específicos en el desarrollo de una estructura. Sólo teniendo este tipo de explicaciones podremos comprender a los procesos que generan variación en los seres vivos y que acotan el alcance de la selección natural.

En este trabajo se elaboró un modelo discreto de la red de regulación génica que determina el destino de los órganos florales en *Arabidopsis thaliana* y se probó su coherencia con la evidencia experimental con la simulación de dos mutaciones de fenotipo conocido.

Este modelo provee una prueba en un sistema dinámico del empleo de los mismos genes en el meristemo floral y en el meristemo apical para dirigir la formación de patrones, lo que permite proponer un mecanismo para el origen de un fenotipo floral poco común presente

en la naturaleza. También se demuestra que la arquitectura de la red hace más probable el desarrollo de las flores pues limita el número de destinos posibles, y los limita tanto, que todas las posibilidades tienen correspondencia con patrones de actividad génica de *Arabidopsis thaliana*.

Además se encuentra que la robustez de la red de determinación de órganos florales muy probablemente sea la razón de que no se hayan encontrado mutaciones aisladas que impidan la floración. En este escenario la arquitectura de la red hace que la flor sea una estructura altamente probable.

Queda mucho trabajo por hacer para entender los mecanismos que subyacen el desarrollo de las flores. La forma en que yo pienso seguir atacando el problema incluye el proseguir con simulaciones de mutantes con alelos de pérdida y de ganancia de función para así poner constantemente a prueba a este modelo. También se deben incorporar las rutas de inducción a la floración al modelo para así poder estudiar a la transición crecimiento vegetativo - crecimiento reproductivo y el vínculo entre factores ambientales y la inducción de la formación de flores.

Además, como se puede ver en el cuadro 4.5 (y en los cuadros 4.12 y 4.8 para las simulaciones de mutantes), a pesar de que las cuencas de atracción con correspondencia con los órganos florales tienen el mismo tamaño, no son iguales, pues la distribución de las distintas condiciones iniciales en cada una de las cuencas es diferente. Es de esperarse que las cuencas con más condiciones iniciales cercanas al atractor sean más estables, pues convergen más rápidamente. Es por esta hipótesis que se piensa estudiar estas diferencias en la forma de las cuencas de atracción y en su estabilidad, tratando de usar esta información para predecir el orden temporal relativo en la determinación de los órganos florales. De ser así, se suge-

rirá que el orden temporal de aparición de los órganos florales también es una propiedad emergente de la dinámica de la red.

El que el modelo refleje con cercanía a la realidad nos indica que se están considerando los factores autónomos (i.e. que actúan dentro de la célula que los produce) más importantes que actúan en el proceso. Sin embargo, esto no nos permite entender eventos que no son autónomos, como por ejemplo como es que se forma el patrón espacial de actividad de los genes A, B y C en el meristemo floral. Sin embargo, en *A. thaliana* no se conocen factores no-autónomos (como hormonas o proteínas transmembranales) que participen en la formación del patrón floral. Es por esto que será necesario usar un método de optimización para inferir las combinaciones hipotéticas de factores no-autónomos que pudieran dirigir la formación de estas heterogeneidades.

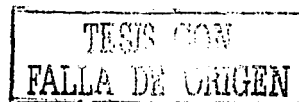
Eso no será suficiente. Se ha demostrado que no solamente *WUS* tiene un efecto sobre *AG*, el gen de la clase C, sino que también *AG* afecta la actividad de *WUS* (47). Como *WUS* es un gen que regula la identidad meristemática de las células y el crecimiento meristemático, se concluye que es necesario estudiar la relación que hay entre la determinación genética de los órganos florales y el crecimiento y el cambio de forma de los meristemos florales, para así seguir en el camino de encontrar el mecanismo que dirija la morfogénesis de las flores y entender mejor el misterio de su origen.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

# Bibliografía

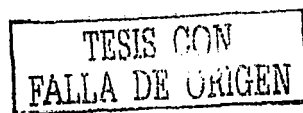
- [1] R. ALBERT, H. JEONG Y A. BARABÁSI. Error and attack tolerance of complex networks. *Nature* **406**, 378-382 (2000).
- [2] E. ÁLVAREZ-BUYLLA. La diversidad de las formas vegetales: Variaciones sobre un mismo tema. *Ciencias* **65**, 18-28 (2002).
- [3] B.A. AMBROSE, D.R. LERNER, P. CICERI, C.M.N PADILLA, M.F. YANOFSKY Y R.J. SCHMIDT. Molecular and genetic analyses of the *Silky1* gene reveal conservation of floral organ specification between Eudicots and Monocots. *Molecular Cell* **5**, 569-579 (2000).
- [4] ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **408**, 796-815 (2000).
- [5] L AUBERT, D., CHEN, Y. MOON, D. MARTIN, L.A. CASTLE, YANG C Y Z.R. SUNG. EMF1 a novel protein involved in the control of shoot architecture and flowering in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **13**, 1865-1875 (2001).
- [6] M.V. BLAGOSKLONNY Y A.B. PARDEE. Uncarthing the gems. *Nature* **416**, 373 (2002).
- [7] M.A. BLÁZQUEZ, L.N. SOOWAI, I. LEE Y D. WEIGEL. LEAFY expression and flower initiation in *Arabidopsis*. *Development* **124**, 3835-3844 (1997).
- [8] M.A. BLÁZQUEZ, R. GREEN, O. NILSSON, M.R. SUSSMAN Y D. WEIGEL. Gibberellins promote flowering of *Arabidopsis* by activating the LEAFY promoter. *Plant Cell* **10**, 791-800 (1998).
- [9] M.A. BLÁZQUEZ Y D. WEIGEL. Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis*. *Nature* **404**, 889-891 (2003).

- [10] J.L. BOWMAN, J. ALVAREZ, D. WEIGEL, E.M. MEYEROWITZ Y D.R. SMYTH. Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by APETALA1 and interacting genes. *Development* **119**, 721–743 (1993).
- [11] Z. BURSTEIN. A network model of developmental gene hierarchy. *Journal of Theoretical Biology* **174**, 1–11 (1995).
- [12] M.A. BUSCH, K. BOMBLIES Y D. WEIGEL. Activation of a floral homeotic gene in *Arabidopsis*. *Science* **285**, 585–587 (1999).
- [13] L. CHEN, J. CHENG, L. CASTLE Y Z.R. SUNG. EMF genes regulate *Arabidopsis* inflorescence development. *Plant Cell* **9**, 2011–2024 (1997).
- [14] J. COLLIER, N. MONK, P.K. MAINI Y J.H. LEWIS. Pattern formation by lateral inhibition with feedback: a mathematical model of Delta-Notch intercellular signaling. *Journal of Theoretical Biology* **183**, 429–446 (1996).
- [15] J. CONNER Y Z. LIU. LEUNIG, a putative transcriptional corepressor that regulates AGAMOUS expression during flower development. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**(23), 12902–12907 (2000).
- [16] G. COUPLAND. Flower development; LEAFY blooms in Aspen. *Nature* **377**, 482–483 (1995).
- [17] G. COUPLAND. Genetic and environmental control of flowering time in *Arabidopsis*. *Trends in Genetics* **11**, 393–397 (1995).
- [18] E.H. DAVIDSON, J.P. RAST, P. OLIVERI, A. RANSICK, C. CALESTANI, C. YUH, T. MINOKAWA, G. AMORE, V. HINMAN, C. ARENAS-MENA, O. OTIM, C. T. BROWN, C.B. LIVI, P.Y. LEE, R. REVILLA, A. G. RUST, Z. PAN, M.J. SCHILSTRA, P.J.C. CLARKE, M. I. ARNONE, L. ROWEN, R. A. CAMERON, D. R. McCLAY, L. HOOD Y H. BOLOURI. A genomic regulatory network for development. *Science* **295**, 1669–1678 (2002).
- [19] M.K. DEYHOLOS Y L.E. SIEBURTH. Separable whorl-specific expression and negative regulation by enhancer elements within the AGAMOUS second intron. *Plant Cell* **12**, 1799–1810 (2000).



- [20] A. ELДАР, R. DORFMAN, D. WEISS, H. ASHE, B. SHILO Y N. BARKAI. Robustness of the BMP morphogen gradient in *Drosophila* embryonic patterning. *Nature* **419**, 304-308 (2002).
- [21] C. FERRÁNDIZ, Q. GU, R. MARTIENSSSEN Y M.F. YANOFSKY. Redundant regulation of meristem identity and plant architecture by FRUITFULL, APETALA1 and CAULIFLOWER. *Development* **127**, 725-734 (2000).
- [22] C. GIBAS Y P. JAMBECK. "Developing Bioinformatics Computer Skills". O'Reilly, E.E.U.U. (2001).
- [23] J. GOODRICH, PUANGSOMLEE P., MARTIN M., LONG D., MEYEROWITZ E.M. Y COUPLAND G. A Polycomb-group gene regulates homeotic expression in *Arabidopsis*. *Nature* **386**, 44-51 (1997).
- [24] B. GOODWIN. Homology, Development and Heredity. En B.K. HALL, editor, "Homology: The hierarchical basis of comparative Biology". Academic Press, E.E.U.U. (1994).
- [25] B. GOODWIN. "How the leopard changed its spots. The evolution of complexity." Princeton Science Library, E.E.U.U., 2a edición (2001).
- [26] S.J. GOULD. "Ontogeny and Phylogeny". The Belknap Press of Harvard University Press, E.E.U.U. (1977).
- [27] Q. GU, C. FERRÁNDIZ, M.F. YANOFSKY Y R. MARTIENSSSEN. The FRUITFULL MADS-box gene mediates cell differentiation during *Arabidopsis* fruit development. *Development* **125**, 1509-1517 (1998).
- [28] H. GUO, H. YANG, T.C. MOCKLER Y C. LIN. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* **279**, 1360-1364 (1998).
- [29] C. GUSTAFSON-BROWN, B. SAVIDGE Y M.F. YANOFSKY. Regulation of the *Arabidopsis* floral homeotic gene APETALA1. *Cell* **76**, 131-143 (1994).
- [30] M. HAUNG Y C. YANG. EMF genes interact with Late-Flowering genes to regulate *Arabidopsis* shoot development. *Plant Cell Physiology* **39**, 382-393 (1998).

- [31] T.A. HILL, C.D. DAY, S.C. ZONDLO, A.G. THACKERAY Y V.F. IRISH. Discrete spatial and temporal cis-acting elements regulate transcription of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA3. *Development* **125**, 1711-1721 (1998).
- [32] T. HONMA Y K. GOTO. The Arabidopsis floral homeotic gene PISTILLATA is regulated by discrete cis-elements responsive to induction and maintenance signals. *Development* **127**, 2021-2030 (2000).
- [33] T. HONMA Y K. GOTO. Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature* **409**, 525-529 (2001).
- [34] F. HUANG. Syntagms in development and evolution. *International Journal of Developmental Biology* **42**, 487-494 (1998).
- [35] V. IRISH. Variations on a theme: flower development and evolution. *Genome Biology* **1**(2), reviews 1015.1-1015.4. (2000).
- [36] H. JEONG, B. TOMBOR, R. ALBERT, Z.N. OLTVAI Y A.-L. BARABÁSI. The large scale organization of metabolic networks. *Nature* **407**, 651-654 (2000).
- [37] I. KARDAILSKY, V.K. SHUKLA, J.H. AHN, N. DAGENAIS, S.K. CHRISTENSEN, J.T. NGUYEN, J. CHORY, M.J. HARRISON Y D. WEIGEL. Activation tagging of the floral inducer FT. *Science* **286**, 1962-1965 (1999).
- [38] S. KAUFFMAN. Antichaos and adaptation. *Scientific American* **265**, 64-71 (1991).
- [39] S. KAUFFMAN. "At home in the Universe: The search for laws of complexity". Penguin books, Inglaterra (1996).
- [40] D. KEYS, D.L. LEWIS, J.E. SELEGUE, B.J. PEARSON, L.V. GOODRICH, R.L. JOHNSON, J. GATES, M.P. SCOTT Y S.B. CARROLL. Recruitment of a hedgehog Regulatory Circuit in Butterfly Eyespot Evolution. *Science* **283**, 532-534 (1999).
- [41] Y. KOBAYASHI, H. KAYA, K. GOTO, M. IWABUCHI Y T. ARAKI. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* **286**, 1960-1962 (1999).



- [42] M. KOORNNEEF, C ALONSO-BLANCO, H. BLANKESTIJN-DE VRIES, CJ HANHART Y A.J.M. PETERS. Genetic interactions among late-flowering mutants of Arabidopsis. *Genetics* **148**, 885-892 (1998).
- [43] E. KRAMER Y V. IRISH. Evolution of genetic mechanisms controlling petal development. *Nature* **399**, 144-148 (1999).
- [44] E. KRAMER Y V. IRISH. Evolution of the petal and stamen developmental programs: evidence from comparative studies of the lower eudicots and basal angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **161**, S29-S40 (2000).
- [45] A.L. LAWTON-RAUH, E. ALVAREZ-BUYLLA Y M.D. PURUGGANAN. Molecular evolution of flower development. *Trends in Ecology and Evolution* **15**, 144-149 (2000).
- [46] H. LEE, S. SUH, E. PARK, E. CHO, J.H. AHN, S. KIM, J.S. LEE, Y.M. KWON Y I. LEE. The AGAMOUS-LIKE 20 MADS domain protein integrates floral inductive pathways in Arabidopsis. *Genes & Development* **14**, 2366-2376 (2000).
- [47] M. LENHARD, A. BONHERT, G. JÜRGENS Y T. LAUX. Termination of stem cell maintenance in Arabidopsis floral meristems by interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. *Cell* **105**, 805-808 (2001).
- [48] Y. LEVY Y C. DEAN. The transition to flowering. *Plant Cell* **10**, 1973-1989 (1998).
- [49] S. LIANG, S. FUHRMAN Y R. SOMOGYI. REVEAL, a general reverse engineering algorithm for inference of genetic network architectures. En "Pacific Symposium on Biocomputing 1998 Proceedings", páginas 18-29, E.E.U.U. (1998).
- [50] S.J. LILJEGREN, C. GUSTAFSON-BROWN, A. PINYOPICH, G.S. DITTA Y M.F. YANOFKY. Interactions among API, LFY and TFL1 specify meristem fate. *Development* **11**, 1007-1018 (1999).
- [51] Z. LIU Y E.M. MEYEROWITZ. LEUNIG regulates AGAMOUS expression in Arabidopsis flowers. *Development* **121**, 975-991 (1995).
- [52] J.U. LOHMANN, R. L. HONG, M. HOBE, M.A. BUSCH, F. PARCY, R. SIMON Y D. WEIGEL. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in Arabidopsis. *Cell* **105**, 793-803 (2001).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

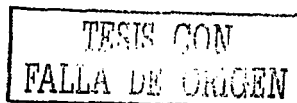
- [53] J.U LOHMANN Y D. WEIGEL. Building beauty: The genetic control of floral patterning. *Developmental Cell* **2**, 135-142 (2002).
- [54] A. MANDEL Y M.F. YANOFSKY. A gene triggering flower formation in Arabidopsis. *Nature* **377**, 522-525 (1995).
- [55] A. MANDEL Y M.F. YANOFSKY. The Arabidopsis AGL9 MADS box gene is expressed in young flower primordia. *Sexual Plant Reproduction* **11**, 22-28 (1998).
- [56] M.A. MANDEL, C. GUSTAFSON-BROWN, B. SAVIDGE Y M.F. YANOFSKY. Molecular characterization of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA1. *Nature* **360**, 273-277 (1992).
- [57] L. MENDOZA Y E. ÁLVAREZ-BUYLLA. Dynamics of the genetic regulatory network of Arabidopsis thaliana flower morphogenesis. *Journal of Theoretical Biology* **193**, 307-319 (1998).
- [58] L. MENDOZA Y E. ÁLVAREZ-BUYLLA. Genetic regulation of root hair development in Arabidopsis thaliana: a network model. *Journal of Theoretical Biology*, **204**, 311-326 (2000).
- [59] L. MENDOZA, D. THIEFFRY Y E. ÁLVAREZ-BUYLLA. Genetic control of flower morphogenesis in Arabidopsis thaliana: a logical analysis. *Bioinformatics* **15**, 593-606 (1999).
- [60] E. MEYEROWITZ. Plants compared to animals: The broadest comparative study of development. *Science* **295**, 1482-1485 (2002).
- [61] S.D. MICHAELS Y R. AMASINO. FLOWERING LOCUS C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell* **11**, 949-956 (1999).
- [62] S.D. MICHAELS Y R. AMASINO. Loss of FLOWERING LOCUS C activity eliminates the late-flowering phenotype of FRIGIDA and autonomous pathway mutations but not responsiveness to vernalization. *Plant Cell* **13**, 935-941 (2001).
- [63] P. MIRAMONTES. Paisajes embriológicos y genes. *Ciencias* **65**, 4-13 (2002).
- [64] E. MJOLSNESS, D.H. SHARP Y J. REINITZ. A connectionist model of developmental. *Journal of Theoretical Biology* **152**, 429-453 (1991).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- [65] T. MOCKLER, H. GUO, H. YANG, H. DUONG Y C. LIN. Antagonistic actions of Arabidopsis cryptochromes and phytochrome B in the regulation of floral induction. *Development* **127**, 2073-2082 (1999).
- [66] O. NILSSON, I. LEE, M.A. BLÁZQUEZ Y D. WEIGEL. Flowering time genes modulate the response to LFY activity. *Genetics* **150**, 403-410 (1998).
- [67] H. ONOUCHI, M.I. IGENO, C. PERILLEUX, K. GRAVES Y G. COUPLAND. Mutagenesis of plants overexpressing CONSTANS demonstrates novel interactions among Arabidopsis flowering-time genes. *Plant Cell* **12**, 885-900 (2000).
- [68] F. PARCY, O. NILSSON, M.A. BUSCH, I. LEE Y D. WEIGEL. A genetic framework for floral patterning. *Nature* **395**, 561-566 (1998).
- [69] S. PELAZ, G.S. DITTA, E. BAUMANN, E. WISMAN Y M.F. YANOFSKY. B and C floral organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature* **405**, 200-203 (2000).
- [70] S. PELAZ, R. TAPIA-LÓPEZ, E.R. ALVAREZ-BUYLLA Y M.F. YANOFSKY. Conversion of leaves into petals in Arabidopsis. *Current Biology* **11**, 182-184 (2001).
- [71] L. PELLETIER, C.A. STERN, M. PYPAERT, D. SHEFF, H.M. NGO, N. ROPER, C.Y. HE, KE HU, D. TOOMRE, I. COPPENS, D.S. ROOS, K. A. JOINER Y G. WARREN. Golgi biogenesis in *Toxoplasma gondii*. *Nature* **418**, 548-552 (2002).
- [72] M. PIÑEIRO Y G. COUPLAND. The control of flowering time and floral identity in Arabidopsis. *Plant Physiology* **117**, 1-8 (1998).
- [73] O.J. RATCLIFFE, D.J. BRADLEY Y E.S. COEN. Separation of shoot and floral identity in Arabidopsis. *Development* **126**, 1109-1120 (1999).
- [74] O.J. RATCLIFFE, I. AMAYA, C.A. VINCENT, S. ROTHSTEIN, R. CARPENTER, E.S. COEN Y D.J. BRADLEY. A common mechanism controls the life cycle and architecture of plants. *Development* **125**, 1609-1615 (1998).
- [75] A.H.K. ROEDER Y M.F. YANOFSKY. Unraveling the Mystery of Double Flowers. *Developmental Cell* **1**, 4-6 (2001).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- [76] L. RUIZ-GARCÍA, F. MADUENO, M. WILKINSON, G. HAUGHN, J. SALINAS Y J.M. MARTÍNEZ-ZAPATER. Different roles of Flowering-Time Genes in the Activation of Floral Initiation Genes in Arabidopsis. *Plant Cell* **9**, 1921–1934 (1997).
- [77] I. SALAZAR-CIUDAD Y J. JERNVALL. A gene network model accounting for development and evolution of mammalian teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**, 8116–8120 (2002).
- [78] I. SALAZAR-CIUDAD, R.V. SOLÉ Y S.A. NEWMAN. Phenotypic and dynamical transitions in model genetic networks II. Application to the evolution of segmentation mechanisms. *Evolution & Development* **3**, 95–103 (2001).
- [79] I. SALAZAR-CIUDAD, S. NEWMAN Y R. SOLÉ. Phenotypic and dynamical transitions in model genetic networks I. Emergence of patterns and genotype-phenotype relationships. *Evolution & Development* **3**, 84–94 (2001).
- [80] A. SAMACH, H. ONOUCHI, S.E. GOLD, G.S. DITTA, Z. SCHWARZ-SOMMER, M.F. YANOFSKY Y G. COUPLAND. Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. *Science* **288**, 1613–1616 (2000).
- [81] A. SAMACH, J.E. KLENZ, S.E. KOHALMI, E. RISSEEUW, G.W. HAUGHN Y W.L. CROSBY. The UNUSUAL FLORAL ORGANS gene of Arabidopsis thaliana is an F-box protein required for normal patterning and growth in the floral meristem. *Plant Journal* **20**, 433–445 (1999).
- [82] B. SAVIDGE, S.D. ROUNSLEY Y M.F. YANOFSKY. Temporal relationships between the transcription of two Arabidopsis MADS-box genes and the floral organ identity genes. *Plant Cell* **7**, 721–733 (1995).
- [83] B. SCHERES. Floral patterning: A LEAFY link from outer space. *Nature* **395**, 545–547 (1998).
- [84] B. SCHERES. Non-linear signaling for pattern formation? *Current Opinion in Plant Biology* **3**, 412–417 (2000).
- [85] E.A. SCHULTZ Y G.W. HAUGHN. Genetic analyses of the floral initiation process (FLIP) in Arabidopsis. *Development* **119**, 745–765 (1993).



- [86] S. SHANNON Y D. MEEKS-WAGNER. Genetic interactions that regulate inflorescence development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **5**, 639–655 (1993).
- [87] C. SHELDON, J.E. BURN, P.P. PÉREZ, J. METZGER, J.A. EDWARDS, W.J. PEACOCK Y E.S. DENNIS. The FLF MADS box gene, a repressor of flowering in *Arabidopsis* is regulated by vernalization and methylation. *Plant Cell* **11**, 445–458 (1999).
- [88] R. SIMON, M.I. IGENO Y G. COUPLAND. Activation of floral meristem identity genes in *Arabidopsis*. *Nature* **384**, 59–62 (1996).
- [89] G. SIMPSON, A. GENDALL Y C. DEAN. When to switch to flowering. *Annual Reviews in Cell and Developmental Biology* **99**, 519–550 (1999).
- [90] H. SMITH. Planned parenthood in *Arabidopsis*: Flowering Locus C. *Plant Cell* **11**, 763 (1999).
- [91] R.V. SOLÉ, I. SALAZAR-CIUDAD Y S.A. NEWMAN. Gene network dynamics and the evolution of development. *Trends in Ecology and Evolution* **15**, 479–480 (2000).
- [92] S.H. STROGATZ. Exploring complex networks. *Nature* **410**, 268–276 (2001).
- [93] P. SUÁREZ-LÓPEZ, K. WHEATLEY, F. ROBSON, H. ONOUCHI, F. VALVERDE Y G. COUPLAND. CONSTANS mediates between the circadian clock and the control of flowering in *Arabidopsis*. *Nature* **410**, 1116–1120 (2001).
- [94] Z. SZALLASI Y S. LIANG. Modeling the normal and neoplastic cell cycle with “realistic boolean genetic networks”: their application for understanding carcinogenesis and assessing therapeutic strategies. En “Pacific Symposium on Biocomputing 1998 Proceedings”, páginas 66–76, E.E.U.U. (1998).
- [95] G. THEISSEN. Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Current Opinion in Plant Biology* **4**, 75–85 (2001).
- [96] G. THEISSEN, A. BECKER, A. DI ROSA, A. KANNO, J.T. KIM, T. MÜNSTER, K. WINTER Y H. SAEDLER. A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Molecular Biology* **42**, 115–149 (2000).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- [97] G. THEISSEN Y H. SAEDLER. MADS-box genes in plant ontogeny and phylogeny: Haeckel's biogenetic law revisited. *Current Opinion in Genetics & Development* **5**, 628-639 (1995).
- [98] G. THEISSEN Y H. SAEDLER. Plant Biology: floral quartets. *Nature* **409**, 469-471 (2001).
- [99] D. THIEFFRY Y R. THOMAS. Qualitative analysis of gene networks. En "Pacific Symposium on Biocomputing 1998 Proceedings", páginas 77-88, E.E.U.U. (1998).
- [100] R. THOMAS. Regulatory networks seen as asynchronous automata: A logical description. *Journal of Theoretical Biology* **153**, 1-23 (1991).
- [101] Y. TU. How robust is the internet? *Nature* **406**, 353-354 (2000).
- [102] F. VERGARA-SILVA, L. MARTÍNEZ-CASTILLA Y E. ÁLVAREZ-BUYLLA. MADS-box genes: development and evolution of plant body plans. *Journal of Phycology* **36**, 803-812 (2000).
- [103] G. VON DASSOW, E. MEIR, E.M. MUNRO Y G.M. ODELL. The segment polarity network is a robust developmental module. *Nature* **406**, 188-193 (2000).
- [104] G. VON DASSOW Y E. MUNRO. Modularity in Animal Development and Evolution: Elements of a conceptual framework for EvoDevo. *Journal of Experimental Zoology* **285**, 307-325 (1999).
- [105] D. WAGNER, R.W.M. SABLÓWSKI Y E.M. MEYEROWITZ. Transcriptional activation of APETALA1, by LEAFY. *Science* **285**, 582-584 (1999).
- [106] D. WEIGEL, J. ALVAREZ, D.R. SMYTH, M.F. YANOFSKY Y E.M. MEYEROWITZ. LEAFY controls floral meristem identity in Arabidopsis. *Cell* **692**, 843-859 (1992).
- [107] D WEIGEL Y E. MEYEROWITZ. Activation of floral homeotic genes in Arabidopsis. *Science* **261**, 1723-1726 (1993).
- [108] D. WEIGEL Y O. NILSSON. A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature* **377**, 495-500 (1995).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- [109] K. WINTER, A. BECKER, T. MUNSTER, J.T. KIM, H. SAEDLER Y G. THEISSEN. MADS-box genes reveal that gnetophytes are more closely related to conifers than to flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**, 7342-7347 (1999).
- [110] A. WUENSCHÉ. Genomic regulation modeled as a network with basins of attraction. En "Pacific Symposium on Biocomputing 1998 Proceedings", E.E.U.U. (1998).
- [111] C. YANG, L. CHEN Y Z.R. SUNG. Genetic regulation of shoot development in Arabidopsis: role of the EMF genes. *Developmental Biology* **169**, 421-435 (1995).
- [112] M.J. YANOVSKY Y S.A. KAY. Molecular basis of seasonal time measurement in Arabidopsis. *Nature* **419**, 308-311 (2002).

## Apéndice A

### Reglas Lógicas.

En este apéndice se muestran las reglas lógicas que se usan en este modelo. En cada tabla se muestra como responde cada gen (en la columna de la derecha), a las distintas combinaciones en la actividad de los genes que inciden en él.

<i>EMF1</i>	<i>FT</i>
0	2
1	0

<i>LFY</i>	<i>EMF1</i>
0	1
>0	0

<i>AP1</i>	<i>FUL</i>	<i>TFL1</i>	<i>EMF1</i>	<i>LFY</i>
X	X	0	0	2
0	0	0	>0	1
0	0	>0	0	1
0	0	>0	>0	0
0	1	>0	0	1
0	1	0	>0	1
0	2	<2	0	2
0	2	0	1	1
0	2	2	0	1
0	2	>0	>0	1
0	1	>0	>0	0
1	X	<2	0	2
1	X	2	1	0
1	X	<2	1	1
1	X	2	0	1
2	X	2	1	1
2	X	<2	X	2
2	X	X	0	2

AP1	LFY	AP2	EMF1	TFL1
X	X	X	0	0
2	X	X	1	0
<2	2	X	1	0
1	<2	1	1	0
1	<2	0	1	1
0	<2	X	1	2

TFL11	SEP
0	1
1	0

AG	LFY	TFL1	FT	AP1
2	X	X	X	0
<2	X	X	<2	0
0	LFY $\neq$ TFL1		2	2
<2	LFY < TFL1		2	0
1	LFY $\neq$ TFL1		2	1

AP1	TFL1	FUL
X	>0	0
0	0	2
1	0	1
2	0	0

TFL11	AP2
0	1
1	0

SEP	LFY	UFO	APS	PI	AG	AP1	APS
>0	X	1	>0	>0	>0	X	2
>0	X	1	>0	>0	X	>0	2
0	>0	>0	X	X	X	X	1
X	>0	>0	0	X	X	X	1
X	>0	>0	X	0	X	X	1
X	>0	>0	X	X	0	0	1
X	X	0	X	X	X	X	0
X	0	X	X	X	X	X	0

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

<i>LFY</i>	<i>SEP</i>	<i>AP3</i>	<i>PI</i>	<i>AG</i>	<i>AP1</i>	<i>PI</i>
X	X	0	X	0	X	0
X	>0	>0	>0	>0	X	2
X	>0	>0	>0	X	>0	2
>0	0	>0	>0	>0	X	1
>0	>0	0	>0	>0	X	1
>0	>0	>0	0	>0	X	1
>0	>0	>0	>0	0	0	1
0	0	>0	>0	>0	X	0
0	>0	0	>0	>0	X	0
0	>0	>0	0	>0	X	0
0	>0	>0	>0	0	0	0

<i>WUS</i>	<i>AP2</i>	<i>CLF</i>	<i>LUG</i>	<i>AP1</i>	<i>LFY</i>	<i>TFL1</i>	<i>AG</i>
X	0	X	X	X	$LFY \neq TFL1$		2
X	X	X	X	X	$LFY < TFL1$		0
1	1	X	X	X	$LFY > TFL1$		2
1	1	X	X	X	2	2	2
0	1	0	X	X	$LFY > TFL1$		1
0	1	X	0	X	$LFY > TFL1$		1
0	1	X	X	0	$LFY > TFL1$		1
0	1	0	X	X	2	2	1
0	1	X	0	X	2	2	1
0	1	X	X	0	2	2	1
0	1	1	1	>0	$LFY > TFL1$		0
0	1	1	1	>0	2	2	0
X	1	X	X	X	$LFY = TFL1 < 2$		0

## Apéndice B

# Código Fuente del Programa

En la primera sección de este apéndice se presenta el programa que permite encontrar el atractor al que conduce cada una de las posibles condiciones iniciales del sistema en la simulación de plantas silvestres. Las condiciones iniciales que convergen en el mismo atractor (i.e. las cuencas de atracción) son agrupadas en una lista (como por ejemplo las listas CI-VEG1, CI-VEG2). Todo esto se consigue llamando a la función "CORRESIG", que es la función de más alta jerarquía del programa, con un argumento nulo (NIL).

Para la simulación de mutantes, el único cambio, con respecto a este programa, es la modificación de las reglas que regulan la actividad del gen mutado, y la restricción de los posibles estados de ese gen a uno solo (que es 0 en los mutantes por pérdida defunción).

En la segunda sección se muestran funciones usadas para simplificar el análisis de los resultados de cualquiera de las simulaciones, en particular las características de las cuencas de atracción.

### B.1. Programa para la Simulación de Plantas Silvestres

- (SETF RED '({}) )
- (DEFUN AMPLIARED (NODO)  
(SETF RED (CONS (CONS NODO (CAR RED)) (CDR RED))))
- (DEFUN NODO (NOMBRE &OPTIONAL ESTADO INCIDENCIAS IMAGEN )  
(IF (NULL NOMBRE) (PRINT '(ESTO NO TIENE NOMBRE))  
(SETF RED(AMPLIARED (CONS NOMBRE(CONS ESTADO (CONS INCIDENCIAS (LIST IMAGEN ))))))))
- (NODO 'CLF '(1) '() '())
- (NODO 'LUG '(1) '() '())
- (NODO 'SEP '(0) '(TFL1) '() )
- (NODO 'AP2 '(0) '(TFL1) '() )
- (NODO 'WUS '(0) '() '())
- (NODO 'UFO '(0) '() '() )
- (NODO 'AG '(0) '(WUS AP2 CLF LUG AP1 LPY TFL1) '() )
- (NODO 'PI '(0) '(LPY SEP AP3 PI AG AP1) '() )

```

• (NODO 'APS '(0) '(SEP LFY UFO AP3 PI AG API) '() )
• (NODO 'API '(0) '(AG LFY TFL1 FT) '() )
• (NODO 'FUL '(0) '(API TFL1) '() )
• (NODO 'LFY '(0) '(API FUL TFL1 EMF1) '() )
• (NODO 'TFL1 '(0) '(API LFY AP2 EMF1) '() )
• (NODO 'EMF1 '(0) '(LFY) '() )
• (NODO 'FT '(0) '(EMF1) '() )
• (SETF TRAYECTORIAS '())
• (SETF TRAYECTORIA '())

• (DEFUN QUEREGLAS (INCI NOMBRE)
  (IF (EQ NOMBRE 'AQ)(REGLASAG INCI)
    (IF (EQ NOMBRE 'PI)(REGLASPI INCI)
      (IF (EQ NOMBRE 'AP3)(REGLASAP3 INCI)
        (IF (EQ NOMBRE 'API)(REGLASAPI INCI)
          (IF (EQ NOMBRE 'FUL)(REGLASFUL INCI)
            (IF (EQ NOMBRE 'LFY)(REGLASLFY INCI)
              (IF (EQ NOMBRE 'TFL1)(REGLASTFL1 INCI)
                (IF (EQ NOMBRE 'EMF1)(REGLASEMF1 INCI)
                  (IF (EQ NOMBRE 'FT)(REGLASFT INCI)
                    (IF (OR (EQ NOMBRE 'SEP) (EQ NOMBRE 'AP2)) (REGLASSINC INCI) NIL)))))))))))))

• (DEFUN REGLASSINC (UNO)
  (PROGN (SETF VSINC '())
    (IF (EQ (CAAR UNO) 0) (CONS 1 VSINC) (CONS 0 VSINC))))

• (DEFUN REGLASAG (HEPTETO)
  (PROGN (SETF VAG '())
    (IF (AND (EQUAL (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO))) (EQUAL (CAADR HEPTETO) 0)) (CONS 2 VAG)
      (IF (AND (< (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO))) (EQUAL (CAADR HEPTETO) 0)) (CONS 0 VAG)
        (IF (AND (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO))) (EQUAL (CAADR HEPTETO) 0)) (CONS 2 VAG)
          (IF (AND (AND (EQUAL (CAADR HEPTETO) 1) (EQUAL (CAAR HEPTETO) 1)) (OR (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)))) (AND (EQUAL (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) 2) (EQUAL (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)) 2)))) (CONS 2 VAG)
            (IF (AND (AND (AND (EQUAL (CAADR HEPTETO) 1) (EQUAL (CAAR HEPTETO) 0)) (OR (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)))) (OR (OR (EQUAL (CAADDR HEPTETO) 0) (EQUAL (CAADR (CDDR HEPTETO)) 0)) (EQUAL (CAADDR (CDDR HEPTETO)) 0))) (CONS 1 VAG)
              (IF (AND (AND (AND (EQUAL (CAADR HEPTETO) 1) (EQUAL (CAAR HEPTETO) 0)) (OR (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)))) (AND (EQUAL (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) 2) (EQUAL (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)) 2)))) (AND (AND (EQUAL (CAADDR HEPTETO) 1) (EQUAL (CAADR (CDDR HEPTETO)) 1)) (> (CAADDR (CDDR HEPTETO)) 0))) (CONS 0 VAG)
                (IF (AND (EQUAL (CAADR HEPTETO) 1) (OR (< (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)))) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO))) (AND (EQ (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) (CAADDR (CDDDDR HEPTETO))) (< (CAADDR (CDDDDR HEPTETO)) 2)))) (CONS 0 VAG)))))))))

• (DEFUN REGLASPI (OCTETO)
  (PROGN (SETF VPI '())
    (IF (AND (EQUAL 0 (CAADDR (CDDR OCTETO))) (EQUAL 0 (CAADDR (CDDDR OCTETO)))) (CONS 0 VPI)
      (IF (AND (AND (> (CAAR (CDR OCTETO)) 0) (> (CAADR (CDR OCTETO)) 0)) (AND (> (CAADDR (CDR OCTETO)) 0) (> (CAADDR (CDDR OCTETO)) 0))) (CONS 2 VPI)
        (IF (AND (AND (> (CAAR (CDR OCTETO)) 0) (> (CAADR (CDR OCTETO)) 0)) (AND (> (CAADDR (CDR OCTETO)) 0) (> (CAAR (CDDDR (CDDR OCTETO))) 0))) (CONS 2 VPI)
          (IF (> (CAAR OCTETO) 0) (CONS 1 VPI) (CONS 0 VPI)))))))))

```

```

• (DEFUN REGLASAP3 (HEPTETO)
  (PROGN (SETF VAP3 '()))
  (IF (EQUAL (CAADDR HEPTETO) 0) (CONS 0 VAP3)
    (IF (AND (AND (> (CAAR (CDDDR HEPTETO)) 0) (> (CAADR (CDDDR HEPTETO)) 0)) (AND (> (CAAR HEPTETO) 0) (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) 0))) (CONS 2 VAP3)
    (IF (AND (AND (> (CAAR (CDDDR HEPTETO)) 0) (> (CAADR (CDDDR HEPTETO)) 0)) (AND (> (CAAR HEPTETO) 0) (> (CAADDR (CDDDR HEPTETO)) 0))) (CONS 2 VAP3)
    (IF (AND (> (CAADR HEPTETO) 0) (> (CAADDR HEPTETO) 0) (CONS 1 VAP3) (CONS 0 VAP3))))))

• (DEFUN REGLASAPI (CUARTETO)
  (PROGN (SETF VAPI '()))
  (IF (EQ (CAAR CUARTETO) 2) (CONS 0 VAPI)
    (IF (< (CAADDR (CDR CUARTETO)) 2) (CONS 0 VAPI)
      (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUARTETO) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUARTETO)) 2)) (NOT (< (CAADR CUARTETO) (CAADDR CUARTETO)))) (CONS 2 VAPI)
        (IF (AND (AND (< (CAAR CUARTETO) 2) (EQ (CAADDR (CDR CUARTETO)) 2)) (< (CAADR CUARTETO) (CAADDR CUARTETO))) (CONS 0 VAPI)
          (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUARTETO) 1) (EQ (CAADDR (CDR CUARTETO)) 2)) (NOT (< (CAADR CUARTETO) (CAADDR CUARTETO)))) (CONS 1 VAPI))))))

• (DEFUN REGLASFUL (PAR)
  (PROGN (SETF VFUL '()))
  (IF (> (CAADR PAR) 0) (CONS 0 VFUL)
    (IF (EQ (CAAR PAR) 0) (CONS 2 VFUL)
      (IF (EQ (CAAR PAR) 1) (CONS 1 VFUL)
        (IF (EQ (CAAR PAR) 2) (CONS 0 VFUL))))))

• (DEFUN REGLASLFY (CUART)
  (PROGN (SETF VLFY '()))
  (IF (AND (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (CONS 2 VLFY)
    (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADDR CUART) 0)) (AND (OR (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (NOT (AND (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)))))) (CONS 1 VLFY)
      (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADR CUART) 0)) (NOT (OR (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)))) (CONS 0 VLFY)
        (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADR CUART) 1)) (AND (OR (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (NOT (AND (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)))))) (CONS 1 VLFY)
          (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADR CUART) 2)) (AND (OR (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (OR (EQ (CAADDR CUART) 2) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 1)))) (CONS 1 VLFY)
            (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADR CUART) 2)) (AND (OR (EQ (CAADDR CUART) 0) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 0)) (CONS 1 VLFY)
              (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 0) (EQ (CAADR CUART) 1)) (AND (> (CAADDR CUART) 0) (> (CAADDR (CDR CUART)) 0))) (CONS 0 VLFY)
                (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 1) (< (CAADDR CUART) 2)) (< (CAADDR (CDR CUART)) 1)) (CONS 2 VLFY)
                  (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 1) (EQ (CAADDR CUART) 2)) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 1)) (CONS 0 VLFY)
                    (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 1) (< (CAADDR CUART) 2)) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 1)) (CONS 1 VLFY)
                      (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 1) (EQ (CAADDR CUART) 2)) (< (CAADDR (CDR CUART)) 1)) (CONS 1 VLFY)
                        (IF (AND (AND (EQ (CAAR CUART) 2) (EQ (CAADDR CUART) 2)) (EQ (CAADDR (CDR CUART)) 1)) (CONS 1 VLFY)
                          (IF (AND (EQ (CAAR CUART) 2) (OR (< (CAADDR CUART) 2) (< (CAADDR (CDR CUART)) 1))) (CONS 2 VLFY))))))))))

• (DEFUN REGLASTFLI (TRIO4)
  (PROGN (SETF VTFL '()))
  (IF (EQUAL (CAADDR (CDR TRIO4)) 0) (CONS 0 VTFL)
    (IF (EQUAL (CAAR TRIO4) 2) (CONS 0 VTFL)
      (IF (EQUAL (CAADR TRIO4) 2) (CONS 0 VTFL)
        (IF (AND (EQUAL (CAAR TRIO4) 1) (AND (< (CAADR TRIO4) 2) (EQUAL (CAADDR TRIO4) 1))) (CONS 0 VTFL)
          (IF (AND (EQUAL (CAAR TRIO4) 0) (< (CAADR TRIO4) 2)) (CONS 2 VTFL)
            (IF (AND (EQUAL (CAAR TRIO4) 1) (AND (< (CAADR TRIO4) 2) (EQUAL (CAADDR TRIO4) 0))) (CONS 1 VTFL))))))

```

- (DEFUN REGLASFT (UNO)
  - (PROGN (SETF VFT '()))
  - (IF (EQUAL (CAAR UNO) 0) (CONS 2 VFT)
  - (IF (EQUAL (CAAR UNO) 1) (CONS 0 VFT))))))
- (DEFUN REGLASEMF1 (UNO)
  - (PROGN (SETF VBMF '()))
  - (IF (EQUAL (CAAR UNO) 0) (CONS 1 VBMF)
  - (CONS 0 VBMF))))
- (DEFUN NODOSA (NOMBRE &OPTIONAL ESTADO INCIDENCIAS IMAGEN )
  - (IF (NULL NOMBRE) (PRINT '(ESTO NO TIENE NOMBRE))
  - (CONS NOMBRE(CONS ESTADO (CONS INCIDENCIAS (LIST IMAGEN))))))
- (DEFUN NNODO (NODO LNODOS)
  - (LIST (NODOSA (CAR NODO) (CADR NODO) (CADDR NODO) (DA-IMAGEN NODO LNODOS))))
- (DEFUN JUNTANODOS (LNODOS1 LNODOS2)
  - (IF (NULL (CAR LNODOS1)) NIL
  - (APPEND (NNODO (CAR LNODOS1) LNODOS2) (JUNTANODOS (CDR LNODOS1) LNODOS2))))
- (DEFUN EDOENNODO (NODO)
  - (NODOSA (CAR NODO) (CADR (CDDR NODO)) (CADDR NODO) ()))
- (DEFUN JUNTANODEDOS (LNODOS)
  - (IF (NULL (CAR LNODOS)) NIL
  - (CONS ( EDOENNODO (CAR LNODOS))( JUNTANODEDOS (CDR LNODOS))))))
- (DEFUN SINCRONIA (RED)
  - (JUNTANODEDOS (JUNTANODOS (CAR RED) (CAR RED))))
- (DEFUN DA-ESTADOS (LNODOS)
  - (IF (NULL (CAR LNODOS)) NIL
  - (CONS (CONS (CAAR LNODOS)(CADR (CAR LNODOS)))(DA-ESTADOS (CDR LNODOS))))))
- (DEFUN CORRELA (NET)
  - (SETF RED (CONS (SINCRONIA NET) (CDR NET))))
- (DEFUN DA-INC (LINC LNODOS)
  - (IF (NULL (CAR LINC)) NIL
  - (CONS (CADR (ASSOC (CAR LINC) LNODOS)) (DA-INC (CDR LINC) LNODOS))))
- (DEFUN DA-IMAGEN (NODO LNODOS)
  - (IF (NULL (CADDR NODO)) (CADR NODO)
  - (QUEREGLAS (DA-INC (CADDR NODO) LNODOS) (CAR NODO))))
- (DEFUN REVIS (LNODOS TRAYECTORIA1 TRAYECTORIA2 N)
  - (IF (NULL TRAYECTORIA1) NIL
  - (IF (EQUAL (DA-ESTADOS LNODOS) (CAR TRAYECTORIA1))
  - (LIST (CONS 'ATRACTOR (DA-ESTADOS LNODOS)) (CAR (LAST TRAYECTORIA2)) N)
  - (REREVIS LNODOS (CDR TRAYECTORIA1) TRAYECTORIA2 N))))
- (DEFUN REREVIS (LNODOS TRAYECTORIA1 TRAYECTORIA2 N)
  - (IF (NULL TRAYECTORIA1) NIL
  - (IF (EQUAL (DA-ESTADOS LNODOS) (CAR TRAYECTORIA1))
  - (LIST (CONS 'CICLO (DA-ESTADOS LNODOS)) (CAR (LAST TRAYECTORIA2)) N)
  - (REREVIS LNODOS (CDR TRAYECTORIA1) TRAYECTORIA2 N))))
- (DEFUN CORRERED (NET N)
  - (IF (NOT (NULL (REVIS (CAR NET) (CADR NET) (CADR NET) N )))
  - (ASIGNA (REVIS (CAR NET) (CADR NET) (CADR NET) N))
  - (PROGN (SETF RED (LIST (CAR NET) (CONS (DA-ESTADOS (CAR NET)) (CADR NET))))
  - (CORRERED (CORRELA RED) (+ N 1))))))
- (SETF CI-VEG1 NIL)
- (SETF CI-VEG2 NIL)

- (SETF CI-VEG3 NIL)
- (SETF CI-VEG4 NIL)
- (SETF CI-SEPALOS NIL)
- (SETF CI-PETALOS NIL)
- (SETF CI-ESTAMBRES NIL)
- (SETF CI-CARPELOS NIL)
- (SETF OTROS NIL)
- (DEFUN ASIGNA (AT-CI-PA)
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 0) (EMFI 1) (TFL1 2) (LFY 0) (FUL 0) (API 0) (AP3 0) (PI 0) (AG 0) (UFO 0) (WUS 0) (AP2 0) (SEP 0) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-VEG1 (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-VEG1))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 0) (EMFI 1) (TFL1 2) (LFY 0) (FUL 0) (API 0) (AP3 0) (PI 0) (AG 0) (UFO 1) (WUS 0) (AP2 0) (SEP 0) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-VEG2 (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-VEG2))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 0) (EMFI 1) (TFL1 2) (LFY 0) (FUL 0) (API 0) (AP3 0) (PI 0) (AG 0) (UFO 0) (WUS 1) (AP2 0) (SEP 0) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-VEG3 (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-VEG3))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 0) (EMFI 1) (TFL1 2) (LFY 0) (FUL 0) (API 0) (AP3 0) (PI 0) (AG 0) (UFO 1) (WUS 1) (AP2 0) (SEP 0) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-VEG4 (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-VEG4))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 2) (EMFI 0) (TFL1 0) (LFY 2) (FUL 0) (API 2) (AP3 0) (PI 0) (AG 0) (UFO 0) (WUS 0) (AP2 1) (SEP 1) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-SEPALOS (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-SEPALOS)))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 2) (EMFI 0) (TFL1 0) (LFY 2) (FUL 0) (API 2) (AP3 2) (PI 2) (AG 0) (UFO 1) (WUS 0) (AP2 1) (SEP 1) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-PETALOS (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-PETALOS)))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 2) (EMFI 0) (TFL1 0) (LFY 2) (FUL 2) (API 0) (AP3 2) (PI 2) (AG 2) (UFO 1) (WUS 1) (AP2 1) (SEP 1) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-ESTAMBRES (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-ESTAMBRES)))
  - (IF (EQUAL (CAR AT-CI-PA) ' (ATTRACTOR (FT 2) (EMFI 0) (TFL1 0) (LFY 2) (FUL 2) (API 0) (AP3 0) (PI 1) (AG 2) (UFO 0) (WUS 1) (AP2 1) (SEP 1) (LUG 1) (CLF 1))) (SETF CI-CARPELOS (CONS (CDR AT-CI-PA) CI-CARPELOS)))
  - (SETF OTROS (CONS (CDR AT-CI-PA) OTROS))))))
- (DEFUN PONEDOSENNOD (LNODOS LEDOS)
  - (IF (NULL (CAR LNODOS)) NIL
  - (CONS (NODOSA (CAAR LNODOS) (CAR LEDOS) (CADDAR LNODOS) NIL)
  - (PONEDOSENNOD (CDR LNODOS) (CDR LEDOS))))
- (DEFUN PONEDOSENRED (NET LEDOS)
  - (SETF RED (LIST (PONEDOSENNOD (CAR NET) LEDOS) NIL)))
- (DEFUN CORRECONEDOS (NETV LIECOS)
  - (PROGN (SETF TRAYECTORIA NIL) (BORRA (CADR NETV))
  - (CORRERED (PONEDOSENRED NETV LIECOS) '0))
- (DEFUN BORRA (LISTA) (IF (NULL LISTA) NIL (BORRA (CDR LISTA))))
- (SETF TOPES '((2) (1) (2) (2) (2) (2) (2) (2) (1) (1) (1) (1) (1) (1)))
- (SETF TOPEI '((0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (0) (1) (1)))
- (DEFUN SIGUE (L11 LTOPS LTOPI)
  - (IF (NULL L11) NIL
  - ((IF (< (CAAR L11) (CAAR LTOPS)) (CONS (LIST (+ (CAAR L11) 1)) (CDR L11))
  - (CONS (CAR LTOPI) (SIGUE (CDR L11) (CDR LTOPS) (CDR LTOPI))))))
- (DEFUN CORRESIG (NET PCI LTOPS LTOPI)
  - (IF (EQUAL PCI LTOPS) (LIST (CORRECONEDOS NET PCI TTRAY))
  - (CONS (CORRECONEDOS NET PCI TTRAY)
  - (CORRESIG NET (SIGUE PCI LTOPS LTOPI) LTOPS LTOPI))))
- (DEFUN CORRESIG (NADA)
  - (DO ((RRED RED) (PCI TOPEI) (LTOPS TOPES) (LTOPI TOPEI))
  - ((EQUAL PCI LTOPS) (ULTIMA RRED PCI))
  - (CORRECONEDOS RRED PCI)
  - (SETF PCI (SIGUE PCI LTOPS LTOPI))))
- (DEFUN ULTIMA (NET FIC)
  - (CORRECONEDOS NET FIC)
  - (PRINT '(CARLOS!! YA ACABE)))

## B.2. Funciones para el Análisis de Resultados

- (DEFUN MAYOR (A B)  
(IF (> A B) A  
B))
- (DEFUN MENOR (A B)  
(IF (< A B) A  
B))
- (DEFUN MASPASOS (LISTA)  
(DO ((LIS LISTA) (MAX '0))  
((NULL LIS) (PRINT MAX))  
(SETF MAX (MAYOR MAX (CAR (LAST (CAR LIS))))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN MENOSPASOS (LISTA)  
(DO ((LIS LISTA) (MIN '629857))  
((NULL LIS) (PRINT MIN))  
(SETF MIN (MENOR MIN (CAR (LAST (CAR LIS))))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN CUANTOSPORPASOS (LISTA PASOS)  
(DO  
((LIS LISTA) (PAS PASOS) (N 0))  
((NULL LIS) (PRINT N))  
(SETF N (+ N (CHECAPASOS (CAR LIS) PAS))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN CHECAPASOS (CI PASOS)  
(IF (EQUAL (CAR (LAST CI)) PASOS) '1  
'0))
- (DEFUN CUANTOSXESTDEGEN (LISTA GEN EDO)  
(DO ((LIS LISTA)(G GEN)(E EDO)(N 0))  
((NULL LIS) (PRINT N))  
(SETF N (+ N (IGUALEDO G E (CAAR LIS))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN COMBXESTDEGEN (LISTA LG)  
(DO ((LIS LISTA) (GS LG) (N 0))  
((NULL LIS) (PRINT N))  
(SETF N (+ N (REVCOMB GS (CAAR LIS))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN REVCOMB (LG CI)  
(IF (NULL (CAR LG)) '1  
(IF (EQUAL (IGUALEDO (CAAR LG) (CADAR LG) CI) 1) (REVCOMB (CDR LG) CI)  
'0)))
- (DEFUN IGUALEDO (GEN EDO CI)  
(IF (EQUAL EDO (CADR (ASSOC GEN CI)))) '1  
'0))
- (DEFUN LISTAPORPASOS (LISTA PASOS)  
(DO ((LIS LISTA) (PAS PASOS) (RES NIL))  
((NULL LIS) RES)  
(SETF RES (APPEND (DAMEPASOS (CAR LIS) PAS) RES))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN DAMEPASOS (CI PASOS)  
(IF (EQUAL (CAR (LAST CI)) PASOS) (LIST CI) NIL))
- (SETF DOMINIOS '( (FT 0 2) (EMF1 0 1) (TFL1 0 2) (LFY 0 2) (FUL 0 2) (API 0 2) (AP3 0 2) (PI 0 2) (AG 0 2) (UFO 0 1) (WUS 0 1) (AP2 0 1) (SEP 0 1) (LUG 1 1) (CLF 1 1)))

- (DEFUN CORREELAA (NET)  
(LIST (SINCRONIA NET) (CONS (DA-ESTADOS (CAR NET)) (CADR NET))))
- (DEFUN HLXP (LIS NP)  
(IF (NULL (CAR LIS)) NIL  
(IF (EQ NP (CAR (LAST (CAR LIS)))) (CONS (CAR LIS) (HLXP (CDR LIS) NP))  
(HLXP (CDR LIS) NP))))
- (DEFUN DAEST (LNOD)  
(IF (NULL (CAR LNOD)) NIL  
(CONS (CDAR LNOD) (DAEST (CDR LNOD)))))
- (DEFUN SACSIGS (LIAN NET)  
(DO ((RE NET) (LIS LIAN)(RES NIL))  
((NULL LIS) RES)  
(SETF RE (PONEDOSENRED RE (DAEST (CAAR LIS))))  
(SETF RES (CONS (LIST (DA-ESTADOS (CAR RE)) (DA-ESTADOS (SINCRONIA RE))) RES)  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN PROSIGS (LIAN NET)  
(PROGN (SETF LIRESU (SACSIGS LIAN NET))  
(PROCESA LIRESU)))
- (DEFUN PROCESA (LIS)  
(DO ((LI LIS) (RESU NIL))  
((NULL (CAR LI)) RESU)  
(SETF RESU (CONS (IGUAAL LI (CADAR LI)) RESU))  
(SETF LI (SAC (BUTLAST (CAR RESU)) LI))))
- (DEFUN SAC (LIC LIG)  
(DO ((LC LIC) (LG LIG))  
((NULL (CAR LC)) LG)  
(SETF LG (SAC2 (CAR LC) LO)) (SETF LC (CDR LO))))
- (DEFUN SAC2 (ELE LI)  
(IF (NULL (CAR LI)) NIL  
(IF (EQUAL ELE (CAAR LI)) (SAC2 ELE (CDR LI))  
(CONS (CAR LI) (SAC2 ELE (CDR LI)))))
- (DEFUN IGUAAL (LIS PAT)  
(IF (NULL (CAR LIS)) (LIST (LIST PAT))  
(IF (EQUAL PAT (CADAR LIS)) (CONS (CAAR LIS) (IGUAAL (CDR LIS) PAT))  
(IGUAAL (CDR LIS) PAT))))
- (DEFUN LASQUESIGUEN (LIS NP NET)  
(PROGN (SETF LTA (HLXP LIS NP)) (PROSIGS LTA NET)))
- (DEFUN MASPASOS (LISTA)  
(DO ((LIS LISTA) (MAX '0))  
((NULL LIS) (PRINT MAX))  
(SETF MAX (MAYOR MAX (CAR (LAST (CAR LIS)))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN MENOSPASOS (LISTA)  
(DO ((LIS LISTA) (MIN '5832))  
((NULL LIS) (PRINT MIN))  
(SETF MIN (MENOR MIN (CAR (LAST (CAR LIS)))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN CUANTOSPORPASOS (LISTA PASOS)  
(DO ((LIS LISTA) (PAS PASOS) (N 0))  
((NULL LIS) (PRINT N))  
(SETF N (+ N (CHECAPASOS (CAR LIS) PAS))  
(SETF LIS (CDR LIS))))

- (DEFUN CHECAPASOS (CI PASOS)  
(IF (EQUAL (CAR (LAST CI)) PASOS) '1 '0))
- (DEFUN CUANTOSKSTDEGEN (LISTA GEN EDO)  
(DO ((LIS LISTA)(G GEN)(E EDO)(N 0))  
(NULL LIS) (PRINT N))  
(SETF N (+ N (IGUALEDO G E (CAAR LIS))))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN IGUALEDO (GEN EDO CI)  
(IF (EQUAL EDO (CADR (ASSOC GEN CI))) '1 '0))
- (DEFUN LISTAPORPASOS (LISTA PASOS)  
(DO ((LIS LISTA) (PAS PASOS) (RES NIL))  
((NULL LIS) (RES))  
(SETF RES (APPEND (DAMEPASOS (CAR LIS) PAS) RES))  
(SETF LIS (CDR LIS))))
- (DEFUN DAMEPASOS (CI PASOS)  
(IF (EQUAL (CAR (LAST CI)) PASOS) (LIST CI) NIL))
- (DEFUN QUINOMG (CI)  
(IF (NULL (CAR CI)) NIL  
(CONS (PQUINOML (CAR CI)) (QUINOMG (CDR CI))))
- (DEFUN QUINOMO (COIN)  
(DO ((CI COIN) (RES NIL))  
((NULL (CAR CI)) RES)  
(SETF RES (CONS (PQUINOML (CAR CI)) RES))  
(SETF CI (CDR CI))))
- (DEFUN PQUINOML (CARCIN)  
(LIST (QUINOML (CAR CARCIN)) (CAR (LAST CARCIN))))
- (DEFUN QUINOML (CARCI)  
(IF (NULL (CAR CARCI)) NIL  
(CONS (CDAR CARCI) (QUINOML (CDR CARCI))))