

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

“REDES DE REGULACIÓN GÉNICA:
HERRAMIENTAS PARA ENTENDER EL
DESARROLLO EN ARABIDOPSIS
THALIANA”

TESIS QUE PRESENTA

CARLOS ARTURO ESPINOSA SOTO

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

ASESORA:

DRA. ELENA ALVAREZ-BUYLLA R.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Resumen

El estudio de los mecanismos de desarrollo es necesario para entender la evolución de los fenotipos en los seres vivos. A pesar del éxito de la genética molecular del desarrollo en la caracterización de los componentes de estos sistemas, estos esfuerzos no han sido suficientes para comprender cabalmente los mecanismos de desarrollo y su evolución. Se necesita también entender las propiedades que se desprenden del conjunto de interacciones, y cómo estas inciden en la evolución de estos sistemas. Para este fin, los estudios computacionales pueden ser útiles para complementar los estudios experimentales de la genética molecular del desarrollo.

En esta tesis se presentan los resultados de dos proyectos en los que se elaboraron modelos computacionales para sistemas de desarrollo específicos en la planta *Arabidopsis thaliana*. En el primero se aborda el proceso de determinación de la identidad celular en los meristemas florales. Se construyó un modelo discreto, sustentado en la evidencia experimental disponible para este proceso. En un sistema como este, se pueden identificar los estados estacionarios con los perfiles de actividad genética de las células diferenciadas. En este sistema todos los estados estacionarios corresponden a patrones de actividad genética observados en *Arabidopsis*. El modelo también es capaz de replicar los perfiles de expresión genéticas hallados en mutantes cuando se simulan mutaciones específicas. El análisis de este sistema también sugiere que la red de regulación genética de la determinación de la identidad de los órganos florales es robusta con respecto a perturbaciones heredables y no heredables. Se discute la importancia de esta propiedad para la posible conservación del mecanismo responsable de la determinación de órganos florales en distintos linajes de plantas. Los resultados de este proyecto se presentaron en dos artículos: los apéndices A (Espinosa-Soto *et al.*, 2004) y B (Chaos *et al.*, 2006). Este último es también parte de la tesis doctoral de Álvaro Chaos.

En el segundo proyecto se estudió la formación de patrones celulares en hojas y raíces de *Arabidopsis*. La identidad de tricomas, en hoja, y atricoblastos, en raíz, se determina por redes de regulación genéticas muy parecidas, aunque los correspondientes patrones de distribución espacial son muy diferentes. Aquí se pone a prueba si estas redes pudieran ser funcionalmente equivalentes y las diferencias deberse a condiciones contextuales contrastantes, como las que se presentan en hojas y raíces. Se encuentra que este puede ser el caso, y que por lo tanto la evolución del contexto celular puede ser, en algunos casos al menos, importante para entender la evolución de características morfológicas. Los resultados de este proyecto se mostraron antes en el artículo en el apéndice D (Benítez *et al.*, 2007). Este artículo es también parte de la tesis doctoral de Mariana Benítez.

De ambos proyectos se desprendieron hipótesis sobre interacciones entre genes, algunas de las cuales se han probado experimentalmente. Por todo lo anterior, este trabajo es un ejemplo de como los estudios computacionales pueden ser útiles para coadyuvar en la aclaración de las preguntas pendientes sobre la forma en que se organizan los genes para generar las características fenotípicas y cómo evolucionan los fenotipos.

Agradecimientos

Gracias:

- A mi papá, por hablar, escuchar, discutir. Te extraño. A mi mamá, por todo su apoyo y cariño.
- A Arturo, Ceci, Ane, Mauri, Santi. Por acompañarme y quererme. Son correspondidos. También a mis cuñados Alejo y Celina.
- A Uri. Por su amor, por aguantarme. Por hacer que todo mejore. Por lo que viene. Te amo.
- A mi abuelo Carlos por su cariño.
- A los amigos por estar. Vanesa, Anidia, Hiram, Mariana.
- A Elena Alvarez-Buylla, por todo su apoyo, confianza, guía, asesoría, consejos y comprensión desde que llegué al laboratorio.
- A Pablo Padilla, que desde antes de empezar el doctorado me ayudó, apoyó y enseñó mucho.
- A Faustino Sánchez, que como parte de mi comité tutorial, me ayudó e hizo sugerencias muy útiles a lo largo de mi doctorado.
- A los sinodales: Elena Alvarez-Buylla, Pablo Padilla, Berenice García, Daniel Piñero, Luis Mendoza, Gladys Cassab, y Pedro Miramontes. Sus comentarios y aportaciones mejoraron sustancialmente este trabajo.
- A todos los integrantes actuales y pasados del laboratorio de Elena que compartieron su estancia ahí conmigo, de los que recibí solidaridad, apoyo, y aprendí mucho.
- A Jim Hanan y Christine Beveridge de la University of Queensland, y a Réka Albert de Penn State University, por aceptarme en estancias en sus laboratorios.
- A la Universidad. (¿Cómo cuál? pues a La Universidad).
- A Nemo por reaparecer.
- A las dos compus por hacer casi todo el trabajo que aquí se presenta.
- A CONACYT y DGEP por hacer mucho más fácil la realización de este trabajo.

Índice general

Resumen	II
Agradecimientos	III
Índice de figuras	VI
Índice de cuadros	VII
1. Introducción	1
1.1. El desarrollo y la evolución de los fenotipos	1
1.2. Importancia del estudio del desarrollo en plantas	5
1.2.1. <i>Arabidopsis thaliana</i> como sistema modelo	6
1.3. El desarrollo como un sistema dinámico	7
1.4. Estructura y dinámica de redes de regulación genética	10
1.4.1. Estructura de redes de regulación genética	11
1.4.2. Dinámica de redes de regulación genética	13
2. Robustez en la determinación de órganos florales	16
2.1. Robustez y canalización en el desarrollo y la evolución	16
2.2. El modelo ABC	19
2.3. Implementación del modelo	21
2.4. Predicción de nuevas interacciones	23
2.5. Robustez en la red de determinación de órganos florales	25
2.5.1. Robustez ambiental en la determinación de órganos florales	25
2.5.2. Robustez genética en la determinación de órganos florales	26

2.6. Discusión	27
3. Contexto y patrones celulares: tricomas y tricoblastos	31
3.1. Patrones celulares en la epidermis de <i>Arabidopsis</i>	33
3.2. Dos arquitecturas, un comportamiento	35
3.3. Implementación como un sistema de Turing	36
3.4. Equivalencia de redes genéticas que producen patrones distintos	38
3.5. Discusión	39
4. Conclusiones	41
APÉNDICES	46
A.	46
B.	64
C.	77
D.	87
Bibliografía	105
Índice alfabético	120

Índice de figuras

1.1. Restricciones por el desarrollo	3
1.2. El paisaje epigenético	8
1.3. Redes no dirigidas y dirigidas	11
2.1. El Modelo ABC	20
2.2. Red genética de determinación de órganos florales	22
3.1. Redes genéticas y patrones de tricomas y tricoblastos	34
3.2. Distribución espacial de morfógenos en un sistema activador-inhibidor	37

Índice de cuadros

1.1. Ejemplos de redes no dirigidas	10
1.2. Ejemplos de redes dirigidas	10

Capítulo 1

Introducción

‘The hereditary differences which arise in animals are not quite random, like the differences between two heaps of bricks. They result from changes in orderly systems of development, and each new variety has an order of its own, maybe less, but sometimes more, complex than that of the original from which it was derived.’

C.H. Waddington (1957).

1.1. El desarrollo y la evolución de los fenotipos

El desarrollo es el conjunto de procesos que conducen la transformación de los seres vivos a lo largo de su vida, desde la etapa embrionaria hasta la adultez y senescencia. Existen motivos muy distintos para estudiar al desarrollo en los seres vivos. Se puede, por ejemplo, estudiar a estos procesos por motivos clínicos si el objetivo es entender, o incluso prevenir, la ocurrencia de malformaciones embriológicas (capítulo 21 en Gilbert, 2006). Otra posible razón para estudiar al desarrollo es entender *cómo* sucede este proceso y ser capaces de describir la serie de eventos que permiten el aumento de la complejidad de los organismos desde la etapa unicelular hasta la etapa adulta. Este enfoque ha sido muy exitoso desde sus inicios en el siglo XX con la embriología experimental hasta la actualidad (Gilbert, 2006).

Otro motivo para estudiar los mecanismos de desarrollo es entender las causas materiales del origen, diversificación y conservación de los fenotipos. El fenotipo es el conjunto de características medibles de un organismo que, parcialmente, son producto del genotipo. Para entender la evolución de las características fenotípicas no es suficiente comprender cómo evoluciona el genotipo. Si la

relación entre genotipo y fenotipo fuera muy simple, de forma que el efecto de cada gen en el fenotipo fuera independiente de la acción de otros genes y por lo tanto sus efectos individuales se pudieran sumar, entonces entender la evolución de los genotipos bastaría para comprender la de los fenotipos.

La relación entre genotipo y fenotipo no es aditiva ni lineal. La abundancia de relaciones epistáticas (Cheverud, 2000; Templeton, 2000; Wolf *et al.*, 2000) es la responsable de que la relación entre genotipo y fenotipo sea compleja y no lineal (Rice, 2000; Wolf *et al.*, 2000). Hay epistasis cuando la combinación de mutaciones no genera un fenotipo que resulta de la suma de los efectos de cada una por separado. Esto nos indica que estos genes interactúan, de forma que la actividad (o inactividad) de uno de ellos es necesaria para la actividad (o inactividad) de otro. Como este tipo de interacciones ocurre entre muchos genes (Cheverud, 2000; Templeton, 2000; Wolf *et al.*, 2000), se genera una red de dependencias funcionales en la que unos genes favorecen o limitan la actividad de otros. Aún los rasgos que han sido catalogados como ‘rasgos simples Mendelianos’ dependen de muchos otros factores en el genotipo, como se ha demostrado, por ejemplo, para la anemia falciforme (Templeton, 2000).

Por lo tanto, para entender la evolución de los rasgos fenotípicos es necesario comprender primero cómo el genotipo se traduce en el fenotipo a través del desarrollo (Goodwin, 2001; Kirschner y Gerhart, 2005). La forma en que se relacionan genotipo y fenotipo depende del conjunto de relaciones epistáticas. La historia de la vida no es un conjunto de formas adultas relacionadas, sino ontogenias que generan otras ontogenias (Gould, 1977; Theißen y Saedler, 1995). Por mucho tiempo fue muy popular la idea, difundida principalmente por el naturalista alemán E. Haeckel, de que la relación entre desarrollo y evolución (ontogenia y filogenia) se daba a través de la ‘Ley biogenética’: “La ontogenia recapitula a la filogenia”; es decir, que analizando las distintas etapas del desarrollo de un organismo se observa la misma secuencia que se presentó en su historia evolutiva. Sin embargo, como bien señala S.J. Gould (1977), para que esto ocurriera sería necesario que todos los cambios evolutivos fueran adiciones terminales (*i.e.* que se agregaran siempre en las etapas finales del desarrollo), y que hubiera una tendencia a acortar el desarrollo para no tener ontogenias cada vez más

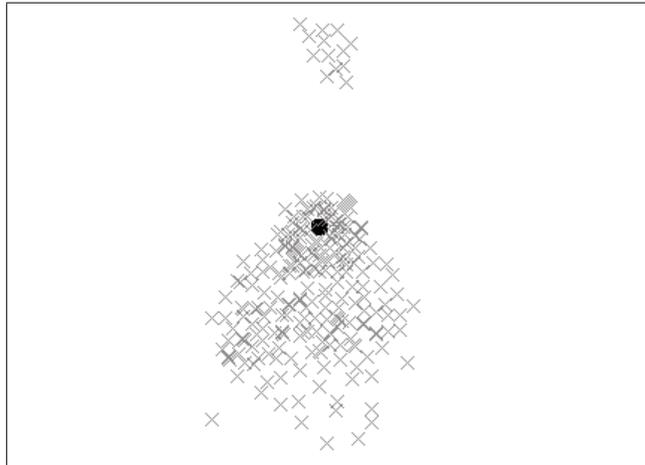


Figura 1.1: Restricciones por el desarrollo. El plano representa el espacio de posibilidades fenotípicas, mientras que el punto negro del centro representa el fenotipo de un organismo ancestral hipotético. Cada una de las cruces representa el fenotipo resultante de una alteración genotípica que se hace al organismo ancestral. Como se puede apreciar, el espacio de posibilidades fenotípicas no es visitado uniformemente, como ocurriría si no existieran restricciones por el desarrollo.

largas. La abundancia de contraejemplos y la ausencia de razones que permitan suponer que esto ocurre únicamente así refutan la generalización propuesta por Haeckel (Gould, 1977).

La forma en que se relacionan evolución y desarrollo es más complicada de lo que Haeckel suponía. Los cambios en el genotipo pueden provocar alteraciones en los mecanismos de desarrollo que, a su vez, probablemente conduzcan a nuevos rasgos fenotípicos. Algunas alteraciones evolutivas, cuya importancia está ampliamente documentada, se pueden distinguir por los cambios en el desarrollo que las subyacen. Tal es el caso de las heterocronías (cambios en los tiempos relativos de aparición y en la velocidad de desarrollo de características presentes en los ancestros de un grupo), heterotopías (cambios en la localización de un rasgo fenotípico), heterotipías (cambios en la naturaleza de un rasgo fenotípico) y heterometrías (cambios en la cantidad o intensidad en un rasgo fenotípico) (Gilbert, 2006).

El conjunto de relaciones epistáticas entre los distintos genes limita el número de variantes fenotípicas que se pueden alcanzar. Esto, a su vez, limita la importancia de la selección natural como fuerza evolutiva. Algunas de las variantes que no encontramos en la naturaleza faltan porque dados los mecanismos de desarrollo existentes son muy difíciles (o imposibles) de construir (ver por

ejemplo la controversia sobre la importancia relativa de estas restricciones y la selección natural en Arthur, 2003; Beldade y Brakefield, 2003). A estas limitaciones se les ha dado el nombre de restricciones por el desarrollo (*'developmental constraints'*; ver figura 1.1). Las restricciones por el desarrollo han sido definidas como: “un sesgo en la producción de variantes fenotípicas o una limitación en la variabilidad fenotípica causada por la estructura, naturaleza, composición, o dinámica del sistema de desarrollo” (Maynard Smith *et al.*, 1985).

Es importante aclarar que el desarrollo es parte del fenotipo. El no verlo así puede llevar a considerar, por ejemplo, que el desarrollo produce la variación fenotípica (Salazar-Ciudad, 2001, 2006). Esto no es así, los cambios en el genotipo pueden producir alteraciones en el desarrollo, que a su vez pueden producir cambios en otras características fenotípicas. El considerar que estos procesos no son parte del fenotipo puede conducir a suponer una aseveración falsa: que el desarrollo debe permanecer invariante para la existencia de restricciones debidas a este. El percatarse de que no hay razones para suponer la constancia de estos mecanismos puede llevar a la construcción de clasificaciones artificiales de los cambios evolutivos, como la que se propone en Salazar-Ciudad (2001, 2006) que considera sólo a algunos cambios en el desarrollo como tales.

La robustez, o canalización, de los mecanismos de desarrollo, es decir la constancia de los fenotipos ante perturbaciones genéticas o ambientales (ver capítulo 2) es un tipo importante de restricción por el desarrollo. La robustez limita la capacidad de evolucionar (*'evolvability'*), por lo que favorece que no haya cambios significativos en el fenotipo. Como todas las otras restricciones por el desarrollo, la robustez también es el resultado de las interacciones entre genes. De hecho, solamente si hay epistasis se puede presentar la robustez (Rice, 2000). Esta propiedad se pone a prueba en este trabajo para sistemas de desarrollo específicos (ver capítulo 2).

Por todo lo anterior es imprescindible estudiar al desarrollo si se desea comprender cómo evolucionan los fenotipos. En principio el desarrollo se podría estudiar a distintos niveles: de genes, células, capas celulares, zonas de diferenciación¹, tejidos u órganos. Sin embargo, solamente estu-

¹ Con zonas de diferenciación se hace referencia a grupos de células no delimitados de forma precisa, pero que se distinguen por su posición relativa, por su patrón de actividad genética y por el papel que juegan en el desarrollo.

diando el desarrollo a nivel genético se puede entender cómo se relacionan el genotipo y el fenotipo, y, por lo tanto, el vínculo entre desarrollo y evolución, pues los genes son los únicos elementos que se *heredan* de generación en generación, mientras que la mayor parte de las estructuras se *generan* en cada individuo durante el desarrollo (Kirschner y Gerhart, 2005).

1.2. Importancia del estudio del desarrollo en plantas

Los linajes de plantas y los animales son en los que han aparecido los procesos de desarrollo más complejos. Diversos experimentos, así como los estudios de secuenciación de genomas completos, indican que en plantas y animales el desarrollo y la multicelularidad surgieron de forma independiente (Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Meyerowitz, 2002); y, por lo tanto, el ancestro común de los dos linajes era un eucarionte unicelular.

El que el desarrollo haya evolucionado en dos ocasiones independientes nos permite estudiarlo de forma comparativa (Meyerowitz, 1997b; Theißen *et al.*, 2000), y así preguntarnos si existen al menos dos formas en que puede evolucionar un sistema de desarrollo o sólo una.

Es necesario estudiar el desarrollo en los dos grupos para así poder empezar a desentrañar la lógica que lo subyace, es decir, cómo se organizan los genes para producir organismos pluricelulares. Sólo haciendo este estudio comparativo se podrán reconocer, en una primera aproximación, las similitudes y diferencias en el desarrollo de ambos linajes. Al analizar el conjunto de similitudes se podrá empezar a distinguir a las que se dan por convergencia evolutiva de aquellas que, bien estaban presentes en el último ancestro común unicelular de plantas y animales o eran fáciles de construir a partir del bagaje genético del ancestro común. Este último caso aparentemente ocurre en el proceso del establecimiento de nichos de células troncales, en el que una parte de la maquinaria genética involucrada parece estar conservada en plantas y animales (Sablowski, 2004).

Las características homólogas en plantas y animales, aquellas que son similares porque los orga-

Ejemplos en animales podrían ser la 'zona de actividad polarizante' en el desarrollo de extremidades (Logan, 2003), mientras que en plantas podrían ser la 'zona central' y la 'zona periférica' en los meristemos apicales aéreos (Doerner, 2000, 2001; Meyerowitz, 1997a).

nismos compartan un ancestro común, pueden deberse a accidentes históricos. Es decir, las homologías se pudieron haber fijado en el ancestro común por deriva génica y no aportar ningún elemento que facilitara la evolución del desarrollo. En cambio, las similitudes no homólogas serán muy informativas para dilucidar la lógica del desarrollo y sus requerimientos (Theißen *et al.*, 2000). El caso más interesante será cuando genes no homólogos participen en funciones similares, y se organicen de forma parecida en las redes de interacciones. Entonces, un estudio comparativo permitirá proponer los principios de desarrollo; estas convergencias evolutivas pudieran ser requerimientos indispensables para la evolución del desarrollo, la multicelularidad y la diferenciación (Theißen *et al.*, 2000). Esto ha ocurrido, por ejemplo, con los genes homeóticos, cuya actividad (o inactividad) es suficiente para alterar la identidad de un órgano de forma que adquiera la identidad de otro órgano con localización distinta en el mismo organismo. En animales, los genes homeóticos más importantes pertenecen a la familia homeobox, mientras que en plantas la mayoría pertenece a la familia de genes MADS (Meyerowitz, 1997b, 2002). En general, haciendo estudios de este tipo se ha encontrado que, para muchos procesos, la lógica de los mecanismos de desarrollo en plantas y animales es muy similar, aunque las moléculas que los llevan a cabo no están relacionadas (Meyerowitz, 2002).

Las diferencias en el desarrollo de plantas y animales también serán muy informativas, pues a partir de estas podremos reconocer soluciones distintas a problemas similares y también entender cómo los problemas característicos de cada linaje moldearon la evolución de su desarrollo.

1.2.1. *Arabidopsis thaliana* como sistema modelo

Arabidopsis thaliana es una angiosperma eudicotiledónea herbácea anual que pertenece a la familia Brassicaceae, por lo que está emparentada con plantas como el brócoli o la mostaza (Al-Shebaz y O’Kane, 2002; Bowman, 1994).

A. thaliana ha sido protagonista en artículos no taxonómicos desde 1872, y en publicaciones taxonómicas desde 1821 (Al-Shebaz y O’Kane, 2002; Meyerowitz, 2001). Laibach lo propuso como organismo modelo para realizar experimentos de genética en 1943; pero fue hasta los años ochenta

ta que adquirió su estatus actual como el sistema modelo predominante para estudiar genética en plantas (Meyerowitz, 2001). *Arabidopsis* tiene muchas características genéticas, morfológicas, fisiológicas y en su desarrollo, que favorecieron su adopción como sistema modelo. Además, ahora, con la publicación de su genoma completo (Arabidopsis Genome Initiative, 2000) y con la abundante cantidad de experimentos que se realizan en muchos laboratorios alrededor del mundo con esta planta, se cuenta con muchísima información, que hace de *Arabidopsis* la planta mejor conocida a nivel genético. Esto facilita la construcción de modelos computacionales con base en datos experimentales como los que se proponen en este trabajo.

1.3. El desarrollo como un sistema dinámico

Conrad Hal Waddington fue tal vez la primera persona en considerar al desarrollo como un sistema dinámico (Slack, 2002), principalmente en su libro '*The strategy of the genes. A discussion of some aspects of theoretical biology*' (1957)². Además, Waddington consideró que las propiedades dinámicas del desarrollo podían afectar la forma en que los organismos evolucionan.

Waddington construye analogías para el desarrollo basándose en sistemas dinámicos de otras disciplinas, como la ecología. Sin embargo su contribución central a este respecto es la concepción del *paisaje epigenético* (Waddington, 1957). En este paisaje, cada punto sobre la superficie representa el estado que distingue a una unidad de desarrollo (células, órganos, etc.) de otras. Así, por ejemplo, si se están considerando células, entonces la posición en el paisaje representa al patrón de actividad genética que distingue a unas células de otras. En el paisaje epigenético los mínimos (o valles) representan estadios terminales de desarrollo, por lo que si hablamos de células, entonces corresponderían a tipos celulares diferenciados. El desarrollo induce cambios en el estado del sistema, de forma que este tenderá a moverse hacia el punto colindante más bajo en el paisaje. Entonces, todos los puntos sobre la superficie en una cuenca representan al conjunto de condiciones que conducen al estadio terminal representado por el valle (ver figura 1.2). En sistemas dinámicos, un atractor es

² Si bien Alan M. Turing había publicado su artículo '*The chemical basis of morphogenesis*' (1952), en donde también se trata al desarrollo como un sistema dinámico, Waddington tenía ya publicado desde 1940 su libro '*Organisers and genes*', donde menciona por primera vez el concepto de paisaje epigenético.

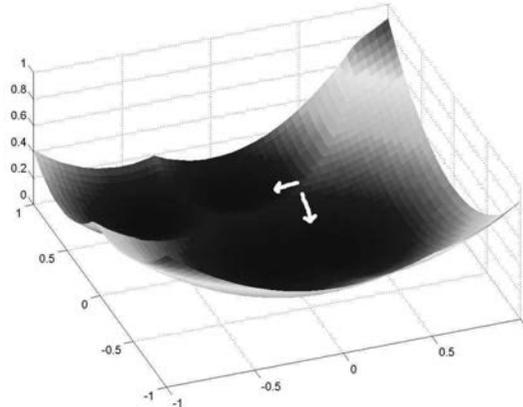


Figura 1.2: El paisaje epigenético. Los puntos más oscuros tienen una altura menor que los claros. Cada punto sobre la superficie representa un posible estado del sistema. El sistema se mueve hacia el punto colindante más bajo. Los mínimos representan estadios terminales del desarrollo. Las flechas marcan dos trayectorias a partir de dos condiciones iniciales cercanas; así, algunos cambios específicos (por ejemplo, en la actividad de genes homeóticos) pueden ser suficientes para cambiar el destino de una condición inicial. De cualquier forma, muy distintas condiciones iniciales pueden conducir al mismo estadio terminal del desarrollo, por lo que este está canalizado.

un conjunto de estados del sistema al que se aproximan asintóticamente, a lo largo de la evolución del sistema, los estados que pertenecen a una cuenca de atracción (Weisstein, 1999). Por lo tanto, en términos de sistemas dinámicos, los estadios terminales del desarrollo, es decir los mínimos en el paisaje, están representados por *atractores*, y el conjunto de condiciones que conducen a ellos conforman su *cuenca de atracción* (ver figura 1.2).

El concepto de paisaje epigenético y el considerar que los estadios terminales de desarrollo se pueden representar como atractores conduce a imaginarse por qué el desarrollo es tan robusto, *i.e.* cómo es que bajo muy distintas condiciones ambientales y/o genéticas se llega al mismo fenotipo (ver capítulo 2). Waddington llamó a esta propiedad *canalización*, y entonces, los puntos sobre una cuenca en el paisaje epigenético están canalizados hacia el mínimo de esa cuenca. Bajo la concepción waddingtoniana, los genes y sus interacciones son los responsables de darle la forma al paisaje. Con experimentos elegantes, en los que seleccionaba características que aparecían en condiciones ambientales específicas, Waddington incluso llegó a demostrar que la canalización es

una propiedad seleccionable y que puede evolucionar (Waddington, 1953, 1956; pero ver también Ciliberti *et al.*, 2007; Gerhart y Kirschner, 2007; Kirschner y Gerhart, 1998, 2005; Queitsch *et al.*, 2002; Rutherford y Lindquist, 1998; Schmalhausen, 1949; Waddington, 1957; Wagner, 1996).

Unos años más tarde Stuart Kauffman, de forma independiente, llegó a la misma conclusión que Waddington: el desarrollo se podía representar como un sistema dinámico y los tipos celulares representarían atractores (Kauffman, 1969, 1991, 1996). Pero, la propuesta de Kauffman va más allá. En el trabajo de Kauffman, el sistema dinámico que subyace al desarrollo deja de ser una metáfora, como lo es el concepto de paisaje epigenético, y establece un enfoque que permite *modelar* al desarrollo a partir del conocimiento de los genes, sus interacciones y las reglas que rigen como estas determinan los cambios en actividad de los genes.

Kauffman considera que la actividad de los genes depende de la actividad (o inactividad) de otros, definiendo así una red de regulación genética. Para modelar un sistema de este tipo, Kauffman supone que cada gen puede tener uno de dos estados, activo o inactivo, y que por lo tanto el estado del sistema se puede caracterizar por un vector en el que se indica el estado de actividad de cada gen. Kauffman entonces conecta genes y establece reglas lógicas al azar, y encuentra que para algunas de estas redes hay canalización: muchas condiciones iniciales convergen en unos pocos estados, que funcionan como atractores (Kauffman, 1991, 1996; Wuensche, 1998). Este enfoque permite analizar las condiciones bajo las cuales aparecen algunas propiedades de las redes, como la canalización.

El conectar redes y construir reglas lógicas al azar suponiendo que cada gen tiene en promedio el mismo número de interacciones, como lo hizo Kauffman en sus trabajos originales, puede no ser realista (Aldana, 2003; Aldana y Cluzel, 2003; Barabási, 2002). Ahora, con toda la información que la genética molecular del desarrollo arroja, es posible construir modelos matemáticos o computacionales de redes de regulación genética con base en la información experimental. Estos están resultando fundamentales para integrar los datos y estudiar a los sistemas de desarrollo (Alvarez-Buylla *et al.*, 2007a, Apéndice C).

1.4. Estructura y dinámica de redes de regulación genética

Una red es un par $G = (V, E)$ de conjuntos donde V representa al conjunto de nodos (o vértices), y E al conjunto de aristas (o conexiones), y cada arista está asociada a dos nodos (Behzad *et al.*, 1979). Gráficamente una red se puede esquematizar por puntos, que representan a los nodos, y líneas que conectan puntos, que representan a las aristas (Diestel, 2000).

Existen dos tipos de redes: las dirigidas y las no dirigidas (Behzad *et al.*, 1979; Harary, 1969). Las redes no dirigidas son aquellas en las que las aristas no tienen un sentido definido y, por lo tanto, los nodos que están unidos por una arista influyen en el otro de la misma manera. En las redes dirigidas, las conexiones reciben el nombre de arcos, y estos se distinguen por tener un sentido definido; de forma que para cada arco hay un nodo fuente (*'source'*), y un nodo sumidero (*'sink'*). Se puede decir entonces que en las redes no dirigidas las relaciones son simétricas, mientras que en las redes dirigidas son asimétricas (ver figuras 1.3(a) y 1.3(b)).

Muchos sistemas se pueden representar como redes (ver cuadros 1.1 y 1.2). La única restricción es que los sistemas se puedan definir por relaciones entre pares de elementos. Si las relaciones son simétricas, entonces se usarán redes no dirigidas (cuadro 1.1 y figura 1.3(a)), y si las relaciones son asimétricas entonces se usarán redes dirigidas (ver cuadro 1.2 y figura 1.3(b)).

Red	Nodos	Aristas: $A - B$
Internet	Computadoras	A y B se comunican
Coautorías	Autores	A y B firman un trabajo
Interacciones proteicas	Proteínas	A y B se pegan
De haplotipos	Haplotipos	A y B se distinguen por una mutación

Cuadro 1.1: Ejemplos de redes no dirigidas

Red	Nodos	Arcos: $A \rightarrow B$
Redes tróficas	Especies	A se come a B
WWW	Páginas	Hay una liga de A hacia B
Referencias	Artículos	A cita a B
Regulación genética	Genes	A regula a B
Neuronales	Neuronas	A activa a B

Cuadro 1.2: Ejemplos de redes dirigidas

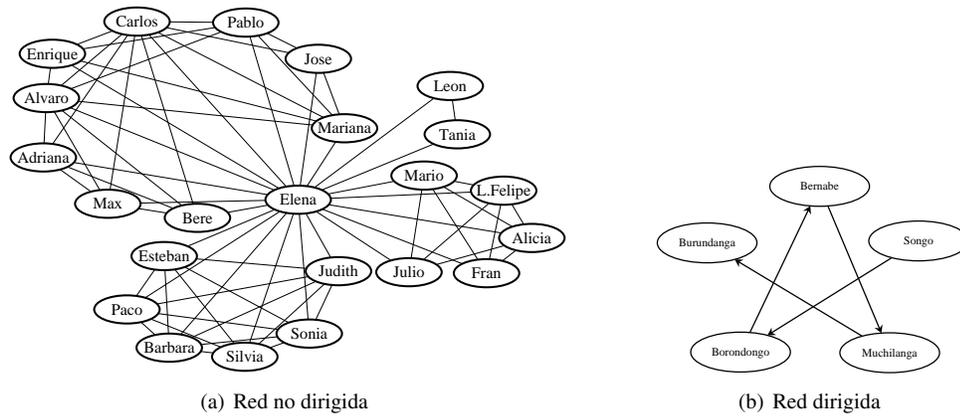


Figura 1.3: Redes no dirigidas y dirigidas. (a) Red no dirigida. Red de coautorías basada en publicaciones de E. Alvarez-Buylla de 2004 a la fecha. Una arista une a dos nodos si estos representan a coautores de al menos una publicación. (b) Red dirigida. Songo le dio a Borondongo, Borondongo le dió a Bernabé, Bernabé le pegó a Muchilanga, le echó a Burundanga... Los arcos señalan quién ejerce (sujeto) y en quién recae (objeto directo) la acción de los verbos transitivos en el enunciado anterior.

1.4.1. Estructura de redes de regulación genética

El estudiar la estructura de las redes nos puede decir mucho sobre su desempeño y su evolución. Por ejemplo, se ha encontrado que el número de aristas por nodo en muy distintas clases de redes se ajusta a una distribución de ley de potencias decreciente; esto quiere decir que en esas redes hay muchos nodos con pocas conexiones, pero también existen unos pocos nodos altamente conectados (Barabási, 2002). Las redes que tienen una conectividad de este tipo incluyen a la *www* (Albert *et al.*, 1999), redes de colaboración de actores (Barabási y Albert, 1999), de referencias (Redner, 1998), metabólicas (Jeong *et al.*, 2000; Wagner y Fell, 2001), de interacciones físicas entre proteínas (Jeong *et al.*, 2001; Wagner, 2001), tróficas (Dunne *et al.*, 2002; Montoya y Solé, 2002) y de regulación genética (Featherstone y Broadie, 2002).

La integridad estructural de redes con esta distribución de conectividad, si bien es muy frágil ante remociones de los nodos más conectados, es muy resistente ante remociones al azar (Albert *et al.*, 2000). Esto ha conducido a proponer que este tipo de conectividad puede ser adaptativa (Albert *et al.*, 2000; Jeong *et al.*, 2001). Sin embargo, las características aparentemente ventajosas pudieran ser el producto de mecanismos no adaptativos (Gould y Lewontin, 1979). Este parece ser el caso de

las distribuciones de conectividad que siguen una ley de potencias en las redes de origen biológico, pues a partir de mecanismos neutrales, como duplicación y mutación, es posible generar este tipo de distribuciones cuando se simula computacionalmente la evolución de estas redes (Pastor-Satorras *et al.*, 2003; Wagner, 2003).

En redes construidas a partir de datos reales (como la *www*, tróficas, de genes, o de neuronas) se ha encontrado que la frecuencia con la que aparecen ciertos patrones de interacción local o subgráficas³ es mayor de lo que se esperaría por azar (Milo *et al.*, 2002). Además, las redes se pueden agrupar por los patrones de interacción local que tienen sobrerrepresentados (Milo *et al.*, 2004b, 2002). Como estos patrones parecen tener funciones *ad hoc* a las redes en las que se encuentran, se ha propuesto también que la selección natural a nivel individual subyace la sobrerrepresentación (Alon, 2003; Conant y Wagner, 2003; Milo *et al.*, 2004a, 2002).

Sin embargo, de igual forma que en el caso de la distribución de conectividad, simulaciones de evolución *in silico* que consideran mecanismos característicos de los sistemas (como la duplicación en las redes genéticas), pero que excluyen la acción de la selección natural o de algún otro método de optimización, son capaces de recuperar algunos aspectos de la sobrerrepresentación de los patrones de interacción local característica del sistema. Este es el caso de redes de neuronas en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (Artzy-Randrup *et al.*, 2004), de redes tróficas (Benítez y Espinosa-Soto, 2005), y de redes genéticas (Kuo *et al.*, 2006; Solé y Valverde, 2006).

En conclusión, el análisis de la estructura de sistemas biológicos representados como redes puede ser útil para estudiar escenarios evolutivos que puedan subyacer la aparición de algunas propiedades de estos sistemas. Así, como en los ejemplos mencionados arriba, se pueden contrastar mecanismos neutrales y mecanismos seleccionistas para determinar si estas propiedades son o no adaptaciones.

³ Una gráfica G' es subgráfica de G si está incluida en G , es decir: si el conjunto de nodos de G' , V' , es un subconjunto de el conjunto de nodos de G , V , ($V' \subseteq V$) y si el conjunto de aristas de G' , E' , es un subconjunto de el conjunto de aristas de G , E , ($E' \subseteq E$) (Behzad *et al.*, 1979; Diestel, 2000; Harary, 1969)

1.4.2. Dinámica de redes de regulación genética

La acumulación de información derivada de experimentos de genética molecular que se ha dado en los últimos años permite modelar la dinámica de las redes de regulación genética involucradas en el desarrollo (Alvarez-Buylla *et al.*, 2007a, Apéndice C). En estos modelos se pueden incluir nodos que no representen genes, sino también elementos que sean afectados por, y/o afecten, la actividad de otros elementos. Entre estos pueden mencionarse hormonas, mensajeros secundarios, miRNAs o factores ambientales. Sin embargo, como se explicó en la sección 1.1, sólo a partir de estudiar las interacciones entre genes se podrá empezar a entender la relación entre genotipo y fenotipo.

Para estudiar la dinámica de las redes de regulación genética es necesario asociar una variable de estado a cada nodo. Esta variable indicará el grado de actividad de un nodo y será una función del estado de los nodos que incidan en él. La dinámica de estas redes se puede simular en computadoras si se consideran las interacciones de los genes que participan en un proceso dado. Esto permite estudiar las propiedades del proceso que no radican en los elementos del sistema, sino que emanan de sus interacciones en conjunto.

El desarrollo consiste en procesos que se pueden separar lógicamente y esta dissociabilidad es consecuencia de una modularidad subyacente (von Dassow y Munro, 1999). Lo anterior nos permite analizar los mecanismos que generan a estos procesos por separado. Siguiendo este enfoque se ha encontrado, por ejemplo, que la funcionalidad de la red de regulación genética que mantiene la polaridad de los segmentos en la mosca *Drosophila melanogaster* es resistente a variaciones en condiciones iniciales o en los valores de los parámetros que definen las interacciones (von Dassow *et al.*, 2000; von Dassow y Odell, 2002). La insensibilidad a condiciones iniciales sugiere que esta red lleva a cabo su función independientemente de la actividad de otros genes que inciden en ella, por lo que funciona como un módulo semiautónomo (von Dassow y Munro, 1999). La robustez de esta red ante perturbaciones en los valores de los parámetros está también sustentada en que un modelo discreto de la misma es capaz de recuperar los mismos patrones que se encuentran en el modelo continuo original (Albert y Othmer, 2003). Esta equivalencia entre sistemas discretos y

continuos también se observa en otros procesos (ver por ejemplo Mendoza y Xenarios, 2006). De forma similar, la red de regulación genética que incluye a los genes neurogénicos y proneurales en *Drosophila* también es casi insensible ante perturbaciones en las condiciones iniciales o valores de los parámetros (Meir *et al.*, 2002). La invariancia funcional ante diferentes tipos de perturbaciones es un ejemplo de una propiedad que emerge de las interacciones entre los elementos del sistema.

En otro trabajo se ha integrado en un modelo dinámico discreto la información experimental sobre los genes que regulan la apertura de los estomas en respuesta al balance hídrico de la planta *Arabidopsis thaliana* (Li *et al.*, 2006). Los resultados del modelo son consistentes con la información experimental en plantas mutantes y silvestres con y sin tratamientos farmacológicos que afectan el proceso. El trabajo de Li *et al.* (2006) es un ejemplo de cómo este tipo de modelos permite poner a prueba la suficiencia de la información experimental para explicar procesos fisiológicos (o de cualquier otro tipo) en los seres vivos.

El estudio de la dinámica de las redes de regulación genética también es útil para explorar distintos escenarios evolutivos. Salazar-Ciudad y Jernvall (2002), por ejemplo, construyen un modelo que incluye a los genes involucrados en la morfogénesis de dientes en mamíferos. Este modelo es capaz de reproducir, con cambios pequeños en los valores de los parámetros, la forma final y la secuencia morfogenética que se observa en el desarrollo de los dientes en distintas especies. Este trabajo nos brinda un ejemplo de como la elaboración de estos modelos puede ayudar para proponer hipótesis sobre la naturaleza de los cambios en el desarrollo que han ocurrido a lo largo de la evolución de caracteres fenotípicos particulares.

Otra ventaja del empleo de estos modelos es que su elaboración puede ser útil para construir hipótesis sobre genes o interacciones aún no descubiertas experimentalmente. Eldar *et al.* (2002) abordan los mecanismos que participan en el establecimiento de la polaridad dorso-ventral en *Drosophila melanogaster*. Los autores construyen un modelo con base en la información experimental y buscan las combinaciones de valores de los parámetros que producen redes que resisten alteraciones en la concentración de ciertas proteínas. Todas las redes que cuentan con esta capacidad comparten

algunas características bioquímicas, lo que permitió poner a prueba estas hipótesis experimentalmente (Eldar *et al.*, 2002).

Por otra parte, el empleo de modelos dinámicos de redes de regulación genética permitirá también un mejor análisis de la relación entre los rasgos estructurales de la red y sus características dinámicas. Esto se conseguirá primero en redes pequeñas, suficientemente bien sustentadas en la evidencia experimental, para las cuales las hipótesis funcionales o evolutivas se podrán refutar más fácilmente (Alvarez-Buylla *et al.*, 2007a, Apéndice C).

En esta tesis se estudian modelos dinámicos de dos sistemas de desarrollo muy bien caracterizados experimentalmente y que están presentes en la planta *Arabidopsis thaliana*. Se discute también cómo el comportamiento de estos sistemas puede afectar sus propiedades evolutivas. En el capítulo 2 se presenta un estudio que aborda la robustez fenotípica de un sistema desarrollo ampliamente conservado: la determinación genética de la identidad de los órganos florales. En el capítulo 3 se estudia la dependencia del contexto celular en la formación de los patrones celulares en la epidermis de raíces y hojas de *Arabidopsis thaliana*.

Capítulo 2

Robustez y canalización: la red de determinación de órganos forales

*‘There are new dreams crowdin’ out old realities.
There’s revolution sweepin’ in like a fresh new breeze.
Let the old world make believe it’s blind and deaf and dumb
but nothing can change the shape of things to come.’*

“The shape of things to come” (Mann & Weil) en:
The Ramones - Acid eaters (1993).

2.1. Robustez y canalización en el desarrollo y la evolución

La robustez es la constancia en alguna(s) propiedad(es) de un sistema ante un cierto tipo de perturbaciones (Wagner, 2005). En particular, para los organismos vivos se puede considerar que la robustez es la invariancia de un aspecto del fenotipo ante algún tipo de perturbación. Esta propiedad se puede observar a muy distintos niveles en la organización biológica: expresión de genes, plegamiento de proteínas, flujo metabólico, homeostasis fisiológica, e incluso adecuación (de Visser *et al.*, 2003). El funcionamiento de los sistemas biológicos, y especialmente el desarrollo (Waddington, 1957), suelen ser muy robustos ante una gama muy amplia de perturbaciones (Wagner, 2005). A esto es a lo que Waddington se refería como canalización (Waddington, 1957, ver sección 1.3).

La robustez fenotípica puede ocurrir ante dos tipos de perturbaciones: heredables y transitorios (Kauffman, 1996). Distintos autores (por ejemplo de Visser *et al.*, 2003; Rice, 2000) llaman *robustez genética* a la robustez fenotípica en respuesta a perturbaciones heredables (*i.e.* mutaciones) y *robustez*

tez ambiental a la robustez fenotípica en respuesta a perturbaciones no heredables (transitorias). Las perturbaciones no heredables incluyen a cualquier evento que cause cambios transitorios en el estado del sistema (por ejemplo, en la actividad de los genes): aquellas generadas por factores externos, por ejemplo medio ambientales, o por factores internos, como aquellas ocasionadas por el *ruido en el desarrollo* ('*developmental noise*'). El ruido en el desarrollo se considera aquí como variaciones aleatorias en la concentración de proteínas. Estas variaciones se pueden deber a fluctuaciones térmicas o a 'errores de muestreo', ocasionados porque el número de moléculas de proteínas codificadas por cada gen es finito. El ruido en el desarrollo puede conducir a cambios aleatorios en la trayectoria que sigue el sistema durante su desarrollo. Mientras que las perturbaciones transitorias son aquellas que afectan el *estado* del sistema (por ejemplo, que genes están activos en un momento dado), las perturbaciones heredables son aquellas que afectan la *definición* del sistema (las reglas que definen la dinámica del sistema; los cambios en valores de parámetros, exponentes, etc. corresponderían a mutaciones).

La robustez genética es un tipo de restricción por el desarrollo (Maynard Smith *et al.*, 1985, ver sección 1.1) que, por definición, limita la capacidad de evolucionar del sistema (de Visser *et al.*, 2003; Maynard Smith *et al.*, 1985), y corresponde al concepto matemático de estabilidad estructural.

La robustez ambiental está ligada al concepto de norma de reacción, el conjunto de posibles fenotipos que puede generar un genotipo bajo distintas condiciones ambientales (Schmalhausen, 1949). La robustez ambiental tiene una alta importancia evolutiva, a pesar de ser una respuesta a estímulos no heredables. Por una parte, se ha propuesto que un camino probable para que un sistema adquiriera robustez genética es la evolución de la robustez ambiental (de Visser *et al.*, 2003; Waddington, 1957; Wagner, 2005; Wagner y Mezey, 2004). Tanto las perturbaciones heredables como las no heredables implican cambios en la expresión de los genes, por lo que es de esperarse que un mecanismo que sea capaz de resistir cambios temporales en estos niveles de actividad resista más fácilmente los cambios permanentes que un mecanismo que no tenga esa capacidad. Esto resultaría en una correlación entre robustez genética y ambiental (von Dassow y Meir, 2004; von Dassow y Odell, 2002; Wagner, 2005; Wagner y Mezey, 2004). Esta correlación favorecería la aparición de

la robustez genética pues la evolución de la robustez ambiental ocurre más fácilmente que la de la robustez genética: si un fenotipo es óptimo para una gran variedad de ambientes, habrá una presión de selección a favor de la aparición de la robustez ambiental (Rice, 2000). En cambio, la selección natural favorecerá la aparición de la robustez genética solamente si el tamaño poblacional y la tasa de mutación son muy altos (Wagner, 2005), por lo que la selección natural podría, tal vez, más fácilmente eliminar a variantes desventajosas que promover la aparición de la robustez genética.

Por otra parte, el que un mecanismo de desarrollo sea robusto con respecto a perturbaciones temporales sugiere que puede actuar más o menos independientemente de otros elementos del sistema (von Dassow y Munro, 1999), comportándose como un módulo semiautónomo. La modularidad es una propiedad que, al permitir la combinación de funciones semiautónomas, favorece la capacidad de evolucionar (*'evolvability'*) (Kirschner y Gerhart, 2005; Schlosser, 2004; von Dassow y Meir, 2004).

La robustez fenotípica de un sistema de desarrollo garantiza que la aparición de ciertos fenotipos no sea un evento único, sino que se repita en distintos individuos, condiciones ambientales, contextos genotípicos, o en organismos que pertenezcan a diferentes especies. Esta repetibilidad permite que haya continuidad en la presencia de una característica fenotípica a lo largo de un linaje, por lo que es un requisito para la conservación de características homólogas. Mientras más robusto sea un mecanismo de desarrollo más posibilidades tendrá de estar conservado en un rango amplio de taxones.

En los organismos silvestres muchos mecanismos de desarrollo están fuertemente canalizados con respecto a perturbaciones transitorias (Waddington, 1957; Wagner, 2005). Sin embargo, no sabemos si esta canalización es completa, es decir, si los distintos estadios terminales (por ejemplo, tipos celulares) que se observan en los organismos silvestres son los únicos posibles en este contexto genotípico. De ser así, no se necesitaría una alta precisión en trayectorias de desarrollo y mecanismos de señalización para generar un fenotipo. Los estadios terminales dependerían de estas características, pero también, de forma muy importante, de la red de relaciones epistáticas

(Espinosa-Soto *et al.*, 2004, apéndice A).

En este capítulo se reporta el análisis de la red de regulación genética que determina la identidad celular en los órganos florales de *Arabidopsis thaliana*. Se pone a prueba la robustez genética y ambiental de este sistema de desarrollo, así como si la canalización con respecto a perturbaciones temporales es completa. Este estudio es útil también para proponer hipótesis sobre interacciones entre genes, susceptibles de investigación experimental, así como para poner a prueba la suficiencia de los datos experimentales disponibles para explicar este proceso.

2.2. El modelo ABC para la determinación de los órganos florales

La flor es la estructura que distingue a las angiospermas del resto de los linajes de las plantas terrestres. Las angiospermas abarcan aproximadamente 250,000 especies agrupadas en 350 familias (Kenrick, 1999). Este grupo de plantas se diversificó muy rápidamente en el cretácico temprano (Crepet, 2000; Kenrick, 1999). Esta diversificación tal vez fue el producto de una radiación adaptativa guiada por la coevolución de angiospermas con insectos polinizadores (Dilcher, 2000).

El plan estructural de la flor, principalmente en lo que concierne al arreglo espacio-temporal de sus apéndices laterales, está conservado en la mayoría de las angiospermas. Esta estructura incluye cuatro tipos de órganos que se forman durante el desarrollo floral y que aparecen con un patrón espacio-temporal estereotípico: los sépalos primero en la parte mas externa de la flor, después pétalos, estambres, y por último carpelos en el centro de la flor (Rudall, 1987). La conservación de este patrón sugiere que los procesos de desarrollo que generan a esta estructura pudieran también estar conservados y además ser robustos con respecto a alteraciones heredables y temporales.

El desarrollo floral es uno de los procesos morfogenéticos de plantas mejor entendidos a nivel genético en la actualidad (Theißen *et al.*, 2000). Estudios experimentales hechos principalmente en dos especies de eudicotiledóneas derivadas (*Arabidopsis thaliana* y *Antirrhinum majus*) condujeron al modelo ABC, un modelo combinatorio que describe la base genética de la determinación de la identidad de los órganos florales (Coen y Meyerowitz, 1991), y que ha guiado los estudios expe-

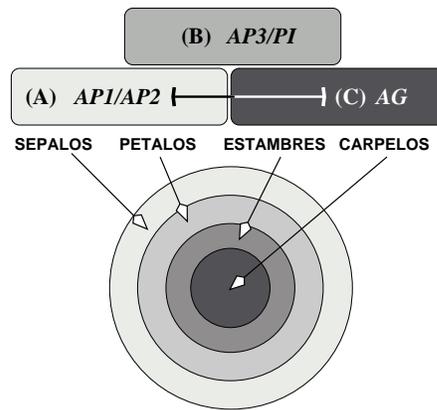


Figura 2.1: El Modelo ABC. La combinación de la actividad de tres clases de genes es suficiente para definir la identidad de los órganos florales.

rimentales en otras especies (Ferrario *et al.*, 2004). De acuerdo al modelo ABC, los genes de la clase A determinan la identidad de sépalos en el primer verticilo, el más externo. Los genes de las clases A y B especifican la identidad de pétalos en el segundo verticilo, mientras que los genes de las clases B y C determinan a los estambres en el tercer verticilo. Finalmente, el gen de la clase C determina la identidad de carpelos en el cuarto verticilo, el central (Coen y Meyerowitz, 1991, ver figura 2.1). Los seis genes de las clases A, B y C codifican para factores transcripcionales, y cinco de ellos pertenecen a la familia de genes MADS-box (Theißen *et al.*, 2000; Theißen y Saedler, 1995). La única excepción es el gen de la clase A *APETALA2* (*AP2*).

Diversos estudios a nivel molecular sugieren también que las interacciones principales entre genes que participan en la determinación de los órganos florales están conservadas en algunas otras especies (Ferrario *et al.*, 2004). Además, análisis de los genes ABC en monocotiledóneas (por ejemplo en maíz, Ambrose *et al.*, 2000), sugieren que el modelo ABC está conservado en dicotiledóneas y monocotiledóneas. Sin embargo, otros estudios en dicotiledóneas basales ponen en duda la conservación del modelo ABC en la determinación de la identidad de los pétalos fuera del linaje de las eudicotiledóneas más derivadas (Irish, 2000; Kramer y Irish, 1999, 2000). Si el modelo ABC estuviera conservado, las observaciones hechas en el desarrollo de los pétalos de las dicotiledóneas basales podrían ser características exclusivas de esos linajes (Theißen, 2001). En el caso de que

el modelo ABC no estuviera conservado completamente, entonces el uso de genes parecidos para determinar estructuras análogas en eudicotiledóneas derivadas (como *Arabidopsis* y *Antirrhinum*) y en monocotiledóneas se podría deber a una convergencia evolutiva (Irish, 2000). Sin embargo, el trabajo de Irish y Kramer solamente cuestiona la conservación del modelo ABC para la determinación genética de la identidad de las células de pétalos, por lo que la función del modelo ABC en la determinación de los otros 3 órganos florales sí está conservada en todas las plantas con flores.

Para que un proceso esté conservado es necesario que tenga una alta robustez genética y ambiental (sección 2.1). Por esto, se decidió integrar la información experimental sobre interacciones entre genes que participan en la determinación de órganos florales en *Arabidopsis* y poner a prueba la robustez de esta red en la adquisición de los patrones de actividad genética que caracterizan a los órganos florales ante perturbaciones temporales y heredables.

Con anterioridad se habían realizado trabajos en los que se estudiaban también modelos de redes dinámicas para los genes críticos en la determinación de la identidad de los órganos florales con los que se lograba recuperar patrones de actividad genética relacionados con cada uno de los órganos florales (Mendoza y Alvarez-Buylla, 1998; Mendoza *et al.*, 1999). En el trabajo que se presenta en esta tesis se usa a la información experimental disponible para describir las interacciones entre los genes, con lo que se puede parametrizar el modelo de forma independiente al resultado esperado (Mendoza y Alvarez-Buylla, 1998) y se amplía el estudio sobre la robustez del sistema.

2.3. Implementación del modelo

A partir de la evidencia experimental reportada en más de 100 artículos sobre la determinación de la identidad de los órganos florales en *A. thaliana* se construyó una red donde cada nodo representa un gen, y los arcos representan interacciones entre ellos. Se incluyeron tanto a los genes ABC como a otros que participan en el proceso (figura 2.2). En los casos en que la información experimental lo justificó, los nodos podían adquirir uno de 3 niveles de actividad (0, inactivo; 1, actividad intermedia; 2, actividad completa) lo que permitía considerar que un gen puede realizar funciones adicionales

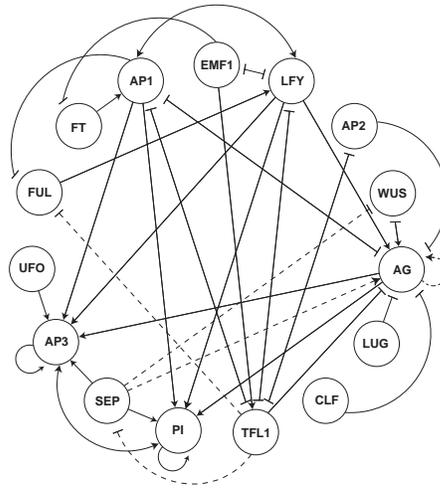


Figura 2.2: Red genética de determinación de órganos florales. Incluye a los genes de la clase A ($AP1$, $AP2$), B ($AP3$, PI), C (AG) y a otros que influyen en el proceso. Las flechas representan activaciones, y las barras, inhibiciones (ver detalles en apéndice A, Espinosa-Soto *et al.* (2004) y en apéndice B, Chaos *et al.* (2006)).

al pasar un segundo umbral de activación (Thomas, 1991). Los demás nodos podían adquirir dos estados de actividad, activo o inactivo.

La forma en que la actividad de un nodo era regulada por otros nodos se definió por medio de reglas lógicas, sustentadas en la información experimental cualitativa (ver detalles en: apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Por ejemplo, el gen de la clase B *APETALA3* ($AP3$) se modeló como una variable de tres estados que alcanzaba su máximo umbral de actividad ($AP3 = 2$) solamente si $AP3$, PI , SEP y AG o API estaban activos (Honma y Goto, 2001; Pelaz *et al.*, 2001). Si esto no ocurría, se pasaba el primer umbral ($AP3 = 1$) solamente si UFO y LFY estaban activos (Parcy *et al.*, 1998). De cualquier otra forma, $AP3 = 0$.

Cada posible condición inicial del sistema (*i.e.* una de las combinaciones posibles en la actividad de los genes) conduce eventualmente a un atractor. En redes discretas finitas, como la que aquí se presenta, los atractores pueden ser estados estacionarios, en los que la expresión de cada gen se mantiene constante, o ciclos límite, en los que varios patrones de actividad se alternan periódicamente. La actualización del estado de los nodos se hizo de forma sincrónica, es decir todos los nodos adquirirían su nuevo estado al mismo tiempo. Esto se hizo así ya que no se contaba con información

sobre diferencias entre los genes en su velocidad de respuesta, es decir a que tan rápido se prenden o apagan. Empezando en cada condición inicial posible, las actualizaciones se detenían cuando el sistema llegaba a un atractor. Todos los programas se realizaron en el lenguaje de programación C++. Ver más detalles en la sección de Métodos en el apéndice A (Espinosa-Soto *et al.*, 2004).

2.4. Predicción de nuevas interacciones

Se incluyeron cuatro interacciones no documentadas para así mantener la coherencia entre las interacciones entre genes reportadas y otras observaciones experimentales. Las interacciones no documentadas se indican como líneas punteadas en la figura 2.2 y son predicciones susceptibles de comprobación experimental (detalles en apéndice A, Espinosa-Soto *et al.* (2004) y en apéndice B, Chaos *et al.* (2006)).

La predicción más novedosa consiste en la auto-activación del gen de la clase C *AGAMOUS* (*AG*), que se justifica a continuación. Se ha establecido experimentalmente que en la flor *AG* es suficiente para reprimir a *WUS* y que *WUS* es suficiente para activar a *AG* (Lenhard *et al.*, 2001; Lohmann *et al.*, 2001). Sin embargo, si añadiéramos estas interacciones sin suponer un mecanismo que mantenga a *AG* activo, las actividades de *AG* y *WUS* oscilarían, debido al asa de retroalimentación negativa entre estos genes. Si estas interacciones se modelaran en un sistema continuo, las actividades de *AG* y *WUS* podrían oscilar o llegar a un estado estacionario intermedio en el que ninguno de los dos estuviera completamente activo. Esto es poco probable, pues en ese estado estacionario la expresión de *WUS* tendría que estar por debajo del límite de detección de los experimentos de análisis de expresión *in situ* porque en las flores silvestres no se detecta mRNA de *WUS* después de la activación de *AG* (Lenhard *et al.*, 2001). Además, después de la activación de *AG*, *WUS* está por debajo de un umbral de actividad, lo que causa que las flores sean estructuras determinadas, es decir, que se termine la actividad proliferativa del meristemo floral, lo que ocurre en todas las flores silvestres. Por el contrario, si *WUS* estuviera activo, el meristemo floral mantendría su actividad proliferativa, pues *WUS* es el gen que determina la identidad de las células del nicho de células

troncales en los meristemas aéreos de *Arabidopsis* (Doerner, 2000, 2001; Mayer *et al.*, 1998). Al mismo tiempo, los niveles de actividad de *WUS* deberían ser suficientes para mantener la actividad de *AG*. Una alternativa es que *AG* tenga un asa de retroalimentación positiva, directa o indirecta, que mantenga su expresión aún cuando *WUS* esté inactivo (apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004).

La posibilidad de que *AG* se autoactivara no se había considerado porque en las mutantes en las que la proteína de *AG* no es funcional, el patrón de expresión del mRNA de *AG* es idéntico al de las plantas silvestres (Gustafson-Brown *et al.*, 1994). Sin embargo, esta información es compatible con la existencia del asa de retroalimentación positiva. En las plantas en las que *AG* no es funcional, *AG* es incapaz de reprimir a *WUS*, que, a su vez, promueve permanentemente la expresión de *AG*.

Gómez-Mena *et al.* (2005), de forma independiente, comprobaron esta interacción con un experimento ingenioso: las plantas en las que el gen *AG* no es funcional no son capaces de responder a un pulso en la expresión de *AG* debido a un transgen, pero las plantas silvestres sí. Este es un ejemplo del poder predictivo que resulta de la integración de la información experimental en modelos sencillos como el que aquí se presenta (apéndice B; Chaos *et al.*, 2006).

Otra predicción derivada de este trabajo consistió en suponer que la actividad de los genes *SEPALATA* (*SEP*) era regulada por algún gen de identidad meristemática. En este trabajo se modeló suponiendo que estos genes eran reprimidos por el gen de identidad del meristemo de inflorescencia *TFL1*, pero se argumentó que cualquier otro gen de identidad meristemática podría asumir este papel (apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Esta hipótesis fue confirmada experimentalmente, de forma independiente, durante el proceso de revisión de este trabajo, pues se reportó que el gen de identidad de meristemo floral *LEAFY* (*LFY*) regulaba la expresión de los genes *SEP* (Schmid *et al.*, 2003).

2.5. Robustez en la red de determinación de órganos florales

2.5.1. Robustez ambiental en la determinación de órganos florales

Las 139,968 posibles condiciones del sistema convergen en 10 estados estacionarios (Tabla 1 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Todos ellos coinciden con patrones de actividad genética documentados experimentalmente para células de los meristemas florales y de inflorescencia en *Arabidopsis thaliana* (ver detalles en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004).

Estos resultados sugieren que, al menos para la determinación genética de la identidad de los órganos florales, el desarrollo está completamente canalizado con respecto a perturbaciones no heredables. No hay ninguna forma de encontrar un patrón de actividad genética diferente a los que se observan en la naturaleza cuando se perturba el *estado* del sistema.

Es notable que el número de condiciones iniciales que conducen a atractores relacionados con patrones de actividad genética florales es aproximadamente 36 veces mayor que el de condiciones iniciales que convergen en patrones vegetativos (Tabla 3 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Esto podría explicar por qué, a diferencia del destino vegetativo, el destino floral no suele ser abandonado, pues la mayoría de las perturbaciones conducen a patrones de actividad genética que pertenecen a una cuenca de atracción relacionada con la identidad de un órgano floral. Sin embargo, para aclarar este punto, es necesario considerar otros genes involucrados en la transición a la floración, como *CONSTANS* (Simon *et al.*, 1996), *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1* (Samach *et al.*, 2000) y *FLOWERING LOCUS C* (Michaels y Amasino, 1999).

Además, el tamaño de las cuencas de atracción relacionadas con los órganos florales reproductivos (estambres y carpelos) es mucho más grande que el de aquellas asociadas con los órganos del perianto (sépalos y pétalos; Tabla 3 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Esto sugiere que las variantes con alteraciones en el perianto podrían ser más abundantes que aquellas con alteraciones en estambres y carpelos. Un registro de las variaciones naturales en las angiospermas también sustenta esta hipótesis (Meyer, 1966). Las diferencias en la robustez ambiental entre los órganos del

perianto y los reproductivos podrían deberse a que las alteraciones en uno u otro tipo de órganos no son igualmente desventajosas, pues aquellas que ocurren en los órganos reproductivos tendrían un impacto mayor en la adecuación, por lo que la selección natural actuaría con mayor intensidad para preservar a carpelos y estambres.

Se puede vislumbrar una alternativa a la selección natural para explicar las diferencias en robustez ambiental de los órganos del perianto y reproductivos. Si al aparecer un nuevo tipo celular se deben mantener los tipos celulares que existían antes, así como una parte importante de las condiciones suficientes (trayectorias) que conducen a ellos, entonces los nuevos tipos celulares tendrán cuencas de atracción más pequeñas que los preexistentes. Esto es consistente con lo que aquí se reporta, pues los mecanismos que determinan la identidad de carpelos y estambres son más antiguos, pues estaban presentes desde el último ancestro en común de angiospermas y gimnospermas (Winter *et al.*, 1999), mientras que el perianto es privativo de las angiospermas. Bajo este escenario, la selección natural participaría en mantener los mecanismos responsables de la identidad de los órganos reproductivos pero no en hacer que ciertos patrones tengan una mayor robustez ambiental. Hasta el momento no se puede descartar ninguna de las dos hipótesis. El hacer estudios como este en otras especies, para las que se contara con información tan detallada como para *A. thaliana* y con diferente contribución de los órganos del perianto a la adecuación, ayudaría a desechar alguna de las hipótesis.

2.5.2. Robustez genética en la determinación de órganos florales

Albert y Othmer (2003) argumentan que si un sistema descrito burdamente a través de reglas lógicas llega a resultados similares a los observados en la naturaleza es porque no se necesita precisión en los valores de sus parámetros, por lo que no debería ser sensible a cambios en esos valores. Aunque el modelo de red de regulación genética para la determinación de órganos florales satisface este criterio (ver sección 2.5.1), también se puso a prueba si el sistema llega a los mismos estados estacionarios después de haber perturbado aleatoriamente las reglas lógicas. Estas alteraciones corresponden a cambios heredables, pues se afecta la definición del sistema y no sólo a su estado (detalles en Espinosa-Soto *et al.*, 2004, apéndice A).

Sólo 67 de 7500 (0.89 %) redes con reglas lógicas alteradas tuvieron al menos una condición inicial que no condujo a uno de los estados estacionarios obtenidos con el sistema original. Sin embargo, la mayoría de los nuevos atractores en estos 67 casos consistió en patrones de actividad genética muy similares a los esperados. Por ejemplo, en 25 (0.33 %) de estas redes los nuevos atractores se distinguían de alguno de los estados estacionarios originales por la actividad de un solo gen. En estos casos, usualmente la diferencia consistía en que en la red original había activación completa (2) de un gen, mientras que en la nueva red había actividad parcial (1) del mismo gen. En 16 redes (0.213 %) se llegaba a un ciclo límite en el que uno de los estados del ciclo era idéntico a uno de los estados estacionarios esperados. Entonces, aunque de forma intermitente, se seguía recuperando uno de los patrones de actividad genética encontrados en el sistema original. Otras dos redes (0.0266 %) correspondían a casos en los que la actividad del nodo *SEP*, que es el único que representa a tres genes redundantes (Pelaz *et al.*, 2000), estaba alterada, por lo que representaba a un triple mutante, una perturbación extremadamente grande. En conclusión, de 7500 redes con reglas lógicas perturbadas aleatoriamente, sólo 24 (<0.5 %) generó estados de activación genética distintos a los recuperados en la red original (Espinosa-Soto *et al.*, 2004, apéndice A).

2.6. Discusión

Se puede conceptualizar la determinación de un tipo celular como el producto de una serie de decisiones en el desarrollo en las que se elige entre patrones de actividad genética alternativos. El éxito del modelo ABC se debe a que mostró que la identidad de los órganos florales podía ser el producto de dos decisiones en el desarrollo: actividad de los genes A o C, y actividad o inactividad de los genes B (a partir de ahora ‘decisiones ABC’). A pesar de los nuevos genes e interacciones descubiertos, la lógica que subyace al modelo ABC permanece invariante. Ahora sabemos que la capacidad de tomar las decisiones ABC depende del resultado de una decisión previa: meristemo floral o no floral, en la que genes como *LFY* y *TFL1* participan. La activación de los genes *SEP*, por ejemplo, es una consecuencia de esta decisión (y no una modificación al modelo ABC) ya que *LFY* activa su transcripción (Schmid *et al.*, 2003). Más tarde en el desarrollo floral, la actividad de genes

de identidad de óvulos, como *SEEDSTICK* (Pinyopich *et al.*, 2002) depende de que antes se haya optado por la actividad de los genes C, pues cuando estos genes no son funcionales los óvulos están ausentes. Por lo tanto, se puede explicar el desarrollo floral mediante una serie jerárquica de decisiones, en la que están insertadas las decisiones ABC. Es por esto que el modelo ABC se mantiene como un marco de referencia útil para entender el desarrollo y la evolución de la determinación de órganos florales.

La red de regulación genética expuesta en este trabajo incluye a las interacciones epistáticas más importantes que subyacen al modelo ABC de la determinación de los órganos florales. Los resultados que aquí se presentan sugieren que el establecimiento de los patrones de actividad genética que se observan en los meristemos florales y de inflorescencia son muy robustos con respecto a perturbaciones heredables (en las que se altera la definición del sistema; sección 2.5.2) y no heredables (en las que se altera el estado del sistema; sección 2.5.1). Incluso, otra forma en que se puso a prueba la sensibilidad de esta red con respecto a perturbaciones heredables fue cambiando la especificación de las variables, de forma que todos los nodos se comportaran como variables binarias (que tuvieran dos valores, 0 y 1, Chaos *et al.*, 2006, apéndice B). Los atractores a los que converge este nuevo sistema son los mismos que los que se obtienen con la red original. Además, esta nueva red también es robusta con respecto a perturbaciones heredables (Chaos *et al.*, 2006, apéndice B).

Lo anterior explicaría la aparente conservación del modelo ABC en un número importante de taxones, pues mientras más robusto sea un mecanismo de desarrollo, será más probable su conservación (sección 2.1). Además, se encontró que esta red está completamente canalizada con respecto a condiciones iniciales y por lo tanto también con respecto a perturbaciones transitorias no heredables: en lo que toca a este proceso, no se puede generar en una planta silvestre un tipo celular distinto a los que se encuentran habitualmente en la naturaleza. La insensibilidad con respecto a condiciones iniciales hace que esta red se pueda comportar como un módulo de desarrollo (von Dassow *et al.*, 2000; von Dassow y Munro, 1999). Si bien factores ajenos a la red pueden sesgar su comportamiento (haciendo más o menos probable alguno de los patrones), esta constituye al mecanismo encargado de evaluar esas señales y conducir al sistema a uno de los destinos celulares

posibles.

El modelo aquí descrito es consistente con observaciones experimentales. No solamente se recuperan los patrones de actividad genética que se observan en las plantas silvestres (sección 2.5.1), sino también en todos los mutantes simulados *in silico* se obtienen los patrones de actividad genética reportados para esos casos (Tablas 4-8 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Además, las diferencias en los patrones de actividad genética que conducen a estados estacionarios relacionados con células de meristemas de inflorescencia o de flor son coherentes con la evidencia experimental (Tabla 2 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Esto sugiere que en el modelo se incluyen los principales factores involucrados en este proceso.

El modelo también permite explicar eventos del desarrollo en otras especies, donde ocurren aparentes excepciones al modelo ABC. En *Petunia hybrida* la red de interacciones que subyace este proceso está, en su mayor parte, conservada con respecto a *Arabidopsis* (Ferrario *et al.*, 2004). Sin embargo, existen algunas diferencias importantes. En *Arabidopsis* cuando el gen de la clase B *AP3* no es funcional, los pétalos son sustituidos por sépalos y los estambres por carpelos. En cambio, en *Petunia* cuando el gen ortólogo de *AP3* no es funcional, los estambres son indistinguibles de los de las plantas silvestres (Vandenbussche *et al.*, 2004). Se ha propuesto que en *Petunia* un duplicado de *AP3*, activado por *AG*, podría sustituir la función del ortólogo de *AP3* en los estambres. Simulaciones con una red idéntica a la que se propone aquí para *Arabidopsis*, pero que incluye a un duplicado de *AP3* con las características que se suponen en Vandenbussche *et al.* (2004), generan los patrones observados en *Petunia* (Tablas 9-11 en apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004). Lo anterior sustenta también la conservación de las partes más importantes de esta red, al menos en las eudicotiledóneas.

Los estudios de redes genéticas como el aquí descrito son, además, el punto de partida para abordar el estudio de secuencias morfogénicas, en este caso, la secuencia temporal de determinación de sépalos, pétalos, estambres y carpelos (Bomblies *et al.*, 1999; Bowman *et al.*, 1993; Schmid *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2004). Es posible construir una aproximación al paisaje epigenético asociado a esta red, a partir de los datos que arroja este modelo discreto. Si en este paisaje epigenético, que deter-

mina la dinámica de la red, se considera una condición inicial realista, sustentada en información experimental, y que el comportamiento del sistema es afectado por ruido en el desarrollo, se puede ver en qué momento la probabilidad de tener uno de los patrones de actividad genética estacionaria es máxima para cada tipo celular. La secuencia con la que ocurren estos picos de máxima probabilidad para cada atractor es la misma que se observa experimentalmente (Alvarez-Buylla *et al.*, 2006; Alvarez-Buylla *et al.*, 2007b, en preparación). Esto sugiere que la dinámica de esta red, sujeta a ruido y dadas las condiciones iniciales que se observan en la planta, favorece la aparición de esta secuencia. Sin embargo, no se descarta que existan otros factores (Lenhard *et al.*, 2001; Lohmann *et al.*, 2001; Percy *et al.*, 1998) que actúen como señales determinísticas para favorecer la aparición de esta secuencia.

Capítulo 3

Contexto y patrones celulares: tricomas y tricoblastos en la epidermis de *Arabidopsis*

‘As you know most existing organizations stress such primitive reactions as unquestioning obedience. Their agents become addicted to orders. You will receive orders of course and in some cases you will be well advised not to carry out the orders you receive... You will receive your instructions in many ways. From books, street signs, films, in some cases from agents who purport to be and may actually be members of the organization.’

The ticket that exploded, W. S. Burroughs (1968).

Los modelos desarrollados para representar y estudiar la dinámica de las redes de regulación genética, como el presentado en el capítulo 2 (Espinosa-Soto *et al.*, 2004, apéndice A) para la determinación de la identidad celular en los órganos florales, son abstracciones de lo que sucede en células aisladas de otras células. Sin embargo, otro aspecto fundamental del desarrollo de los seres vivos es cómo se organizan los tipos celulares espacialmente.

La disposición espacial de los tipos celulares en un organismo es una característica crítica para su desarrollo y supervivencia. La formación de patrones es el proceso por el cual se organiza espacialmente la diferenciación celular (Wolpert, 1996). Es por esto que, para entender los mecanismos que subyacen la formación de estos patrones celulares, es necesario comprender cómo las células adquieren su identidad.

Existen dos formas en que una célula puede adquirir su identidad: por linaje o por información

CAPÍTULO 3. CONTEXTO Y PATRONES CELULARES: TRICOMAS Y TRICOBLASTOS 32

posicional. El concepto de información posicional parte de suponer un parámetro celular que está relacionado con la posición de la célula en el sistema en desarrollo. La trayectoria que sigan las células en su desarrollo depende del valor de este parámetro (Wolpert, 1996). La concentración de alguna sustancia podría fungir como el parámetro celular que provee la información posicional. En el caso de un cambio monotónico en la concentración de alguna sustancia a lo largo del organismo, la concentración en una célula indica su localización sobre un eje que atraviesa el cuerpo, mientras que la dirección determinada por el gradiente nos indica la polaridad (Wolpert, 1996).

Alternativamente, la especificación de los patrones celulares se puede dar por determinación por linaje (Scheres, 2001; Wolpert, 1996). En este tipo de determinación, las células adquieren su identidad en virtud de propiedades de la célula que la originó en la última división mitótica. La determinación por linaje suele producir un desarrollo en mosaico, en el que después de injertar o eliminar células en un embrión, aquellas que finalmente lo componen retienen su identidad original. A partir de esto se infiere que la identidad celular no depende de los vecinos. Este tipo de determinación es predominante en moluscos, anélidos y nématodos (como *C. elegans*) (Gilbert, 2006). En cambio, la determinación por información posicional parece ser predominante en plantas (Scheres, 2001; Willemsen y Scheres, 2004), aunque abundan también ejemplos en animales (Wolpert, 1996).

En plantas, el movimiento y la formación de gradientes de hormonas, como las auxinas, parecen ser críticos para proveer información posicional para muchos tipos celulares (Aida *et al.*, 2004; Benková *et al.*, 2003; Blilou *et al.*, 2005; Friml, 2003; Friml y Palme, 2002; Friml *et al.*, 2004; Kuhlemeier y Reinhardt, 2001; Reinhardt *et al.*, 2000, 2003; Scheres, 2002). Sin embargo, el movimiento de factores transcripcionales (Bernhardt *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2005; Kurata *et al.*, 2005; Lucas *et al.*, 1995; Sessions *et al.*, 2000; Wada *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2003) sugiere que estos también pueden dar este tipo de información a las células. Sin embargo, la información posicional puede deberse a otro tipo de características contextuales, como la disposición de las células, el número de vecinos, la tensión a la que están expuestas, la geometría y el tamaño del dominio (Farge, 2003; Goodwin, 2001; Wolpert, 1996).

La formación de patrones en la epidermis de *Arabidopsis thaliana* constituye un sistema relativamente sencillo y, por ende, ampliamente estudiado experimentalmente en el que las redes de regulación genética y características contextuales que transmiten la información posicional, interactúan para generar patrones celulares.

3.1. Patrones celulares en la epidermis de *Arabidopsis*

En las hojas de *A. thaliana* los tricomas están distribuidos de una forma no aleatoria que sugiere que el desarrollo de un tricoma inhibe que las células vecinas se conviertan en tricomas (figura 3.1A). Además, se ha encontrado que la decisión de si una célula dará origen a un tricoma no depende del linaje celular (Larkin *et al.*, 1996).

La epidermis de la raíz de *Arabidopsis thaliana*, consiste de dos tipos celulares únicamente: tricoblastos (células con pelo radicular) y atricoblastos (células sin pelo radicular) (Galway *et al.*, 1994). En las Brassicaceae, incluyendo a *Arabidopsis*, la epidermis de la raíz consta de columnas de tricoblastos o atricoblastos (figura 3.1B, Dolan, 1996; Galway *et al.*, 1994).

A pesar de las diferencias en estos patrones celulares, las redes genéticas involucradas en la determinación de los tipos celulares y en su distribución espacial son muy similares (figura 3.1C, ver detalles en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Algunos genes están involucrados en las dos redes (Bernhardt *et al.*, 2003; Di Cristina *et al.*, 1996; Galway *et al.*, 1994; Payne *et al.*, 2000). Por ejemplo, *GL2* determina la identidad de tricomas en las hojas, y la identidad de atricoblastos en las raíces (Di Cristina *et al.*, 1996; Rerie *et al.*, 1994; Szymanski *et al.*, 1998). Además, para cada uno de los genes privativos de uno de los sistemas existe un gen de la misma familia que es privativo del otro sistema y las interacciones entre los genes son similares (Pesch y Hülskamp, 2004), a pesar de pequeñas diferencias (Bernhardt *et al.*, 2005; Kurata *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2003). En conclusión, redes parecidas en su arquitectura y sus componentes generan patrones celulares muy diferentes.

Las diferencias en los patrones se pueden deber a diferencias en la cinética de la actividad de los nodos de la red (Meinhardt, 1982; Murray, 1989). Sin embargo, este no parece ser el caso pues hay

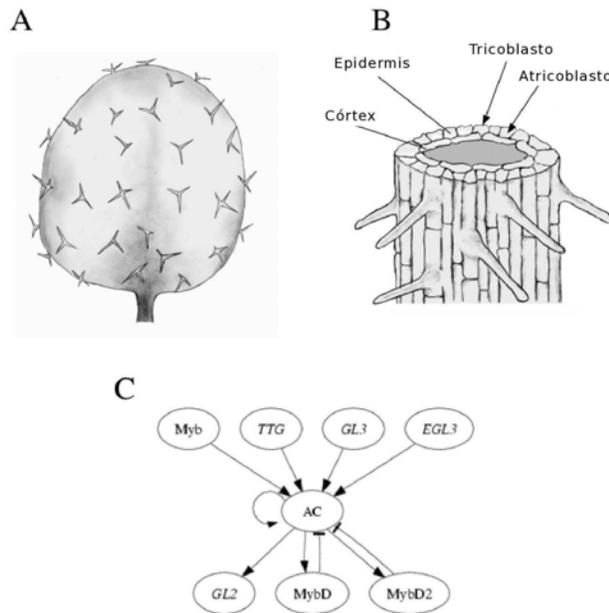


Figura 3.1: Redes genéticas y patrones de tricomas y tricoblastos. (A) Patrón punteado de tricomas en una hoja de *Arabidopsis*. (B) Patrón bandeado de tricoblastos en la raíz de *Arabidopsis*. Los tricoblastos colindan con 2 células corticales. (C) Red genética común en los dos sistemas. Detalles en apéndice D, Benítez *et al.* (2007).

datos experimentales que sugieren que algunos de los elementos privativos son intercambiables (Lee y Schiefelbein, 2001). Alternativamente, diferencias en rasgos contextuales que generaran distintas señales posicionales, podrían subyacer la formación de patrones tan distintos.

En la raíz de *Arabidopsis*, siempre que una célula epidérmica es adyacente a la unión de dos células corticales esta célula será un tricoblasto, mientras que si colinda con solamente una célula cortical generará un atricoblasto (Galway *et al.*, 1994). Esto sugiere la existencia de una señal posicional proveniente del córtex que sesga la determinación de las células de la epidermis. Esta señal ha sido asociada con la actividad de una proteína transmembranal de nombre SCRAMBLED (SCM, Kwak *et al.*, 2005). Debido a que las células de la raíz se dividen en una sola dirección, lo que causa que todas las descendientes de una célula esten dispuestas en una columna a lo largo del eje ápico-basal (Meyerowitz, 1997a), se genera una relación constante entre las distintas capas celulares que no se observa en las hojas.

En este capítulo se pone primero a prueba si, a pesar de las diferencias en las dos redes, estas muestran el mismo comportamiento cualitativo. También se pone a prueba si dos redes idénticas, basadas en las redes que determinan tricomas y tricoblastos en *Arabidopsis*, generan patrones similares a los observados en hojas y raíces cuando están expuestos a diferencias en características contextuales que generan la información posicional.

3.2. Dos arquitecturas, un comportamiento

A pesar de las múltiples coincidencias en las dos redes (ver detalles en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D) existen diferencias sutiles entre ellas. Los genes *GL3* y *EGL3* favorecen el destino de atricoblasto en la raíz y de tricoma en las hojas (Bernhardt *et al.*, 2003; Payne *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2003). En las hojas, *GL3* y *EGL3* se expresan en los tricomas, al igual que *GL2*, como parte de un complejo protéico que activa a este último (el complejo activador, Bernhardt *et al.*, 2003, 2005; Payne *et al.*, 2000). En cambio, en las raíces, *GL3* y *EGL3* activan a *GL2*, pero se expresan en tricoblastos, donde no hay expresión de *GL2* (Bernhardt *et al.*, 2005). Bernhardt *et al.* (2005) también demostraron que el inhibidor *CPC* activa a *GL3* y *EGL3* en la raíz, y que las proteínas de *GL3* y *EGL3* se mueven fuera de las células en las que se expresa el gen en raíz, posiblemente por difusión a través de los plasmodesmos.

No obstante las diferencias, la dinámica de los dos sistemas debe de ser equivalente porque: i) otros elementos del complejo activador (*WER*) sólo se encuentran en los atricoblastos y son un factor limitante para la formación de este complejo, por lo que la concentración de este complejo siempre es mayor en los atricoblastos, ii) la difusión tiende a homogeneizar la concentración de proteínas de *GL3* y *EGL3*, iii) la concentración de la proteína *CPC*, que se une físicamente a *GL3* y *EGL3*, es casi homogénea debido a su difusión (Kurata *et al.*, 2005; Wada *et al.*, 2002), por lo que no sesga la concentración de estas proteínas, y iv) la concentración de *GL3* y *EGL3* está dada por la proteína libre más la unida al complejo activador. En conclusión el secuestro de *GL3* y *EGL3* por el complejo activador, hace que estas proteínas sean más abundantes en los atricoblastos, donde están

los otros elementos del complejo activador. Esto es lo mismo que se encuentra en la red que regula la formación de patrones en las hojas. Simulaciones numéricas también sustentan esta conclusión (figura 2 en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D).

3.3. Implementación como un sistema de Turing

Turing (1952) propuso que sistemas sencillos en los que los elementos reaccionaran entre ellos y se difundieran podían ser suficientes para crear patrones espaciales (y mantenerlos) a partir de condiciones iniciales casi homogéneas. A estos sistemas se les conoce como sistemas de Turing o de reacción-difusión. Los sistemas activador-inhibidor (AI) son una clase de sistemas de reacción-difusión que generan los patrones espaciales mediante autoactivación local e inhibición lateral (Meinhardt, 1982; Nijhout, 2003). En estos sistemas existen, al menos, dos elementos: un activador y un inhibidor. Una condición necesaria para la formación de patrones con un sistema activador-inhibidor es que el inhibidor se difunda más rápidamente que el activador. Además, es necesario que el activador favorezca la síntesis del inhibidor y la propia (auto-activación local), y que el inhibidor limite la síntesis (o la actividad) del activador (inhibición lateral) (ver figura 3.2; Meinhardt, 1982).

La evidencia experimental disponible sugiere que la arquitectura de las redes de regulación genética que subyacen la determinación de tricomas y tricoblastos es compatible con la de un sistema activador-inhibidor (detalles y referencias en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Además, los elementos que corresponden al inhibidor actúan de forma no autónoma, es decir, fuera de la célula en la que se transcriben (Schnittger *et al.*, 1999; Wada *et al.*, 2002, 1997), a diferencia de los genes que corresponden al activador. En el caso del inhibidor de raíz, se ha demostrado que la actividad no autónoma se debe al movimiento de la proteína CPC (Kurata *et al.*, 2005; Wada *et al.*, 2002), posiblemente por difusión a través de los plasmodesmos. La mayor movilidad del inhibidor también es consistente con un sistema activador-inhibidor.

Para modelar estos sistemas se consideró, por simplicidad, que la regulación de los genes invo-

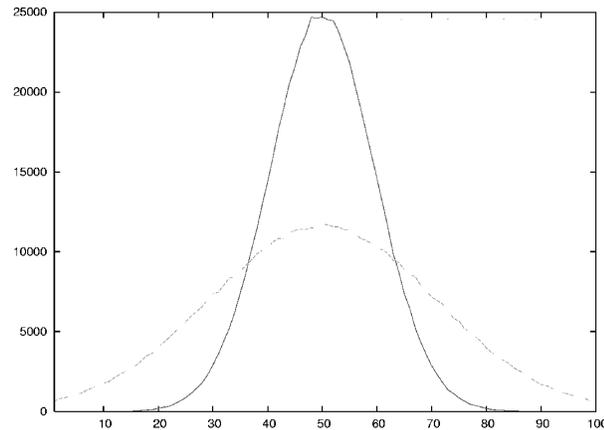


Figura 3.2: Distribución espacial de morfógenos en un sistema activador-inhibidor hipotético. El eje horizontal representa la posición y el vertical a la concentración. La línea continua representa a la concentración de activador y la punteada a la de inhibidor. En el sitio en el que hay una mayor producción de activador se produce también más inhibidor, pero como este difunde más rápido, se distribuye más eficientemente en la vecindad. El activador favorece su propia síntesis más eficientemente en las regiones cercanas a su sitio de máxima producción, y el inhibidor inhibe la síntesis del inhibidor más eficientemente lejos de ese máximo, generándose un patrón estable.

lucrados ocurre principalmente a nivel transcripcional. La regulación transcripcional requiere de la unión de proteínas al DNA, de forma que los promotores evalúan la concentración de las proteínas reguladoras en el núcleo (ver detalles y ecuaciones en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Los dos sistemas, para raíz y hoja, se especificaron de la misma manera, incluso con los mismos valores de parámetros. Los valores de los parámetros se eligieron cuidando únicamente que se cumplieran las condiciones para generar patrones de Turing (Sánchez Garduño y Miramontes, 2007, en preparación).

Se consideraron dos diferencias contextuales entre los sistemas de hoja y raíz. La primera es que en el caso de raíz se consideró un sesgo posicional dependiente de la señal asociada al gen *SCM* y a la disposición de las células corticales (Kwak *et al.*, 2005). Además se consideró que las células de raíz son más largas en la dirección baso-apical. Estas diferencias en la forma de las células se modelaron considerando distribuciones espaciales diferentes para los núcleos; mientras que en el sistema de hoja el núcleo más cercano a otro sobre el eje horizontal estaba a la misma distancia que el núcleo más cercano sobre el eje vertical, en el sistema de raíz el núcleo más cercano a otro

sobre el eje horizontal estaba a una distancia menor que el núcleo más cercano sobre el eje vertical (detalles en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D).

De esta forma se pone a prueba si las diferencias contextuales pueden ser suficientes para que dos redes equivalentes puedan generar patrones tan distintos como los que se observan en la epidermis de hojas y raíces en *Arabidopsis*.

Las ecuaciones fueron resueltas numéricamente usando el método de Euler (Burden y Faires, 1997) con diferencias temporales de 0.01 o 0.001. Las simulaciones con ambos valores resultaron en los mismos patrones. Los programas fueron escritos en el lenguaje de programación C++.

3.4. Equivalencia de redes genéticas que producen patrones distintos

Los sistemas que representan a las redes genéticas que subyacen a la determinación de tricomas y tricoblastos recuperan los patrones correspondientes (detalles en Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Se sabe que los sistemas de reacción difusión generan patrones cualitativamente distintos bajo distintas combinaciones de valores de parámetros, sin embargo, lo que aquí se reporta es cómo sistemas idénticos, con los mismos valores de parámetros, generan patrones diferentes cuando están sujetos a diferentes condiciones contextuales, como lo son la forma de las células y la exposición a una señal posicional proveniente de las células del córtex.

Este modelo tan simple es suficiente para reproducir también fenotipos de mutantes. Cuando se expresa de forma constitutiva (permanente y ectópicamente) en plantas silvestres al gen componente del complejo activador *WER*, se observan patrones de tricoblastos y de expresión de *GL2* idénticos a los de las plantas que no sobreexpresan a este gen. Sin embargo, cuando se sobreexpresa a *WER* en plantas en las que la copia endógena de *WER* no es funcional (por lo que la actividad de este gen depende sólo de la sobreexpresión debida al transgen introducido) hay expresión ectópica de *GL2* (Lee y Schiefelbein, 2002). Si se simula la sobreexpresión del activador en el sistema de raíz, se recuperan patrones muy similares a los originales, de forma análoga a lo que pasa en plantas.

Los patrones de raíz y hoja son, de acuerdo al modelo, robustos con respecto a perturbaciones estocásticas (temporales). Esto sugiere que estos sistemas son capaces de amortiguar el ruido en el desarrollo. Los sistemas también son resistentes a alteraciones en los valores de los parámetros (perturbaciones heredables). Lo anterior sustenta que sistemas tan sencillos como los que aquí se presentan son suficientes para generar tanto robustez genética como robustez ambiental (ver capítulo 2).

3.5. Discusión

Anteriormente, ya se había atribuido la formación de patrones de tricomas y tricoblastos a un sistema activador-inhibidor (Pesch y Hülskamp, 2004; Scheres, 2002). En el apéndice D (Benítez *et al.*, 2007) se integra la evidencia experimental que lo justifica así y se muestra, mediante simulaciones numéricas, la viabilidad de esta propuesta.

También se mostró que la elongación de las células epidérmicas de la raíz posiblemente favorece la estabilización del patrón espacial de tricoblastos. Alternativamente, otras características como un sesgo en la velocidad de la difusión con respecto a la dirección, podrían también estabilizar este patrón.

En principio la señal proveniente del córtex, que sesga la trayectoria de desarrollo de las células epidérmicas de la raíz, podría actuar de una de cuatro formas: positiva o negativamente sobre el activador o el inhibidor. Las simulaciones presentadas aquí sugieren que la forma más sencilla en que una intensidad débil de señal puede generar el patrón observado es si esta actúa positivamente sobre el activador (Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Sin embargo, Kwak y Schiefelbein (2007) dan evidencia experimental de que *SCM*, un gen involucrado en la señal, activa a *CPC*, un componente del inhibidor. No obstante, en ausencia de *SCM* la señal no desaparece por completo (Kwak y Schiefelbein, 2007). Lo anterior sugiere que la señal actúa no sólo a través de *SCM*, por lo que su naturaleza debe ser más compleja de lo que se supone en este trabajo.

Aquí se reporta que dos diferencias contextuales son suficientes para que dos redes idénticas

CAPÍTULO 3. CONTEXTO Y PATRONES CELULARES: TRICOMAS Y TRICOBLASTOS 40

generen patrones cualitativamente distintos, parecidos a los que se observan en la epidermis de hojas y raíces en *Arabidopsis* (ver sección 3.4 y Benítez *et al.*, 2007, apéndice D). Sin embargo, los resultados que aquí se presentan no permiten descartar la existencia (e importancia) de diferencias cinéticas: es posible que tanto diferencias contextuales como diferencias cinéticas se presenten entre ambos sistemas en las plantas.

Este trabajo provee un ejemplo de cómo podrían surgir diferencias fenotípicas en distintos órganos del mismo organismo a partir del cambio en características contextuales. Si extrapolamos este ejemplo, podemos considerar que redes de regulación para la determinación de la identidad celular pueden permanecer inalteradas y al mismo tiempo generar patrones distintos en estructuras homólogas de organismos relacionados bajo la influencia de distintas características contextuales. En conclusión, el cambio morfológico (visto aquí como el cambio de patrones) no se da solamente a través de ajustes finos en parámetros (como lo predice la teoría neodarwinista) o de cambios en la conectividad de las redes de interacciones entre genes (Salazar-Ciudad *et al.*, 2001a), sino también mediante cambios pleiotrópicos en el contexto epigenético (Farge, 2003; Pelletier *et al.*, 2002).

Capítulo 4

Conclusiones

‘The great tragedy of Science – the slaying of a beautiful hypothesis by an ugly fact.’

T. H. Huxley (1894), citado en Monk (2000).

“Do you know, I always thought Unicorns were fabulous monsters, too! I never saw one alive before!”

“Well, now that we have seen each other,” said the Unicorn, “if you’ll believe in me, I’ll believe in you. Is that a bargain?”

Through the looking-glass, L. Carroll (1923).

Durante la segunda mitad del siglo XX aparecieron nuevas y potentes técnicas experimentales que permitieron avanzar muy rápidamente en la caracterización de los elementos genéticos involucrados en el desarrollo. Desde antes, se habían propuesto ya varios modelos teóricos simples para explicar la aparición de patrones durante el desarrollo. Tal es el caso de los sistemas de reacción-difusión (Turing, 1952) y los sistemas activador-inhibidor (Meinhardt, 1982), las redes booleanas aleatorias (Kauffman, 1969, 1991, 1996; Thomas, 1991) y la formación de gradientes de información posicional ocasionados por una fuente localizada de un morfógeno (Crick, 1970, 1971; Wolpert, 1996).

Sin embargo, los mecanismos encontrados con las nuevas técnicas de la genética molecular del desarrollo no son simples y elegantes, como los predichos por los estudios teóricos, sino sumamente complejos (Monk, 2000). Tal es el caso de la segmentación en los insectos de bandas germinales largas, como *Drosophila*. Este proceso requiere la formación de bandas de expresión de genes como *eve*, las cuales aparecen de forma regular a lo largo del embrión. Los sistemas de reacción-difusión

predecirían que todas las bandas de expresión de este gen se forman de la misma manera y dependen de los mismos genes. Sin embargo, se ha demostrado que la formación de cada banda es independiente (Carroll, 2005; Monk, 2000). Esto quiere decir que se pueden encontrar mutantes en los que falte una banda, pero el resto se mantenga en la posición habitual. Esto ocurre debido a la presencia de elementos reguladores en cis (*'enhancers'*) específicos para cada banda de expresión de *eve*, así como de muchos otros genes involucrados en el desarrollo (Carroll, 2005; Gilbert, 2006). La falta de coincidencias entre las predicciones teóricas y los hallazgos experimentales contribuyó a un distanciamiento entre ambos enfoques (Monk, 2000). Además, los avances experimentales tan grandes parecen sugerir a algunos que pronto se entenderán cabalmente los procesos de desarrollo a nivel molecular y los estudios teóricos resultarán prescindibles (ver por ejemplo Carroll, 2005).

Por lo tanto, para la gran mayoría de los biólogos experimentales, las propuestas teóricas de la segunda mitad del siglo XX parecían convertirse en una curiosidad matemática, por no cumplirse sus predicciones (de forma predominante) en los seres vivos (por ejemplo Carroll, 2005). Sin embargo, estos estudios son muy valiosos pues, sin contar con información experimental, promovieron los estudios experimentales en genética molecular del desarrollo. Esto es así pues esos estudios sugerían que los mecanismos que subyacían al desarrollo eran simples y genéricos, y por lo tanto era factible encontrar la base molecular de la morfogénesis y los principios generales de este proceso en los organismos multicelulares (von Dassow y Meir, 2004).

A pesar de los éxitos de la investigación experimental, aún no comprendemos cómo es que se organiza la actividad de múltiples genes y factores ambientales que da como resultado la diferenciación celular y la morfogénesis. Los diagramas y esquemas que dominan la literatura experimental hasta fechas recientes han resultado inadecuados e insuficientes para integrar la información de los genes y sus interacciones epistáticas y entender cómo actúan de manera dinámica durante el desarrollo. Para este fin, las representaciones formales y los modelos computacionales actualmente están convirtiéndose en herramientas indispensables (Alvarez-Buylla *et al.*, 2007a, apéndice C).

Además, tradicionalmente, la biología del desarrollo ha sostenido un organicismo holista como

modelo de realidad, pero se ha sustentado en una metodología reduccionista (Gilbert, 2006). Esto ha ocurrido así porque es difícil (o imposible) diseñar experimentos en genética molecular del desarrollo con un enfoque no reduccionista. Sin embargo, el entendimiento de los fenómenos biológicos exige más que el estudio de las partes que interactúan entre sí (Goodwin, 2001; Solé y Goodwin, 2000). Los análisis matemáticos y computacionales resultan herramientas muy útiles para integrar la evidencia experimental disponible y estudiar a los sistemas de desarrollo como un todo.

Recientemente ha habido estudios computacionales que sugieren por qué los organismos no se desarrollan de la forma más simple. Si bien los mecanismos como los sistemas activador-inhibidor son fáciles de construir, estos son poco robustos ante alteraciones heredables (Salazar-Ciudad *et al.*, 2001a,b). Además, cuando una característica es adaptativa, su robustez en el desarrollo puede evolucionar, aún cuando la selección natural no actúe directamente sobre la robustez (Waddington, 1953, 1956; Wagner, 1996). Esto ha sugerido que aunque los mecanismos simples pueden ser los que originan las novedades evolutivas, estos pueden ser sustituidos paulatinamente por mecanismos más complejos y más robustos (Salazar-Ciudad *et al.*, 2001a). Entonces, como los mecanismos que subyacen la morfogénesis pueden evolucionar (Arthur, 2003; Gilbert, 2006; Kirschner y Gerhart, 2005; Salazar-Ciudad *et al.*, 2001a; von Dassow *et al.*, 2000; Waddington, 1953, 1956, 1957; Wagner, 1996), la componente histórica es importante para encontrar los mecanismos de desarrollo que actualmente se presentan en los seres vivos, algo que había sido considerado como una desviación innecesaria por algunos exponentes de la biología teórica (por ejemplo, Goodwin, 1994, 2001).

Por todo lo anterior, resulta imprescindible desarrollar modelos computacionales anclados en datos experimentales e integrarlos a los conocimientos generados por los enfoques teóricos (ver por ejemplo, Albert y Othmer, 2003; Davidson *et al.*, 2002a,b; Eldar *et al.*, 2002; Jönsson *et al.*, 2005, 2006; Li *et al.*, 2006; Mendoza y Alvarez-Buylla, 1998; Salazar-Ciudad *et al.*, 2001b; von Dassow *et al.*, 2000).

En conclusión, si bien la utilidad y necesidad de los estudios experimentales de genética molecular del desarrollo es incuestionable, esta disciplina requiere también de análisis formales y computacio-

nales para integrar la información, encontrar deficiencias e inconsistencias en ella y para estudiar el sistema como un todo, estudiando la acción concertada de muchos componentes moleculares que resulta en los patrones morfogénéticos observados. Esto será posible para redes estudiadas a detalle experimentalmente que se comporten como módulos funcionales. Esto es así porque las redes responsables de funciones semiautónomas, se pueden estudiar independientemente de otros elementos (apéndice B, Chaos *et al.*, 2006; von Dassow y Meir, 2004).

En este trabajo se estudiaron dos módulos particulares que subyacen la determinación del tipo celular en flores y raíces en la planta *Arabidopsis thaliana*. De ambos proyectos se desprendieron hipótesis sobre interacciones no descritas experimentalmente, las cuales podían ser verificadas o refutadas en un laboratorio. Algunas, meses después de la conclusión de ese trabajo, fueron verificadas experimentalmente. Este es el caso de la autoactivación del gen *AG* (capítulo 2, apéndice A, Espinosa-Soto *et al.*, 2004; Gómez-Mena *et al.*, 2005) y de la necesidad de que los genes *SEPALLATA* estuvieran regulados por un gen de identidad de meristemo floral (apéndice A; Espinosa-Soto *et al.*, 2004; Schmid *et al.*, 2003). En cambio, otra hipótesis fue descartada experimentalmente durante el proceso de revisión del artículo en que se proponía. Este fue el caso de la predicción de que la señal proveniente de las células corticales en la raíz de *Arabidopsis* actuaba sobre un elemento del activador (capítulo 3, apéndice D, Benítez *et al.*, 2007; Kwak y Schiefelbein, 2007). Esto es un ejemplo de cómo si bien los análisis computacionales permiten detectar posibles soluciones a las deficiencias experimentales de forma más rápida que por medio de experimentos, los primeros son falibles. Es por esto que la confirmación de muchos de los hallazgos que se hagan en estudios computacionales tendrá que hacerse por la vía experimental, por lo que los dos tipos de estudios deben retroalimentarse mutua y constantemente.

En estos proyectos se estudiaron propiedades que inciden en la capacidad de evolucionar: la robustez (genética y ambiental) (capítulo 2) y la dependencia del contexto celular en la formación de patrones (capítulo 3). En el capítulo 2 se muestra que la red de regulación genética de la determinación de la identidad celular en los órganos florales adquiere los patrones de actividad genética que se observan en *Arabidopsis* y que es capaz de hacerlo ante perturbaciones heredables (robustez

genética) y ante perturbaciones no heredables (robustez ambiental). Además, se reporta que la canalización con respecto a perturbaciones no heredables es completa: es imposible encontrar flores en una planta silvestre en la que ocurran tipos celulares primordiales distintos a los que se encuentran habitualmente. El hallazgo de esta robustez permite proponer una explicación tentativa para la conservación aparente de los mecanismos que regulan la formación de la estructura floral en muchos linajes de angiospermas (apéndice A, Espinosa-Soto *et al.*, 2004). En el capítulo 3 se presenta cómo dos sistemas equivalentes pueden producir patrones distintos cuando están expuestos a condiciones contextuales contrastantes (apéndice D, Benítez *et al.*, 2007). Esto sugiere que para explicar los cambios morfológicos la evolución de las características contextuales puede ser, en algunos casos al menos, tan importante como la evolución de las redes de relaciones epistáticas. Por lo anterior, este trabajo sustenta que los estudios computacionales serán útiles y actuarán de forma complementaria a los análisis experimentales para aclarar muchas de las preguntas que quedan pendientes para explicar cómo funcionan los sistemas de desarrollo y cómo evolucionan los fenotipos.

Bibliografía

- Aida, M., Beis, D., Heidstra, R., Willemsen, V., Blilou, I., Galinha, C., Nussaume, L., Noh, Y., Amasino, R., y Scheres, B. (2004). The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche. *Cell*, 119:109–120.
- Al-Shebaz, I. A. y O’Kane, S. L. J. (2002). Taxonomy and phylogeny of Arabidopsis (Brassicaceae). En Somerville, C. R. y Meyerowitz, E. M., editores, *The Arabidopsis Book*, páginas 1–22. American Society of Plant Biologists, Rockville, MD.
- Albert, R., Jeong, H., y Barabási, A.-L. (1999). Diameter of the world wide web. *Nature (London)*, 401:130–131.
- Albert, R., Jeong, H., y Barabási, A.-L. (2000). Error and attack tolerance of complex networks. *Nature (London)*, 406:378–382.
- Albert, R. y Othmer, H. G. (2003). The topology of the regulatory interactions predicts the expression pattern of the segment polarity genes in *Drosophila melanogaster*. *J. Theor. Biol.*, 223:1–18.
- Aldana, M. (2003). Boolean dynamics of networks with scale-free topology. *Physica D*, 185:45–66.
- Aldana, M. y Cluzel, P. (2003). A natural class of robust networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:8710–8714.
- Alon, U. (2003). Biological networks: the tinkerer as an engineer. *Science*, 301:1866–1867.
- Alvarez-Buylla, E. R., Benítez, M., Balleza Dávila, E., Chaos, A., Espinosa-Soto, C., y Padilla-Longoria, P. (2007a). Gene regulatory network models for plant development. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 10:83–91.
- Alvarez-Buylla, E. R., Benítez, M., Chaos, A., Cortés-Poza, Y., Espinosa-Soto, C., y Padilla-Longoria, P. (2006). De genes a patrones: una propuesta metodológica. En García-Colín Scherer,

- L., Dagdug, L., Miramontes, P., y Rojo, A., editores, *La Física biológica en México: temas selectos*, páginas 473–486. El Colegio Nacional, México, D.F.
- Alvarez-Buylla, E. R., Benítez, M., Chaos, A., Cortés-Poza, Y., Espinosa-Soto, C., y Padilla-Longoria, P. (2007b). Floral Morphogenesis: Stochastic Explorations of a Gene Network's Epigenetic Landscape. En preparación.
- Ambrose, B. A., Lerner, D. R., Ciceri, P., Padilla, C. M.Ñ., Yanofsky, M. F., y Schmidt, R. J. (2000). Molecular and genetic analyses of the *Silky1* gene reveal conservation of floral organ specification between Eudicots and Monocots. *Mol. Cell*, 5:569–579.
- Arabidopsis Genome Initiative (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature (London)*, 408:796–815.
- Arthur, W. (2003). Developmental constraint and natural selection. *Evol. Dev.*, 5:117–118.
- Artzy-Randrup, Y., Fleishman, J., Ben-Tal, N., y Stone, L. (2004). Comment on 'Network motifs: simple building blocks of complex networks' and 'Superfamilies of evolved and designed networks'. *Science*, 305:1107.
- Barabási, A.-L. (2002). *Linked: The new science of networks*. Perseus Publishing, Cambridge, MA.
- Barabási, A.-L. y Albert, R. (1999). Emergence of Scaling in Random Networks. *Science*, 286:509–512.
- Behzad, M., Chartrand, G., y Lesniak-Foster, L. (1979). *Graphs & digraphs*. Prindle, Weber, & Schmidt, Boston, MA.
- Beldade, P. y Brakefield, P. M. (2003). The difficulty of agreeing about constraints. *Evol. Dev.*, 5:119–120.
- Benítez, M. y Espinosa-Soto, C. (2005). Emergence of local connection patterns and other food web traits: an evolutionary model. *Complex Systems Summer School Final Project Papers, Santa Fe Institute, Santa Fe, NM*, <http://www.santafe.edu/education/csss/csss05/papers/index.php>.
- Benítez, M., Espinosa-Soto, C., Padilla-Longoria, P., Díaz, J., y Alvarez-Buylla, E. R. (2007). Equivalent genetic regulatory networks in different contexts recover contrasting spatial cell patterns that resemble those in *Arabidopsis* root and leaf epidermis: a dynamic model. *Int. J. Dev. Biol.*, 51:139–155.

- Benková, E., Michniewicz, M., Sauer, E., Teichmann, T., Seifertová, D., Jürgens, G., y Friml, J. (2003). Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*, 115:591–602.
- Bernhardt, C., Lee, M. M., Gonzalez, A., Zhang, F., Lloyd, A., y Schiefelbein, J. (2003). The bHLH genes GLABRA3 (GL3) and ENHANCER OF GLABRA3 (EGL3) specify epidermal cell fate in the Arabidopsis root. *Development*, 130:6431–6439.
- Bernhardt, C., Zhao, M., Gonzalez, A., Lloyd, A., y Schiefelbein, J. (2005). The bHLH genes GL3 and EGL3 participate in an intercellular regulatory circuit that controls cell patterning in the Arabidopsis root epidermis. *Development*, 132:291–298.
- Blilou, I., Xu, J., Wildwater, M., Willemsen, V., Paponov, I., Friml, J., Heldstra, R., Aida, M., Palme, K., y Scheres, B. (2005). The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature (London)*, 433:39–44.
- Bombliès, K., Dagenais, N., y Weigel, D. (1999). Redundant enhancers mediate transcriptional repression of AGAMOUS by APETALA2. *Dev. Biol.*, 216:260–264.
- Bowman, J. (1994). Introduction to Arabidopsis. En Bowman, J., editor, *Arabidopsis: An Atlas of morphology and development*. Springer-Verlag, New York, NY.
- Bowman, J. L., Alvarez, J., Weigel, D., Meyerowitz, E. M., y Smyth, D. R. (1993). Control of flower development in Arabidopsis thaliana by APETALA1 and interacting genes. *Development*, 119:721–743.
- Burden, R. y Faires, J. (1997). *Numerical Analysis*. Brooks/Cole Publishing Co., Pacific Grove, CA, 6ª edición.
- Burroughs, W. S. (1968). *The ticket that exploded*. Grove Press, New York, NY.
- Carroll, L. (1923). *Through the looking-glass*. The Children Classics. John W. Clute, Mexico, D.F.
- Carroll, S. B. (2005). *Endless forms most beautiful. The new science of Evo Devo and the making of the animal kingdom*. W. W. Norton & Company, New York, NY.
- Chaos, A., Aldana, M., Espinosa-Soto, C., García Ponce de León, B., Garay Arroyo, A., y Alvarez-Buylla, E. R. (2006). From genes to flower patterns and evolution: dynamic models of gene regulatory networks. *J. Plant Growth Regul.*, 25:278–289.

- Cheverud, J. M. (2000). Detecting epistasis among quantitative trait loci. En Wolf, J. B., Brodie III, E. D., y Wade, M. J., editores, *Epistasis and the evolutionary process*, páginas 58–91. Oxford University Press, New York, NY.
- Ciliberti, S., Martin, O. C., y Wagner, A. (2007). Robustness can evolve gradually in complex regulatory gene networks with varying topology. *PLoS Comput. Biol.*, 3:e150164–173.
- Coen, E. S. y Meyerowitz, E. M. (1991). The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature (London)*, 353:31–37.
- Conant, G. C. y Wagner, A. (2003). Convergent evolution of gene circuits. *Nat. Genet.*, 34:264–266.
- Crepet, W. L. (2000). Progress in understanding angiosperm history, success, and relationships: Darwin's abominably "perplexing phenomenon". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:12939–12941.
- Crick, F. H. (1970). Diffusion in embryogenesis. *Nature (London)*, 225:420–422.
- Crick, F. H. (1971). The scale of pattern formation. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 25:429–438.
- Davidson, E., Rast, J., Oliveri, P., Ransick, A., Calestani, C., Yuh, C.-H., Minokawa, T., Amore, G., Hinman, V., Arenas-Mena, C., Otim, O., Brown, C., Livi, C., Lee, P., Revilla, R., Schilstra, M., Clarke, P., Rust, A., Pan, Z., Arnone, M., Rowen, L., Cameron, R., McClay, D., Hood, L., y Bolouri, H. (2002a). A provisional regulatory gene network for specification of endomesoderm in the sea urchin embryo. *Dev. Biol.*, 246:162–190.
- Davidson, E. H., Rast, J. P., Oliveri, P., Ransick, A., Calestani, C., Yuh, C., Minokawa, T., Amore, G., Hinman, V., Arenas-Mena, C., Otim, O., Brown, C. T., Livi, C. B., Lee, P. Y., Revilla, R., Rust, A. G., Pan, Z., Schilstra, M. J., Clarke, P. J. C., Arnone, M. I., Rowen, L., Cameron, R. A., McClay, D. R., Hood, L., y Bolouri, H. (2002b). A genomic regulatory network for development. *Science*, 295:1669–1678.
- de Visser, J. A. G. M., Hermisson, J., Wagner, G. P., Meyers, L. A., Bagheri-Chaichian, H., Blanchard, J. L., Chao, L., Cheverud, J. M., Elena, S. F., Fontana, W. F., Gibson, G., Hansen, T. F., Krakauer, D., Lewontin, R. C., Ofria, C., Rice, S. H., von Dassow, G., Wagner, A., y Whitlock, M. C. (2003). Perspective: Evolution and detection of genetic robustness. *Evolution*, 57:1959–1972.

- Di Cristina, M., Sessa, G., Dolan, L., Linstead, P., Baima, S., Ruberti, I., y Morelli, G. (1996). The Arabidopsis Athb-10 (GLABRA2) is an HD-Zip protein required for regulation of root hair development. *Plant J.*, 10:393–402.
- Diestel, R. (2000). *Graph theory*. Graduate texts in Mathematics. Springer-Verlag, New York, NY, 2ª edición.
- Dilcher, D. (2000). Toward a new synthesis: Major evolutionary trends in the angiosperm fossil record. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:7030–7036.
- Doerner, P. (2000). Plant stem cells: The only constant thing is change. *Curr. Biol.*, 10:R826–R829.
- Doerner, P. (2001). Plant meristems: A ménage à trois to end it all. *Curr. Biol.*, 11:R785–R787.
- Dolan, L. (1996). Pattern in the root epidermis: an interplay of diffusible signals and cellular geometry. *Ann. Bot.*, 77:547–553.
- Dunne, J. A., Williams, R. J., y Martinez, N. D. (2002). Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99:12917–12922.
- Eldar, A., Dorfman, R., Weiss, D., Ashe, H., Shilo, B., y Barkai, N. (2002). Robustness of the BMP morphogen gradient in Drosophila embryonic patterning. *Nature (London)*, 419:304–308.
- Espinosa-Soto, C., Padilla-Longoria, P., y Alvarez-Buylla, E. R. (2004). A gene regulatory network model for cell-fate determination during Arabidopsis thaliana flower development that is robust and recovers experimental gene expression profiles. *Plant Cell*, 16:2923–2939.
- Farge, E. (2003). Mechanical induction of twist in the Drosophila foregut/stomodaeal primordium. *Curr. Biol.*, 13:1365–1377.
- Featherstone, D. E. y Broadie, K. (2002). Wrestling with pleiotropy: Genomic and topological analysis of the yeast gene expression network. *BioEssays*, 24:267–274.
- Ferrario, S., Immink, R. G. H., y Angenent, G. C. (2004). Conservation and diversity in flower land. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 7:84–91.
- Friml, J. (2003). Auxin transport - shaping the plant. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 6:7–12.
- Friml, J. y Palme, K. (2002). Polar auxin transport - old questions and new concepts? *Plant Mol. Biol.*, 49:273–284.

- Friml, J., Yang, X., Michniewicz, M., Weijers, D., Quint, A., Tietz, O., Benjamins, R., Ouwkerk, P. B. F., Ljung, K., Sandberg, G., Hooykaas, P. J. J., Palme, K., y Offringa, R. (2004). A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux. *Science*, 306:862–865.
- Galway, M. E., Masucci, J. D., Lloyd, A. M., Walbot, V., Davis, R. W., y Schiefelbein, J. W. (1994). The TTG gene is required to specify epidermal cell fate and cell patterning in the Arabidopsis root. *Dev. Biol.*, 166:740–754.
- Gerhart, J. y Kirschner, M. (2007). The theory of facilitated variation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104:8582–8589.
- Gilbert, S. F. (2006). *Developmental biology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 8ª edición.
- Gómez-Mena, C., de Folter, S., Costa, M. M. R., Angenent, G. C., y Sablowski, R. (2005). Transcriptional program controlled by the floral homeotic gene AGAMOUS during early organogenesis. *Development*, 132:429–438.
- Goodwin, B. (1994). Homology, Development and Heredity. En Hall, B., editor, *Homology: The hierarchical basis of comparative Biology*. Academic Press, San Diego, CA.
- Goodwin, B. (2001). *How the leopard changed its spots. The evolution of complexity*. Princeton Science Library, Princeton, NJ, 2ª edición.
- Gould, S. J. (1977). *Ontogeny and Phylogeny*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Gould, S. J. y Lewontin, R. C. (1979). The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 205:581–598.
- Gustafson-Brown, C., Savidge, B., y Yanofsky, M. F. (1994). Regulation of the Arabidopsis floral homeotic gene APETALA1. *Cell*, 76:131–143.
- Harary, F. (1969). *Graph theory*. Addison-Wesley series in Mathematics. Addison-Wesley Publishing Co., Reading, MA.
- Honma, T. y Goto, K. (2001). Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature (London)*, 409:525–529.

- Huang, T., Böhlenius, H., Eriksson, S., Parcy, F., y Nilsson, O. (2005). The mRNA of the Arabidopsis gene FT moves from leaf to shoot apex and induces flowering. *Science*, 309:1694–1696.
- Irish, V. (2000). Variations on a theme: flower development and evolution. *Genome Biol.*, 1(2):reviews 1015.1–1015.4.
- Jeong, H., Mason, S. P., Barabási, A.-L., y Oltvai, Z.Ñ. (2001). Lethality and centrality in protein networks. *Nature (London)*, 411:41–42.
- Jeong, H., Tombor, B., Albert, R., Oltvai, Z.Ñ., y Barabási, A.-L. (2000). The large scale organization of metabolic networks. *Nature (London)*, 407:651–654.
- Jönsson, H., Heisler, M., Reddy, G., Agrawal, V., Gor, V., Shapiro, B., Mjolsness, E., y Meyerowitz, E. (2005). Modeling the organization of the WUSCHEL expression domain in the shoot apical meristem. *Bioinformatics*, 21 Suppl. 1:i232–i240.
- Jönsson, H., Heisler, M., Shapiro, B., Meyerowitz, E., y Mjolsness, E. (2006). An auxin-driven polarized transport model for phyllotaxis. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 103:1633–1638.
- Kauffman, S. A. (1969). Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *J. Theor. Biol.*, 22:437–467.
- Kauffman, S. A. (1991). Antichaos and adaptation. *Sci. Am.*, 265:64–71.
- Kauffman, S. A. (1996). *At home in the Universe: The search for laws of complexity*. Penguin books, U.K.
- Kenrick, P. (1999). The family tree flowers. *Nature (London)*, 402:358–359.
- Kirschner, M. y Gerhart, J. (1998). Evolvability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:8420–8427.
- Kirschner, M. W. y Gerhart, J. C. (2005). *The plausibility of life. Resolving Darwin's dilemma*. Yale University Press, New Haven, CN.
- Kramer, E. y Irish, V. (1999). Evolution of genetic mechanisms controlling petal development. *Nature (London)*, 399:144–148.
- Kramer, E. y Irish, V. (2000). Evolution of the petal and stamen developmental programs: evidence from comparative studies of the lower eudicots and basal angiosperms. *Int. J. Plant Sci.*, 161:S29–S40.

- Kuhlemeier, C. y Reinhardt, D. (2001). Auxin and phyllotaxis. *Trends Plant Sci.*, 6(5):187–189.
- Kuo, P. D., Banzhaf, W., y Leier, A. (2006). Network topology and the evolution of dynamics in an artificial genetic regulatory network model created by whole genome duplication and divergence. *Biosystems*, 85:177–200.
- Kurata, T., Ishida, T., Kawabata-Awai, C., Noguchi, M., Hattori, S., Sano, R., Nagasaka, R., Tomimaga, R., Koshino-Kimura, Y., Kato, T., Sato, S., Tabata, S., Okada, K., y Wada, T. (2005). Cell-to-cell movement of the CAPRICE protein in Arabidopsis root epidermal cell differentiation. *Development*, 132:5387–5398.
- Kwak, S.-H. y Schiefelbein, J. (2007). The role of the SCRAMBLED receptor-like kinase in patterning the Arabidopsis root epidermis. *Dev. Biol.*, 302:118–131.
- Kwak, S.-H., Shen, R., y Schiefelbein, J. (2005). Positional signaling mediated by a receptor-like kinase in Arabidopsis. *Science*, 307:1111–1113.
- Larkin, J. C., Young, N., Prigge, M., y Marks, M. D. (1996). The control of trichome spacing and number in Arabidopsis. *Development*, 122:997–1005.
- Lee, M. M. y Schiefelbein, J. (2001). Developmentally distinct MYB genes encode functionally equivalent proteins in Arabidopsis. *Development*, 128:1539–1546.
- Lee, M. M. y Schiefelbein, J. (2002). Cell Pattern in the Arabidopsis Root Epidermis Determined by Lateral Inhibition with Feedback. *Plant Cell*, 14:611–618.
- Lenhard, M., Bonhert, A., Jürgens, G., y Laux, T. (2001). Termination of stem cell maintenance in Arabidopsis floral meristems by interactions between WUSCHEL and AGAMOUS. *Cell*, 105:805–808.
- Li, S., Assmann, S. M., y Albert, R. (2006). Predicting essential components of signal transduction networks: A dynamic model of guard cell abscisic acid signaling. *PLoS Biol.*, 4:e3120001–e3120017.
- Logan, M. (2003). Finger or toe: the molecular basis of limb identity. *Development*, 130:6401–6410.
- Lohmann, J. U., Hong, R. L., Hobe, M., Busch, M. A., Percy, F., Simon, R., y Weigel, D. (2001). A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in Arabidopsis. *Cell*, 105:793–803.

- Lucas, W. J., Bouche-Pillon, S., Jackson, D., Nguyen, L., Baker, L., Ding, B., y Hake, S. (1995). Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science*, 270:1980–1983.
- Mayer, K. F. X., Schoof, H., Haecker, A., Lenhard, M., Jürgens, G., y Laux, T. (1998). Role of WUSCHEL in Regulating Stem Cell Fate in the Arabidopsis Shoot Meristem. *Cell*, 95:805–815.
- Maynard Smith, J., Burian, R., Kauffman, S. A., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B. C., Lande, R., Raup, D., y Wolpert, L. (1985). Developmental constraints and evolution. *Q. Rev. Biol.*, 60:265–287.
- Meinhardt, H. (1982). *Models of biological pattern formation*. Academic Press, London.
- Meir, E., von Dassow, G., Munro, E., y Odell, G. M. (2002). Robustness, flexibility, and the role of lateral inhibition in the neurogenic network. *Curr. Biol.*, 12:778–786.
- Mendoza, L. y Alvarez-Buylla, E. R. (1998). Dynamics of the genetic regulatory network of Arabidopsis thaliana flower morphogenesis. *J. Theor. Biol.*, 193:307–319.
- Mendoza, L., Thieffry, D., y Alvarez-Buylla, E. R. (1999). Genetic control of flower morphogenesis in Arabidopsis thaliana: a logical analysis. *Bioinformatics*, 15:593–606.
- Mendoza, L. y Xenarios, I. (2006). A method for the generation of standardized qualitative dynamical systems of regulatory networks. *Theor. Biol. Med. Model.*, 3:13–30.
- Meyer, V. G. (1966). Floral abnormalities. *Bot. Rev.*, 32:165–195.
- Meyerowitz, E. M. (1997a). Genetic control of cell division patterns in developing plants. *Cell*, 88:299–308.
- Meyerowitz, E. M. (1997b). Plants and the logic of development. *Genetics*, 145:5–9.
- Meyerowitz, E. M. (2001). Prehistory and history of Arabidopsis research. *Plant Physiol.*, 125:15–19.
- Meyerowitz, E. M. (2002). Plants compared to animals: The broadest comparative study of development. *Science*, 295:1482–1485.
- Michaels, S. D. y Amasino, R. (1999). FLOWERING LOCUS C encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. *Plant Cell*, 11:949–956.

- Milo, R., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Levitt, R., y Alon, U. (2004a). Response to comment on 'Network motifs: simple building blocks of complex networks' and 'Superfamilies of evolved and designed networks'. *Science*, 305:1107d.
- Milo, R., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Levitt, R., Shen-Orr, S., Ayzenshtat, I., Sheffer, M., y Alon, U. (2004b). Superfamilies of evolved and designed networks. *Science*, 303:1538–1542.
- Milo, R., Shen-Orr, S., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Chklovskii, D., y Alon, U. (2002). Network Motifs: Simple Building Blocks of Complex Networks. *Science*, 298:824–827.
- Monk, N. A. M. (2000). Elegant hypothesis and inelegant fact in developmental biology. *Endeavour*, 24:170–173.
- Montoya, J. M. y Solé, R. V. (2002). Small world patterns in food webs. *J. Theor. Biol.*, 214:405–412.
- Murray, J. D. (1989). *Mathematical Biology*. Springer, Berlin.
- Nijhout, H. (2003). Polymorphic mimicry in *Papilio dardanus*: mosaic dominance, big effects, and origins. *Evol. Dev.*, 5:579–592.
- Parcy, F., Nilsson, O., Busch, M. A., Lee, I., y Weigel, D. (1998). A genetic framework for floral patterning. *Nature (London)*, 395:561–566.
- Pastor-Satorras, R., Smith, E., y Solé, R. V. (2003). Evolving protein interaction networks through gene duplication. *J. Theor. Biol.*, 222:199–210.
- Payne, T. C., Zhang, F., y Lloyd, A. M. (2000). GL3 encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with GL1 and TTG1. *Genetics*, 156:1349–1362.
- Pelaz, S., Ditta, G. S., Baumann, E., Wisman, E., y Yanofsky, M. F. (2000). B and C floral organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature (London)*, 405:200–203.
- Pelaz, S., Tapia-López, R., Alvarez-Buylla, E. R., y Yanofsky, M. F. (2001). Conversion of leaves into petals in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.*, 11:182–184.
- Pelletier, L., 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 (2002). Golgi biogenesis in *Toxoplasma gondii*. *Nature*, 418:548–552.

- Pesch, M. y Hülskamp, M. (2004). Creating a two-dimensional pattern de novo during Arabidopsis trichome and root hair initiation. *Curr. Opin. Genet. Devel.*, 14:422–427.
- Pinyopich, A., Ditta, G. S., Savidge, B., Liljegren, S. J., Baumann, E., Wisman, E., y Yanofsky, M. F. (2002). Assessing the redundancy of MADS-box genes during carpel and ovule development. *Nature (London)*, 424:85–88.
- Queitsch, C., Sangster, T. A., y Lindquist, S. (2002). Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature (London)*, 417:618–624.
- Redner, S. (1998). How popular is your paper? An empirical study of the citation distribution. *Euro. Phys. Journal, B*, 4:131–134.
- Reinhardt, D., Mandel, T., y Kuhlemeier, C. (2000). Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *Plant Cell*, 12:507–518.
- Reinhardt, D., Pesce, E., Stieger, P., Mandel, T., Baltensperger, K., Bennett, M., Traas, J., Friml, J., y Kuhlemeier, C. (2003). Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. *Nature (London)*, 426:255–260.
- Rerie, W. G., Feldman, K. A., y Marks, M. D. (1994). The GLABRA2 gene encodes a homeodomain protein required for normal trichome development in Arabidopsis. *Genes Dev.*, 8:1388–1399.
- Rice, S. H. (2000). The evolution of developmental interactions: epistasis, canalization and integration. En Wolf, J. B., Brodie III, E. D., y Wade, M. J., editores, *Epistasis and the evolutionary process*, páginas 82–98. Oxford University Press, New York, NY.
- Rudall, P. (1987). *Anatomy of flowering plants: An introduction to structure and development*. Edward Arnold, U.S.A.
- Rutherford, S. L. y Lindquist, S. (1998). Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature (London)*, 396:336–342.
- Sablowski, R. (2004). Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? *Trends Cell Biol.*, 14:605–611.
- Salazar-Ciudad, I. (2001). *Models de xarxes géniques en el desenvolupament embrionari i l'evolució – Gene network models in embryony development and evolution*. Tesis de doctorado, Universitat de Barcelona.

- Salazar-Ciudad, I. (2006). Developmental constraints vs. variational properties: how pattern formation can help to understand evolution and development. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 306B:107–125.
- Salazar-Ciudad, I. y Jernvall, J. (2002). A gene network model accounting for development and evolution of mammalian teeth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99:8116–8120.
- Salazar-Ciudad, I., Newman, S., y Solé, R. V. (2001a). Phenotypic and dynamical transitions in model genetic networks I. Emergence of patterns and genotype-phenotype relationships. *Evol. Dev.*, 3:84–94.
- Salazar-Ciudad, I., Solé, R. V., y Newman, S. A. (2001b). Phenotypic and dynamical transitions in model genetic networks II. Application to the evolution of segmentation mechanisms. *Evol. Dev.*, 3:95–103.
- Samach, A., Onouchi, H., Gold, S. E., Ditta, G. S., Schwarz-Sommer, Z., Yanofsky, M. F., y Coupland, G. (2000). Distinct roles of CONSTANS target genes in reproductive development of Arabidopsis. *Science*, 288:1613–1616.
- Sánchez Garduño, F. y Miramontes, P. (2007). *Matemáticas y las formas biológicas. De la difusión a la emergencia de patrones*. Matemáticas para las Ciencias de la Vida. Grupo Editorial Iberoamérica, México, D.F. En preparación.
- Scheres, B. (2001). Plant cell identity. The role of position and lineage. *Plant Physiol.*, 125:112–114.
- Scheres, B. (2002). Plant patterning: TRY to inhibit your neighbors. *Curr.Biol.*, 12:R804–R806.
- Schlosser, G. (2004). The role of modules in development and evolution. En Schlosser, G. y Wagner, G. P., editores, *Modularity in development and evolution*, páginas 519–582. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Schmalhausen, I. I. (1949). *Factors of Evolution. The theory of stabilizing selection*. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Schmid, M., Uhlenhaut, N. H., Godard, F., Demar, M., Bressan, R., Weigel, D., y Lohmann, J. U. (2003). Dissection of floral induction pathways using global expression analysis. *Development*, 130:6001–6012.

- Schnittger, A., Folkers, U., Schwab, B., Jürgens, G., y Hulskamp, M. (1999). Generation of a spacing pattern: the role of TRIPTYCHON in trichome patterning in Arabidopsis. *Plant Cell*, 11:1105–1116.
- Sessions, A., Yanofsky, M. F., y Weigel, D. (2000). Cell-cell signaling and movement by the floral transcription factors LEAFY and APETALA1. *Science*, 289:779–781.
- Simon, R., Igeno, M. I., y Coupland, G. (1996). Activation of floral meristem identity genes in Arabidopsis. *Nature (London)*, 384:59–62.
- Slack, J. M. W. (2002). Conrad Hal Waddington: the last Renaissance biologist? *Nat. Rev. Genet.*, 3:889–895.
- Solé, R. V. y Goodwin, B. (2000). *Signs of life. How complexity pervades Biology*. Perseus Books, New York, NY.
- Solé, R. V. y Valverde, S. (2006). Are network motifs the spandrels of cellular complexity? *Trends Ecol. Evol.*, 21:419–422.
- Szymanski, D. B., Jilk, R. A., Pollock, S. M., y Marks, M. D. (1998). Control of GL2 expression in Arabidopsis leaves and trichomes. *Development*, 125:1161–1171.
- Templeton, A. R. (2000). Epistasis and complex traits. En Wolf, J. B., Brodie III, E. D., y Wade, M. J., editores, *Epistasis and the evolutionary process*, páginas 41–57. Oxford University Press, New York, NY.
- Theißen, G. (2001). Development of floral organ identity: stories from the MADS house. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4:75–85.
- Theißen, G., Becker, A., Di Rosa, A., Kanno, A., Kim, J. T., Münster, T., Winter, K., y Saedler, H. (2000). A short history of MADS-box genes in plants. *Plant Mol. Biol.*, 42:115–149.
- Theißen, G. y Saedler, H. (1995). MADS-box genes in plant ontogeny and phylogeny: Haeckel's biogenetic law revisited. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 5:628–639.
- Thomas, R. (1991). Regulatory networks seen as asynchronous automata: A logical description. *J. Theor. Biol.*, 153:1–23.

- Turing, A. M. (1952). The chemical basis of morphogenesis. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 237:37–72.
- Vandenbussche, M., Zethof, J., Royaert, S., Weterings, K., y Gerats, T. (2004). The duplicated B-class heterodimer model: whorl-specific effects and complex genetic interactions in *Petunia hybrida* flower development. *Plant Cell*, 16:741–754.
- von Dassow, G. y Meir, E. (2004). Exploring modularity with dynamic models of gene networks. En Schlosser, G. y Wagner, G. P., editores, *Modularity in development and evolution*, páginas 244–287. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- von Dassow, G., Meir, E., Munro, E. M., y Odell, G. M. (2000). The segment polarity network is a robust developmental module. *Nature (London)*, 406:188–193.
- von Dassow, G. y Munro, E. M. (1999). Modularity in animal development and evolution: elements of a conceptual framework for EvoDevo. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 285:307–325.
- von Dassow, G. y Odell, G. M. (2002). Design and constraints of the *Drosophila* segment polarity module: robust spatial patterning emerges from intertwined cell state switches. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)*, 294:179–215.
- Wada, T., Kurata, T., Tominaga, R., Koshino-Kimura, Y., Tachibana, T., Goto, K., Marks, M. D., Shimura, Y., y Okada, K. (2002). Role of a positive regulator of root hair development, CAPRICE, in *Arabidopsis* root epidermal cell differentiation. *Development*, 129:5409–5419.
- Wada, T., Tachibana, T., Shimura, Y., y Okada, K. (1997). Epidermal cell differentiation in *Arabidopsis* determined by a Myb homolog, CPC. *Science*, 277:1113–1116.
- Waddington, C. H. (1953). Genetic assimilation of an acquired character. *Evolution*, 7:118–126.
- Waddington, C. H. (1956). Genetic assimilation of the Bithorax phenotype. *Evolution*, 10:1–13.
- Waddington, C. H. (1957). *The strategy of the genes. A discussion of some aspects of theoretical biology*. MacMillan, New York, NY.
- Wagner, A. (1996). Does evolutionary plasticity evolve? *Evolution*, 50:1008–1023.
- Wagner, A. (2001). The yeast protein interaction network evolves rapidly and contains few redundant duplicate genes. *Mol. Biol. Evol.*, 18:1283–1292.

- Wagner, A. (2003). How the global structure of protein interaction networks evolves. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270:457–466.
- Wagner, A. (2005). *Robustness and evolvability in living systems*. Princeton Studies in Complexity. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Wagner, A. y Fell, D. A. (2001). The small world inside large metabolic networks. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 268:1803–1810.
- Wagner, G. P. y Mezey, J. G. (2004). The role of genetic architecture constraints in the origin of variational modularity. En Schlosser, G. y Wagner, G. P., editores, *Modularity in development and evolution*, páginas 338–358. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Weisstein, E. W. (1999). Attractor. *MathWorld - A Wolfram Web Resource*, <http://mathworld.wolfram.com/Attractor.html>.
- Willemsen, V. y Scheres, B. (2004). Mechanisms of pattern formation in plant embryogenesis. *Annu. Rev. Genet.*, 38:587–614.
- Winter, K., Becker, A., Münster, T., Kim, J. T., Saedler, H., y Theißen, G. (1999). MADS-box genes reveal that gnetophytes are more closely related to conifers than to flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:7342–7347.
- Wolf, J. B., Brodie III, E. D., y Wade, M. J., editores (2000). *Epistasis and the evolutionary process*. Oxford University Press, New York, NY.
- Wolpert, L. (1996). One hundred years of positional information. *Trends Genet.*, 12:359–364.
- Wu, X., Dinneny, J. R., Crawford, K. M., Rhee, Y., Citovsky, V., Zambryski, P. C., y Weigel, D. (2003). Modes of intercellular transcription factor movement in the Arabidopsis apex. *Development*, 130:3735–3745.
- Wuensche, A. (1998). Genomic regulation modeled as a network with basins of attraction. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 3:89–102.
- Yu, H., Ito, T., Zhao, Y., Peng, J., Kumar, P., y Meyerowitz, E. M. (2004). Floral homeotic genes are targets of gibberelin signaling in flower development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101:7827–7832.

- Zhang, F., Gonzalez, A., Zhao, M., Payne, C., y Lloyd, A. (2003). A network of redundant bHLH proteins functions in all TTG1-dependent pathways of Arabidopsis. *Development*, 130:4659–4669.

Índice alfabético

- AGAMOUS*
autoactivación, 23
- Activador-inhibidor, 36, 41
Anemia falciforme, 2
Angiospermas, 19
radiación adaptativa, 19
Antirrhinum majus, 19
Arabidopsis thaliana, 6, 14, 19
como sistema modelo, 6–7
Arco, 10
Arista, 10
Atractor, 8, 9
Atricioblastos, 33
- Brassicaceae, 6, 33
- Canalización, 8, 8, 16
completa, 18, 25
Capacidad de evolucionar, 4, 18, 44
y robustez genética, 17
Características homólogas, 5, 18
Conexión, *véase* Arista
Convergencia evolutiva, 5, 6, 21
Cuenca de atracción, 8
- Decisiones ABC, 27
Deriva génica, 6
Desarrollo
como un sistema dinámico, 7–9
definición, 1
en plantas, 5–6
estudio comparativo, 5
origen, 5
restricciones por el, *véase* Restricciones por el desarrollo
robustez, *véase* Robustez, del desarrollo
ruido, *véase* Ruido en el desarrollo
y evolución, *véase* Evolución, y desarrollo
- Dicotiledóneas basales, 20
Dientes
morfogénesis, 14
- Diferenciación
por información posicional, 32
en plantas, 32
por linaje, 31–32
- Duplicación, 12
- Epistasis, 2
Estomas
apertura, 14
Eudicotiledóneas derivadas, 19–21
Euler
método de, 38
- Evolución
in silico, 12
de redes, 11
y desarrollo, 1–5
- Fenotipo
definición, 1
- Filogenia, 2
Flor, 19
órganos florales, 19
plan estructural, 19
- Genética
molecular del desarrollo, 1, 9, 13, 41–43
- Genes homeóticos, 8
Gimnospermas, 26
- Haeckel, E., 2, 3
Heterocronía, 3
Heterometría, 3
Heterotipía, 3
Heterotopía, 3
- Información posicional, 32, 41
Kauffman, S.A., 9
Ley biogenética, 2

- Ley de potencias, 11
- Modelo ABC, **20**, 19–21
 - conservación, 20, 28
 - vigencia, 27
- Modularidad, 18
- Monocotiledóneas, 20
- Multicelularidad
 - origen, 5
- Mutación, 2, 12, 16
- Nicho de células troncales, 5
- Nodo, 10
 - fuelle, 10
 - sumidero, 10
- Norma de reacción, 17
- Ontogenia, 2
- Paisaje epigenético, 7, 8, **8**, 9, 29
- Patrón de interacción local, 12
- Patrones celulares, 31
- Petunia hybrida*, 29
- Plasmodesmos, 35, 36
- Polaridad
 - de segmentos
 - en *Drosophila melanogaster*, 13
 - dorso-ventral
 - en *Drosophila melanogaster*, 14
- Ramones, 16
- Rasgos simples Mendelianos, 2
- Red
 - de determinación de órganos florales, 21, **22**
 - de regulación genética, 9
 - dinámica, 13–15
 - estructura, 11–12
 - modelos, 13, 31
 - definición, 10
 - dirigida, 10, **11**
 - no dirigida, 10, **11**
- Redes booleanas aleatorias, 9, 41
- Reglas lógicas, 22
- Regulación transcripcional, 37
- Restricciones por el desarrollo, **3**, 4, 17
- Robustez
 - ambiental, 17, 39, 45
 - evolución, 18
 - definición, 16
- del desarrollo, 4, 8
 - en sistemas biológicos, 16
 - fenotípica, 16
 - genética, 16, 26, 39, 45
 - evolución, 18
 - y conservación, 18
- Ruido en el desarrollo, 17, 30, 39
- Secuencia morfogenética, 29
- Selección natural, 3, 4, 12, 18, 26
- Sistema de reacción difusión, *véase* Sistema de Turing
- Sistema de Turing, 36, 41
- Subgráfica, 12, 12
- Transición a la floración, 25
- Tricoblastos, 33
- Turing, A.M., 7, 36
- Vértice, *véase* Nodo
- Waddington, C.H., 7–9