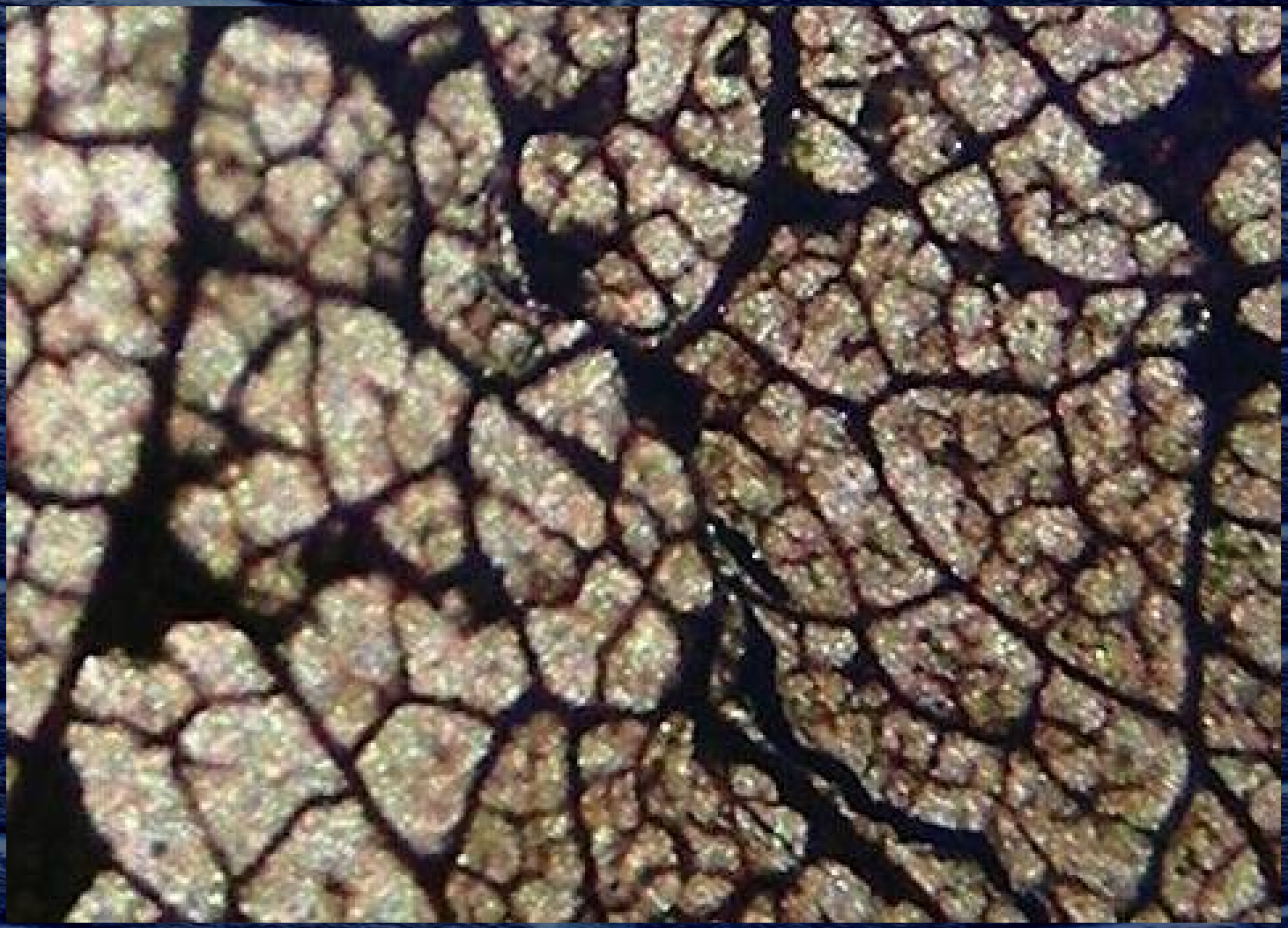
Nervaduras: ¿Qué ve un físico cuando mira una hoja?

Fabiana Laguna

Centro Atómico Bariloche y CONICET
Bariloche, Río Negro, Argentina

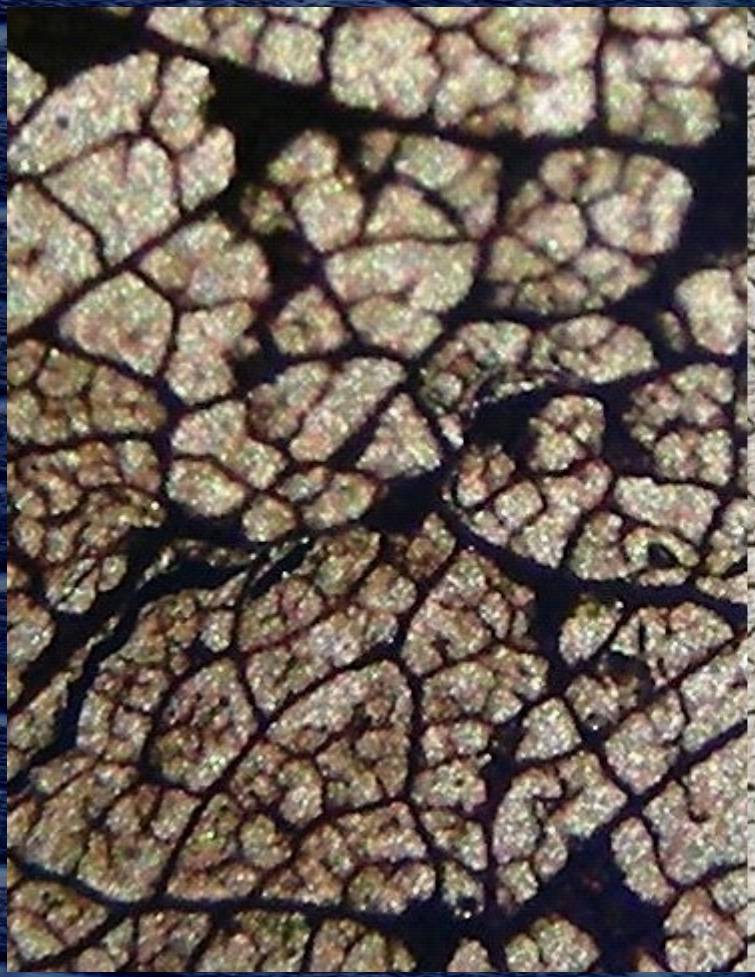
lagunaf@cab.cnea.gov.ar

Eduardo Jagla, Steffen Bohn



Hoja de ciruelo comida por un gusanito

¿Qué tienen en común?



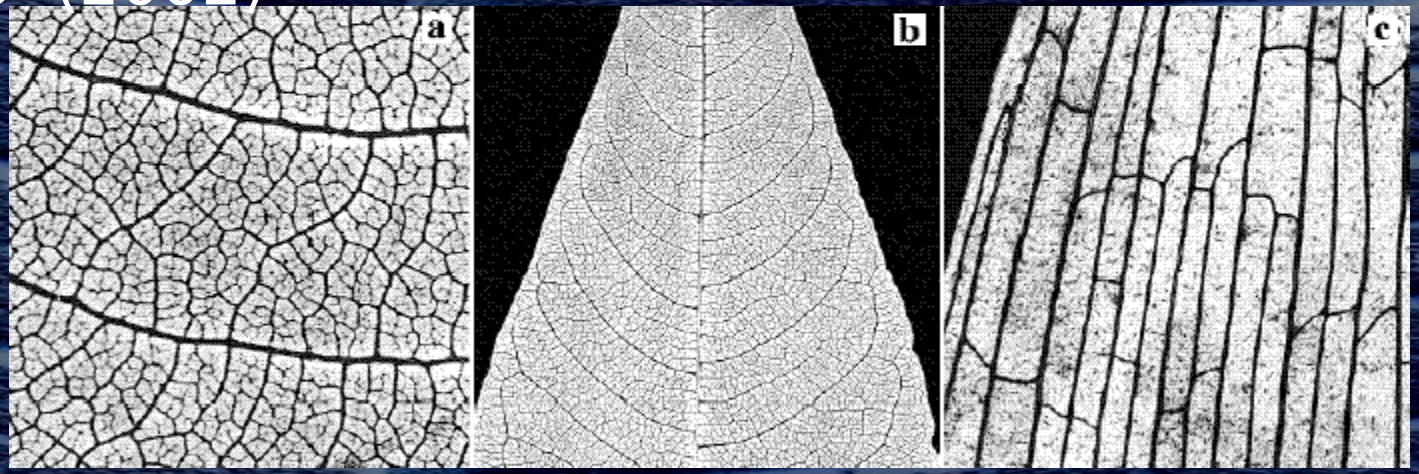
Nervaduras en hoja de ciruelo

Grietas en barro reseco

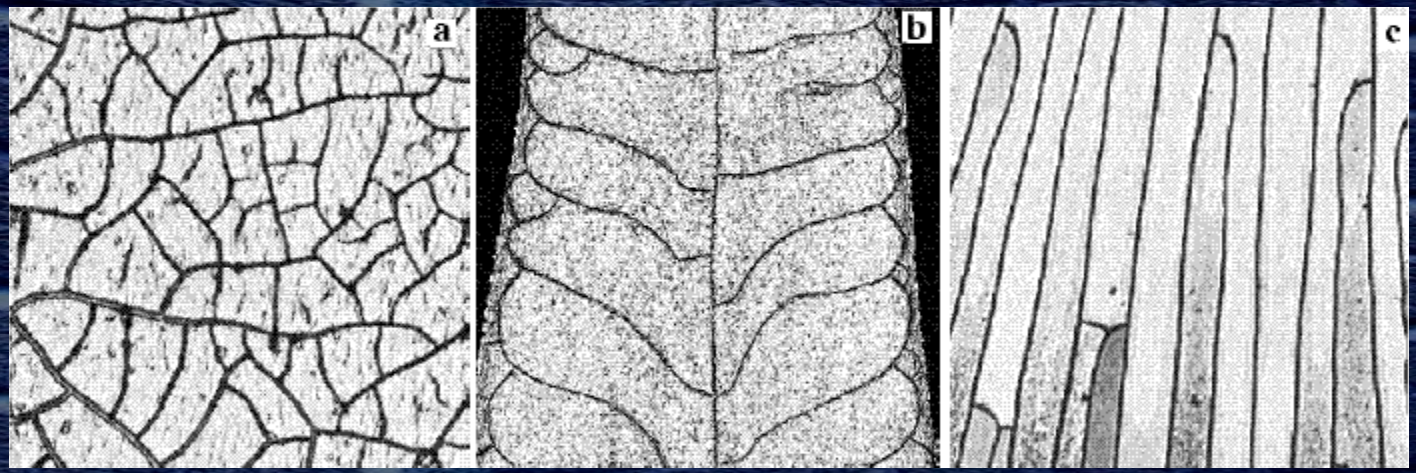
Una comparación cualitativa más seria

"The leaf venation as formed in a tensorial field", Couder *et al.*, EPJ B **28** (2002)

Patrón de nervaduras



Patrón de fracturas

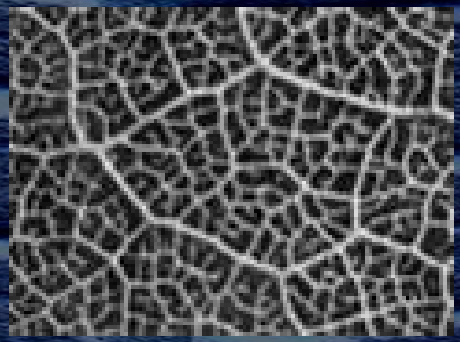


Experimentos con gel secado en contacto con un sustrato

Patrones de nervaduras

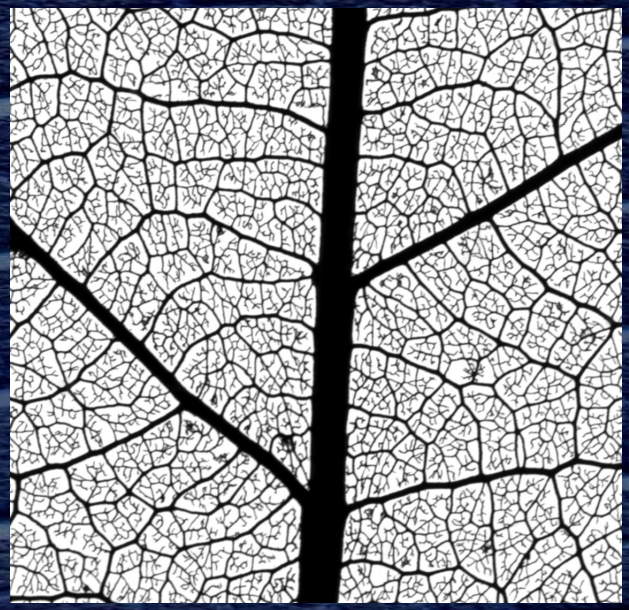
Algunas características comunes:

- Son estructuras jerárquicas
- Sólo las primeras generaciones son repetitivas
- Forman una red (caminos cerrados)



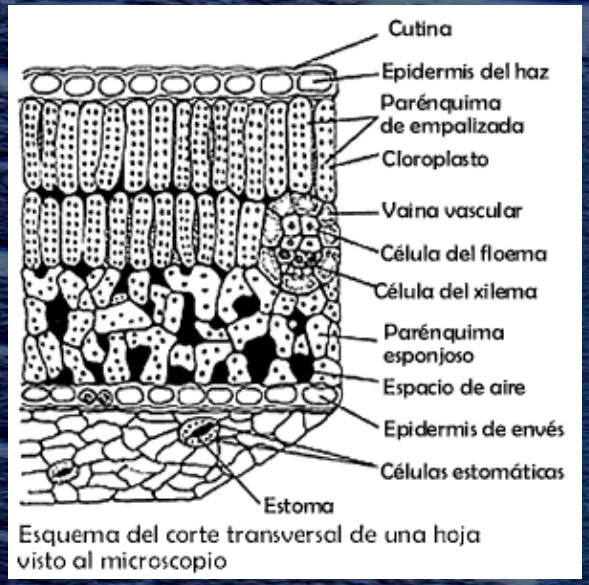
⬇

- Son muy robustos y tienen redundancia de caminos de flujo.

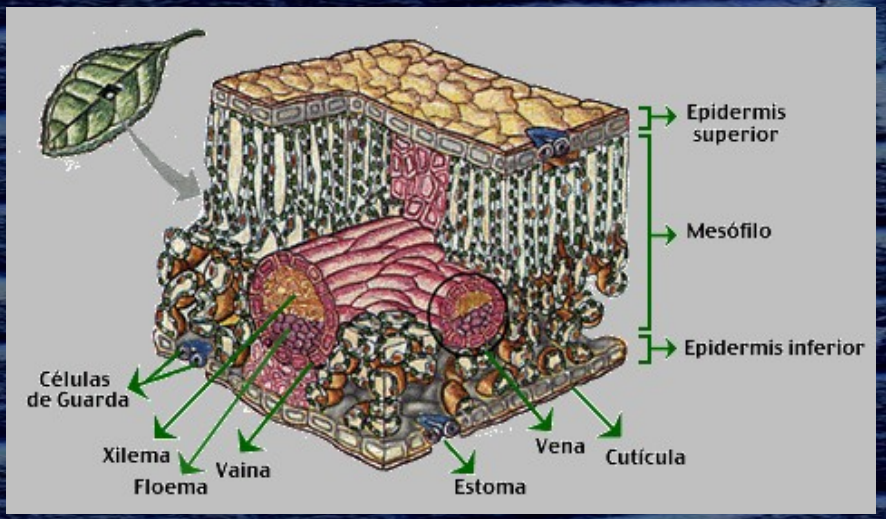


Primera simplificación: Estructura de una hoja

Así es:

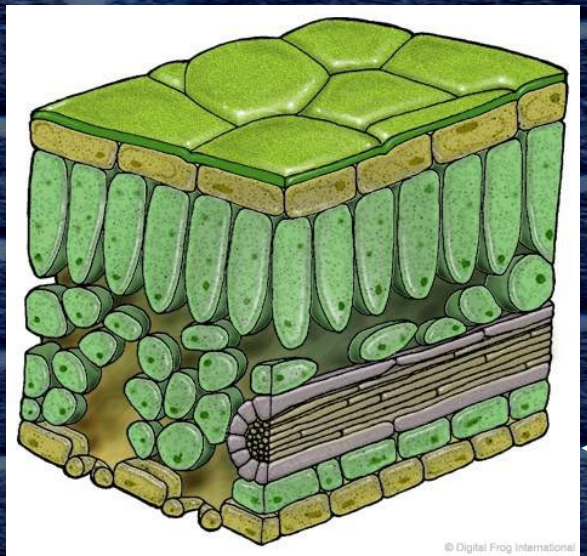


Esquema del corte transversal de una hoja visto al microscopio



Así la vemos:

mesófilo



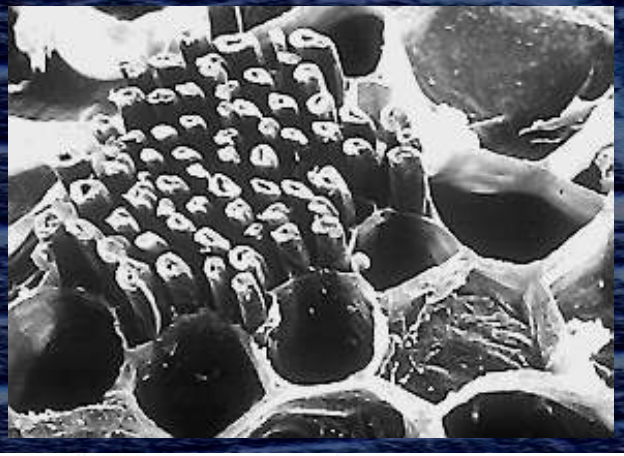
epidermis

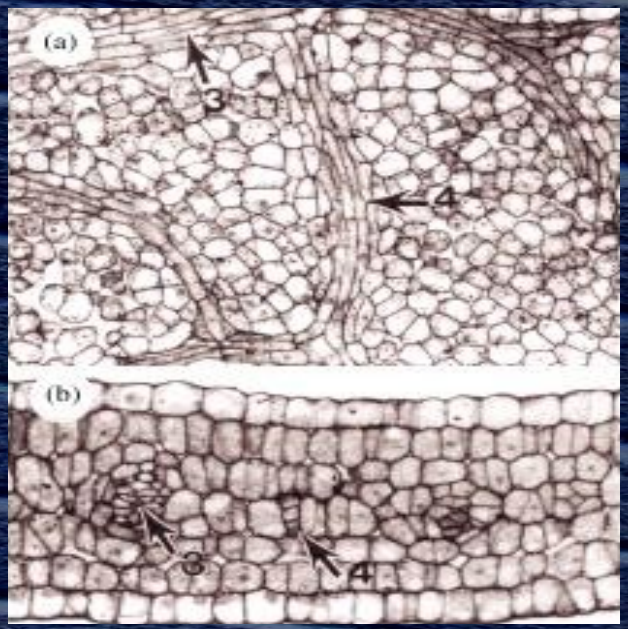
nervadura

epidermis

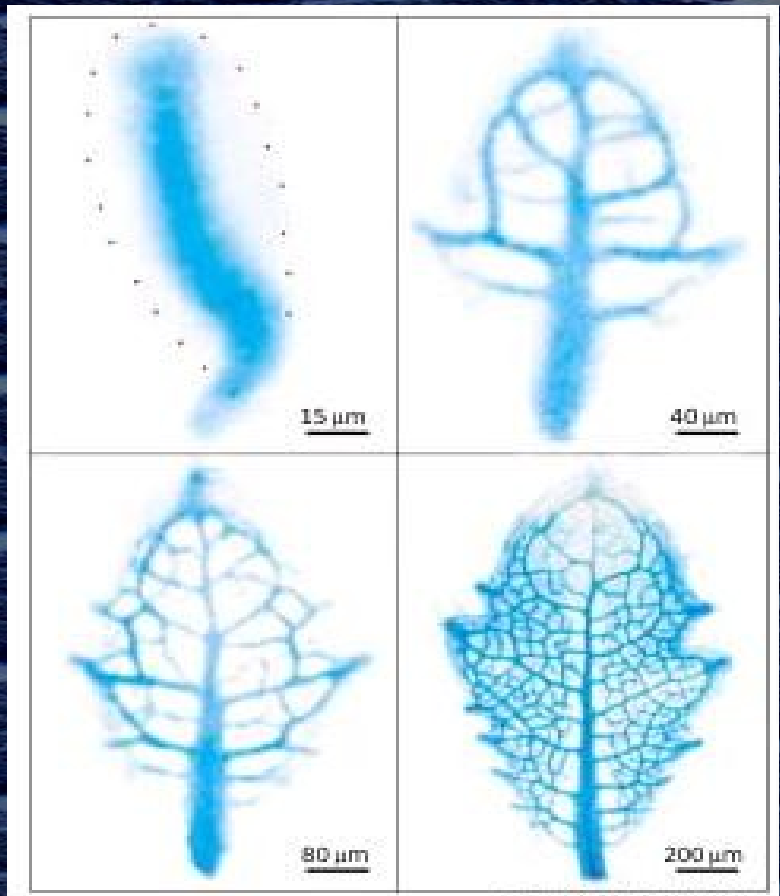
Formación de nervaduras

Nervadura en una hoja adulta





Precursor (procambio)



Está demostrado que las células procambiales son los precursores de las nervaduras. ¿Qué mecanismo las origina?

La auxina y las nervaduras

Sachs (1975) descubrió el rol fundamental de la auxina.

Esta hormona de crecimiento tiene un efecto muy importante en el patrón de nervaduras.

La auxina se sintetiza en la hoja en crecimiento y fluye hacia su base.

Las mutaciones que afectan el transporte de auxina dan lugar a modificaciones significativas del patrón de nervaduras.

Esos resultados dieron origen a la Hipótesis de canalización para la formación de nervaduras

Hipótesis de Canalización

La diferenciación celular es el resultado de un proceso difusivo

Se canaliza en venas y procambios

Altas concentraciones o altos valores de transporte activan la diferenciación celular

En su forma mas simple, este modelo no describe los patrones observados en la naturaleza

Modificaciones a la hipótesis de canalización

Rolland-Lagan y Prusinkiewicz: Fuentes localizadas de auxina moviéndose durante el desarrollo de las nervaduras.

Dimitrov y Zuker: Producción homogénea de auxina. Los nuevos segmentos crecen coordinadamente y se encuentran en los puntos de máxima concentración de auxina.

Runnions (2005): Algoritmo basado en la idea anterior.

Pero las fuentes de auxina aún no se encontraron

Otros modelos que incluyen la auxina

Feugier (2005): Los caminos cerrados son causados por un "bifurcador de flujo" que podría estar contenido en células con alta concentración de auxina.

Pero los patrones obtenidos con este modelo no son realistas.

Meinhardt (1976): Modelo de reacción-difusión de al menos dos sustancias químicas distintas.

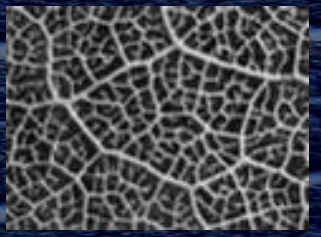
Pero el transporte de sustancias es difusivo y no polar (a diferencia de lo que sucede con la auxina). Además, las sustancias involucradas aún no han sido encontradas.

Las modificaciones a la hipótesis de canalización necesarias para explicar la existencia de una estructura reticular son poco genéricas y bastante antinaturales. El mecanismo en el cual se basan requiere ajustes demasiado finos.

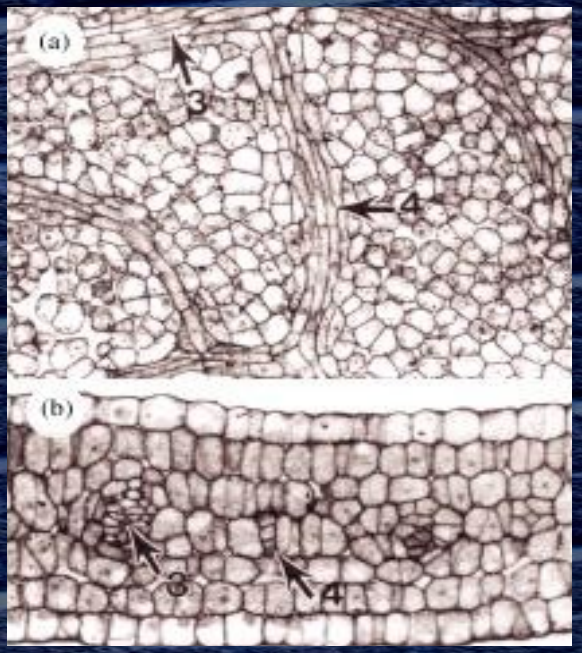
Formación de nervaduras: Hipótesis mecánica

Couder *et al.*, 2002

La estructura reticular sugiere la presencia de un campo tensorial en la generación de nervaduras.

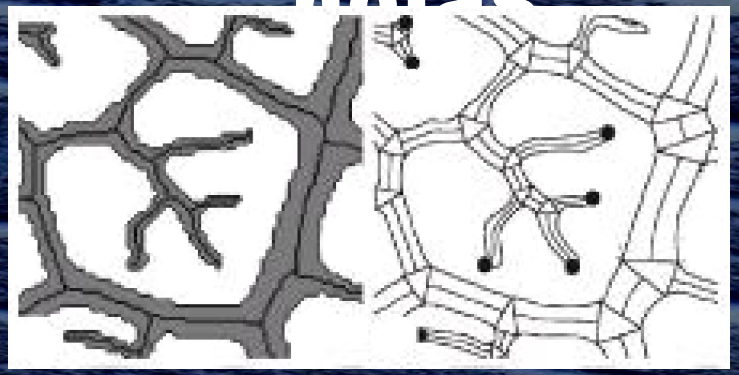


Este campo sería el de campo de tensiones mecánicas que está presente en la hoja en crecimiento.



Evidencias: Micrografías y patrones de fractura.

Resultados estadísticos en hojas



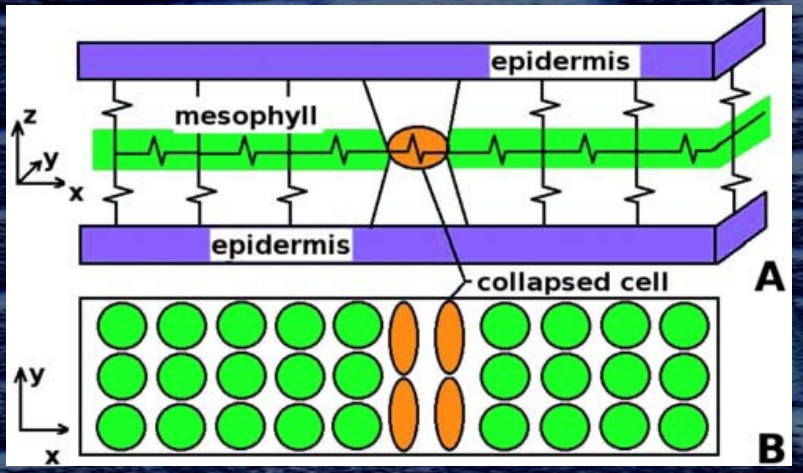
"Constitutive property of local organization of leaf venation networks", Bohn *et al.*, PRE **65** (2002)

Procesamiento numérico de imágenes para analizar cuantitativamente la red de nervaduras.

La relación entre radios y ángulos puede expresarse de una manera simple usando una analogía mecánica (modelo de fuerzas).

Este principio local es universal: todos lo patrones de nervaduras estudiados obedecen la misma ley.

Nuestras suposiciones



- Existen dos tipos de capas de células: la capa interna (o mesófilo) y las dos epidermis.
- Epidermis: perfectamente elástica
  soporta tensiones expansivas
  está acoplada al mesófilo
- Las velocidades de crecimiento de la epidermis y el mesófilo no son iguales: el mesófilo crece más rápidamente que la epidermis.
- Esto genera tensiones compresivas en el mesófilo que pueden forzar a las células a crecer y dividirse en direcciones particulares, favorecidas por el campo local de tensiones.
- Nervaduras: se forman dentro del mesófilo
  son células que colapsaron en una dirección
- Las células colapsadas difieren de las intactas en sus propiedades mecánicas.

Energía libre: Elasticidad lineal + campo de fase Φ

Mesófilo = capa elástica con un comportamiento altamente no lineal asociado a un colapso local irreversible.

regularización acoplamiento sustrato

$$F=\int d\boldsymbol{r}\,\{f_0(\Phi) + C\,|\nabla \Phi|^2 + \alpha \Phi\, \nabla .\boldsymbol{u} + f_{el}(\boldsymbol{u}) + \gamma\, \boldsymbol{u}^2\}$$

Energía de Ginzburg-Landau para Φ:

$$f_0(\Phi) = r_o \Phi^2 + u_o \Phi^4$$

Energía libre elástica para el estado de referencia con $\Phi = 0$:

$$fel\,(\boldsymbol{u}) = K\,(\nabla .\boldsymbol{u})^2 + \mu\, \Sigma\,(\partial_j u_{i\,+} \partial_i u_j \; - \delta_{ij}\, \nabla .\boldsymbol{u})^2$$

Módulo de bulk $\boldsymbol{K}$ constante.

Módulo de shear: $\mu = \mu_0 + \mu_1 \Phi$

Modelo efectivo: no lineal y no local en Φ

El campo elástico puede ser integrado y eliminado del modelo a primer orden en μ_1

Inhomogeneidades elásticas

$$F = \int dr \, \{ f(\Phi) + C \, | \nabla \Phi |^2 + F_{inh}(\Phi) + F_{ex}(\Phi) \}$$

$$f(\Phi) = f_0(\Phi) - \Phi \, \alpha^2 \, (\Delta / L_0 \Delta - \gamma) \, \Phi$$

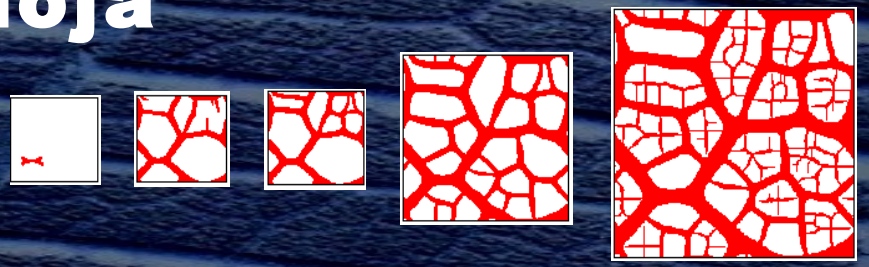
Deformaciones anisotrópicas

$$L_0 = K + \mu_0$$

Ecuación dinámica $\longrightarrow$ $d\Phi / dt = - \delta F / \delta \Phi$

El sistema busca la configuración que minimiza su energía bajo las condiciones externas impuestas

El crecimiento de la hoja



Φ (▪) → estado "normal" = tejido intacto

Φ ( ) → estado " colapsado" = nervaduras

El crecimiento se simula con un reescaleo de las distancias:

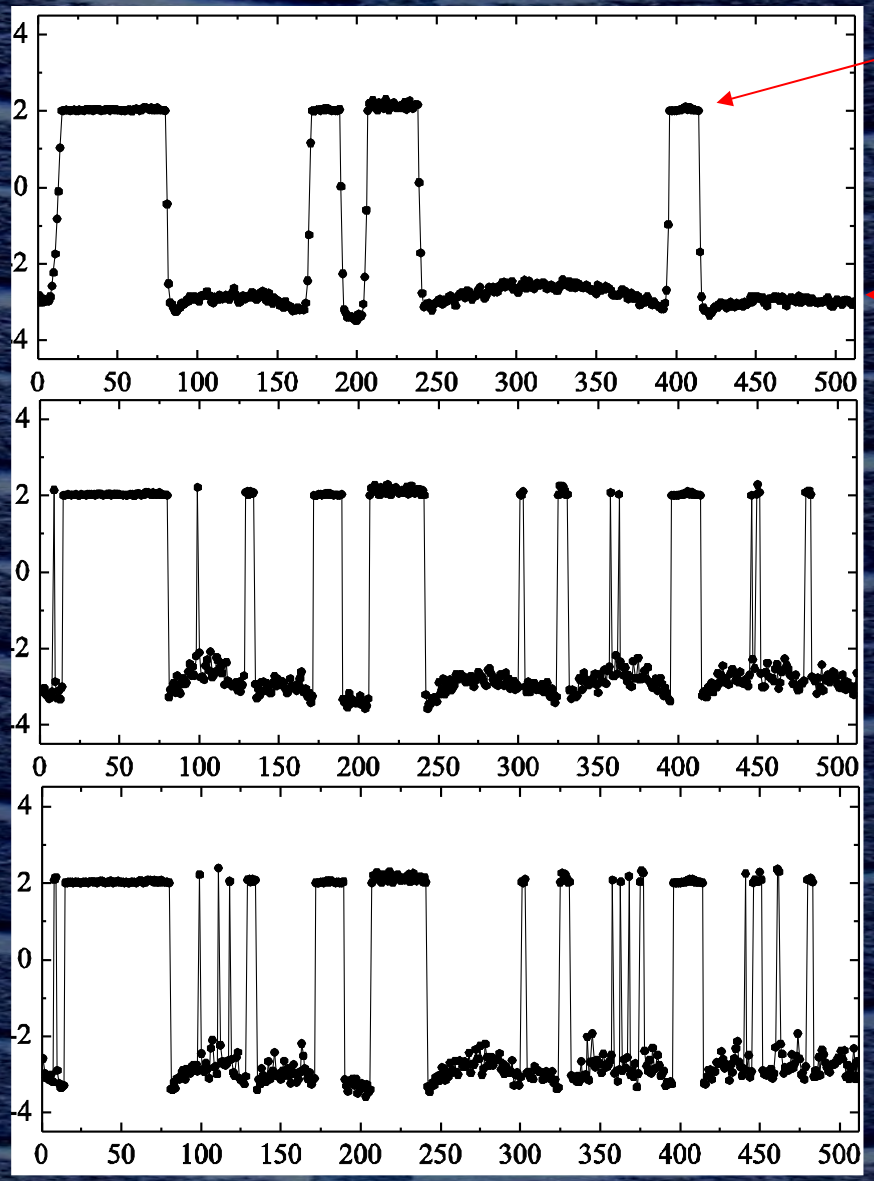
En este modelo la emergencia de nuevas nervaduras es una consecuencia del crecimiento. Pero una vez que sucede, su propagación ocurre a η constante.

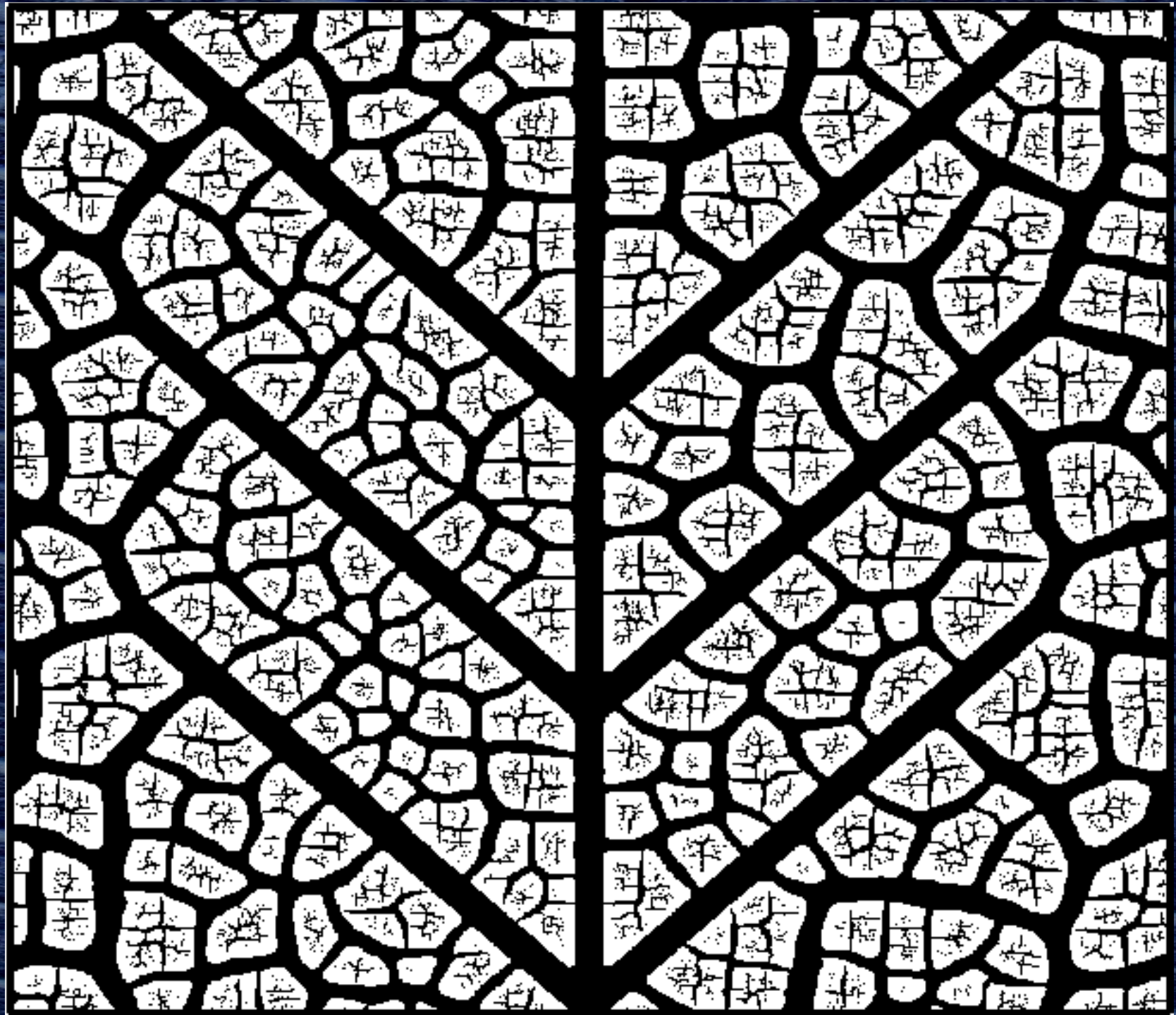
Perfil de Φ

$\eta = 1.2$

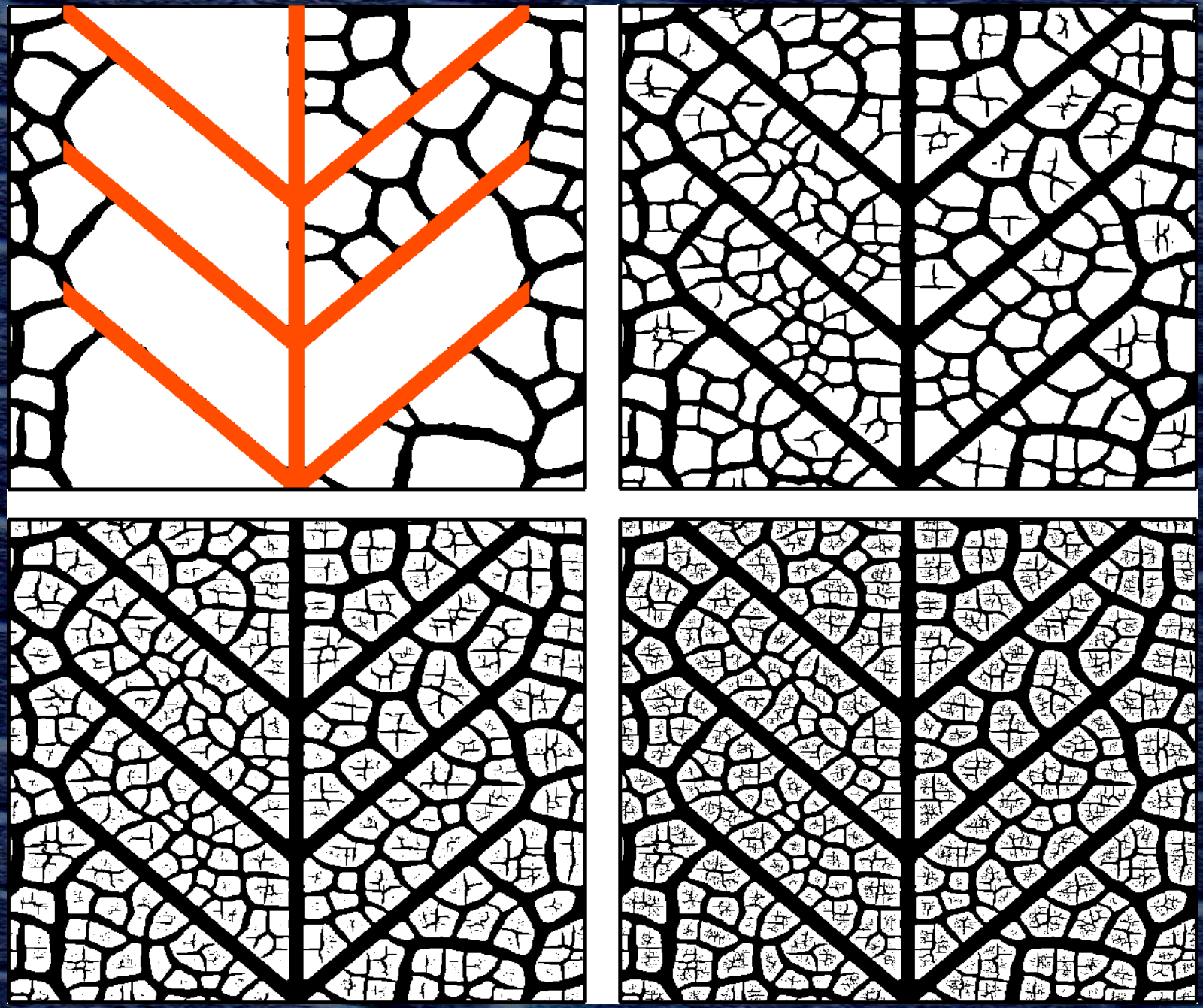
$\eta = 1.8$

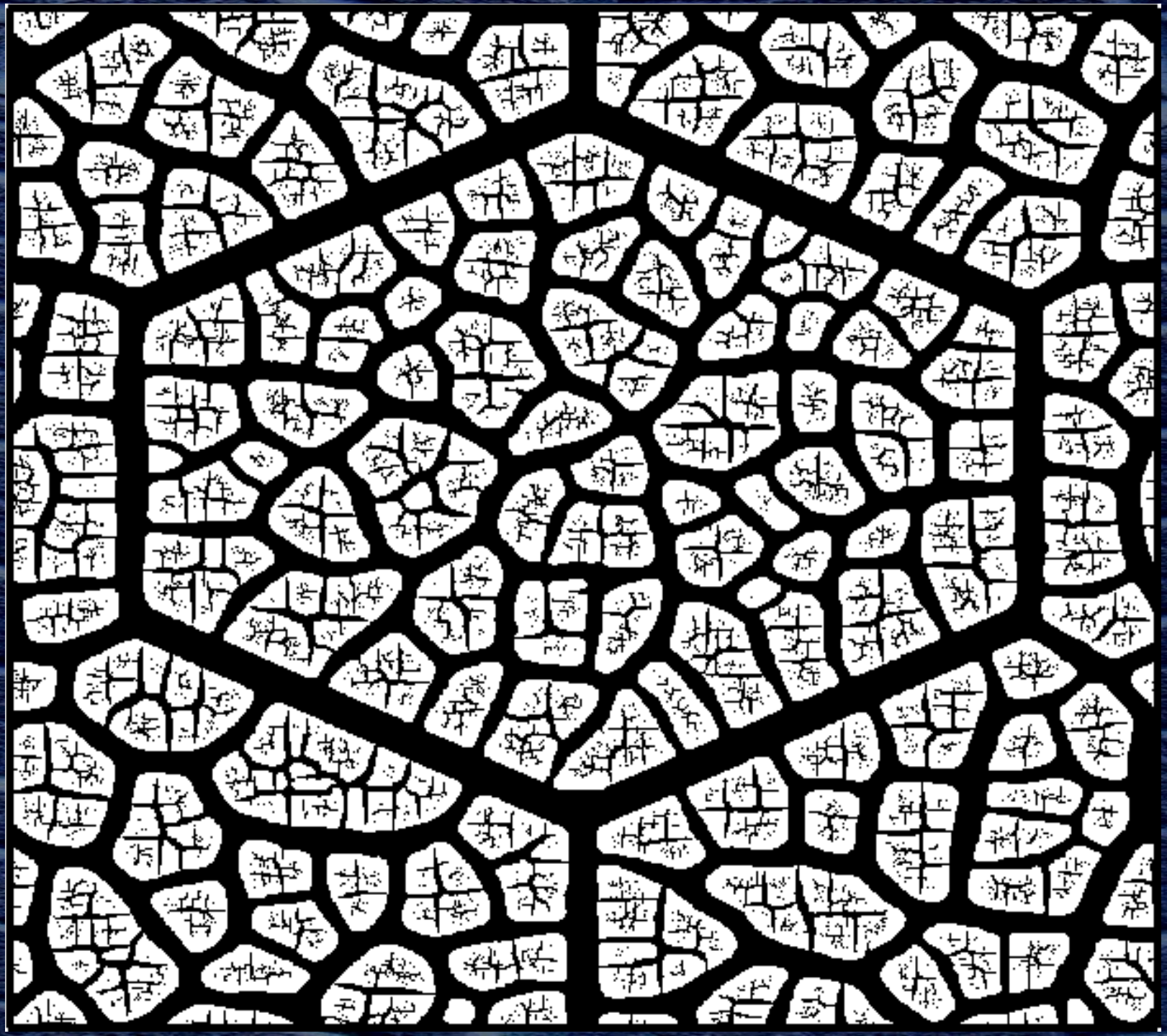
$\eta = 2.4$

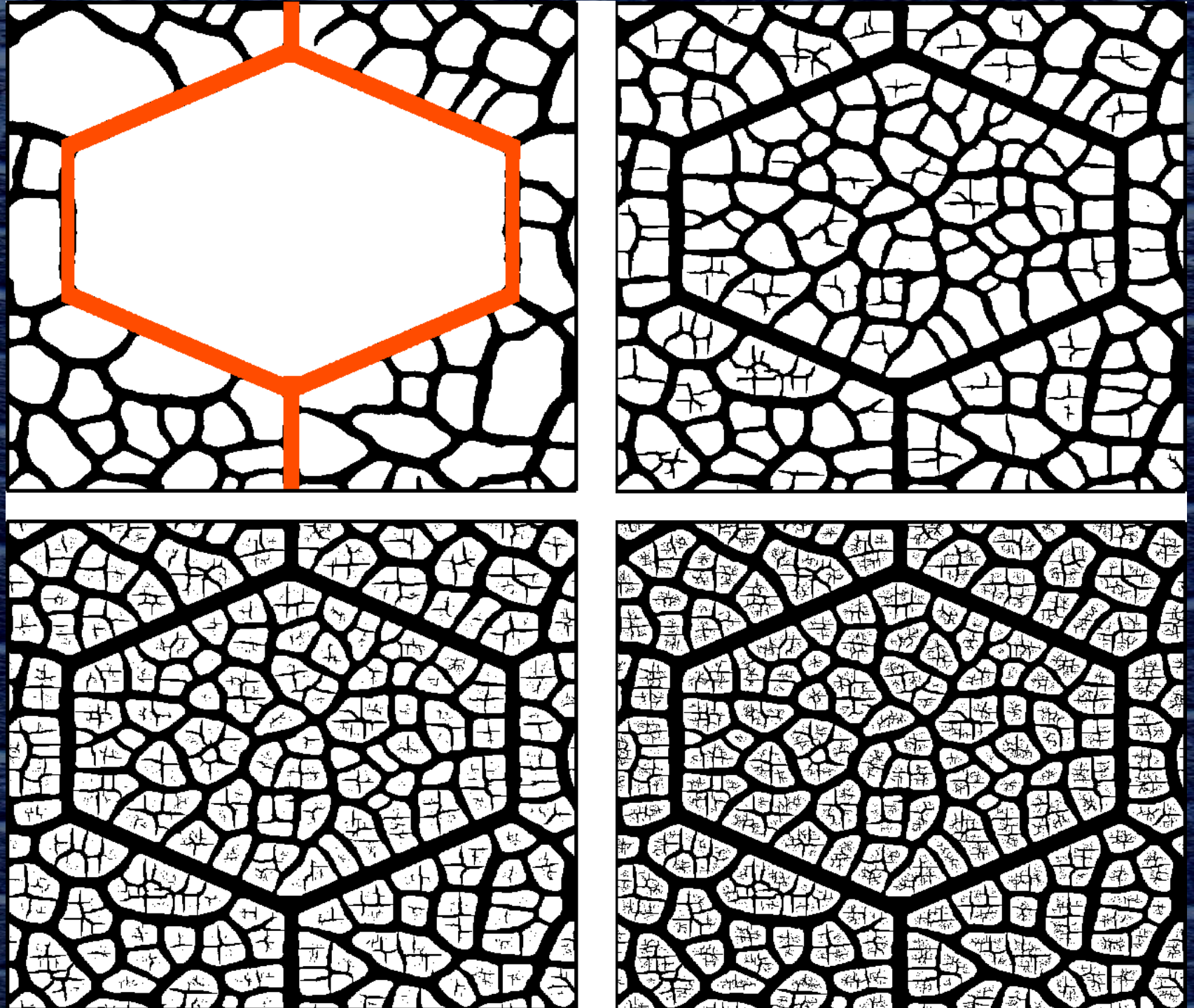




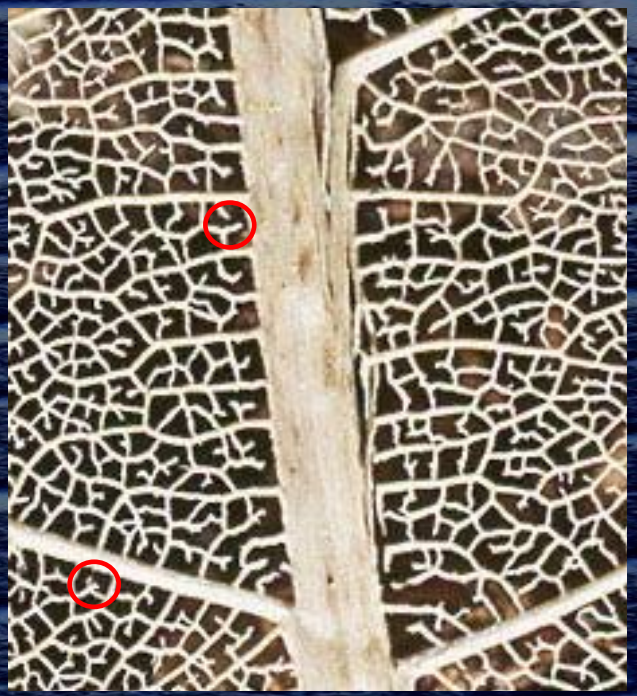
Cómo crecen







Procesamiento numérico



En ambas hojas observamos:

- Estructura reticular
- Extremos abiertos en algunas nervaduras delgadas

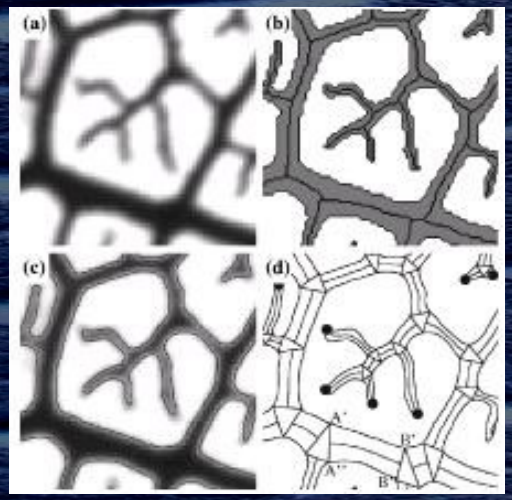
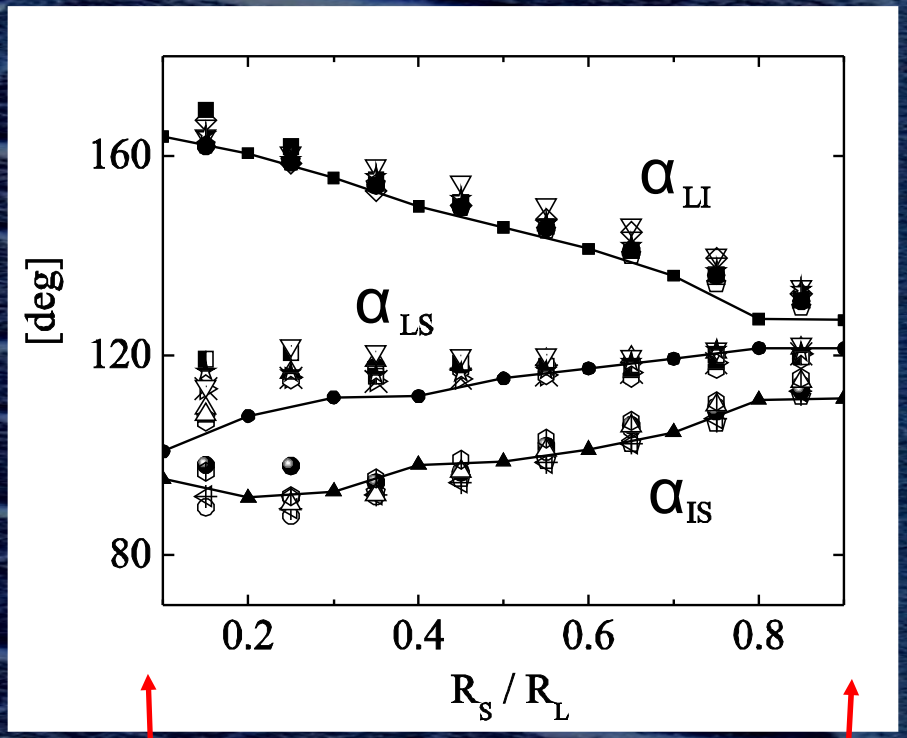


Figure tomada de: *"Constitutive property of local organization of leaf venation networks"*, S. Bohn *et al.*, Phys. Rev. E **65**,

Análisis estadístico: Distribución angular

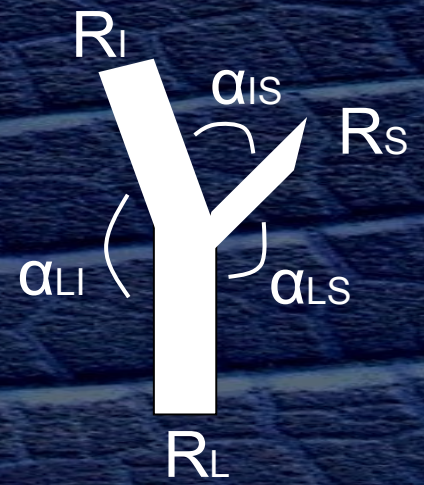


Ángulos entre nervaduras como función del cociente entre radios

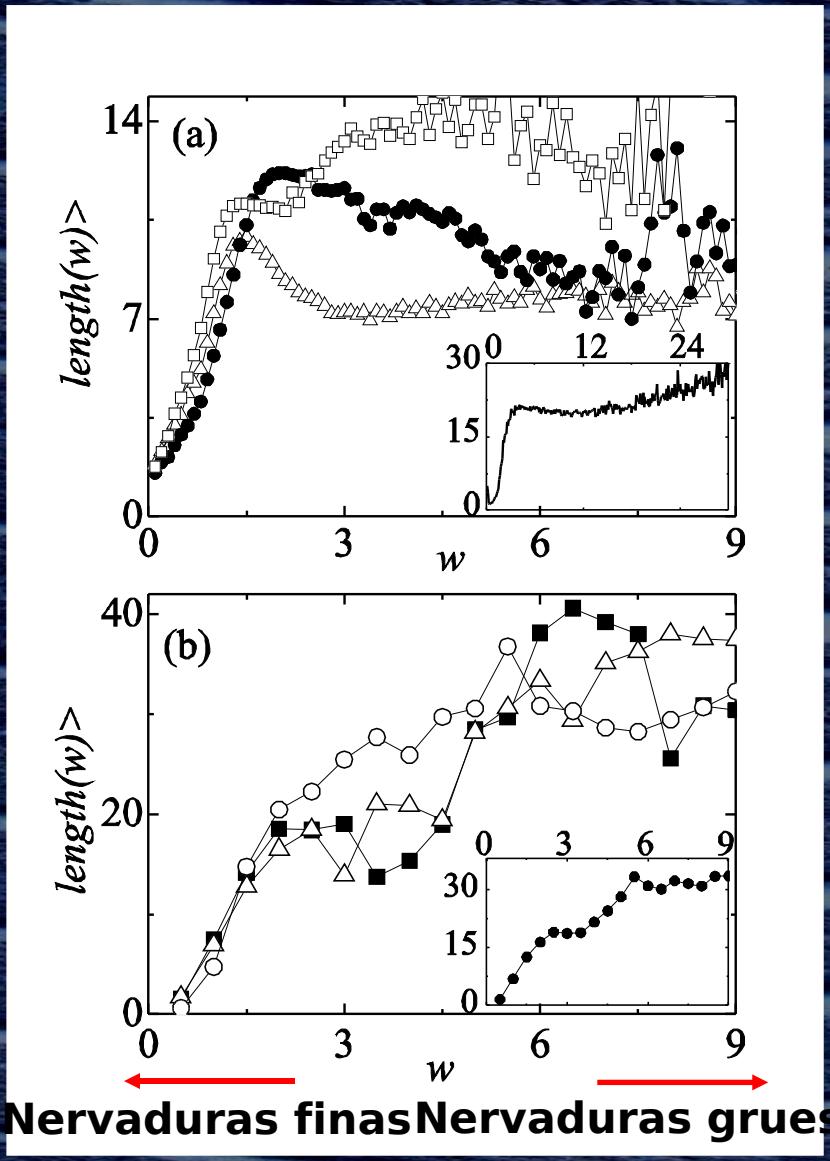
Hojas reales: Símbolos grandes
Numéricas: Líneas con símbolos

$R_L >> R_S$

$R_L \sim R_S$



Análisis estadístico: Longitud promedio de las nervaduras como función de su radio



Arriba: Hojas reales

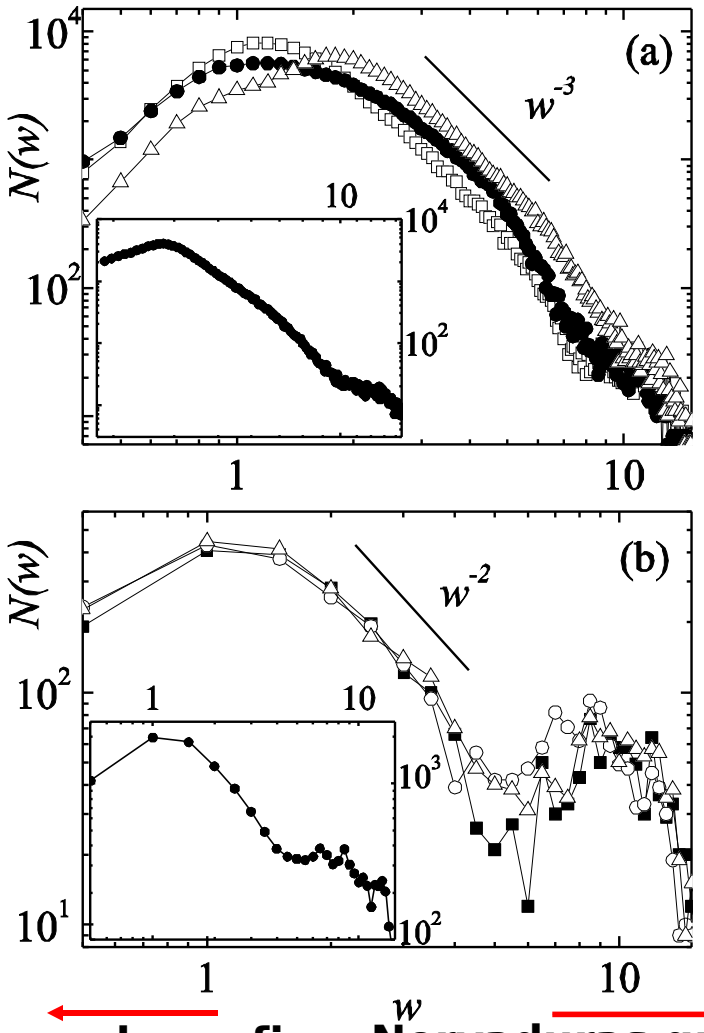
Abajo: Hojas numéricas

insets: promedio sobre todas las hojas

- Longitud de las nervaduras independiente de su radio (w) para valores intermedios del radio.

- Desviación para nervaduras gruesas (relacionada con los extremos libres de las nervaduras delgadas).

Análisis estadístico: Número de nervaduras de un dado radio



Arriba: Hojas reales

Abajo: Hojas numéricas

insets: promedio sobre todas las hojas

- Decaimiento con ley de potencia para todas las hojas estudiadas.
- Hombro para las nervaduras más gruesas.

El decaimiento como ley de potencia es una señal de un proceso jerárquico

En resumen

• Exploramos la idea de que las tensiones elásticas pueden jugar un rol importante en el desarrollo de los patrones de nervadura.

• Esta hipótesis explica en una forma natural la existencia de estructuras jerárquicas reticulares.

• Desarrollamos e implementamos un modelo numérico y comparamos estadísticamente los patrones reales con los simulados.

• La notable similitud que encontramos indica que las tensiones elásticas deberían incluirse en una descripción completa del desarrollo del patrón de nervaduras.

Laguna MF, Bohn S, Jagla EA (2008) *The Role of Elastic Stresses on Leaf Venation Morphogenesis*. PLoS Comput Biol 4(4): e1000055

Muchas gracias