



**HAL**  
open science

**Auto-organisation de l'activité contractile et des écoulements cytoplasmiques chez l'organisme modèle  
Physarum polycephalum**

Valentin Busson

► **To cite this version:**

Valentin Busson. Auto-organisation de l'activité contractile et des écoulements cytoplasmiques chez l'organisme modèle *Physarum polycephalum*. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Paris Cité, 2020. Français. NNT : 2020UNIP7220 . tel-03381367

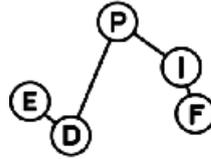
**HAL Id: tel-03381367**

**<https://theses.hal.science/tel-03381367>**

Submitted on 16 Oct 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Thèse de doctorat de “Biophysique”

pour obtenir le grade de docteur délivré par

**l’Université de Paris**

École doctorale n° 564 : Physique Ile de France

# Auto-organisation de l’activité contractile et des écoulements cytoplasmiques chez l’organisme modèle *Physarum polycephalum*

*présentée et soutenue publiquement par*

**Valentin Busson**

*dirigée par : Marc Durand*

le 15 Décembre 2020

## **Jury**

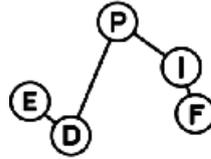
<b>Mme. Sylvie Lorthois,</b>	Directeur de recherche, Université Toulouse 3	Rapporteur
<b>M. Jean-Paul Rieu,</b>	Professeur, Université Lyon 1	Rapporteur
<b>M. Francis Corson,</b>	Chargé de recherche, ENS - Université PSL, Paris	Examinateur
<b>Mme. Audrey Dussutour,</b>	Chargée de recherche, Université Toulouse 3	Examinatrice
<b>M. José Halloy,</b>	Professeur, Université de Paris	Examinateur
<b>M. Philippe Marmottant,</b>	Directeur de recherche, Université Grenoble Alpes	Examinateur
<b>M. Marc Durand,</b>	Maître de conférence, Université de Paris	Directeur de thèse

**Université de Paris**

**Laboratoire Matière et Systèmes Complexes**

UMR 7057, 75205 Paris cedex 13





Thèse de doctorat de “Biophysique”

pour obtenir le grade de docteur délivré par

**l’Université de Paris**

École doctorale n° 564 : Physique Ile de France

# Auto-organisation de l’activité contractile et des écoulements cytoplasmiques chez l’organisme modèle *Physarum polycephalum*

*présentée et soutenue publiquement par*

**Valentin Busson**

*dirigée par : Marc Durand*

le 15 Décembre 2020

## **Jury**

<b>Mme. Sylvie Lorthois,</b>	Directeur de recherche, Université Toulouse 3	Rapporteure
<b>M. Jean-Paul Rieu,</b>	Professeur, Université Lyon 1	Rapporteur
<b>M. Francis Corson,</b>	Chargé de recherche, ENS - Université PSL, Paris	Examinateur
<b>Mme. Audrey Dussutour,</b>	Chargée de recherche, Université Toulouse 3	Examinatrice
<b>M. José Halloy,</b>	Professeur, Université de Paris	Examinateur
<b>M. Philippe Marmottant,</b>	Directeur de recherche, Université Grenoble Alpes	Examinateur
<b>M. Marc Durand,</b>	Maître de conférence, Université de Paris	Directeur de thèse

**Université de Paris**

**Laboratoire Matière et Systèmes Complexes**

UMR 7057, 75205 Paris cedex 13



## Résumé

La génération d'écoulements sur de grandes distances est cruciale pour le fonctionnement de nombreux organismes vivants. Un mécanisme très répandu pour générer de tels écoulements est via la contraction du cortex d'actomyosine pompant le fluide environnant. Même en l'absence d'un "stimulateur" tel que le cœur, on constate que la dynamique du cortex d'actomyosine peut s'auto-organiser pour donner lieu à des écoulements coordonnés sur de grandes distances. À l'instar de *E. coli* ou *C. elegans*, *Physarum polycephalum* fait partie des organismes modèles intensément étudiés par la communauté scientifique. Dans sa phase végétative, appelé plasmode, cet organisme est constitué de milliers de cellules indifférenciées qui ont fusionné pour former une cellule géante multinucléée pouvant atteindre des tailles macroscopiques (plusieurs dizaines de  $\text{cm}^2$ ). Cet organisme développe alors un réseau tubulaire dans lequel des écoulements oscillants sont générés par la contraction active de la couche membraneuse entourant les éléments tubulaires. Le rôle de ce réseau de transport est double : d'une part il supplée aux écoulements diffusifs qui sont trop faibles pour transporter les nutriments et les divers signaux biochimiques sur de telles échelles. D'autre part il permet de transporter la masse corporelle de l'organisme en jouant sur la transition sol-gel du cytoplasme. *P. Polycephalum* apparaît donc comme l'un des organismes les plus simples pourvu d'un réseau de transport. En dépit de cette apparente simplicité, la formation de ce réseau tubulaire partage de nombreux points communs avec le développement du réseau vasculaire d'organismes plus évolués, ou celui conduisant à l'irrigation de tumeurs. En particulier, on peut identifier clairement deux phases dans le développement du réseau : tout d'abord une phase de croissance d'un réseau primaire densément réticulé, puis une phase de réorganisation au cours de laquelle le réseau primaire se hiérarchise, certaines veines grossissant au dépend d'autres qui disparaissent. D'un point de vue physique, le plasmodium se comporte comme un gel actif, qui aux temps courts génère des ondes de contraction induisant les mouvements péristaltiques du fluide, et aux temps longs contrôle sa transition sol-gel pour croître, se mouvoir, et modifier l'architecture de son réseau. Ce travail de thèse porte sur la caractérisation de l'activité contractile chez *P. Polycephalum*, et de son couplage avec les écoulements cytoplasmiques traversant le réseau (aux temps courts) et de l'évolution de celui-ci (aux temps longs). L'adaptation non-neurale de l'activité contractile et des écoulements à l'environnement extérieur (via une boucle de rétroaction inconnue) est soupçonnée d'être à l'origine de la capacité de l'organisme à réaliser des tâches complexes telles que la migration préférentielle ou le calcul des plus courts chemins entre des sources de nourritures. La caractérisation de la nature de ce mécanisme auto-organisateur inconnu constitue donc un pas vers la compréhension de l'émergence de la cognition animale. À l'aide d'un dispositif d'imagerie en transmission, j'ai caractérisé les motifs contractiles observés dans des phases de stagnation et de croissance du plasmode, et montré que cette dernière nécessite une coordination de l'activité contractile sur de grandes distances de la part de l'organisme, pourtant dépourvu de cœur et de système nerveux. Puis, dans un travail mêlant expériences et modélisations, j'ai mis en évidence l'effet du confinement spatial sur l'activité contractile, sur les écoulements que celle-ci génère au sein du cytoplasme et sur la réorganisation du réseau tubulaire. Enfin, à partir des observations de réorganisation et de l'analyse numérique des réseaux tubulaires formés je propose un modèle de hiérarchisation de réseaux dont le principe repose sur la minimisation de la dissipation visqueuse due aux écoulements.

**Mots-clés:** Biophysique; *Physarum polycephalum*; réseau de transport; activité contractile; flux cytoplasmiques; matière active; auto-organisation; milieux excitables; milieux non-linéaires; oscillateurs couplés

## Abstract

The generation of flows over long distances is crucial for the functioning of many living organisms. A widespread mechanism for generating such flows is via the contraction of the actomyosin cortex pumping the surrounding fluid. Even in the absence of a "stimulator" such as the heart, it is found that the dynamics of the actomyosin cortex can self-organize to give rise to coordinated flows over long distances. Like *E. coli* or *C. elegans*, *Physarum polycephalum* is one of the model organisms intensely studied by the scientific community. In its vegetative phase, called plasmodium, this organism consists of thousands of undifferentiated cells that have fused to form a multinucleated giant cell that can reach macroscopic sizes (several tens of cm<sup>2</sup>). This organism then develops a tubular network in which oscillating flows are generated by the active contraction of the membranous layer surrounding the tubular elements. The role of this transport network is twofold : on the one hand, it supplements diffusive flows that are too weak to transport nutrients and various biochemical signals on such scales. On the other hand, it allows the transport of the body mass of the organism by playing on the soil-gel transition of the cytoplasm. *P. Polycephalum* thus appears to be one of the simplest organisms with a transport network. Despite this apparent simplicity, the formation of this tubular network shares many similarities with the development of the vascular network of more evolved organisms, or that leading to the irrigation of tumors. In particular, we can clearly identify two phases in the development of the network : first, a phase of growth of a densely reticulated primary network, then a phase of reorganization during which the primary network becomes hierarchical, with some veins growing at the expense of others that disappear. From a physical point of view, plasmodium behaves like an active gel, which at short times generates waves of contraction inducing peristaltic movements of the fluid, and at long times controls its sol-gel transition to grow, move, and modify the architecture of its network. This thesis work focuses on the characterization of the contractile activity in *P. Polycephalum*, and its coupling with the cytoplasmic flows crossing the network (at short times) and its evolution (at long times). The non-neural adaptation of contractile activity and flows to the external environment (via an unknown feedback loop) is suspected to be at the origin of the organism's ability to perform complex tasks such as preferential migration or the calculation of the shortest paths between food sources. Characterizing the nature of this unknown self-organizing mechanism is therefore a step towards understanding the emergence of animal cognition. Using a transmission imaging device, I have characterized the contractile patterns observed in phases of stagnation and growth of the plasmodium, and shown that the latter requires a coordination of contractile activity over large distances from the organism, which lacks a heart and a nervous system. Then, in a work mixing experiments and modelling, I have highlighted the effect of spatial confinement on the contractile activity, on the flow patterns this activity generates within the cytoplasm and on the reorganization of the tubular network. Finally, from the observations of reorganization and numerical analysis of the tubular networks formed, I propose a model of network hierarchization whose principle is based on the minimization of flows' viscous dissipation.

**Keywords:** Biophysics; *Physarum polycephalum*; transport network; contractile activity; cytoplasmic flows; active matter; self-organization; excitable medium; non-linear medium; coupled oscillators

---

# Table des matières

---

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
I. – Introduction générale	1
I.1. – Du phénomène d’auto-organisation dans le Vivant . . . . .	1
I.2. – <i>P. polycephalum</i> : un organisme modèle pour l’étude de l’auto-organisation . . .	3
I.3. – Modèles physiques des auto-oscillations . . . . .	12
I.4. – Objectifs et plan . . . . .	20
II. – Dispositifs et méthodes expérimentales	23
II.1. – Culture cellulaire . . . . .	23
II.2. – Imagerie en transmission . . . . .	27
II.3. – Analyse d’image . . . . .	29
III. – Dynamique contractile et remodelage du réseau	51
III.1. – Phase de croissance . . . . .	52
III.2. – Phase désynchronisée . . . . .	54
III.3. – Phase de réorganisation et remodelage du réseau . . . . .	55
III.4. – Croissance post-réorganisation . . . . .	56
III.5. – Résumé des résultats . . . . .	58
IV. – Confinement en géométrie annulaire : dynamique aux temps courts	59
IV.1. – Analyse de l’activité contractile en géométrie annulaire . . . . .	61
IV.2. – Débit instantané . . . . .	64
IV.3. – Motifs spatio-temporels d’écoulements observés . . . . .	66
IV.4. – Échelle de temps intermédiaire : structures et transport d’amplitude et de volume.	72
IV.5. – Résumé des résultats . . . . .	74
V. – Dynamique aux temps longs en géométrie annulaire	77
V.1. – Mesures expérimentales . . . . .	78
V.2. – Modélisation par des réseaux planaires . . . . .	88
V.3. – Modèles de hiérarchisation et d’optimisation . . . . .	95
V.4. – Résumé des résultats . . . . .	102
VI. – Conclusion et perspectives	105

Annexe	109
A. – Éléments de théorie des graphes	109
B. – Inférence de flux	115
B.1. – Discrétisation du problème continu . . . . .	115
B.2. – Graphe cyclique . . . . .	116
B.3. – Généralisation aux graphes complexes . . . . .	118
C. – Analyse fonctionnelle des réseaux actifs	121
Bibliographie	123

## Introduction générale

---

### I.1. – Du phénomène d’auto-organisation dans le Vivant

L’auto-organisation et autres phénomènes collectifs dans les systèmes multi-agents fascinent le physicien depuis des décennies. Cet intérêt a certainement commencé avec la modélisation des phénomènes de transitions de phase dans la matière. Comme l’a parfaitement bien décrit Philip W. Anderson dans son célèbre article *More is different* [1], “*Le comportement d’un grand ensemble, complexe, de particules élémentaires ne peut être compris si on ne tient compte que des seules propriétés de ces particules. A chaque niveau de complexité, des propriétés entièrement nouvelles apparaissent – et la compréhension du nouveau comportement nécessite de nouvelles recherches fondamentales. A différents niveaux de complexité, une transition a lieu – une augmentation de la quantité se traduit soudain par un changement au niveau qualitatif. A certains seuils, un plus grand nombre des mêmes éléments – et un plus grand nombre d’interactions entre ces éléments, transforment soudain l’ensemble – le rendent différent, autre. Et de nouvelles lois, de nouveaux concepts, de nouvelles généralisations sont nécessaires – qui nécessitent autant d’inspiration et de créativité qu’il en fallait au niveau précédent pour les comprendre, pour les imaginer. Le tout devient non seulement **plus** que la somme des parties... mais aussi **très différent** de la somme de ses parties. Des transitions de phase – des passages soudains, des basculements d’un état à un autre – vont survenir...”*

L’auto-organisation est un phénomène de création d’ordre interne que l’on observe dans des systèmes de natures et d’échelles très différentes. Parmi les exemples les plus emblématiques, on peut citer :

- au niveau physico-chimique comme la croissance cristalline ou encore les systèmes de réaction-diffusion comme la réaction de Belousov-Zhabotinski (BZ) célèbre pour son

caractère oscillant et ses ondes de concentration conduisant à la formation de motifs dynamiques.

- au niveau biochimique, typiquement l'auto-assemblage et le repliement de protéines et d'autres macro-molécules.
- au niveau biologique avec des phénomènes de morphogénèse et de différenciation cellulaire permettant au cours du développement la structuration progressive d'embryons initialement amorphes.
- Et enfin au niveau écologique et social incluant les dynamiques conjointes de populations d'espèces différentes en interaction, avec notamment les systèmes de proies-prédateurs ou encore les comportements collectifs au sein d'un groupe d'insectes ou d'animaux de même espèce comme ceux des colonies de fourmis ou les bancs de poissons.

Ces dernières années, l'étude de ces phénomènes s'est particulièrement concentrée autour des systèmes hors de l'équilibre thermodynamique, comme la *matière active*, c'est-à-dire des systèmes qui puisent l'énergie nécessaire à leurs mouvements depuis une source non thermique. Ces systèmes sont pour une large part issus du Vivant. Il est remarquable qu'alors que l'auto-organisation dans la matière inerte est relativement marginale en regard de l'immense espace des paramètres qui décrivent de tels systèmes, elle semble être la règle dans les systèmes biologiques. Cette sur-représentation résulte sans doute du processus de sélection naturelle, qui procure un moyen de convergence vers des régions de l'espace des paramètres favorables à l'émergence de propriétés globales qui confèrent des avantages biologiques pour la survie de l'organisme.

De fait, la matière vivante n'échappe pas aux lois de la physique : ses mouvements et ses déformations sont produits par l'action de forces s'exerçant en son sein. Cependant, contrairement à la matière inerte, les structures biologiques sont dynamiques et s'auto-organisent en générant activement des contraintes mécaniques qui évoluent dans l'espace et le temps. **Comprendre comment ces forces sont générées, perçues et régulées, et comment les formes et les fonctions biologiques émergent de l'activité mécanique est une problématique essentielle que l'on retrouve dans des contextes aussi variés que la morphogénèse, la migration cellulaire, ou encore la production d'écoulements biologiques.**

Cette question, à l'interface entre biologie et physique, a une importance dans la compréhension du développement des êtres vivants. Mais elle constitue également un défi quant à sa modélisation physique. En effet, l'étude des comportements collectifs dans la matière active est un domaine de la physique encore en plein développement. Pour décrire ces phénomènes, les

physiciens ont eu jusqu'à présent recours à des systèmes modèles qui permettent de capturer les caractéristiques communes aux systèmes actifs. Ces systèmes modèles sont souvent basés sur des systèmes classiques de la physique statistique à l'équilibre (ex : ensemble de spins, ou de sphères dures) que l'on a rendu actifs (par exemple, par auto-propulsion). Cette démarche permet ainsi un point de comparaison évident avec leurs équivalents "passifs" qui sont parfaitement décrits par la physique statistique à l'équilibre. Toujours dans le but d'avoir des systèmes simples capturant les caractéristiques générales aux systèmes actifs, les constituants ont une géométrie déterminée (sphère, ellipsoïde), et leurs interactions sont locales et additives. Cependant, ces modèles sont souvent trop simples pour capter les phénomènes collectifs observés dans les systèmes biologiques complexes. En particulier, quand les entités biologiques forment un système confluent et qu'elles peuvent non seulement modifier activement leurs positions et orientations, mais également leurs formes, les interactions sont alors non locales et non additives, donnant lieu à des phénomènes collectifs inédits.

## I.2. – *Physarum polycephalum* : un organisme modèle pour l'étude de l'auto-organisation

Dans ce travail de thèse nous avons choisi d'utiliser *Physarum polycephalum* comme système biologique modèle pour explorer les phénomènes d'auto-organisation dans le Vivant. *P. polycephalum* est un organisme à la frontière entre l'unicellulaire et le pluricellulaire : dans sa phase plasmode détaillée ci-après, des milliers de cellules mononucléaires fusionnent en un organisme unicellulaire géant dans lequel de nombreux phénomènes collectifs émergent. En particulier, celui-ci développe un réseau tubulaire dans lequel des écoulements sont générés par la contraction de la couche membraneuse entourant les tubes, et capable de se remodeler continuellement. Ce réseau permet de suppléer aux écoulements diffusifs et de transporter le cytoplasme sur de grandes distances lors de la croissance ou le déplacement de l'organisme. Ceci nécessite toutefois une coordination des mouvements de la part de cet organisme dépourvu de cœur ou de système nerveux.

Ce choix est motivé par plusieurs raisons que nous listons ici et qui seront détaillées par la suite :

- À l'instar de *E. coli*, *C. elegans* ou *Drosophila*, *P. polycephalum* est un organisme modèle intensément étudié par la communauté scientifique, en particulier d'un point de vue physiologique. La bibliographie disponible nous permet de formuler des hypothèses

réalistes à l'échelle microscopique (les constituants du système) afin de nous concentrer sur le comportement macroscopique.

- La phase plasmode constitue l'une des formes de vie les plus simples chez laquelle on peut toutefois observer des phénomènes retrouvés chez les organismes multicellulaires. L'absence de tissus spécialisés en fait un système biologique assez simple mais présentant toutefois une grande richesse de comportements collectifs, et en premier lieu l'émergence d'un réseau de transport et la génération d'écoulements en son sein.
- Les échelles de temps sur lesquelles le remodelage du réseau a lieu sont extrêmement rapides comparées aux temps caractéristiques de formation et remodelage du réseau vasculaire d'organismes plus évolués.
- Sur la plan expérimental, il est relativement facile à cultiver, et sa croissance bidimensionnelle et sa taille macroscopique rendent sa visualisation aisée. L'amplitude des contractions générant les écoulements sont parfois visibles à l'œil nu sur les gros spécimens.

Dans la suite de cette introduction nous présentons brièvement les caractéristiques biologiques de l'organisme, en particulier dans sa phase plasmode dans laquelle plusieurs phénomènes d'auto-organisation émergent. Nous introduirons ensuite les différents formalismes théoriques permettant de décrire l'émergence de phénomènes oscillatoires dans les systèmes complexes, et leurs pertinences pour la description de l'activité contractile dans *Physarum*. Enfin, nous présenterons les objectifs de ce travail de thèse et le plan détaillé du manuscrit.

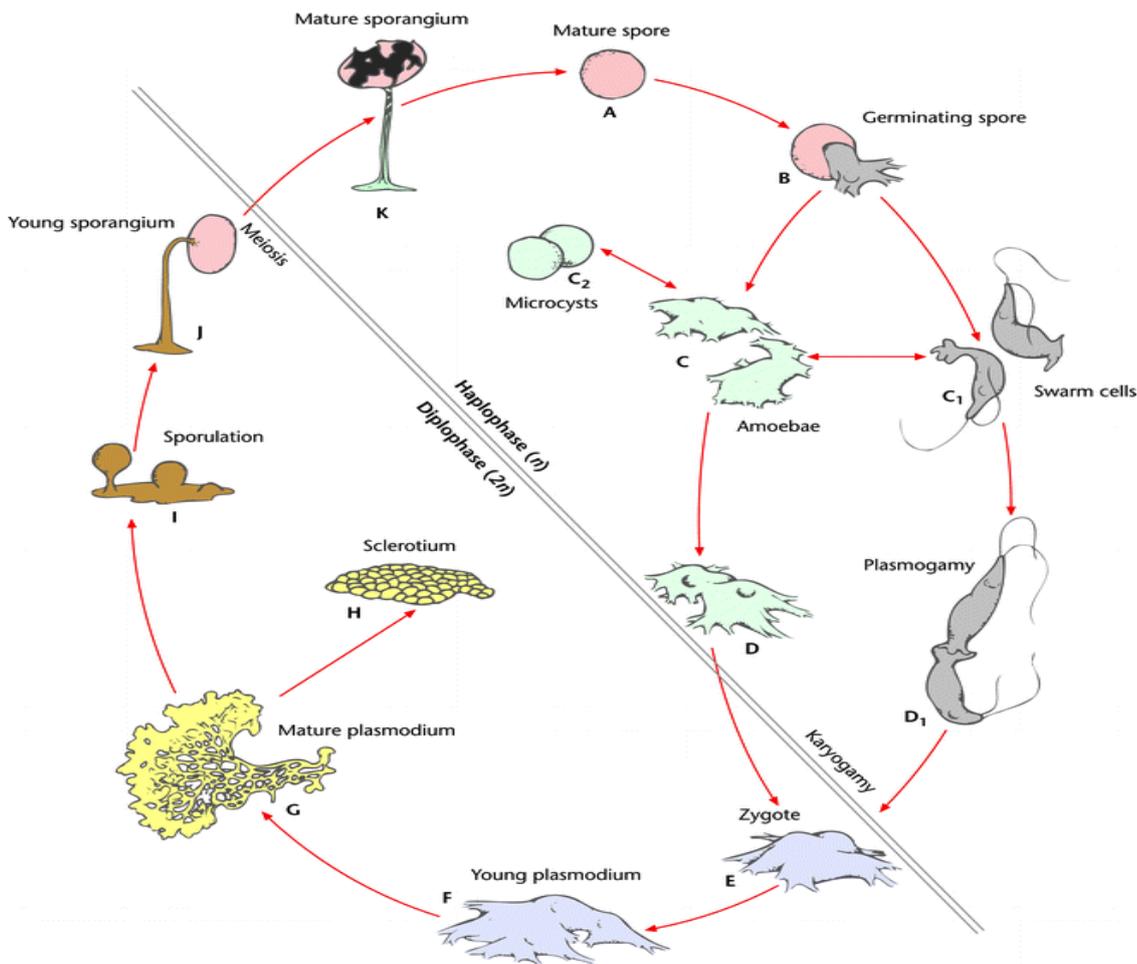
### 1.2.1. – Biologie de *Physarum polycephalum*

Depuis sa première description par von Schweinitz en 1822 [2] *Physarum polycephalum* a été l'objet d'une multitude d'études biologiques, biochimiques, génétiques et plus récemment biophysique. Sa taille macroscopique, son cycle biologique unique et la facilité de sa culture in vitro ont initialement fait de lui un organisme modèle pour comprendre les mécanismes de différenciation (sporulation), de régulation du cycle cellulaire, de réplication de l'ADN. Le lecteur intéressé trouvera des compilations de recherches sur ces sujets par Aldrich et Daniel [3, 4], Sauer [5] et Burland [6]. Et il a été étudié plus récemment pour comprendre le rôle de la dynamique du cytosquelette dans la locomotion cellulaire.

Le cycle de vie de *P. polycephalum* illustré dans la figure I.1 est complexe et se décompose en deux grandes phases successives haploïde<sup>1</sup> et diploïde<sup>2</sup> qu'on détaille comme suit :

---

1. un jeu de chromosomes  
2. deux jeux de chromosomes appariés

FIGURE I.1 – cycle de vie de *Physarum Polycephalum*

- (A-E) **Amibe :**

Dans sa phase amibe, *Physarum* se présente comme une cellule unique mononucléaire. Il adapte sa mobilité en fonction de son environnement : en milieu liquide il développe une flagelle (C<sub>1</sub>), sur un substrat solide il se déplace grâce à un pseudopode. (C) Lorsque les conditions sont défavorables il peut s'encapsuler dans un microkyste lui permettant de résister à la déshydratation (C<sub>2</sub>). Puis en sortir une fois les conditions redevenues meilleures. Enfin, c'est dans cette phase haploïde qu'a lieu la reproduction, celle-ci est réalisée par fusion avec une autre amibe haploïde (D,D<sub>1</sub>) pour former une cellule diploïde. (E)

- (F) **Jeune plasmode :**

Après quelques mitoses, plusieurs cellules diploïdes peuvent fusionner en un syncytium : une cellule unique contenant plusieurs noyaux. Des plasmodes plus matures peuvent également être divisés par cisaillement en petits éléments de 100µm à 1mm. Les deux étant indiscernables, ils sont regroupés sous le nom de microplasmode.

- (G) **Plasmode :**

C'est la phase végétative principale de l'organisme. Sous cette forme, *P. Polycephalum* grandit et cherche de la nourriture dans son environnement.

- (H) **Sclérote :**

Lorsqu'il est déshydraté, affamé ou exposé à une lumière intense, *Physarum* peut entrer dans une phase dormante qui peut durer plusieurs mois jusqu'à ce que les conditions extérieures redeviennent favorables.

- (I-K) **Sporulation :**

Lorsqu'il est affamé et que le stress environnemental devient trop important, des spores contenant quatre cellules haploïdes sont formées. Ces fruits demeurent jusqu'à leur dispersion.

La phase de vie de l'organisme utilisée pour réaliser nos expériences est sa phase végétative, dite plasmodiale. Nous lui consacrerons une présentation plus détaillée dans la section suivante.

On trouve *Physarum* principalement dans des zones tempérées. Il préfère évoluer dans des zones ombragées ou il affectionne les substrats organiques humides, typiquement de l'écorce ou de l'humus sur lesquels il se nourrit de spores, de bactéries et d'autres micro-organismes par phagocytose.

Le fait que *Physarum* sporule et se développe sur de la matière organique en décomposition a conduit initialement à le placer dans le règne des Fungi. Cependant, *Physarum* n'est ni un champignon, ni un animal, ni une plante, même s'il présente certains traits communs avec tous ces groupes. Par exemple, le sclérote que forme *P. polycephalum* quand les conditions environnementales sont non favorables, possède des murs robustes fait de cellulose, une caractéristique moléculaire des plantes. Depuis le développement des méthodes de classifications génétiques il a été situé dans la ramification des Mycétozoaires issu de la branche des Amibozoaires au sein des Eukaryotes.

Parmi la riche phénoménologie comportementale de cet organisme, on peut citer ses capacités chimiotactiques, thermotactiques et phototactiques [7–9].

Il semble exister plusieurs souches de *P. polycephalum* [10], bien que la distinction entre espèce et souche est parfois ténue pour ce genre d'organisme. Dans la littérature, on trouve essentiellement trois souches récurrentes, et ce, en partie parce qu'elles sont transmises gracieusement entre différentes équipes de recherche en particulier les souches japonaise et australienne. Et d'autres sont commercialisées comme la souche d'Amérique du nord Carolina<sup>®</sup> utilisée dans les écoles à des fins éducatives. Leurs matériels génétiques sont différents et

donnent naissance à des différences de phénotypes. Une différence notable réside dans leurs différentes stratégies d'exploration [10, 11]. Pour ce travail de thèse, nous avons utilisé la souche australienne qui nous a été gracieusement donnée par A. Dussutour.

### I.2.2. – Phase plasmode, émergence d'un réseau de transport, activité contractile

#### **Le plasmode, une cellule géante**

Reconnaissable par sa couleur jaune, la phase plasmodiale de *Physarum*, résulte de la fusion de milliers de cellules. Le plasmode constitue alors un organisme unicellulaire multinucléé pouvant couvrir de larges surfaces allant de quelques mm<sup>2</sup> au m<sup>2</sup>. Mise à part sa multinucléarité, cette cellule présente les caractéristiques classiques des cellules eucaryotes : elle est constituée de noyaux et d'un cytoplasme contenant des organites typiques (mitochondries, appareil de golgi, lysosomes et cytosquelette). Le cytoplasme est entouré par une membrane plasmique composée d'une bicouche phospholipidique et de glycoprotéines. La cellule excrète également un mucus de polysaccharides de plusieurs dizaines de  $\mu\text{m}$  d'épaisseur qui, entre autres, la protège contre la déshydratation [12]. Ce mucus a également un rôle important pour la prospection durant laquelle il constitue une mémoire externalisée. Étant répulsif, le plasmode qui se déplace aléatoirement en l'absence d'autres stimuli, évite les zones couvertes de mucus qu'il a déjà explorées augmentant ainsi la surface couverte et, par la même, la probabilité de trouver une source de nourriture [13].

Le plasmode constitue l'une des formes de vie les plus simples, chez laquelle on peut toutefois observer des phénomènes retrouvés chez les organismes multicellulaires. En particulier, on y observe **l'émergence d'un réseau d'éléments tubulaires** (décrit ci-après) dans lequel des écoulements oscillants sont générés par la contraction de la couche membranaire entourant le plasmode. Le cytoplasme de *Physarum* est alors composé d'un mélange hétérogène de deux phases (voir figure I.3). L'organisation de l'actine, une protéine jouant un rôle majeur dans l'architecture et les mouvements cellulaires des eucaryotes est la principale différence entre ces deux phases cytoplasmiques :

- **L'endoplasme** ou cytosol est une phase de cytoplasme liquide qui circule dans le plasmode. Principalement constituée d'eau, elle contient aussi des ions dissous, des vésicules et des petites protéines comme les monomères d'actine aussi appelées actine globulaire (actine G).

- **Lectoplasme** ou cytogel<sup>3</sup> forme un cortex d'actomyosine situé sous la membrane cellulaire enveloppant le cytosol est responsable de l'activité contractile du plasmode. Il est constitué d'un enchevêtrement d'actine filamenteuse (actine F) qui forme un gel viscoélastique actif. Il se contracte sous l'action des myosines qui sont des moteurs moléculaires entraînant ainsi l'écoulement du cytosol qu'il renferme vers une zone moins contractée de la cellule.

De manière générale, les stratégies d'exploration de leur environnement et de migration des plasmodes sont adaptatives. Elles sont dépendantes de la taille [14] et l'état physiologique de l'organisme [15, 16], en particulier, le temps de privation de nourriture induit des variations de morphologie et de vitesse de migration. Celle-ci varie de 0.1 jusqu'à quelques cm/h.

Lorsqu'il évolue sur un substrat riche en nutriments, la migration du plasmode, confondue avec sa croissance, se fait selon un front homogène en forme d'éventail qui s'étend à l'avant de la cellule. Ce front est suivi d'un réseau de tubules de plus en plus clairsemé à mesure que l'on s'éloigne du front avant et donc que le substrat est déplété en nutriments (figure I.2(a)).

A l'inverse, lorsqu'il est affamé, le front de migration perd cette forme caractéristique et se présente sous la forme de longues protrusions (figure I.2(b)). En concentrant son déplacement sur les digitations formées par les protrusions plutôt que sur une forme d'éventail compacte il peut se propulser plus loin en couvrant ainsi une surface efficace plus importante. Il augmente ainsi ses chances de trouver sur une source de nourriture plus rapidement [17, 18].

### Réseau tubulaire et activité contractile

La génération d'écoulements à l'intérieur des organismes vivants est cruciale pour leur développement et leur fonctionnement [19, 20]. À l'échelle d'une cellule mono-nucléée, de nombreux processus tels que la migration ou la division cellulaire sont liés à des flux cytoplasmiques. Le transport dans les cellules ne se fait pas uniquement par diffusion passive ; il peut également être induit par l'action de contraintes générées activement par le cytosquelette. Ce transport actif est particulièrement présent dans les processus nécessitant des mouvements coordonnés sur de grandes distances. Une stratégie commune dans le *Vivant* pour acheminer des flux sur des distances supra-cellulaires est la formation d'un réseau dans lequel les écoulements sont produits activement.

C'est la stratégie adoptée en particulier par *Physarum* dans sa phase plasmode : lorsque celui-ci atteint une taille suffisante, un réseau d'éléments tubulaires prend forme. Selon la taille

3. Par souci de simplicité, on préférera l'emploi des termes cytosol et cytogel.

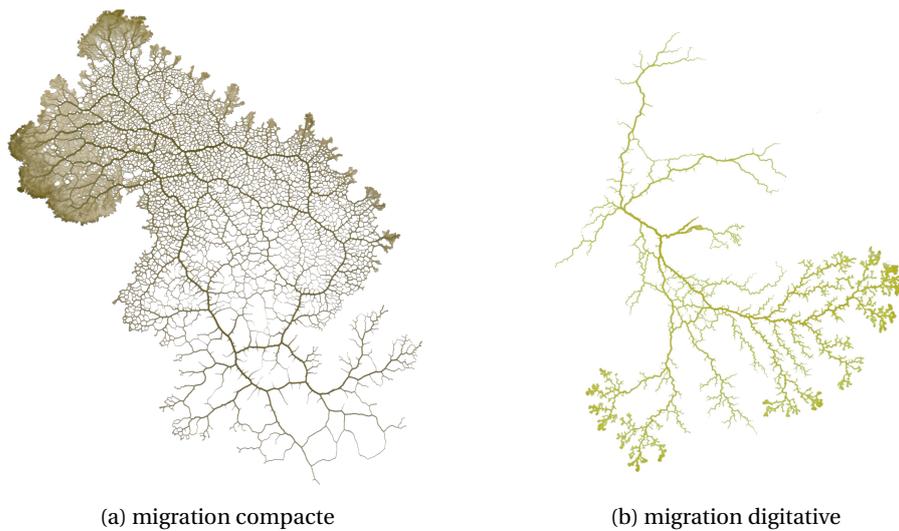


FIGURE I.2 – Comportements exploratoires des plasmodes

du plasmode, les rayons de ces éléments tubulaires varient de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de micromètres. Dans ces derniers, des écoulements oscillants (période d'environ 1 minute) sont générés par la contraction de la couche membranaire entourant le plasmode. Les mouvements de va-et-vient qui résultent de ces contractions permettent de distribuer efficacement nutriments et signaux biochimiques dans tout l'organisme. L'écoulement peut atteindre des vitesses de l'ordre de 1 mm/s. C'est vraisemblablement grâce à ce flux cytoplasmique, lequel se substitue au phénomène de diffusion pour transporter l'oxygène, les nutriments et les ions, que cet organisme unicellulaire peut atteindre des tailles aussi importantes.

S'il est unanimement admis que les contractions sont générées par le cortex d'acto-myosine contenu dans la couche membranaire, le mécanisme qui est à l'origine du caractère oscillatoire de ces contractions est toujours débattu. S'il est très probable que les processus biochimiques soient au cœur de ce phénomène, il est également possible que des facteurs mécaniques jouent également un rôle dans la génération des oscillations observées. Chez beaucoup d'organismes, le calcium est nécessaire pour générer les contractions d'actomyosine [21–23]. Il est établi que les ions calcium sont impliqués dans l'interaction entre l'actine et la myosine chez *Physarum*, la myosine se liant au calcium ce qui provoque son inhibition. Ainsi, le mécanisme de contraction serait différent de celui des cellules musculaires, par exemple, où le calcium est strictement nécessaire pour les interactions entre les molécules de myosine et d'actine, mais ressemblerait davantage à celui des plantes (par exemple l'algue *Chara*) et d'autres eucaryotes inférieurs, où les deux protéines interagissent également en l'absence de calcium. Il est cependant certain que le calcium joue un rôle important dans le cycle de contraction-relaxation. Les oscillations du calcium sont d'ailleurs fréquemment décrits chez *Physarum*. Dès les années 80, Oster et

Odell [24, 25] proposèrent l'idée de contractions déclenchées par une substance chimique comme les ions calcium pour essayer d'expliquer des motifs dynamiques et oscillants de l'activité contractile du cortex d'actomyosine dans le plasmode. Leur théorie repose sur un couplage mécano-chimique avec la tension de la membrane. Un autre mécanisme entièrement différent a été introduit par Teplov [26, 27], où la rétroaction nécessaire pour les oscillations est fournie par des canaux mécano-sensibles. Cette rétroaction agit sur une cinétique de réaction calcique non oscillatoire et est donc nécessaire pour obtenir les oscillations. En 1992, Smith and Saldana [22] proposèrent un nouveau modèle exclusivement biochimique. Ce modèle décrit un mécanisme oscillatoire qui est entraîné par un cycle de phosphorylation-déphosphorylation des chaînes légères kinases (MLCK) de la myosine. Une caractéristique cruciale du modèle de Smith et Saldana est l'existence d'oscillations calciques autonomes qui se produisent même en l'absence de rétroaction mécanique. Ce modèle prédit que la concentration de calcium libre et la tension mécanique oscillent en opposition de phase, en accord avec les données expérimentales [28]. De plus, ce modèle permet de reproduire les oscillations calciques mesurées même en l'absence de contraintes et de déformations du plasmode, renforçant l'image d'un oscillateur à calcium autonome. Le fait que lorsque le plasmode est coupé en de multiples parts, chacune d'elle se met rapidement à osciller à la même fréquence qu'auparavant, va également dans ce sens. Soulignons que tous ces modèles n'explorent cependant pas l'organisation spatiale (coordination) de ces contractions.

De la description faite ci-dessus, il apparaît que *P. polycephalum* est l'un des organismes les plus simples qui soit pourvu d'un réseau de transport. En dépit de cette apparente simplicité, la formation de ce réseau tubulaire partage de nombreux points communs avec le développement du réseau vasculaire d'organismes plus évolués, ou celui conduisant à l'irrigation de tumeurs [29–31]. En particulier, on peut identifier deux phases dans le développement du réseau : tout d'abord une phase de croissance d'un réseau primaire densément réticulé, puis une phase de réorganisation au cours de laquelle le réseau primaire se hiérarchise, certaines veines grossissant au dépend d'autres qui disparaissent (cf. Figure I.2).

Il est à noter qu'au cours de ces 20 dernières années, diverses études ont établi que cette réorganisation du réseau répondait à un schéma d'optimisation. Ainsi, il a été montré que l'organisme était capable de "trouver" le plus court chemin entre l'entrée et la sortie d'un labyrinthe [32], ou trouver le réseau le plus court reliant des points entre eux (arbre de Steiner) [33]. Sa capacité à former et réorganiser des réseaux tubulaires a également inspiré le développement d'algorithmes de résolution du plus court chemin appelés *Physarum-solver* [34].

## Croissance, migration, et coordination de l'activité contractile

Nous avons vu que les écoulements générés activement dans le réseau tubulaire de *P. polycephalum* permettent de distribuer les nutriments et signaux biochimiques dans tout l'organisme. Mais ce réseau a une seconde fonction : il permet d'acheminer efficacement la masse corporelle lors de la croissance ou le déplacement du plasmode. Cela nécessite toutefois de la part de cet organisme dépourvu de système nerveux, à la fois un contrôle local de la transition sol-gel (solution-gélification) du cytoplasme, résultant de la dynamique de polymérisation-dépolymérisation de l'actine, et une coordination de l'activité contractile dans tout l'organisme afin de générer une onde de contraction se propageant d'un bout à l'autre de la cellule. Cette onde génère des écoulements asymétriques entre les sens postérieur-antérieur et antérieur-postérieur. La motilité (ou la direction de croissance) de l'organisme est directement reliée à cette asymétrie des écoulements. Le mécanisme pilotant la coordination des contractions corticales au travers de la cellule n'est toujours pas bien compris. Le calcium ayant un rôle important dans la dynamique de contraction-relaxation du cortex d'acto-myosine, il est légitime d'expliquer cette coordination par un mécanisme de diffusion et/ou d'advection des ions calcium dans le cytoplasme. Cependant cette coordination doit être causée en partie au moins par un couplage d'origine hydrodynamique : la condition d'incompressibilité du cytosol circulant génère un couplage des contractions. De plus ces ions sont en partie régulés par des canaux mécano-sensitifs. L'étirement mécanique de l'ectoplasme libère des ions calcium accumulés dans des vacuoles. En conséquence, l'étirement du cortex par les écoulements pourrait influencer sur la concentration de calcium qui à son tour influe sur la contraction générant des écoulements. Il a également été montré que l'action de forces externes modifiait l'amplitude des contractions. Il est probable que cette réponse soit due à une réorientation et/ou un recrutement des fibres d'actomyosine dans le cortex [27].

D'un point de vue physique, le plasmode peut être vu comme un **gel actif** [35] capable aux temps courts de générer des contractions, provoquant ainsi les flux cytoplasmiques au travers de son réseau, et aux temps longs de remodeler son réseau et mouvoir sa masse corporelle, grâce à un contrôle actif de sa transition sol-gel et une auto-organisation de son activité contractile. Nous discutons des modèles physiques rendant compte de l'auto-organisation et de l'émergence de phénomènes oscillatoires à la section suivante.

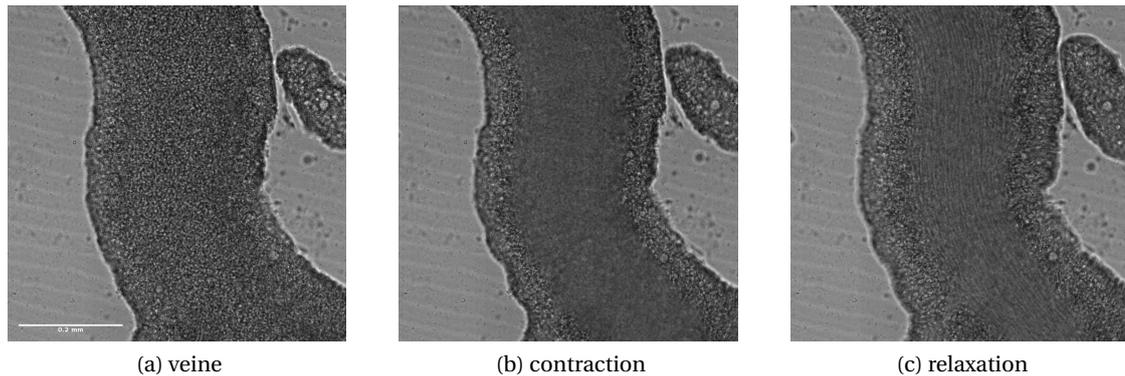


FIGURE I.3 – (a) image d'une veine, l'endoplasme et l'ectoplasme indifférentiables, lorsqu'on moyenne des images (20 images espacées de 1 secondes) autour des pics de contraction (b) et relaxation (c) il devient possible de faire la distinction. Les vésicules n'apparaissent plus nettement dans l'endoplasme mais on distingue leurs traces qui témoignent de l'écoulement

### I.3. – Modèles physiques des auto-oscillations

Le "culte de l'oscillateur" étant très largement répandu parmi les physiciens, on retrouve naturellement *Physarum* dans le cabinet de curiosité d'un certain nombre d'entre eux. En effet, nous avons vu que la structure du cytoplasme de *Physarum* est relativement simple en comparaison d'autres systèmes biologiques de même taille. D'autre part, il est le lieu de phénomènes oscillatoires à plusieurs échelles : du niveau microscopique avec des cycles métaboliques (ATP,  $\text{Ca}^{2+}$ , cAMP) au niveau macroscopique avec des contractions mécaniques et flux hydrodynamiques oscillants. Bien qu'elles soient encore mal comprises à ce jour, les boucles de rétroaction liant ces différents phénomènes oscillants sont soupçonnées d'être responsables de l'émergence d'ondes de contractions cohérentes se propageant sur des distances comparable à la taille de la cellule.

Pour guider notre compréhension des dynamiques auto-organisationnelles, nous allons passer en revue trois approches théoriques. Celles-ci sont celles de la matière active, des systèmes dynamiques dissipatifs (excitables) et le couplage d'oscillateurs auto-entretenus. Nous verrons également leurs applications complémentaires dans le cas particulier de *Physarum polycephalum*.

#### I.3.1. – Matière active

Une approche physique en plein essor pour décrire les systèmes vivants est celle de la matière active. Cette approche cherche à prédire les propriétés statistiques et mécaniques de systèmes "d'agents" sur différentes échelles de tailles : des bancs de poissons, d'oiseaux et d'insectes, aux assemblées de microfilaments en passant par les colonies de bactéries. Le terme

"actif" fait référence au fait que, dans ces systèmes, les agents sont auto-propulsés, c'est à dire qu'ils consomment de l'énergie en continu pour la transformer en mouvement. La physique de ces systèmes est donc fondamentalement hors de l'équilibre thermodynamique et présente une phénoménologie riche/nouvelle avec, en particulier, des transitions de phase entre des états désordonnés et des états de comportements collectifs.

L'acte fondateur de la recherche sur la matière active a été réalisé par Vicsek en 1995 [36] en introduisant un modèle minimal d'agents auto-propulsés interagissants entre eux. Dans les mois qui suivirent, Toner et Tu [37] développèrent une formulation continue du modèle numérique de Vicsek. Leur analyse confirma les résultats numériques de Vicsek qui suggéraient l'existence d'une transition de phase entre un système désordonné où la vitesse moyenne des agents est nulle vers une phase ordonnée où les agents s'alignent et la vitesse moyenne devient non-nulle. Après un premier temps (7ans) à investiguer la matière active dite "sèche" (c'est à dire des systèmes où l'impulsion n'est pas conservée), la communauté grandissante de théoriciens, s'est attelée à construire des équations hydrodynamiques généralisées pour décrire une classe particulière de systèmes actifs. Ces systèmes, dits "mouillés", sont des milieux continus constitués de particules actives baignant dans un liquide visqueux. Les frottements visqueux des particules dans le fluide donnent naissance à une interaction hydrodynamique entre celles-ci.

### **Le cytoplasme, du fluide au gel actif**

Le cytosquelette est constitué de 3 types de protéines agencées en filaments : les filaments intermédiaires, les microtubules et les filaments d'actine. Nous ne considérerons dans la suite que les filaments d'actine qui sont les principaux acteurs de la contractilité. Ces filaments sont liés entre eux et forment un maillage dense appelé cortex d'actine.

Ce sont des structures polaires en constante polymérisation/dépolymérisation. Des moteurs moléculaires spécifiques (les myosines) s'attachent sur ces filaments d'actine et se déplacent le long des filaments selon la direction définie par la polarité de ces derniers. Ce mouvement est réalisé par hydrolyse de l'ATP qui est produit en continu dans la cellule. C'est cet apport continu d'énergie qui maintient le système hors d'équilibre. Lorsque plusieurs myosines se lient entre elles et se déplacent le long de filaments différents, elles entraînent des déplacements relatifs entre les filaments. Ces déplacements relatifs génèrent des forces dans le cortex. Compte tenu de la nature polaire des fibres, les myosines pourraient en théorie exercer des forces aussi bien extensiles que contractiles en fonction de la polarité des fibres d'actines sur lesquelles elles se déplacent. Cependant en raison de l'élasticité des fibres d'actines, celles

ci flambent lorsqu'elles sont comprimées. En pratique, cette brisure de symétrie donne lieu à une force effective contractile [38, 39].

Les premières équations hydrodynamiques développées par Kruse et Julicher [40–42] consistent à établir des équations constitutives d'un fluide constitué de fibres formant une phase nématique et d'un solvant. Le fluide contient une substance qui génère des contraintes contractiles dont l'orientation est pilotée par le nématique. Pour réaliser cela, ils construisent l'énergie libre<sup>4</sup> du système comprenant des termes passifs liés aux variations de densité (potentiel chimique), un terme d'énergie cinétique, et à l'orientation nématique auxquels il faut ajouter un terme actif correspondant à l'énergie chimique apportée par les molécules d'ATP. Ils se placent ensuite dans un régime faiblement hors d'équilibre où l'écriture de la production d'entropie<sup>5</sup> permet de dériver des paires de Flux-Forces thermodynamiques conjugués qui contrôlent l'hydrodynamique du gel actif. Puis, à partir d'arguments de symétrie ils dérivent les équations constitutives dans le gel ainsi que les coefficients de transports. Leur théorie a ensuite été étendue aux systèmes de plusieurs constituants (gels +solvant) [43].

Ces modèles ont permis de prédire de nombreux comportements pilotés par l'activité contractile [44–50]. En particulier, les résultats portant sur les gels actifs prédisent des états stationnaires comme la migration [47,50], des états oscillants [45] et des ondes progressives [46].

Ces résultats analytiques reposent sur une analyse de stabilité linéaire au proche de l'équilibre thermodynamique. Tandis que la dynamique des microplasmodes semblent compatible avec cette hypothèse, les grandes fluctuations observées pour les plasmodes plus gros semble l'invalider *a posteriori*. D'autre part, ces prédictions sont réalisées pour des systèmes homogènes dont la géométrie est soit uni-dimensionnelle soit de symétrie radiale ce qui est très différents des hétérogénéités et de la géométrie complexe (réseau tubulaire) des gros plasmodes. En conclusion, cette approche thermodynamique proche de l'équilibre semble adaptée pour décrire les microplasmodes dont on peut raisonnablement supposer qu'ils se comportent comme des gels actifs tant que les veines ne sont pas formées. En particulier la prédiction d'états stationnaires exhibant des comportements périodiques fournit une justification aux approches considérant des oscillateurs auto-entretenus détaillée en I.3.3.

### I.3.2. – Milieux excitables

Dans son article fondateur : "The Chemical Basis of Morphogenesis" [51], Alan Turing proposa un mécanisme de formation de motifs chimiques reposant sur un modèle de réaction-diffusion. Il prouva qu'un état stable et spatialement homogène d'un système réactif peut

4.  $\frac{dF}{dt} = \int d\vec{r} \left( \mu \frac{\partial n}{\partial t} - \vec{h} \frac{\partial \vec{p}}{\partial t} + \frac{\partial E_c}{\partial t} - R\Delta\mu \right)$   
 5.  $T \frac{dS}{dt} = -\frac{dF}{dt}$

perdre sa stabilité lorsqu'il est soumis à un transport diffusif. Ce processus de transport passif peut renforcer les fluctuations aléatoires locales d'un milieu initialement homogène et conduire à une répartition finale hétérogène de concentrations chimiques (motifs de Turing). Le "modèle de Turing" fut révolutionnaire et très prolifique car il démontra que la diffusion pouvait être le moteur d'une instabilité alors qu'elle était jusqu'alors considérée comme stabilisatrice (homogénéisation spatiale) pour les systèmes dynamiques. Ce changement de paradigme conduit Gierer et Meinhardt à proposer un modèle de morphogénèse biologique se basant sur des systèmes activateur-inhibiteur ( $u$  et  $v$  respectivement). Ces systèmes à deux composants (des morphogènes) sont traditionnellement analysés à l'aide d'équations aux dérivées partielles de la forme :

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= \tilde{\nabla}^2 u + f(u, v) \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= \sigma \tilde{\nabla}^2 v + \epsilon g(u, v)\end{aligned}$$

où  $f$  et  $g$  sont des fonctions non-linéaires pouvant éventuellement aussi dépendre des gradient de  $u$  et  $v$ . En fonction de la valeur de  $\sigma$  qui détermine le ratio des constantes de diffusion des deux espèces, ce système dynamique peut conduire à des motifs hétérogènes stables ( $\sigma > 1$  inhibition à longue portée) ou à des comportements dynamiques oscillants et des ondes propagatives [52]. D'autre part lorsque  $\epsilon \ll 1$ , le système présente une dynamique de relaxation avec des périodes d'activité rapide (excitation) et lente (relaxation). Lorsque le système présente une telle dynamique, on dit de lui que c'est un milieu excitable. De manière générale, ces milieux sont des systèmes dynamiques distribués (d'une ou plusieurs variables d'état :  $u, v, \dots$ ) dans l'espace dont chaque élément possède la propriété d'excitabilité. Les éléments voisins interagissent les uns avec les autres et peuvent transmettre leur excitation à leurs voisins par couplage local puis entrer dans une période réfractaire avant d'être à nouveau excitable. Ce terme désignait initialement la propriété des organismes vivants (ou de leurs cellules constitutives) de répondre fortement à l'action d'un stimulus externe relativement faible. Néanmoins, ce comportement dynamique, manifestement non-linéaire, est caractéristique d'une grande classe de systèmes : en biologie et chimie, comme décrit précédemment [53–59], mais également sur des systèmes physiques (feux de forêt, épidémies, ou encore des assemblées d'oscillateur électroniques non linéaire).

Les ondes dans les milieux excitables diffèrent de celles des milieux passifs linéaires. Elles sont non-linéaires et auto-entretenues par une source d'énergie distribuée. Les milieux excitables sont capables de supporter une onde progressive ou des trains d'ondes successifs non-amortis et, lorsque la taille du milieu est suffisamment grande, la vitesse de propagation et

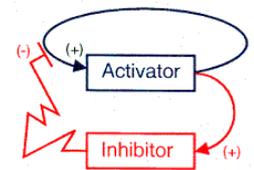


FIGURE I.4. – Système activateur-inhibiteur.

le profil de l'onde ne dépendent pas des conditions initiales et/ou limites. Cela les distingue des solitons se propageant dans les systèmes conservatifs non-linéaires, pour lesquels les vitesses et les formes du front d'onde dépendent fortement des conditions initiales. De surcroît, la présence de bruit dans le système peut stabiliser la dynamique ondulatoire [60] ce qui en fait un mécanisme particulièrement robuste pour des systèmes biologiques soumis à des environnements fluctuants. Parmi les motifs observés dans les milieux excitable, on peut citer l'expansion d'anneaux, la formation de spirales ou encore l'annihilation de deux ondes contre-propagatives [61, 62]. Des motifs de contraction similaires ont notamment été observés chez *P. polycephalum* [63] et ces similitudes ont abouti à la modélisation du pasmode comme un milieu effectif excitable [7, 64, 65]. Bien que les simulations réalisées sur ce modèle imitent assez bien la dynamique du front de migration ce modèle ne prend pas en compte ni la structure discrète du réseau ni les écoulements. Ces derniers peuvent être intégrés grâce à des termes d'advection supplémentaire dans un système de réaction-diffusion-advection. Bien souvent l'ajout d'un tel terme ne permet plus d'obtenir des résultats analytiques. Néanmoins, des travaux numériques sur un tel système dynamique ont été réalisés par une équipe allemande durant ce travail de thèse. Nous verrons au chapitre IV que leur résultats numériques sont en assez bon accord avec les résultats expérimentaux que nous avons obtenus.

### 1.3.3. – Synchronisation d'oscillateurs

Dans un contexte classique, la synchronisation signifie l'ajustement des rythmes d'oscillateurs périodiques autonomes en raison de leur faible interaction.

La première description d'un tel phénomène remonte à Christiaan Huygens qui découvrit que deux pendules d'horloges placées à proximité pouvaient se synchroniser, il baptisa ce phénomène "sympathie des horloges" mais ne comprit pas réellement son origine.

Une véritable avancée dans la compréhension de la synchronisation dut attendre les années 1920 avec Appleton et Van der Pol qui étudièrent théoriquement et expérimentalement la synchronisation des générateurs électroniques autonomes.

Les propriétés de synchronisation des oscillateurs périodiques autonomes sont basées sur l'existence d'une variable spéciale, la phase  $\phi$ . Mathématiquement, les oscillations auto-entretenues correspondent à un cycle limite stable dans l'espace des états d'un système dynamique. La phase  $\phi$  peut être introduite comme la variable paramétrant le mouvement le long de ce cycle. On peut toujours la choisir de manière à ce qu'elle croisse uniformément dans le temps, de sorte que  $\frac{d\phi}{dt} = \omega_0$  où  $\omega_0$  est la fréquence naturelle des oscillations.

La phase est neutre et stable : ses perturbations ne croissent ni ne décroissent, ce qui correspond à l'invariance des solutions des systèmes dynamiques autonomes par rapport aux décalages temporels. À l'inverse, l'amplitude des oscillations a une valeur stable définie (pour les systèmes qui peuvent être décrits en termes d'énergie, cette valeur est déterminée par un équilibre entre l'afflux et la dissipation d'énergie).

En raison de la stabilité neutre de la phase, une petite perturbation (par exemple un forçage périodique externe ou un couplage à un autre système) peut déjà provoquer de grandes déviations de la phase. À l'inverse, l'amplitude, est faiblement perturbée et relaxe vers sa valeur stable. Ainsi, avec un forçage relativement faible, on peut ajuster la phase et la fréquence des oscillations sans influencer l'amplitude, cet ajustement est l'essence même du phénomène de synchronisation. Cet ajustement peut être décrit en termes de verrouillage de phase et d'entraînement de fréquence.

Le concept moderne couvre également des objets tels que les rotateurs et les systèmes chaotiques; dans ce dernier cas, on distingue différentes formes de synchronisation : complète/identique, en phase, généralisée, etc. Les phénomènes de synchronisation dans de grands ensembles de systèmes couplés se manifestent souvent sous la forme de régimes collectifs cohérents apparaissant via des transitions de phase hors-équilibre.

La conception moderne est particulièrement adaptée pour comprendre des phénomènes biologiques. En effet, le temps est un élément central pour tous les organismes, leur activité est gouvernée par des cycles de différentes durées qui déterminent leurs comportements individuels ou sociaux. Parmi eux, certaines actions nécessitent un "timing" précis. Cette précision peut être obtenue après une longue période d'apprentissage ou émerger spontanément par la synchronisation des actions individuelles d'un groupe. Un exemple paradigmatique est la synchronisation de lucioles qui émettent des flash lumineux à la tombée de la nuit. Initialement incohérents, ces flashs individuels se synchronisent sur une courte période et la colonie d'insectes s'illumine à l'unisson. La pertinence évolutive de ce type de comportement collectif n'est pas toujours comprise, pour certains systèmes comme les lucioles il pourrait permettre de faciliter la parade entre mâle et femelle tandis que pour d'autres comme les neurones, une synchronisation totale peut être catastrophique et notamment entraîner des crises d'épilepsie. Ainsi, la portée, et la nature des interactions entre les comportements individuels oscillants jouent un rôle crucial pour la détermination du comportement collectif. En particulier, la nature de l'interaction entre deux oscillateurs appelée "phase response curve" (PRC) est caractérisée par la réponse aux perturbations d'un oscillateur en chaque point de son cycle limite. Cette réponse peut être positive ou négative se qui se traduit par une avance ou un retard de phase provoqué par la perturbation.

## Modèle de Kuramoto

L'approche la plus fructueuse de ces phénomènes collectifs est due à Kuramoto qui proposa un modèle d'oscillateurs de phases auto-entretenues par des fréquences naturelles individuelles  $\omega_i$  suivant une distribution de probabilités connue. Pour les  $N$  oscillateurs constituant le système, la dynamique individuelle est gouvernée par l'équation

$$\dot{\theta}_i = \omega_i + \sum_{j=1}^N K_{ij} \sin(\theta_j - \theta_i) \quad (I.1)$$

L'analyse de Kuramoto doit une partie de son succès à l'introduction d'un paramètre d'ordre complexe :

$$r e^{i\psi} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N e^{i\theta_j} \quad (I.2)$$

ou  $0 \leq r(t) \leq 1$  mesure la cohérence de la population d'oscillateurs et  $\psi(t)$  est la phase moyenne. Lorsque  $r = 1$  le système est totalement synchronisé avec la phase moyenne tandis que pour  $0 < r(t) < 1$  il y a une synchronie partielle : une partie des oscillateurs sont en verrouillage de phase avec la phase moyenne ( $\dot{\theta}_i = \dot{\psi}$  tandis que les oscillateurs restant dérivent librement.

Cette approche a permis de dériver des résultats analytiques intéressants notamment en champ moyen c'est à dire dans la limite où  $N \rightarrow \infty$  ( $K_{ij} = K > 0, \forall (i, j) | i \neq j$ ). Dans ce cas, il existe une valeur critique  $K_c$  au delà de laquelle l'état incohérent devient instable et le système se synchronise.

Ce modèle simple est néanmoins difficile à résoudre lorsque l'hypothèse de champ moyen est abandonnée. Dans ce cas, chaque oscillateur n'est alors plus couplé qu'à un sous-ensemble des autres. L'ensemble des couplages forme alors un réseau dont la topologie semble influencer la synchronisabilité du système. Pour sonder cette question, différentes topologies ont été explorées :

- Les chaînes linéaires, c'est à dire une collection finie d'oscillateurs couplés de proches en proches ainsi que leur généralisation à des dimensions supérieures : les arbres réguliers<sup>6</sup>
- Les anneaux, c'est à dire des chaînes avec des conditions aux limites périodiques (ainsi que leur généralisation les réseaux hypercubiques).

Elles permettent de dériver des expressions analytiques dans le cas particulier d'interactions de portée infinie<sup>7</sup> et en présence d'un oscillateur métronome de  $\omega_m \neq 0$  ( $\forall i \neq m, \omega_i = 0$ ). Elles montrent qu'au delà d'une certaine fréquence, le métronome ne parvient plus à entrainer

6. Les arbres de Cayley sont des réseaux acycliques pour lesquels chaque nœud a le même nombre  $z$  de voisins à l'exception des *feuilles* lesquelles ont un unique voisin.

7. le couplage entre deux oscillateurs décroît comme une puissance de leur distance

le reste du réseau dans un mouvement cohérent (verrouillage de phase). Ces expressions dépendent du nombre d'oscillateurs, du type, de l'intensité et de la portée des couplages. En particulier, une gamme de paramètres, le changement de topologie d'une chaîne ouverte à un anneau suffit pour déclencher la synchronisation sur le réseau [66].

D'autre part, pour un ensemble d'oscillateurs, plusieurs états stationnaires synchronisés peuvent coexister. Il est alors naturel de se demander comment la taille et la topologie du réseau influent sur ces états et la taille de leur bassin d'attraction.

Étant donné un anneau composé d'oscillateurs identiques pour lequel chaque oscillateur est couplé aux  $k$  voisins situés de part et d'autre de sorte que la dynamique s'écrive :

$$\dot{\theta}_i = \omega + \sum_{j=i-k}^{i+k} \sin(\theta_j - \theta_i), \quad i = 1, \dots, n, \quad (\text{I.3})$$

avec  $n \gg 1$  et  $i$  est périodique modulo  $n$ . Ce système a toujours un état stationnaire stable tel que  $\theta_i = \omega t, \forall i$ . Les autres états stationnaires se présentent sous la forme d'ondes progressives uniformes le long de l'anneau sont appelés des états "enroulés" et s'écrivent  $\theta_i = \omega t + 2w\pi \frac{i}{n} + C$  ou  $w$  est le nombre d'enroulement.

Lorsque  $\frac{k}{n} \geq 0.34$  l'unique état stationnaire stable est une synchronisation parfaite ( $w = 0$ ). Lorsque  $\frac{k}{n}$  décroît les ondes progressives uniformes ( $w \neq 0$ ) deviennent des états stables. Étonnamment, les tailles des bassins d'attraction des modes  $w$  suivent une distribution gaussienne centrée d'écart quadratique  $\sigma \propto \sqrt{\frac{n}{k}}$  [67, 68].

Ce modèle étant paradigmatique pour tous les phénomènes de synchronisation, il occupe une place incontournable dans la littérature pour décrire *Physarum*. Le caractère actif et oscillant de son cytoplasme conduit naturellement à sa modélisation sous la forme d'un ensemble distribué d'oscillateurs non-linéaires. En effet, les différents modèles d'oscillateurs non-linéaire utilisés en biologie (Van der Pol, Ginzburg-Landau, Hodgkin-Huxley,...) sont réductibles à un modèle d'oscillateurs de phases autonomes dans la mesure où les interactions restent faibles. Ces approches ont permis de reproduire certaines structures ondulatoires cohérentes mais elles sont également une piste intéressante pour décrire les phénomènes d'alternance entre synchronisation et désynchronisation que nous décrivons au chapitre III. Néanmoins ces modèles ne permettent pas de prendre en compte les écoulements dans les couplages. De plus la condition d'incompressibilité du cytoplasme doit être prise en compte dans le choix de la forme de la PRC pour rendre impossible la synchronie globale ( $w = 0$ ).

Ce modèle simple est toujours le sujet de nombreuses recherches et le lecteur intéressé pourra trouver de nombreuses déclinaisons du modèle (réseaux invariants d'échelle, termes stochastique, délais de propagation, limitation à courte portée des interactions ou encore présence d'un champ extérieur) dans l'article de revue [69].

## I.4. – Objectifs et plan

En raison de leurs interactions particulièrement entremêlées, nous pensons qu'au moins trois facteurs sont nécessaires à l'émergence de la dynamique complexe de *Physarum* : **1)** l'activité contractile du cytogel qui est rendue possible par l'action des moteurs moléculaires dont l'activité est régulée chimiquement, **2)** les écoulements qui transportent cette substance et qui sont générés par l'état contractile de l'ensemble du cytogel, et **3)** l'architecture du réseau qui contraint les écoulements. Ce travail de thèse a pour objectif de caractériser le couplage entre la contractilité, les écoulements et le remodelage du réseau, en associant expériences et modélisations théoriques et numériques.

Le plan de ce manuscrit est le suivant. Au chapitre II, nous détaillons notre protocole de culture cellulaire ainsi que le dispositif expérimental d'imagerie en transmission mis au point pour visualiser l'activité contractile des plasmodes. Nous développons également les outils numériques de traitement d'images et de traitement du signal, permettant d'extraire d'une part la structure du réseau tubulaire, et d'autre part la dynamique des contractions.

Les premiers résultats expérimentaux seront abordés au chapitre III. Dans ce chapitre nous mettrons en évidence le lien entre la synchronicité des contractions au sein du cytoplasme et les phases de croissance et de remodelage du réseaux. En particulier, nous montrerons une dynamique intermittente entre des phases de synchronisation et des phases de désynchronisation. Tandis que les premières coordonnent les écoulements cytoplasmiques sur de grandes échelles spatiales et permettent la migration, les secondes entraînent des écoulements circulants sur de plus petites échelles spatiales. Nous montrerons également que le remodelage du réseau a lieu durant cette phase de désynchronisation.

Dans le chapitre IV, nous avons confiné le cytoplasme dans une chambre de géométrie annulaire afin de s'affranchir de la dynamique migratoire et d'une quelconque polarisation postérieure-antérieure. Nous avons mesuré les flux générés par une méthode d'inférence détaillée en annexe B). Cette méthode nous permettra de montrer que la dynamique spatio-temporelle des écoulements peut se classer selon différents modes suivant des critères de symétries et de transport net.

Enfin, dans le chapitre V nous caractériserons la structure de réseaux matures dont on a contraint la direction principale des écoulements. Puis nous discuterons des interactions hydrodynamiques sur des réseaux avant de proposer des modèles de réorganisation hiérarchique

---

basés sur la statistique des écoulements. Ces modèles nous permettront de générer des réseaux dont la structure hiérarchique est semblable à celle des réseaux plasmodiaux.



## Dispositifs et méthodes expérimentales

---

### II.1. – Culture cellulaire

Dans son milieu naturel, la forêt, on trouve *P. polycephalum* sur de la matière organique en décomposition, typiquement des souches d'arbres ou de l'humus sur lesquels il se nourrit par phagocytose. La nature exacte de son régime alimentaire minimal n'est pas connue mais en pratique, un simple compost suffit pour lui permettre de soutenir une croissance vigoureuse. Cependant, cette méthode ne permet pas de quantifier avec précision la nourriture qu'il reçoit, sans compter que les contaminations bactériennes et fongales qu'implique cette culture peu élaborée transforment rapidement une boîte de Pétri en "*cour des miracles microbienne*".

Pour remédier à cela, plusieurs équipes ont développé empiriquement des milieux de cultures liquides stériles partiellement ou totalement définis [70–74]. Néanmoins, ces milieux ne couvrent pas tous les besoins alimentaires puisqu'ils entraînent des dégénérescences des organelles après quelques années [75]. À ma connaissance, l'ensemble de la communauté d'expérimentateurs travaillant actuellement avec *Physarum* conduit des expériences soit en absence de nourriture<sup>1</sup>, soit en présence de sources de nourriture ponctuelles opaques<sup>2</sup>. Ayant pour objectif de conduire des expériences de croissance avec un dispositif d'imagerie en transmission (détaillé dans la section II.2) et, à la lueur d'une récente étude montrant que *Physarum* est capable d'habituation [76], j'ai longuement essayé de développer un substrat solide nutritif qui servirait à la fois à la culture et à l'observation de *Physarum*, afin que le comportement de celui-ci ne soit pas perturbé par un changement de substrat lors des expériences.

Mes nombreuses tentatives pour adapter les recettes de milieux de culture liquide existantes à la fabrication d'un hydrogel qui soit à la fois nutritif, transparent et incolore n'ont pas été fructueuses. Un compromis a été réalisé en mettant au point un substrat de culture contenant

---

1. Sur des temps courts, *P. polycephalum* n'a pas besoin de nutriments. Seul un milieu suffisamment humide est nécessaire au maintien de son activité physiologique.

2. Des flocons d'avoine typiquement.

des flocons d'avoines que *Physarum* affectionne particulièrement [77] et un substrat d'observation partiellement nutritif sans flocons d'avoine. Je détaille leurs préparations dans la section suivante.

### II.1.1. – Substrats de culture

Pour croître correctement, *Physarum* a besoin d'un milieu très humide. Pour cette raison, il est généralement cultivé sur des gels d'agarose. Cependant, nous avons besoin d'un gel avec des propriétés optiques et mécaniques reproductibles difficilement compatibles avec l'agarose. Nous avons utilisé un hydrogel à base de gomme gellane<sup>3</sup> qui réunissait tous ces critères et est commercialisé par Sigma Aldrich (Phytigel) pour la culture de plantes. Tout d'abord, sa grande transparence et son aspect incolore sont des avantages indéniables pour le bon fonctionnement de notre dispositif d'imagerie en transmission ainsi que pour notre technique de segmentation couleur (cf section II.2). D'autre part, la rigidité du substrat étant connue pour jouer un rôle important dans la motilité cellulaire [78–80], les propriétés élastiques linéaires de Phytigel [81] pourraient permettre de quantifier dans un travail futur le comportement durotactique des plasmodes. Pour le travail présenté dans ce manuscrit, nous avons fait le choix d'un substrat très rigide avec concentration massique en Phytigel à 2%. Pour déclencher la réticulation à cette concentration il faut qu'il soit chauffé en présence de cations divalents à une concentration de  $10^{-5}$  mol/L puis laissé refroidir. Après avoir essayé le  $Mg^{2+}$  et le  $Ca^{2+}$  à  $10^{-5}$  mol/L nous avons constaté que le plasmode se portait mieux sur les gels réticulés en présence de  $CaCl_2$  dissout. Enfin, un complément nutritif est ajouté pour favoriser le maintien du front de croissance homogène<sup>4</sup>, pour cela, nous avons dissous du glucose à 10g/L dans la solution.

Le protocole de préparation réalisé sous poste micro-biologique est détaillé ci-après.

#### Étapes

1. Dissolution à température ambiante de 10g/L de glucose dans une solution d'eau ultra filtrée +  $CaCl_2$  à  $10^{-5}$  mol/L.
2. La poudre de Phytigel à 2% massique est versée rapidement puis suivie d'une agitation vigoureuse afin de prévenir la formation de grumeaux.
3. **Gel pour la culture :**

---

3. Gélifiant produit naturellement par la bactérie *Sphingomonas elodea*.  
4. Illustré en figure I.2 du chapitre d'introduction

- La préparation est chauffée par intermittence au micro-ondes pour une durée totale de deux minutes entrecoupée de pauses toutes les 30 secondes durant lesquelles la préparation est agitée puis refroidie en plongeant le bocal sous de l'eau à température ambiante et dégazée (le bocal est légèrement ouvert pour équilibrer la pression intérieure avec la pression atmosphérique) .
- Après avoir versé le gel jusqu'à une hauteur d'environ 5mm dans les boîtes de Pétri, la surface du gel est saupoudrée uniformément de flocons d'avoine préalablement autoclavés.

#### 4. **Gel pour l'observation :**<sup>5</sup>

- La préparation est chauffée dans un autoclave ( cycle de 70 minutes à 122 °C).
  - Le gel est versé jusqu'à une hauteur d'environ 5mm dans les boîtes de Pétri.
5. Enfin on laisse refroidir le gel en deux temps. Une première phase de 10 minutes durant laquelle on laisse refroidir le gel sans couvercle afin de laisser suer l'excédent d'eau. Puis une seconde phase de refroidissement pour laquelle on referme la boîte de Pétri jusqu'à la thermalisation du gel.

Pour empêcher l'évaporation et la déshydratation du gel, tout en permettant l'échange d'oxygène, les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm.

### II.1.2. – Manipulation de l'organisme : Boutures et sclérotés

#### **Culture de masse**

Notre culture de masse de *Physarum polycephalum* est maintenue dans l'obscurité dans un incubateur maintenu à 25 °C et 80 % d'humidité. Pour le garder dans un état de croissance permanent, il était transféré sur un nouveau substrat aussitôt qu'il a colonisé la surface totale de la boîte. Pour réaliser ce transfert, on effectue une bouture en découpant des bandes de 1 cm de large du substrat de croissance précédemment colonisé et on les dépose sur toute la longueur d'un bord du nouveau substrat. La partie prélevée correspondait aux 2-3 cm de la partie avant du plasmode, c'est à dire le front de migration. Cette découpe n'endommage pas l'organisme qui cicatrise presque instantanément grâce à la gélification du cytosol. Il a été également suggéré que l'abondance de vésicules, qui, à l'instar de la membrane cellulaire sont constituées d'une bi-couche phospholipidique, contribue à la reformation rapide de la membrane et au processus de cicatrisation. Cependant, cette découpe interrompt les écoulements dans le

---

5. La méthode de chauffe est différente pour assurer une meilleure reproductibilité des propriétés mécaniques

cytoplasme et désorganise l'activité contractile. Après un temps d'adaptation de l'ordre de la demi-heure, les écoulements reprennent et avec eux, la croissance.

## Expériences

Pour l'étude des mouvements contractiles en géométrie confinée (cf Chap. IV), le même procédé est appliqué. Des boutures sous forme de bandes de 3x1 cm sont réalisées et déposées sur tout le **pourtour** d'une boîte de Pétri circulaire contenant le gel partiellement nutritif décrit précédemment. Les boîtes sont scellées et conservées dans l'incubateur jusqu'à invasion totale de la surface. La colonisation radiale de la boîte (de l'extérieur vers le centre) dure entre 12 et 24h. Dès que la surface est entièrement couverte, l'organisme est confiné au moyen d'emporte-pièces circulaires de notre conception. Ces derniers sont plantés concentriquement dans le gel jusqu'à la base de la boîte de Pétri et forment des anneaux de cytoplasme indépendants. Les boîtes sont alors scellées puis on les laisse reposer pendant une demi-heure dans le dispositif d'imagerie décrit en section II.2 avant de lancer l'acquisition d'images.

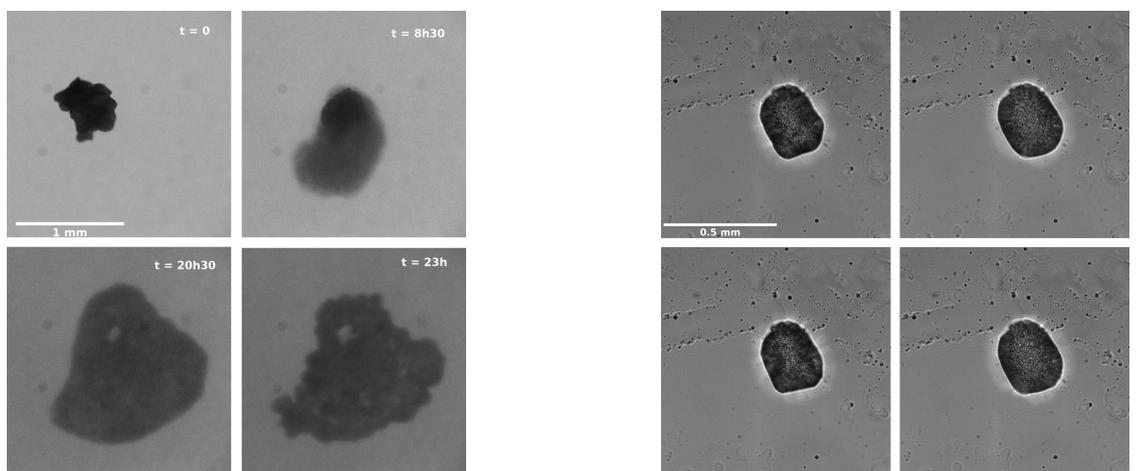
Pour l'observation de croissance et réorganisation du réseau aux temps longs (cf Chap. V, on répartit des grains de sclérotés (détails ci-après) le plus uniformément possible dans un anneau de gel. En s'hydratant, les sclérotés gonflent et débutent leur activité contractile plasmodiale. Ces petits plasmodes explorent leurs environs sous forme de fronts de croissance en éventail (voir figure II.1 (a)) jusqu'à finir par rencontrer un autre plasmode avec lequel ils fusionnent. Progressivement, un plasmode unique se forme. En raison du faible volume de matériel cellulaire, le plasmode ne couvre pas toute la surface de l'anneau et l'organisme se réduit essentiellement à un réseau très bien défini faisant le tour de l'anneau.

## Sclérotés

Lorsqu'il est déshydraté, ou affamé, *Physarum* peut entrer dans une phase dormante appelée sclérote qui peut durer plusieurs mois jusqu'à ce que les conditions extérieures redeviennent favorables. Pour produire des sclérotés, j'ai adapté la technique de déshydratation progressive mise au point par J. A. Jump [82]. Pour cela on réalise une bouture de la culture de masse. Cette dernière est placée au contact d'un papier filtre humidifié dans une boîte de Pétri avec un couvercle muni d'évents. Cette boîte est elle-même placée dans un incubateur jusqu'à la migration complète du plasmode sur le papier filtre. Cette étape peut durer entre 12h et 24h selon la taille du plasmode et sa vigueur. En principe on évite de faire des trop grosses boutures pour éviter que le plasmode ne s'aventure hors du papier filtre. Une fois que le plasmode a quitté le gel de culture bouturé, ce dernier est retiré et la boîte est laissée dans l'obscurité

plusieurs jours pour permettre une déshydratation progressive. Une fois déshydratées, les boîtes de Pétri sont scellées et stockées dans un endroit sec et obscur.

Il suffit d'hydrater un sclérote pour que l'activité plasmodiale reprenne en quelques heures. Pour cela, on peut soit directement en hydrater le papier filtre avec de l'eau distillée, soit indirectement en le déposant sur un hydrogel. Une autre méthode consiste à récolter les sphérules qui composent le sclérote [83]. Pour cela, on gratte délicatement le papier filtre avec une spatule pour décoller le sclérote. La poudre récoltée est composée d'agrégats de sphérules plus ou moins fins. La reprise de l'activité plasmodiale d'un agrégat de sphérules est illustré figure II.1 (a). Cette méthode peut également être utilisée comme alternative à la culture liquide pour l'observation des contractions actives dans un microplasmode (figure II.1 (b)).



(a) Hydratation et reprise de l'activité plasmodiale d'un sclérote

(b) Contractions actives dans une goutte de microplasmode ( $dt = 50s$ )

FIGURE II.1 – Microplasmodes.

## II.2. – Imagerie en transmission

Dans toutes nos expériences, on définit le champ d'épaisseur de la cellule comme notre observable. Pour extraire cette observable des images, l'organisme est éclairé en transmission. *Physarum polycephalum* produit des pigments dont la concentration, supposée homogène, permet par absorption de la lumière, d'obtenir le champ d'épaisseur à partir du champ d'intensité lumineuse. On s'attend à observer une loi d'absorption de type Beer-Lambert. Cependant, la production de pigments qui donnent à l'organisme une couleur allant du jaune délavé pour les jeunes microplasmodes au jaune orangé pour les plasmodes matures en cours de dessiccation, varie significativement dans le temps (sur une échelle de temps d'une dizaine

d'heures) et d'un individu à l'autre. À défaut d'obtenir la valeur précise du champ d'épaisseur qui nécessite une calibration pour chaque organisme valable sur des temps relativement courts, notre méthodologie d'imagerie en transmission nous permet d'obtenir les variations (spatiales et temporelles) relative de ce champ d'épaisseur<sup>6</sup> bien définie sur des temps courts.

## Dispositifs expérimental

J'ai mis au point le dispositif expérimental schématisé en figure II.2 afin de réaliser de l'imagerie en transmission sur des plasmodes de plusieurs dizaines de  $\text{cm}^2$ .

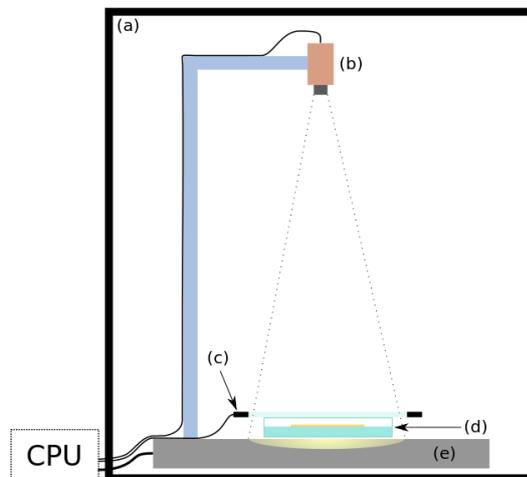


FIGURE II.2 – Dispositif expérimental. (a) Enceinte opaque. (b) Caméra. (c) Plaque en verre thermorégulée. (d) Boîte de Pétri. (e) Base de diascope équipée d'un dispositif d'éclairage uniforme d'intensité réglable.

Celui-ci se compose d'une enceinte extérieure complètement opaque. Elle est indispensable à l'imagerie en transmission pour ne pas corrompre les mesures avec des variations de luminosité ne relevant pas de la dynamique contractile. D'autre part elle permet de contrôler précisément la lumière à laquelle est exposé l'organisme, en particulier le caractère phototactique du plasmode nécessite un éclairage uniforme de faible intensité.

L'éclairage était réalisé avec une base de diascope TL3000 Ergo commercialisée par Leica. Celle-ci permet un éclairage homogène de faible intensité très stable (pas de "flickering"). De plus elle ne dégage qu'une très faible quantité de chaleur. Ce dernier point est crucial en raison des problèmes de condensation liés à l'humidité qui est très importante dans les boîtes de Pétri<sup>7</sup>.

Pour maintenir la température constante et empêcher la condensation sur la face supérieure

6. L'absorbance d'un matériau est définie pour une lumière monochromatique. C'est une fonction monotone décroissante de l'épaisseur de la matière traversée par cette lumière.

7. L'humidité est due aux hydrogels qui sont essentiellement constitué d'eau.

de la boîte, un verre transparent thermorégulé (MA TS - Leica) est posé sur la face supérieure de la boîte de Pétri et réglé à 28 °C<sup>8</sup>.

Enfin, les images ont été enregistrées à l'aide d'une caméra couleur Basler acA2440-75uc d'une résolution de 2448 x 2048 pixels dotée d'un capteur CMOS offrant une profondeur d'acquisition de 12 bits par canal. Cette caméra était soit montée sur un microscope Leica Z16 APO pour les expériences portant sur la réorganisation du réseau (cf Chap. V) car la segmentation de réseaux (cf II.3.2) nécessite une grande résolution spatiale.

Soit directement équipée d'une lentille et fixée sur un pied de 50cm pour le champ visuel plus large requis dans nos expériences de dynamique contractile en géométrie confinée (cf Chap. IV).

Pour la segmentation du réseau (cf II.3.1), nous utilisons des images couleurs car elles permettent de développer des méthodes de segmentation plus élaborées et robustes qu'un simple seuillage dans les cas d'images monochromatiques. Pour l'analyse de la dynamique contractile (cf II.3.3), nous utilisons l'intensité lumineuse enregistrée par le canal bleu. *Physarum polycephalum* étant d'apparence jaune, l'absorbance du plasmode est plus importante pour les teintes bleutées. Ce choix de canal nous permet d'avoir une meilleure sensibilité aux variations d'épaisseur.

## II.3. – Analyse d'image

Le traitement numérique que j'ai développé a été entièrement réalisé en langage *Python*. Les routines que j'ai écrites sont principalement basées sur des fonctions issues des bibliothèques *scipy* et *scikit-image* [84, 85].

### II.3.1. – Segmentation couleur

Notre méthode de segmentation repose sur un principe de marche aléatoire initialement proposée par Grady [86] auquel nous avons essayé d'apporter quelques améliorations permettant une semi-automatisation de la segmentation dans notre cas et une complexité algorithmique moindre en général. L'idée de cette méthode consiste à représenter les pixels de l'image sous la forme d'un graphe sur lequel des marcheurs transitent aléatoirement d'un pixel à l'autre en fonction de leur "similitude". Avant de détailler cette approche nous chercherons à

---

8. La salle était climatisée à 23 °, cette différence de températures empêche la condensation sur la face supérieure qui est plus chaude

quantifier cette notion de "similitude" en particulier dans le cas de la vision humaine. Pour cela, nous discuterons en préambule de l'importance du choix de l'espace colorimétrique. Puis nous présenterons une nouvelle méthode de partitionnement de l'image en îlots de pseudo-couleurs (ou superpixels) rendue possible grâce à ce choix. Ce partitionnement permet de diminuer le temps de calcul nécessaire à la méthode de marcheurs aléatoires originale dont nous détaillerons enfin le fonctionnement.

Les capteurs des caméras couleurs sont équipés de trois canaux rouge, vert et bleu (RVB). Ce principe de fonctionnement est calqué sur celui de la vision trichrome humaine. En effet, la rétine est pavée de photo-récepteurs, les bâtonnets (à 95%) qui permettent une vision en noir et blanc notamment en cas de faible luminosité, et les cônes (5%) qui, présents sous trois types distincts, sont sensibles aux longueurs d'ondes rouges, vertes et bleues. La sensation de couleur résulte de l'interprétation par le cerveau de l'intensité relative des signaux perçus par les différents cônes.

### Espace colorimétrique $L^*a^*b^*$

Les espaces colorimétriques sont des systèmes de représentations des couleurs. Dans ces derniers une couleur est généralement représentée par des triplets par analogie avec la vision humaine (bien qu'il existe des représentations sous forme de quadruplets). L'espace RVB est le plus commun mais il n'est pas toujours approprié et on peut toujours changer de base/d'espace de couleurs pour affiner la représentation. Dans ces espaces, les couleurs peuvent être considérées comme des vecteurs. Cette interprétation géométrique soulève la question de la métrique de ces espaces. Comment mesurer la distance entre deux couleurs? L'illuminant influençant également la perception, il faut un point de référence ou une origine, la balance des blancs [87]. Le degré d'exposition joue également un rôle important dans la distinction des couleurs<sup>9</sup>. En se basant sur des expériences de comparaison de couleurs sur un grand nombre d'observateurs de manière à définir un observateur moyen, la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE) a mis au point un grand nombre d'espaces colorimétriques pour décrire les couleurs telles qu'elles sont perçues par l'Homme. Parmi eux l'espace *CIE*  $L^*a^*b^*$  présente l'avantage d'une répartition des couleurs plus proche de la perception visuelle humaine. Autrement dit, les distances dans l'espace des couleurs reflètent assez bien les différences de perception. Nous avons choisi cet espace fin de segmenter les zones d'intérêts (figure II.3). Son premier axe représente la clarté  $L^*$  qui prend des valeurs comprises entre 0 et 100 correspondant au noir et blanc respectivement. Les axes  $a^*$  et  $b^*$  qui varient entre -100 et

---

9. La nuit, tous les chats sont gris

100 correspond à l'écart au gris pur selon les axes de couleur *vert* → *rouge* et *bleu* → *jaune*. Dans cet espace la métrique euclidienne est appropriée pour définir des distances de couleurs. Toutefois il convient de faire attention à la saturation car la distance entre couleurs pose des problèmes pour les jaunes et violets saturés.

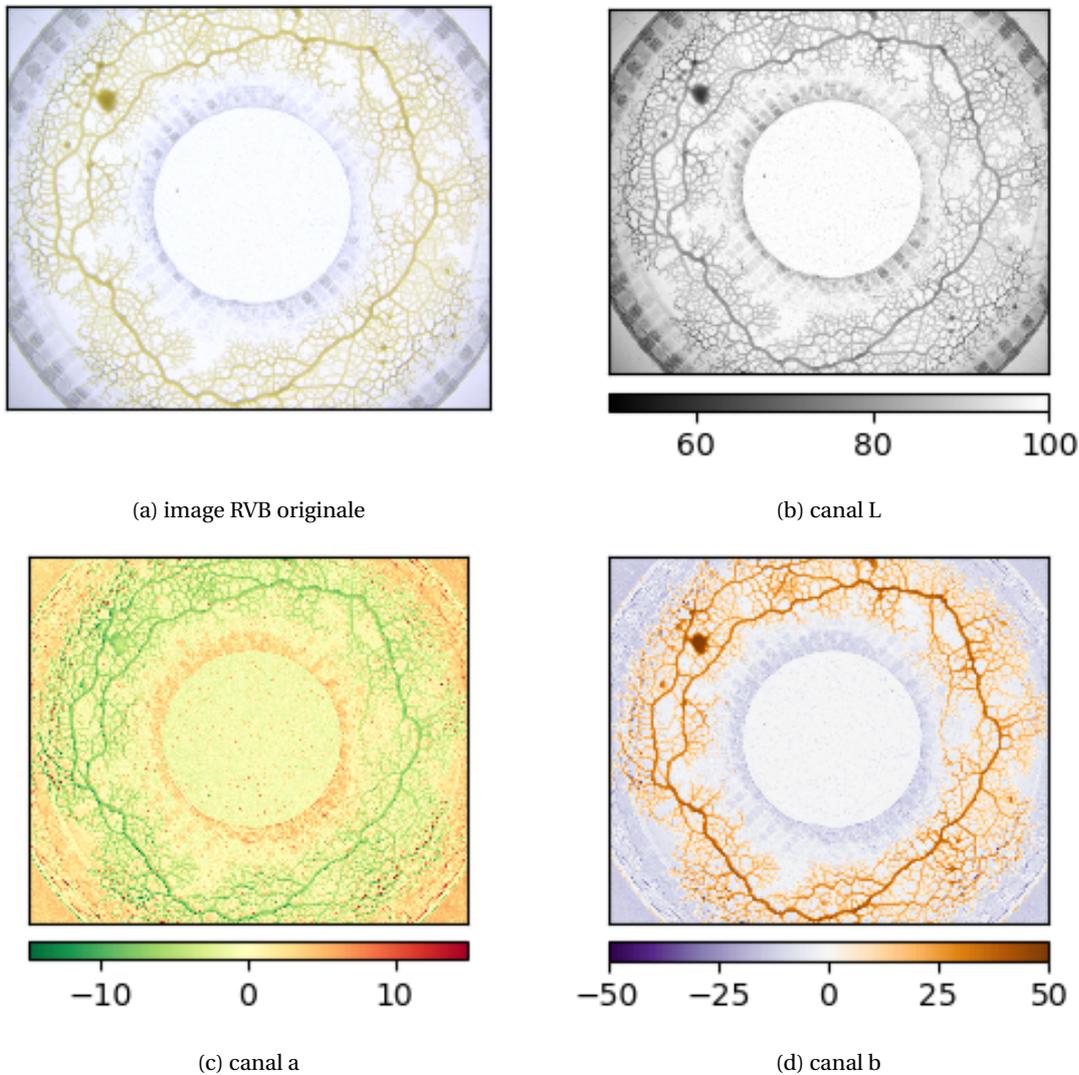


FIGURE II.3 – Image RVB originale d'un réseau de plasmode et canaux  $L^*a^*b$  ( $L$ :Luminosité, $a$ : axe *vert* → *rouge*, $b$ : axe *vbleu* → *jaune*). Les fausses couleurs choisies essaient de mettre en avant les informations suivantes: l'avant-plan et l'arrière-plan ont des luminosités comparables, l'avant-plan l'arrière-plan n'est ni rouge ni vert, et il comporte une petite composante de bleu, L'avant plan contient une petite composante de verte et une grande composante de jaune (en marron-cuivre sur le canal  $b$ ).

### Partitionnement de l'image

Pour partitionner l'image en îlots de pseudo-couleurs qu'on appellera superpixels on commence par un premier partitionnement en K-moyennes des valeurs des pixels considérés résultant en une image contenant K pseudo-couleurs. C'est une méthode de classification

non-supervisée<sup>10</sup> dont le seul paramètre est la valeur de l'entier  $K$ . Pour une image, chaque pixel est une observation. Les observations ou vecteurs  $\mathbf{x}$  peuvent être interprétés comme des points dans un espace géométrique dont les coordonnées sont données par les valeurs de chacun des canaux de l'espace  $\mathbf{L} \cdot \mathbf{a} \cdot \mathbf{b}^*$ . Afin de ne pas sur-pondérer un axe par rapport à un autre on normalise les coordonnées par la variance des observations sur chaque axe.

Je décris brièvement, l'heuristique de l'algorithme des  $K$ -moyennes dont on trouvera une illustration en figure II.4.

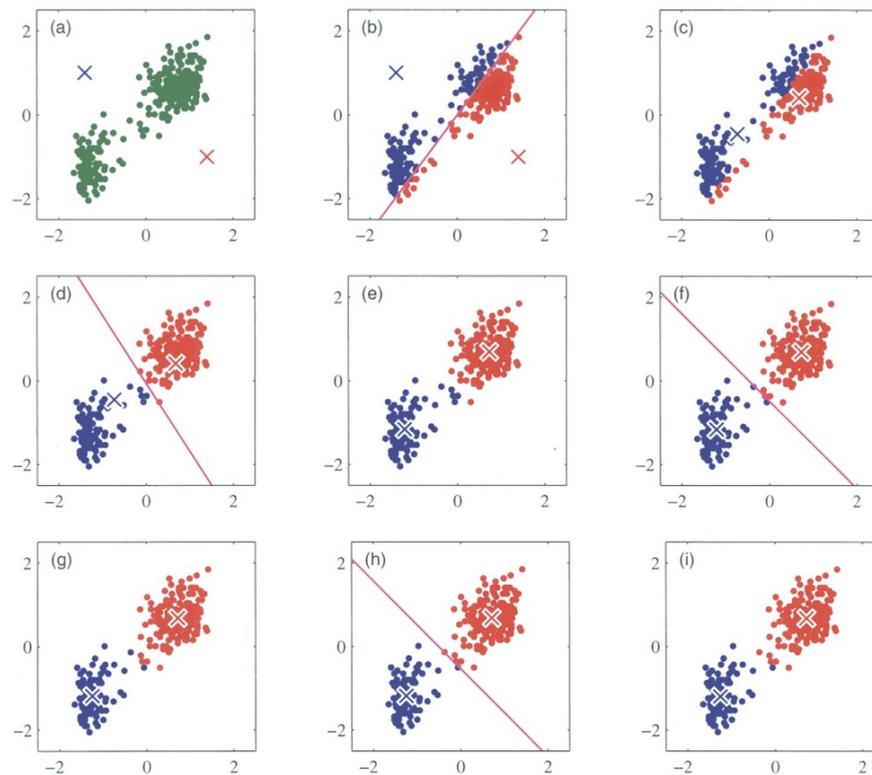


FIGURE II.4 – Illustration de l'algorithme des  $K$ -moyennes pour  $K=2$ . (a) données non étiquetées en vert et 2 centroïdes (croix) sont générés aléatoirement. (b) On assigne aux données l'étiquette du centroïde le plus proche. (c) Mise à jour des coordonnées des centroïdes. (d-i) *bis repetita* jusqu'à ce que le critère d'arrêt soit atteint. (Image extraite de [88])

1.  $K$  points (appelés centroïdes) sont soit tirés aléatoirement parmi les données, soit générés aléatoirement dans l'espace des données ou soit directement prescrits par l'utilisateur.
2. Chaque point des données (pixel) se voit assigner l'étiquette du centroïde le plus proche.
3. Les barycentres des points associés à chaque étiquette sont calculés et les nouvelles coordonnées des centroïdes sont mises à jour en leur assignant la valeur de ces barycentres.

10. Les étiquettes des pixels ne sont pas connues *a priori*.

4. On évalue la distorsion aux données, définie comme la somme des carrés des distances des données à leurs centroïdes.
5. Les étapes 2 et 3 sont répétées jusqu'à ce que la variation relative de la distorsion soit inférieure à un seuil.

Cet algorithme minimise progressivement la distorsion aux données. Bien que très efficace en général, il ne garantit malheureusement pas de relaxer vers le minimum global de distorsion entre la partition et les données<sup>11</sup>. La partition finale dépend des conditions d'initialisation. En pratique, les résultats sont très bons lorsque le nombre de points est grand : dans notre cas, on choisit  $K = 12$ .

Ensuite, chaque étiquette  $K_i$  est divisée en îlots constitués de groupe de pixels connectés<sup>12</sup>. Chacun des îlots se voit assigner une nouvelle étiquette et une position dans l'espace  $L \times a \times b$  égale au barycentre des pixels le constituant. L'ensemble de ces îlots forme une partition de l'image qu'on appelle superpixels (cf figure II.5).

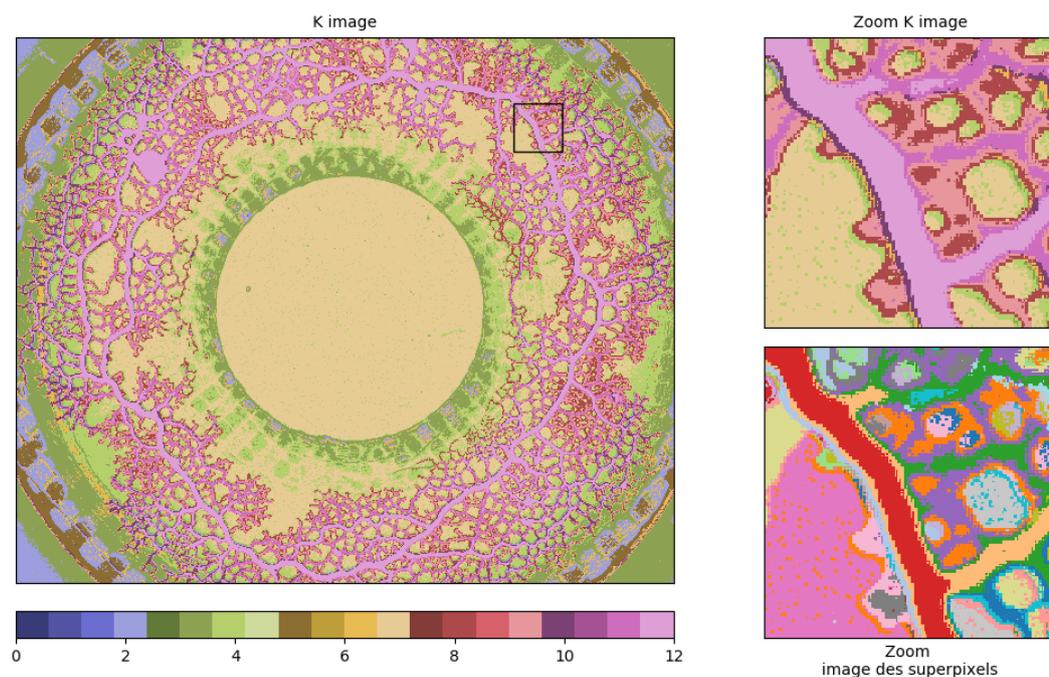


FIGURE II.5 – Partition de l'image préalable à sa formulation en graphe. À gauche : K-partition d'une image en 12 groupes (les classes sont ordonnées selon la valeur du canal b de leurs centroïdes). À droite : zooms sur la zone carrée, en haut la K-partition, en bas une partition en superpixels. Les superpixels suivent mieux la hiérarchie des veines dans l'espace des couleurs.

Comme l'ensemble des techniques de segmentations existantes, notre méthode requiert de jouer avec les paramètres, en particulier notre méthode d'étiquetage automatique est spécifique

11. L'exemple le plus simple pour montrer cette non convexité consiste à partitionner 4 points formant un rectangle en 2 classes. Il existe 2 partitions séparant les points de ce rectangle. Une le coupant dans le sens de sa longueur et une autre dans le sens de sa largeur, cette dernière étant le minimum global de distorsion.

12. On dit que 2 pixels sont connectés si l'un fait partie des 24 plus proches voisins de l'autre pour limiter le nombre d'îlots tout en conservant une cohérence spatiale

à notre application. Les méthodes semi-automatiques usuelles [89, 90] sont plus adaptées pour les images où les objets d'intérêt sont plus hétéroclites dans l'espace de couleurs. On pourrait également optimiser la partition de l'image en superpixels en ajoutant des "features" ou canaux supplémentaires (par exemple la texture locale de l'image ou la magnitude du gradient d'intensité) aux vecteurs  $x$ . D'autres algorithmes de partitions en superpixels (*SLIC*, *Normalized Cuts*) peuvent également être considérés dans d'autres cas. On informe le lecteur qu'il existe d'autres méthodes dédiées à la segmentation de réseaux de *Physarum polycephalum* [91–94] mais pour celles en accès libre que nous avons pu tester, nous avons trouvé que les résultats étaient moins conformes à la perception visuelle (pour nos images).

### Méthode des marcheurs aléatoires

Jusqu'à maintenant, aucune information relative à l'espace n'a été utilisée. Or la distinction des objets et des couleurs chez l'Homme dépend du contexte spatial, c'est le principe sur lequel repose les illusions d'optique (illustré ci-contre II.6). En intégrant une dimension spatiale sous forme de graphe, la méthode des marcheurs aléatoires permet de séparer des pixels qu'un seuillage brut échouerait à classifier (il n'y a pas d'ordre apparent dans le plan L-b). Notre choix de segmentation a également été appuyé par un dénominateur commun aux problématiques techniques et scientifiques de ce travail de thèse. Il existe en effet un parallélisme remarquable entre l'idée de marche aléatoire sur un graphe sur laquelle se base notre segmentation et les problématiques d'écoulements dans des réseaux discutées au chapitre V. Pour ces derniers, la distribution de potentiels de pression<sup>13</sup> aux nœuds, étant donné des conditions aux limites<sup>14</sup>, est strictement égale à celle de la distribution de probabilités de fuite des marcheurs sur un graphe de même topologie et dont la probabilité de transfert d'un nœud  $i$  à un autre via une arête est égale à la conductance hydrodynamique normalisée par la somme des conductances des arêtes sortants du nœud  $i$  [95, 96].



FIGURE II.6. – La teinte grise de la barre est la même sur toute sa longueur.

L'idée de la méthode des marcheurs aléatoire usuelle est donc de représenter l'image sous la forme d'un graphe régulier  $G(E, V)$  dans lequel chaque nœud correspond à un pixel. Les arêtes connectent les pixels et leurs voisins : dans le cas d'une grille de pixels on prend typiquement un 4-voisinage ou 8-voisinage. Pour prendre en compte l'agencement spatial des superpixels, on construit un graphe dans lequel chaque superpixel constitue un nœud de ce graphe. Le graphe des superpixels comporte considérablement moins de nœuds que les graphes des pixels

13. Et indifféremment de potentiels électriques par analogie hydro-électrique.

14. Les conditions aux limites sont des potentiels unitaires aux nœuds de l'étiquette d'intérêt et nuls aux autres.

classiques. L'information spatiale est incorporée sous la forme d'une matrice d'adjacence  $A$ . Pour chaque paire  $(i, j)$  de nœuds :

$$A_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{si les superpixels } i \text{ et } j \text{ partagent une frontière} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

La différence entre les couleurs est incluse dans une matrice d'adjacence pondérée  $W$ . Différentes fonctions sont utilisées dans ce genre d'approches [86, 97]. Nous avons choisi une loi gaussienne typique qui donne empiriquement de meilleurs résultats.

$$W_{ij} = \begin{cases} e^{-\beta \|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|^2} & \text{si } A_{ij} = 1 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad \forall (i, j) \quad W_{ij} \in [0, 1] \quad \text{et} \quad W_{ij} = W_{ji}$$

Où  $\beta$  est un paramètre contrôlant la "résistivité" des arêtes<sup>15</sup> et où  $\mathbf{x}_i$  correspond aux coordonnées  $\mathbf{L} \cdot \mathbf{a} \cdot \mathbf{b}$  du superpixel correspondant au nœud  $i$ .

Dans la méthode des marcheurs aléatoires, la pondération des arêtes correspond au taux de transition d'un marcheur d'un nœud à un autre. On peut diviser les pixels et nœuds correspondant en deux : une partie est étiquetée et l'autre non-étiquetée (ou inconnue), c'est celle-ci qu'on cherche à segmenter. Généralement il y a 2 étiquettes : premier plan et arrière plan (bien que cette méthode permette un nombre arbitraire d'étiquettes). On note  $P_i(s)$  la probabilité qu'un marcheur partant d'un nœud non-étiqueté  $i$  arrive à un nœud étiqueté  $s$  sans passer par un nœud appartenant à une étiquette différente de  $s$ . L'échantillonnage statistique d'un tel processus appliqué à la segmentation est complètement irréaliste. Heureusement, il a été montré qu'une telle probabilité est égale à la solution au problème de Dirichlet [98].

Ce dernier consiste à trouver un champ harmonique  $u$  dans un domaine  $\Omega$  étant données des conditions aux limites de ce domaine. Ce champ minimise l'intégrale de Dirichlet définie comme

$$D[u] = \frac{1}{2} \int_{\Omega} \|\nabla u\|^2 d\Omega \quad (\text{II.1})$$

Un champ (ou une fonction) harmonique satisfait l'équation de Laplace  $\nabla^2 f = 0$  dans laquelle  $\nabla^2$  désigne l'opérateur Laplacien. Sur un graphe, son équivalent est la matrice Laplacienne  $L$

15. Par analogie avec la loi d'Arrhenius,  $\beta$  peut être considéré comme une énergie thermique inverse, à haute température ( $\beta \ll 1$ ) la diffusion d'un îlot à l'autre est très rapide quelque soit leur proximité dans l'espace des couleurs. Inversement, à basse température ( $\beta \gg 1$ ) la diffusion est d'autant plus lente que les couleurs sont "éloignées".

définie par

$$L_{ij} = \begin{cases} \sum_k W_{ik} & \text{si } i = j \\ -W_{ij} & \text{si } A_{ij} = 1 \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

Le problème de Dirichlet combinatoire consiste à chercher le vecteur  $x$  qui minimise

$$D[x] = \frac{1}{2} x^T L x = \frac{1}{2} \sum_{i,j} W_{ij} (x_i - x_j)^2 \quad (\text{II.2})$$

On peut écrire  $x = \begin{bmatrix} x_b \\ x_u \end{bmatrix}$ <sup>16</sup> ou  $x_b$  est la partie fixée aux frontières (c'est à dire les conditions aux limites). Ce sont les valeurs étiquetées qui prennent pour valeurs 1 pour l'étiquette cible et 0 pour les autres étiquettes. Le vecteur  $x_u$  contient les probabilités que les marcheurs situés sur les nœuds correspondant atteignent l'étiquette cible sans être "absorbé" par les autres. Dans ce cas on réécrit

$$D[x_u] = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} x_b & x_u \end{bmatrix} \begin{bmatrix} L_b & B \\ B^T & L_u \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_b \\ x_u \end{bmatrix} \quad (\text{II.3})$$

La condition d'harmonicité de  $x_u$  revient à chercher l'annulation de la dérivé fonctionnelle de  $D[x_u]$ <sup>17</sup>. Cette condition implique

$$x_u^T L_u = -x_b^T B \quad (\text{II.4})$$

Après transposition des deux membres et en utilisant la symétrie du Laplacien ( $L_u = L_u^T$ ), on obtient, pour n'importe quelle étiquette  $s$

$$L_u x_u(s) = -B^T x_b(s) \quad (\text{II.5})$$

Cette équation est résolue numériquement pour les 2 étiquettes correspondant au premier plan  $s_1$  et à l'arrière plan  $s_2$ <sup>18</sup>. Les nœuds ou superpixels correspondant au premier plan sont les nœuds  $i$  qui satisfont

$$x_u(s_1)_i > x_u(s_2)_i \quad (\text{II.6})$$

Pour qu'un pixel non étiqueté soit classifié  $s$ , il doit exister un chemin sur le graphe sur lequel les probabilités d'atteindre une étiquette  $s$  sont toutes plus grandes que celles d'atteindre n'importe quelle autre étiquette. Pour notre application, une attention particulière doit être portée sur l'étiquetage semi-automatique car notre zone d'intérêt forme un réseau constitué

16. C'est toujours possible avec une matrice de passage.

17.  $L$  étant positive semi-définie, les extrema de la dérivé fonctionnelle de  $D[x]$  sont des minima [99].

18. Lorsque  $L_u$  est singulière on utilisera sa pseudo-inverse (inverse de Moore-Penrose).

de boucles. Autrement dit, des portions d'arrière plan sont entourées de premier plan. Pour pouvoir segmenter une boucle, au moins une graine/étiquette "arrière-plan" doit se trouver à l'intérieur. Si ce n'est pas le cas, il n'y aura pas de plus court chemin possible vers d'autres étiquettes que celles du contour dont la probabilité d'appartenir au premier plan est plus grande.

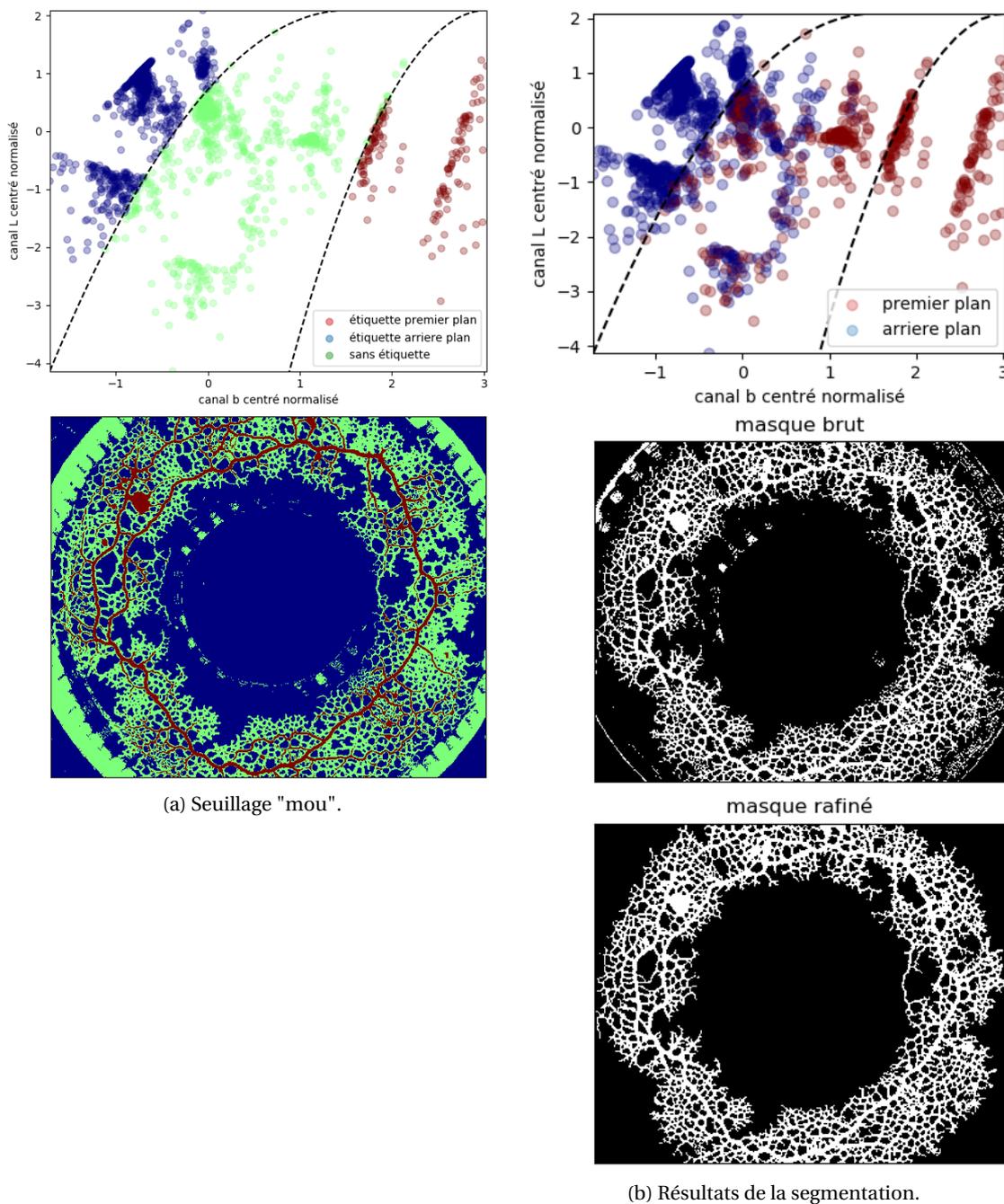


FIGURE II.7 – (a) Seuillage "mou". En haut : étiquetage des superpixels dans le plan L-b. En bas : leurs positions spatiales. (b) Résultats de la segmentation. En haut : classification des superpixels dans le plan L-b. Au milieu : masque issu de la condition de classification II.6. En bas : masque nettoyé.

Pour assigner des étiquettes automatiquement aux pixels, nous avons utilisé une méthode de seuillage "mou" dans le plan L-b de l'espace  $L^*a^*b$  comme illustré image II.7 (a). Après avoir résolu numériquement l'équation II.5 pour les superpixels non-étiquetés (en vert dans la figure II.7 (a)), la condition II.6 permet d'obtenir la segmentation en figure II.7 (b). Le masque est nettoyé en conservant le plus gros composant. Puis, pour lisser les bords, le masque unique résultant est convolué avec un noyau gaussien (cf II.13) et seuillé<sup>19</sup>. On trouvera un exemple du niveau de détails rendu accessible par la méthode de segmentation complète en figure II.8.

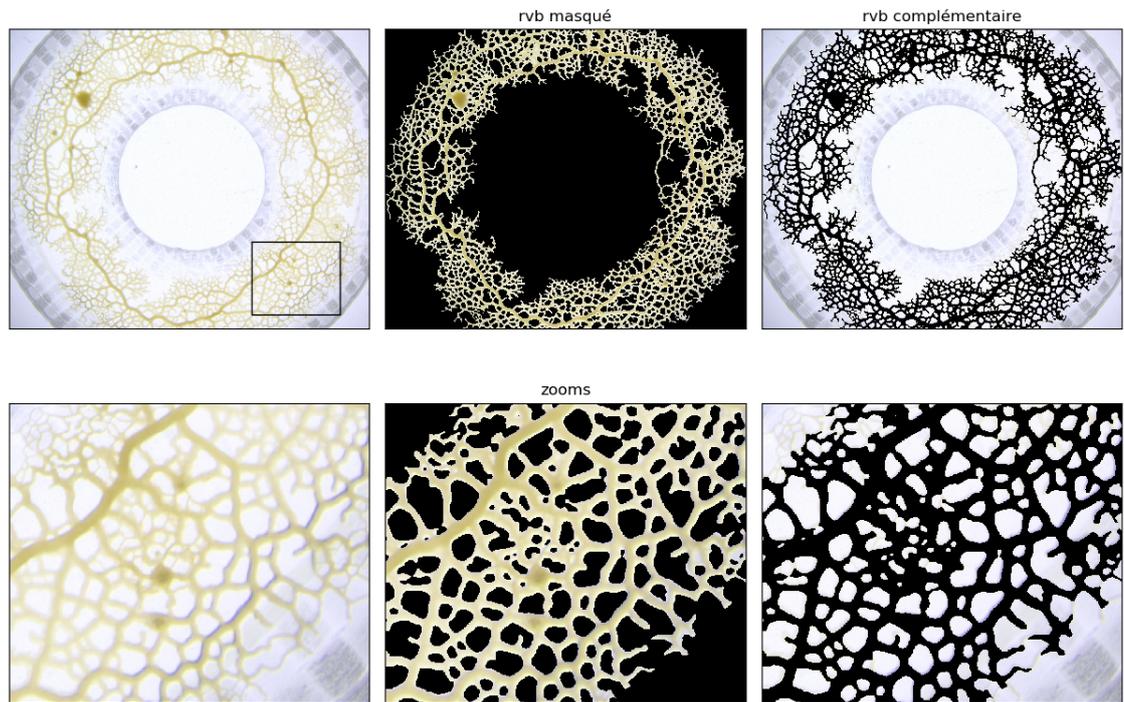


FIGURE II.8 – Aperçu des résultats de la segmentation. On compare visuellement l'image initiale (à gauche) et un zoom au masque (au milieu) et a son négatif (à droite) pour s'assurer qu'on ne sélectionne pas d'arrière-plan et qu'on ne rejette pas de premier plan.

### II.3.2. – Extraction du réseau de veines

Afin de caractériser l'évolution des propriétés statistiques et hydrauliques des réseaux de veines formés par *Physarum*, on cherche à extraire les propriétés géométriques et topologiques à partir de la forme<sup>20</sup> de l'image précédemment segmentée. On souhaite réduire la forme en

19. L'écart quadratique est fixé à 1 pixel pour ne pas "boucher" les trous. La valeur du seuil appliqué sur le masque filtré correspond à la proportion de pixels d'avant-plan du premier raffinage (ce qui permet de conserver la surface du masque).

20. Dans la suite on parlera de forme ou de masque indifféremment pour décrire un ensemble connecté de "1" sur une image binaire.

un ensemble de courbes (appelé squelette) contenant les propriétés de la forme. Ce procédé général est appelé squelettisation et il existe une grande variété d'implémentations algorithmiques pour y parvenir.

Les plus rapides et faciles à utiliser, mais également les moins robustes, sont basés sur des amincissements successifs de la forme. Ces amincissements sont réalisés à l'aide d'opérateurs morphologiques qui consistent en une succession d'opérations simples réalisées avec des éléments de structures binaires<sup>21</sup>. Une autre consiste à simuler la propagation d'un front de flammes allumé sur les contours et de chercher les lieux de collision. D'autres encore s'appuient sur la carte des distances et essaient d'en chercher les maxima locaux. Elles ne sont cependant pas exactes dans un espace discret.

Notre méthode se base sur une approche géométrique. Pour cela nous réalisons le diagramme de Voronoï des points des contours du masque.

Le diagramme ou tessellation de Voronoï d'un jeu de  $N$  données (coordonnées, que l'on appellera des germes) est une découpe de l'espace en  $N$  cellules (ou régions) correspondantes telle que tous les points d'une cellule  $i$ , sont plus proche de la germe  $i$  que de n'importe quelle autre<sup>22</sup>. On appelle crête, la frontière entre deux régions adjacentes<sup>23</sup> (cf figure II.9). Un point d'intersection de crêtes est appelé point de Voronoï. À deux dimensions un point de Voronoï est l'intersection d'au moins trois crêtes. En pratique, il est très improbable de trouver un point de Voronoï connectant plus de trois crêtes car il faudrait que plus de trois germes soient exactement sur un même cercle.

Pour récupérer les contours du masque, on lui applique un filtre de Sobel. Les germes sont constitués de l'ensemble des points qui forment les contours du masque et on associe à chaque germe son contour d'origine. Les coordonnées des points appartenant à chaque crête, et celles des points de Voronoï sont calculées à l'aide d'une fonction *scipy*. Les points de Voronoï dont la distance est inférieure à un seuil sont fusionnés et leurs degrés (le nombre de voisins auxquels il sont connectés) mis à jour. Les degrés et l'identité des voisins de tous les autres points sont pareillement conservés et mis à jour au fur et à mesure du processus de nettoyage qui suit.

Les points de Voronoï situés en dehors du masque (qui correspondent à l'intérieur des boucles et au contour extérieur) ne sont pas pertinents et, conséquemment, sont supprimés. Pour ceux restants, il faut filtrer ceux issus de deux germes appartenant au même contour. On souhaite supprimer les crêtes au contact des contours tout en conservant les protrusions du

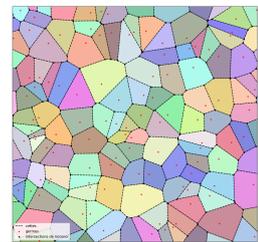


FIGURE II.9. – Tessellation de Voronoï.

21. Ce sont des motifs discrets typiquement inscrits dans des carrés de 3x3 pixels.

22. En ce sens, une partition en K-moyennes peut être comprise comme une succession de diagrammes de Voronoï dont les positions des germes (les centroïdes) sont réévaluées à chaque itération.)

23. En deux dimensions, une crête appartient à la médiatrice des deux germes des régions correspondantes.

plasmode. Pour cela, on supprime itérativement les points de crête terminaux (de degré 1) tant que leurs distances aux contours est inférieure à un seuil. Celle-ci est obtenue à partir de l'interpolation de la carte des distances<sup>24</sup>. Cette carte associe à chaque point (pixel) de la forme sa distance au contour le plus proche. Ce seuillage laisse des barbes (ou artéfacts) qui sont éliminées en imposant un seuil de courbure locale pour les contours associés à ces artéfacts (voir figure II.10).

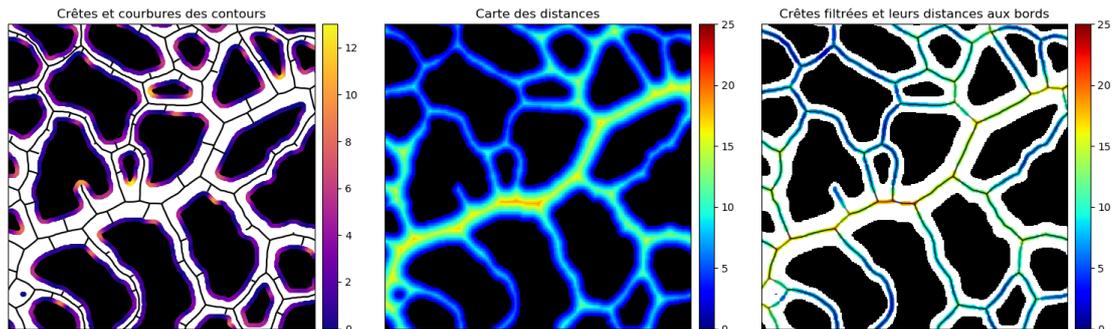


FIGURE II.10 – Nettoyage des points de crête à l'intérieur du masque. Les zones de faible courbure des contours (à gauche) permettent de retirer les fausses crêtes du réseau tout en conservant les protrusions réelles. La carte des distances (au milieu) permet de connaître la distance aux bords en chaque point de crête. On a ainsi un accès aux arcs pondérés (à droite) qu'on va ensuite pouvoir encoder sous la forme de matrice d'adjacence pondérée d'un graphe.

Enfin, il arrive parfois que des crêtes bouclent sur elles mêmes. Elles ne contiennent donc qu'un seul nœud de degré différent de deux. Ces dernières sont coupées en deux parties<sup>25</sup> de longueurs approximativement égales (à un point de crête près).

Une fois le nettoyage terminé, on construit un graphe à partir des données. Pour cela on identifie les arêtes aux crêtes et leurs points extrémaux forment l'ensemble des nœuds. Cette identification nous permet de construire une matrice d'adjacence qui contient uniquement l'information topologique du réseau.

À partir des coordonnées des points et de leurs distances aux bords (cf figure II.10), on a aisément accès au rayon le long des veines ainsi qu'à leur longueur totale. Pour intégrer ces informations géométriques (longueurs et largeurs), on va construire une matrice d'adjacence pondérée. Dans cette dernière, c'est la conductance hydrodynamique des veines qui fait office de pondération. Celle-ci est une fonction des sections<sup>26</sup> et des longueurs dont l'expression dépend du modèle hydrodynamique utilisé. Dans notre cas on supposera des écoulements de

24. Fonction *scipy*.

25. Cette découpe est rendue nécessaire par la structure de graphe simple utilisée dans la suite.

26. On fait l'hypothèse de veines à sections circulaires.

Poiseuille ou de Darcy. La conductance  $C$  d'une veine de section  $S$  et de longueur  $L$  est donnée par :  $C_{ij} \propto \frac{S_{ij}}{L_{ij}}$  pour un écoulement de Poiseuille et par  $C_{ij} \propto \frac{S_{ij}^2}{L_{ij}}$  pour un écoulement de Darcy. Cette dépendance est illustrée dans la figure II.11.

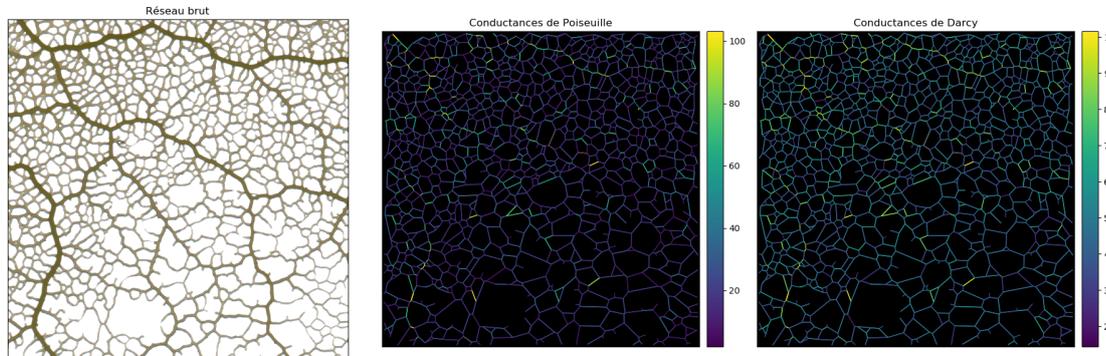


FIGURE II.11 – Image brute d'un réseau étendu ( $5 \times 5 \text{ cm}^2$ ) et graphes extraits avec notre méthode de squelettisation. Les arêtes sont pondérées (en unité arbitraire) avec la conductance hydrodynamique dans le cas d'écoulements de Poiseuille (au milieu) et de Darcy (à droite).

### II.3.3. – Analyse temporelle

La dynamique du champ d'épaisseur résulte de l'équilibre des contraintes actives contractiles dans l'ectoplasme et des résultantes des forces de pressions dans l'endoplasme auquel il faut ajouter l'élasticité (visco-élasticité) de l'ectoplasme.

Le comportement oscillatoire du champ d'épaisseur de la phase plasmodiale permet de caractériser son comportement contractile. Pour cela, on effectue une analyse de la dynamique temporelle de l'intensité lumineuse mesurée par chaque pixel des images enregistrées. La dynamique du champ d'intensité lumineuse et celle du champ d'épaisseur sont qualitativement les mêmes<sup>27</sup>.

En raison du caractère pseudo-périodique et non-stationnaire du signal, l'analyse de Fourier classique est inadéquate. Bien qu'elle permette de donner une bonne approximation de la pseudo-période, l'analyse de Fourier ne permet pas de reconstruire la phase instantanée du signal. Dans la figure II.12 je décompose un signal "simple" (durant une phase de croissance synchronisée cf III.1) pour illustrer l'inadéquation de l'analyse de Fourier en vue d'obtenir la phase instantanée et l'amplitude des oscillations.

Pour chaque pixel, on cherche à décomposer le signal d'intensité lumineuse sous la forme :

$$I(t) = \underbrace{D(t)}_{\text{dérive}} + \underbrace{A(t)}_{\text{modulation}} \underbrace{\cos(\phi(t))}_{\text{porteuse}} \quad (\text{II.7})$$

27. L'absorbance est une fonction monotone décroissante tendant vers 0 quand l'épaisseur tend vers l'infini. Ainsi les maxima locaux d'intensité correspondent à des minima locaux d'épaisseur, et inversement.

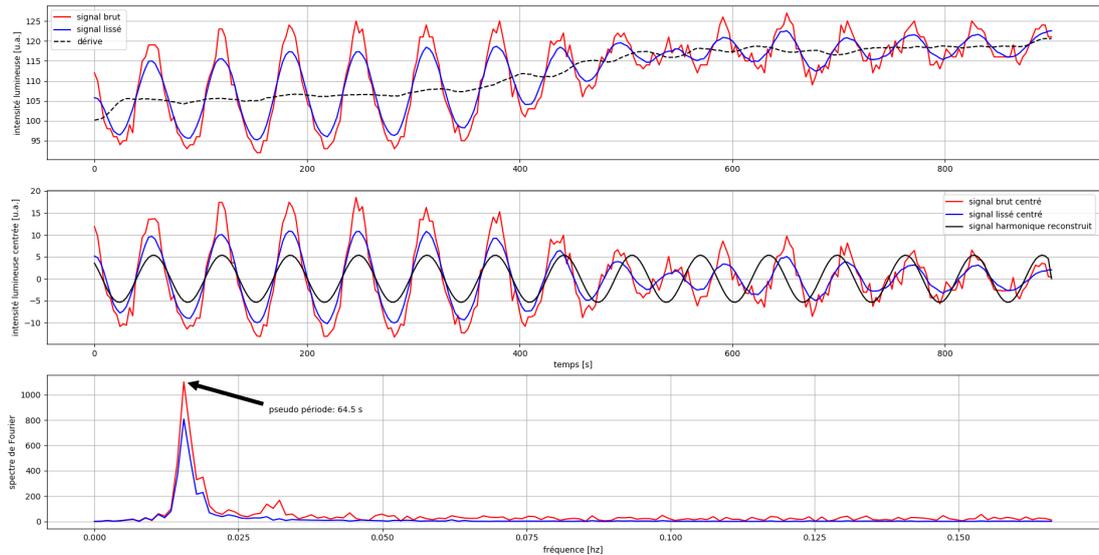


FIGURE II.12 – Comparaison des méthodes de lissage et centrage du signal brut. **Encart supérieur** : signaux brut et lissé oscillant autour de leur dérive. **Encart central** : signaux brut et lissés ainsi que le signal reconstruit. Le signal reconstruit avec le mode de Fourier dominant ne permet pas d'obtenir la phase instantanée qui situe l'oscillation sur un cycle irrégulier. **Encart inférieur** : spectres de Fourier des signaux brut et lissé

En fait, cette décomposition n'est pas unique mais le sens physique de ces variables indépendantes contraint les échelles de temps sur lesquelles elles varient :

- La tendance ou dérive  $D$  autour de laquelle les valeurs oscillent correspond à la variation lente du diamètre de base des veines (ou de l'épaisseur de base du cytoplasme). Elle sert à caractériser la réorganisation du plasmode.
- L'amplitude ou enveloppe  $A$  des oscillations qui module la forme du signal oscillant. Elle varie sur des échelles de temps intermédiaires, et il a été suggéré qu'elle pouvait être le vecteur du transport de l'information chimique [100].
- La phase instantanée  $\phi$  qui situe l'oscillation dans un cycle. C'est une variable rapide. Elle caractérise l'état contractile.

Afin de décomposer le signal, j'ai adapté une technique d'analyse utilisée en neurosciences. Dans la suite, je détaille et commente les étapes de cette méthode d'analyse autour d'un signal "difficile", durant une phase de désynchronisation (cf III.2) Les figures II.14 et II.15, représentent la dynamique temporelle d'un pixel situé au milieu d'une veine et sa décomposition analytique suivant la méthode détaillée et commentée ci-après.

### Lissage et centrage des oscillations

Nos mesures d'intensité lumineuse sont sujettes à deux sources de bruits. La première est liée au capteur lui même. En raison de l'échelle microscopique des photo-détecteurs, le

caractère discret et probabiliste des électrons est source de bruit. La seconde est due au fait que le cytoplasme n'est pas un milieu homogène et les granules qu'il transporte font varier son absorbance. Ces fluctuations d'intensité haute fréquence sont étrangères à la dynamique contractile de l'organisme et perturbent la décomposition du signal. Pour les limiter nous avons comparé plusieurs schémas de lissage en moyennant localement les valeurs des pixels. Ces moyennes peuvent être soit spatiales, soit temporelles, soit les deux. Dans l'encart supérieur de la figure II.14, je représente l'intensité lumineuse mesurée en rouge ainsi que deux intensités lissées :

- Le lissage 1, en vert, correspond à une moyenne spatiale obtenue par une convolution des images avec un noyau gaussien "2d" d'écart type 2 pixels (cf fig II.13).
- Le lissage 2, en bleu, correspond à une moyenne temporelle obtenue par une moyenne roulante temporelle sur un quart de pseudo-période.

L'analyse de Fourier permet néanmoins de centrer le signal. Pour cela trois étapes sont nécessaires. Dans un premier temps le signal brut est centré grossièrement avec une moyenne roulante sur deux pseudo-périodes escomptées (naïves). Cette pseudo-période est un paramètre *a priori* fixé à 100s compte tenu de la littérature et de notre expérience personnelle. A partir de ce signal dégrossi, on extrait le mode dominant de son spectre de Fourier<sup>28</sup> (cf encart inférieur figure II.12). La fréquence dominante du spectre correspond à la pseudo-période. Enfin la tendance "éclairée" est obtenue avec une moyenne roulante sur deux pseudo-périodes précédemment obtenues. Les tendances (ou dérives) naïve et "éclairée" du signal brut sont représentées en pointillés.

Pour les oscillations de grandes amplitudes, le lissage temporel est qualitativement plus performant pour gommer les fluctuations hautes fréquences. Cependant pour les oscillations de faibles amplitudes le signal est écrasé et il devient plus difficile de distinguer les oscillations qu'avec le lissage spatial. On poursuit l'analyse sur les signaux centrés en leur soustrayant la tendance "éclairée".

### Extraction de la phase instantanée

A l'instar des signaux électro-encéphalographiques (EEG), les oscillations plasmodiales ont des fréquences et des amplitudes variables. Afin de caractériser les modulations de fréquence et d'amplitude de nos mesures d'intensité lumineuse, j'ai utilisé la méthode d'imagerie cérébrale

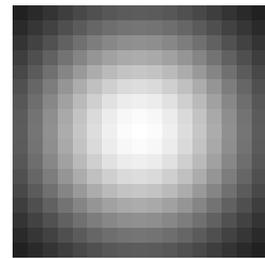


FIGURE II.13. – Noyau gaussien.

28. Pour les signaux longs, le spectre de Fourier est obtenu par la méthode de Welch [101] : le signal est découpé en sous signaux de 600s avec un recouvrement de 50%. Les spectres des sous signaux sont ensuite sommés.

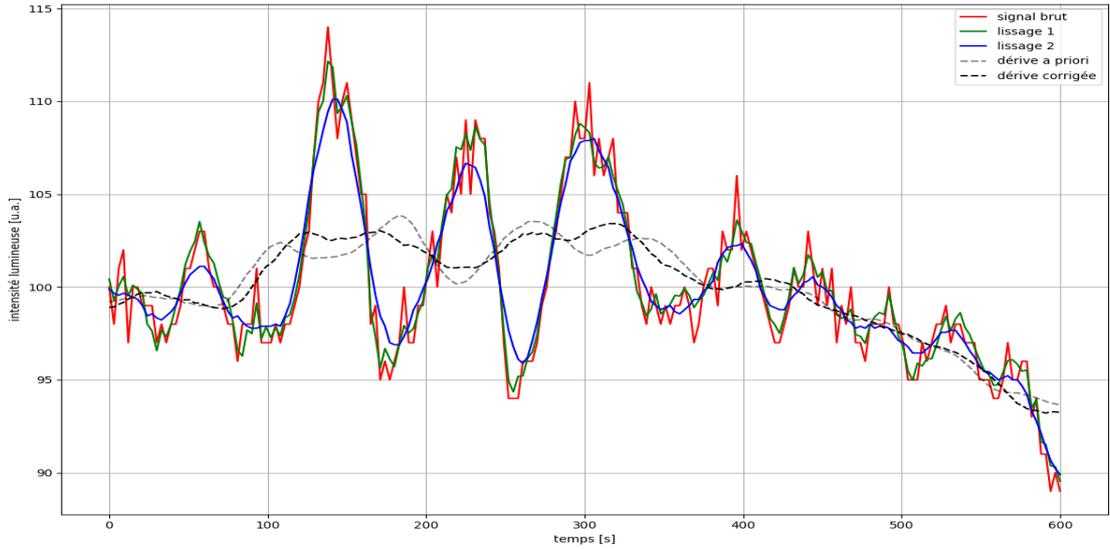


FIGURE II.14 – Comparaison des méthodes de lissage et centrage du signal brut. signaux brut (rouge) et lissés (vert : spatialement, bleu : temporellement) accompagnés des dérivées naïve et "éclairée".

par cartographie EEG utilisée par Etvenon [102]. Cette technique consiste à construire une représentation analytique (complexe)  $s_a(t)$  d'un signal  $s(t)$  :

$$s_a(t) = s(t) + i\hat{s}(t) \quad (\text{II.8})$$

Où  $i^2 = -1$  et  $\hat{s}(t)$  est la transformation de Hilbert de  $s(t)$ , définie par :

$vp\{\dots\}$  est l'abréviation de valeur principale de Cauchy

$$\hat{s}(t) = vp\{(h * s)(t)\} = \frac{1}{\pi} vp\left\{\int_{-\infty}^{+\infty} \frac{s(\tau)}{t - \tau} d\tau\right\} \quad (\text{II.9})$$

$h(t) = \frac{1}{\pi t}$

En utilisant les propriétés de la transformation de Fourier  $\mathcal{F}[\dots]$ <sup>29</sup> il vient :

$$\begin{aligned} \mathcal{F}[\hat{s}(t)](\omega) &= \mathcal{F}[h * s](\omega) \\ &= \mathcal{F}[h](\omega) \mathcal{F}[s](\omega) \\ &= -i \operatorname{sign}(\omega) \mathcal{F}[s](\omega) \end{aligned}$$

Ainsi on a :

$$\hat{s}(t) = \mathcal{F}^{-1}[-i \operatorname{sign}(\omega) \mathcal{F}[s](\omega)](t) \quad (\text{II.10})$$

Dans le cas d'un signal de la forme  $s(t) = A(t)\cos(\phi(t))$  ou l'amplitude  $A(t)$  n'a pas de composantes fréquentielles plus grandes que celles de  $\phi(t)$  (modèle à bande étroite),  $\hat{s}(t) = A(t)\sin(\phi(t))$  et le signal analytique se simplifie sous la forme  $s_a(t) = A(t)e^{i\phi(t)}$ . De cette forme simple on extrait l'amplitude et la phase instantanée.

29.  $\mathcal{F}[\hat{s}(t)](\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} \hat{s}(t)e^{-i\omega t} dt$

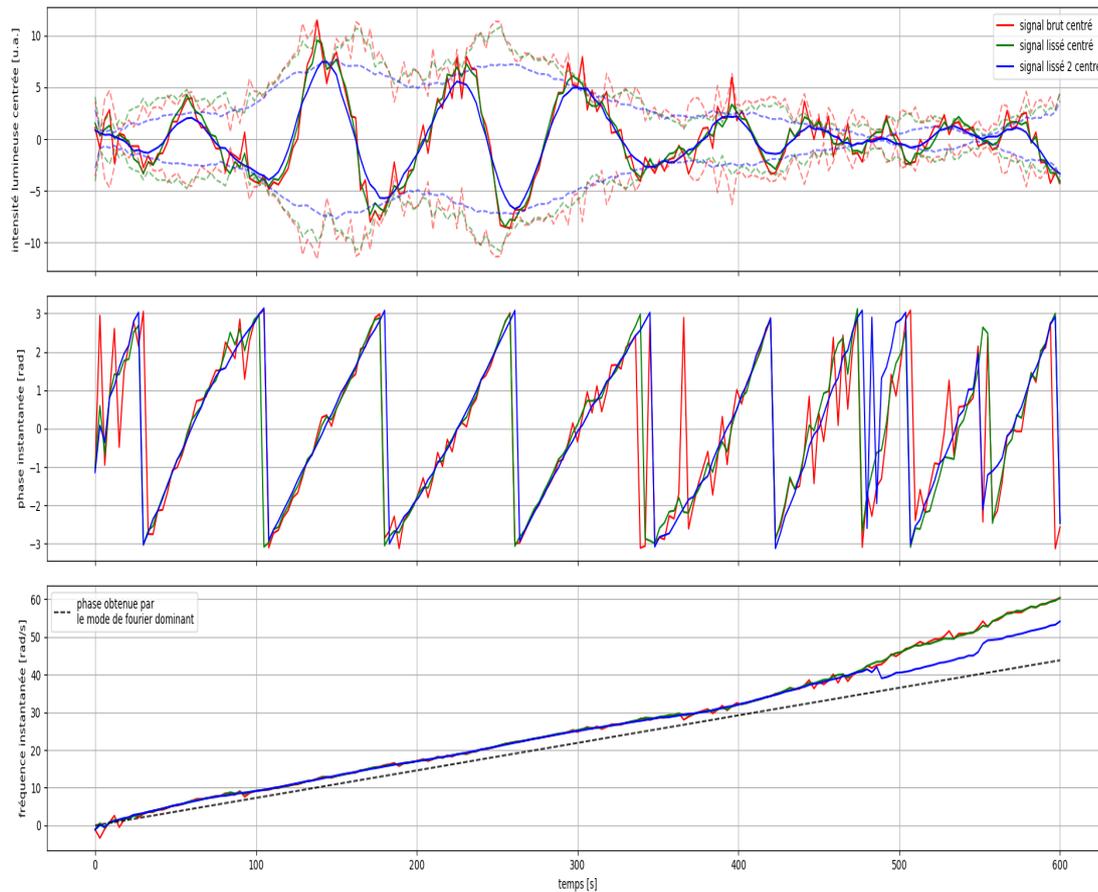


FIGURE II.15 – **Encart supérieur** : signaux centrés et leurs enveloppes. Encart supérieur : phases instantanées correspondantes. **Encart inférieur** : phases instantanées déroulées.

Dans la figure II.15, l'encart supérieur représente en traits pleins les signaux centrés, un brut et deux lissés. On a représenté en transparence l'amplitude instantanée obtenue avec la méthode décrite précédemment. On remarque que les enveloppes des intensités centrées brute (courbe rouge) et lissée spatialement (courbe verte) sont très hachées. Leurs variations sont plus rapides<sup>30</sup> que celle de la phase instantanée (encart central de la même figure), ce qui est en contradiction avec l'hypothèse du modèle de bande étroite utilisée plus haut. En revanche, on constate que pour le signal filtré temporellement (courbe bleue), il n'y a pas de hachures, ce qui justifie l'utilisation du modèle de bande étroite.

L'encart central de la figure II.15 représente la phase instantanée de la porteuse. Il faut bien noter que les variations brutales verticales apparemment discontinues sont en réalité des variations continues car la phase est définie à  $2\pi$  près.

**Compte tenu de ces résultats, on utilisera le lissage temporel dans la suite de nos travaux.**

30. Plus rigoureusement, elles ont des composantes de plus hautes fréquences que la porteuse qui contient l'information sur l'activité contractile.

Cette méthodologie permet de réaliser des cartographies de la dérive, de l'amplitude et de la phase instantanée dans les plasmodes. Un exemple de cartographie est donné dans la figure II.16 On a ajouté la fréquence instantanée<sup>31</sup> en hertz (s<sup>-1</sup>) qui n'est pas uniforme dans le plasmode.

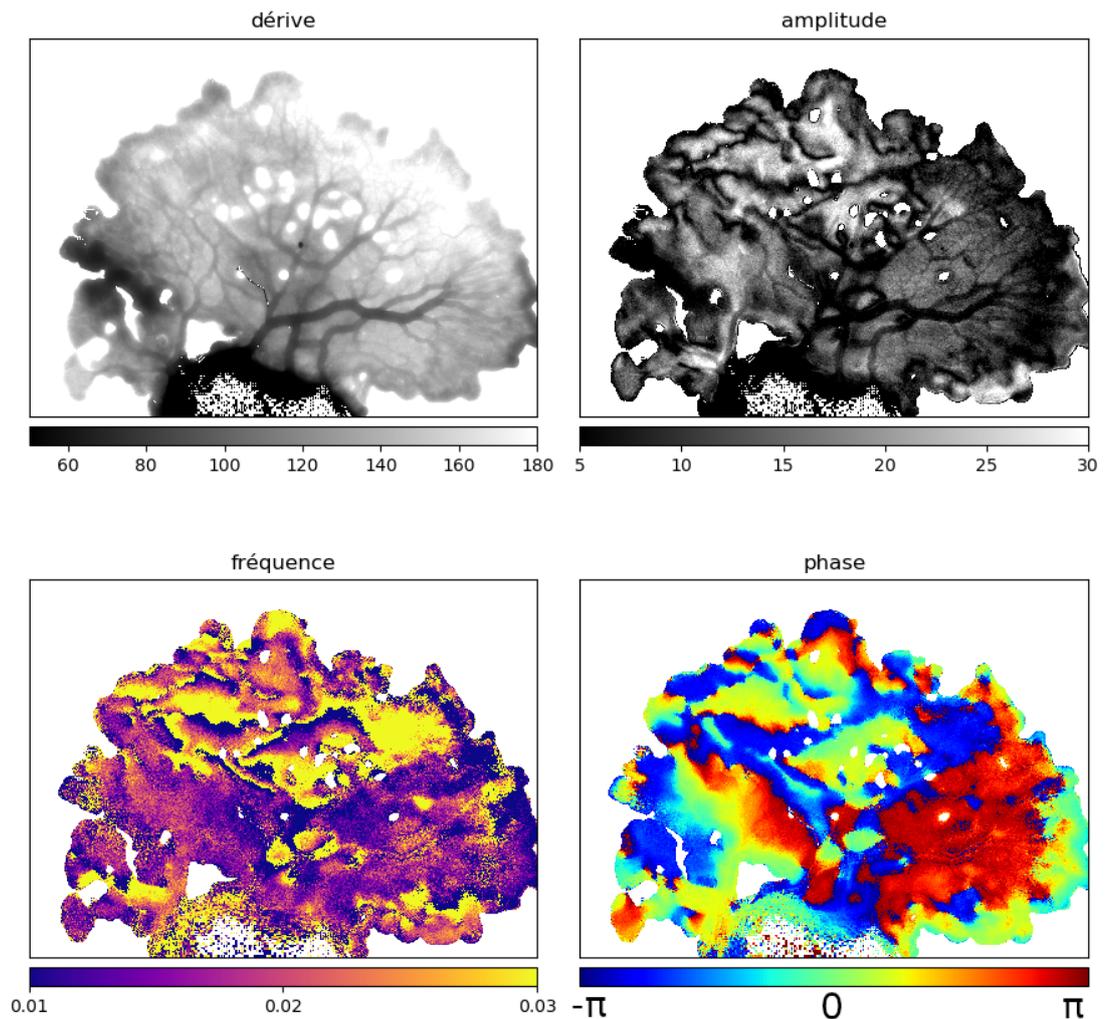


FIGURE II.16 – Cartographie instantanée des variables dynamiques d'intérêt. On distingue entre autres des hétérogénéités spatiales, d'épaisseur (dérive), d'amplitude d'oscillation, de vitesse de variation (fréquence instantanée) et d'état contractile (phase instantanée). Ces hétérogénéités seront expliquées dans le chapitre suivant.

Les cartographies de phases étant récurrentes on utilisera toujours la représentation couleur de la figure II.17. Cette variable angulaire est définie à  $2\pi$  près ainsi, dans cette représentation couleur des points de couleur bleue et de couleur rouge sont pratiquement à la même phase.

31.  $f(t) = \frac{1}{2\pi} \frac{d\phi(t)}{dt}$ .

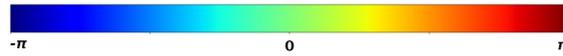


FIGURE II.17 – Représentation couleur angulaire (la phase instantanée)

### Kymographes et vitesse de front d'onde

Dans nos expériences de dynamique contractile en espace confiné (cf Chap. IV), les images se résumaient essentiellement à un plasmode découpé par des emportes-pièces circulaires formant des anneaux.

Pour segmenter la partie confinée, on cherche d'abord à détecter les bords des anneaux. Pour cela on utilise un filtre de Canny<sup>32</sup>, les paramètres du filtre sont ajustés manuellement. En sortie du filtrage de Canny, on récupère une image intermédiaire composée de 0 et de 1. Ces derniers sont situés au niveau des contours détectés. Pour détecter les cercles, on applique à cette image une transformation de Hough circulaire<sup>33</sup> [104, 105]. La figure II.18 ci-contre illustre ces étapes.

Le signal est ensuite intégré sur l'épaisseur de l'anneau, ce qui le rend unidimensionnel. Il est alors possible de représenter la dynamique spatio-temporelle des motifs contractiles en deux dimensions. Cette représentation en temps-espace est appelée un kymographe. Il faut noter que dans le cas d'un anneau la variable d'espace en ordonnée est périodique. En appliquant la méthode de décomposition temporelle décrite précédemment (cf II.3.3), on va calculer la phase moyenne sur un petit segment angulaire. Pour cela, on construit le nombre complexe suivant pour chaque segment centré à la position  $x$  et à tout instant  $t$  :

$$r_x(t) = \frac{1}{N_x} \sum_{j \in x} e^{i\phi_j(t)} \quad (\text{II.11})$$

Où  $N_x$  est le nombre de pixels contenus dans le segment centré en  $x$ . La phase instantanée moyennée sur le segment à la position  $x$  est donnée par :

$$\overline{\phi}_x(t) = \text{Arg}(r_x(t)) \quad (\text{II.12})$$

Le nombre complexe  $r_x(t)$  permet aussi de caractériser la cohérence  $C_x(t)$  de la phase dans chaque segment.

$$C_x(t) = \text{Mod}(r_x(t)) \quad (\text{II.13})$$

32. Le filtre de Canny est utilisé pour la détection de contours. Il est peu sensible au bruit et localise précisément les contours [103]

33. La Transformation de Hough circulaire associe un espace de Hough en 3 dimensions : deux coordonnées du centre et un rayon. L'espace de Hough est en principe infini mais on le restreint : on cherche des cercles inscrits dans l'image et on connaît approximativement les rayons recherchés. À chaque paire de point (pixels de valeur 1) on associe des votes dans l'espace de Hough. Ces votes correspondent à l'ensemble des cercles passant par ces deux points. Après le vote de toute les paires de points, les paramètres des cercles correspondent aux maxima locaux de l'espace de Hough.

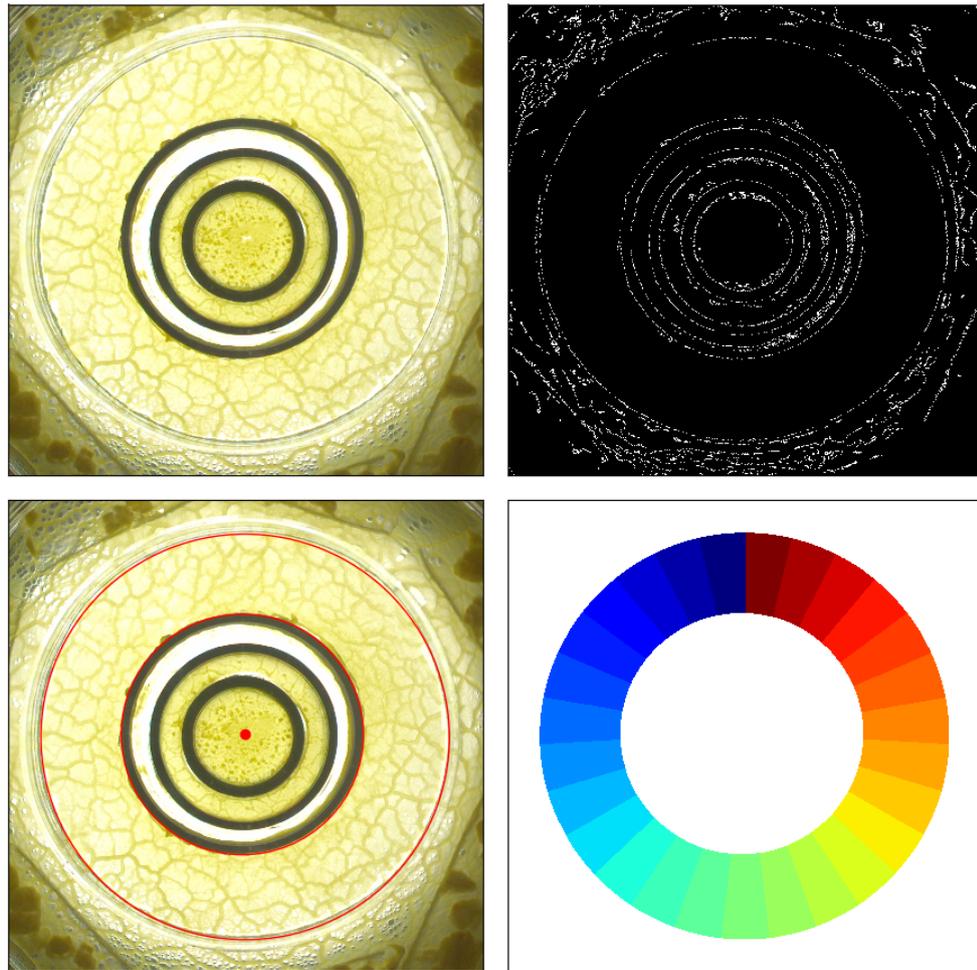


FIGURE II.18 – Étapes de segmentation des anneaux. Image originale, détection des contours filtre de Canny, cercles et centre détectés dans l'espace de Hough. Discrétisation spatiale angulaire de l'anneau (la représentation couleur correspond à l'angle selon la convention figure II.17).

On peut interpréter géométriquement ces deux termes en associant à chaque phase  $\phi_j$  un vecteur unitaire de coordonnées  $(\cos(\phi_j), \sin(\phi_j))$ . Le nombre  $r$  est la moyenne de tous ces vecteurs dans le plan complexe. Son argument correspond à l'orientation de la moyenne tandis que son module caractérise l'alignement moyen. Ce dernier est une mesure de la "cohérence" de la phase moyennée. Lorsqu'il vaut 1 les phases de chaque pixels sont toutes identiques, et plus il se rapproche de 0 plus les phases sont uniformément distribuées et moins l'orientation moyenne n'a de sens. L'évolution temporelle de l'orientation et de la cohérence sur un anneau discrétisé sont représenté dans la figure II.19.

Néanmoins la décomposition temporelle du signal pour chaque pixel est extrêmement demandeuse en ressources de calcul. Pour y remédier, on effectue la décomposition sur l'intensité moyennée sur un segment angulaire de l'anneau. Cette méthode réduit considérablement le nombre d'opérations (d'un facteur de l'ordre d'une dizaine de milliers). La phase instantanée

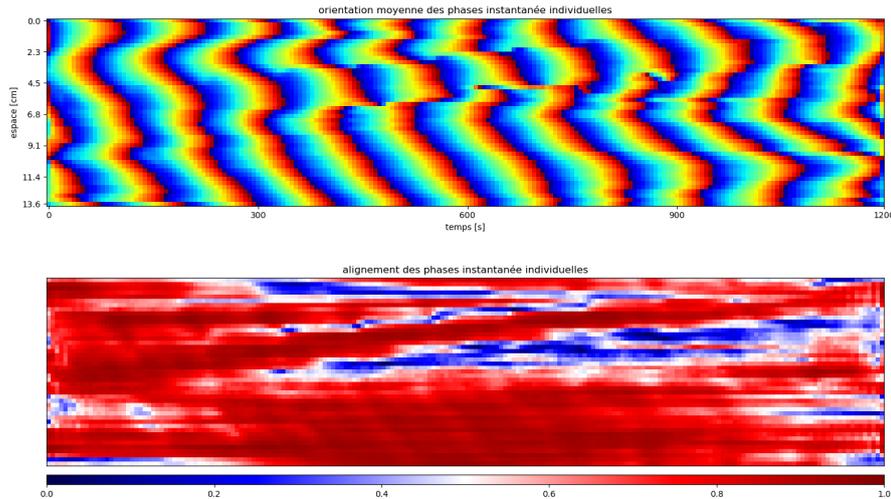


FIGURE II.19 – Kymographe de l'orientation (phase instantanée) et de l'alignement (cohérence) avec le temps en abscisse et l'espace en ordonnée. On peut voir un décrochage de la phase au milieu du kymographe de phase, confirmé en bleu sur le kymographe de la cohérence.

reste très correcte même lorsque la dynamique n'est plus cohérente comme l'illustre le kymographe II.20 (a) réalisé avec des calculs parcimonieux. Ce dernier est difficilement discernable de celui réalisé avec des calculs intensifs (figure II.19). En revanche la méthode parcimonieuse ne permet plus de calculer la cohérence, et les décrochages de phases doivent être identifiés à l'œil avant d'être éventuellement confirmés<sup>34</sup>.

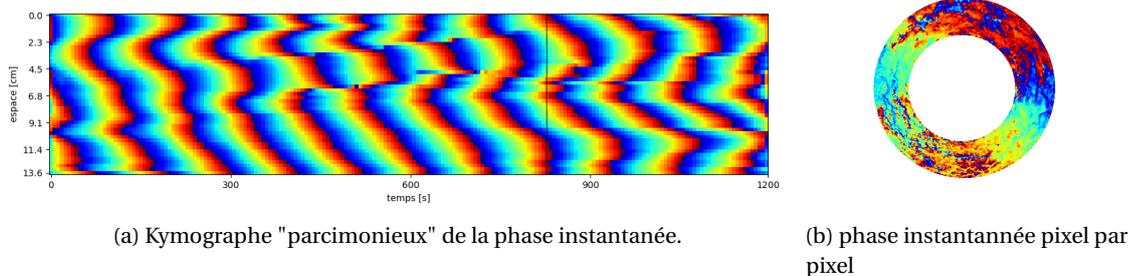


FIGURE II.20 – Le kymographe de la phase instantanée (a) a été réalisé sur les moyennes spatiales d'intensité permettant une utilisation parcimonieuse des ressources de calculs. Le résultat est très fidèle au calcul pixel par pixel (voir figure II.19). Pour comparaison, on montre également la distribution spatiale des phases instantanée (b) pour chaque pixel à  $t = 800$ s. Cette distribution correspond à la ligne verticale dans liage (a). L'axe des abscisse du kymographe (a) doit être parcouru de haut en bas, ce qui correspond à parcourir l'anneau figure (b) dans le sens trigonométrique en partant du haut.

Enfin, les kymographes de la phase instantanée permettent de calculer la vitesse de propagation des ondes de contraction en calculant la vitesse de phase du champ d'épaisseur :

34. On utilisera la méthode intensive sur des motifs d'intérêts.

$$v_{\phi}(x, t) = -\frac{\partial\phi}{\partial t} / \frac{\partial\phi}{\partial x} \quad (\text{II.14})$$

En pratique, les dérivés discrètes sont bruitées, pour y remédier, on interpole les phases déroulées avec des splines cubiques<sup>35</sup>, dont on extrait les dérivées spatiales et temporelle exactes. Cette méthode donne des résultats cohérents<sup>36</sup> lorsque la phase est bien définie (voir figure II.21).

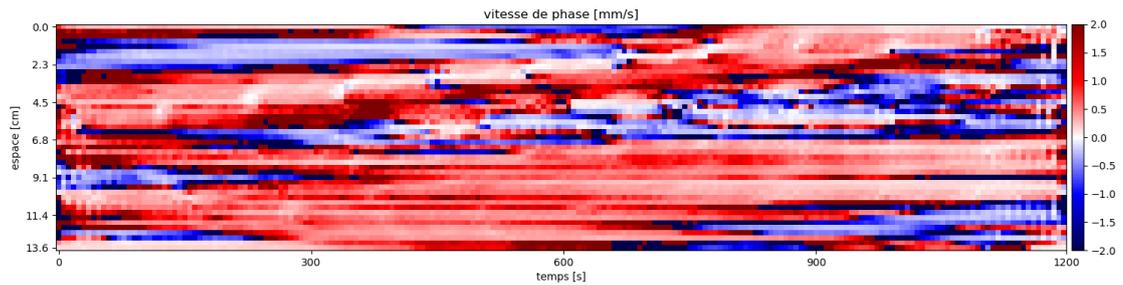


FIGURE II.21 – Kymographe des vitesses de phase.

35. Une interpolation spatiale et une interpolation temporelle.

36. Les vitesses mesurées sont de l'ordre du mm/s.

# Dynamique contractile et remodelage du réseau

---

Les écoulements sont fondamentaux pour le fonctionnement de tous les organismes. Ils jouent un rôle important dans l'homéostasie, en diffusant les ressources et les signaux biochimiques [100, 106, 107]. Ils alimentent les déformations qui entraînent la migration de nombreuses cellules [108, 109] et peuvent même avoir un impact direct sur la taille des organismes [110]. Étonnamment, même en l'absence d'une unité de régulation centrale comme le cœur, les flux sont coordonnés à des échelles très différentes, allant de la taille d'une seule cellule migrante d'environ 20 micromètres [111, 112], en passant par les embryons de drosophile d'environ 500 micromètres [113], jusqu'aux cellules plasmodiales de *Physarum* dont la taille atteint quelques cm [114]. Le mécanisme physique d'auto-organisation des flux, en particulier au sein d'une enveloppe cellulaire unique, reste à ce jour inconnu.

Chez *Physarum* ces flux sont le moteur de la migration. En effet cet organisme se déplace en transformant son cytoplasme d'une phase gélifiée à une phase liquide. Lorsqu'il fore/croit, le plasmode adopte une forme caractéristique de *pseudopode* (en forme d'éventail) au niveau de son front d'avancement (voir figure : III.1(a-c)).

Nous avons vu dans le chapitre I que le plasmode de *Physarum* est composé du cytosol liquide ainsi que d'un cortex d'actomyosine situé juste en dessous de l'enveloppe cellulaire. Ce maillage d'actomyosine forme un matériau viscoélastique actif [41, 49]. Il se contracte sous l'effet de l'activité motrice de la myosine et pousse ainsi le cytosol enfermé à s'écouler dans une partie moins contractée de la cellule [106, 115]. Les flux à longue distance qui s'adaptent à la taille du système nécessitent donc une organisation spatiale de la contractilité du cortex.

Le dispositif d'imagerie en transmission présenté à la section II.2 permet d'imager la dynamique du champ d'épaisseur<sup>1</sup>. Dans ce chapitre, je présente les résultats obtenus pour

---

1. Cette dernière résulte de l'équilibre des contraintes actives contractiles dans le cytogel et des résultantes des forces de pressions dans le cytosol auxquelles s'ajoute la réponse visco-élastique du cytogel.

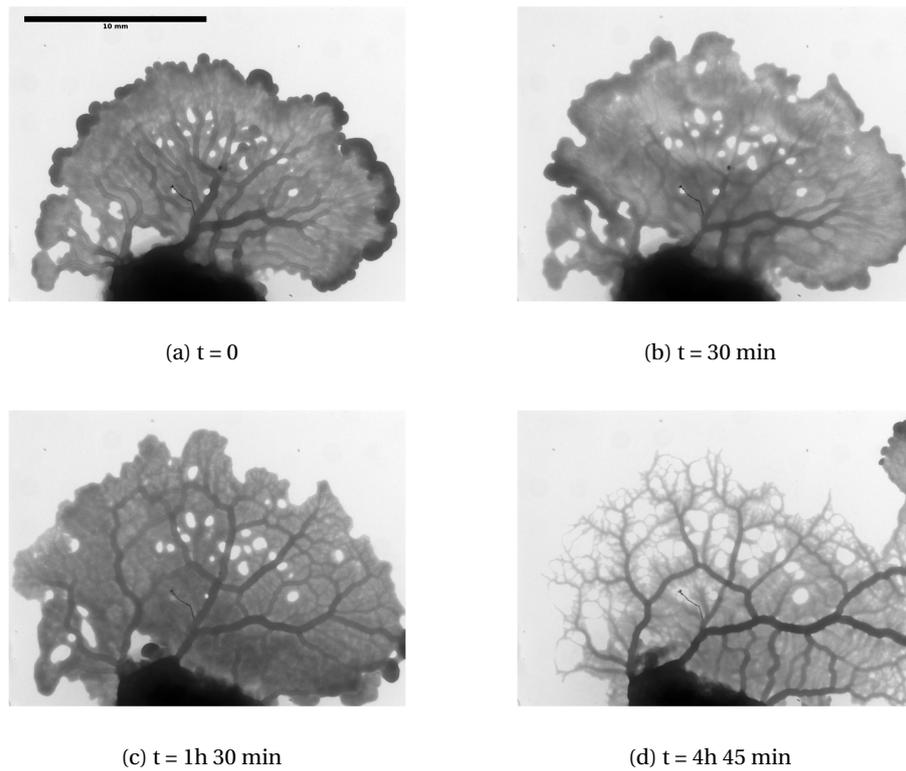


FIGURE III.1 – Fronts de croissance, à la base se trouve un flocon d’avoine recouvert de plasmode sur lequel ce dernier se nourrit.

un plasmode libre de se mouvoir sur un gel nutritif. En analysant le champ d’épaisseur, je montre que l’activité contractile peut se distinguer en deux grandes catégories : une phase de synchronisation et une phase de désynchronisation liées à la croissance et à la réorganisation.

La figure III.1 montre un plasmode éclairé en transmission se nourrissant préalablement sur un flocon d’avoine ( zone sombre du bas) et ayant entamé l’exploration des alentours par croissance. Les quatre images sont prises sur un intervalle de temps relativement court devant le temps caractéristique de migration. Néanmoins, on observe quatre phases distinctes de la croissance. Celles-ci se caractérisent par la structure du réseau sous-jacent ainsi que l’organisation spatiale de la dynamique oscillatoire.

Les images III.2, III.4, III.5 et III.6 représentent la phase oscillatoire du champ d’épaisseur obtenue grâce au traitement détaillé dans la section II.3.3.

### III.1. – Phase de croissance

Dans la figure III.1(a), la cellule croît vigoureusement par vagues successives de contractions qui se propagent radialement de la base du pseudopode (en forme d’éventail) vers l’extérieur.



FIGURE III.3. – Code couleur de la phase instantanée ( $-\pi$  à  $\pi$ ).

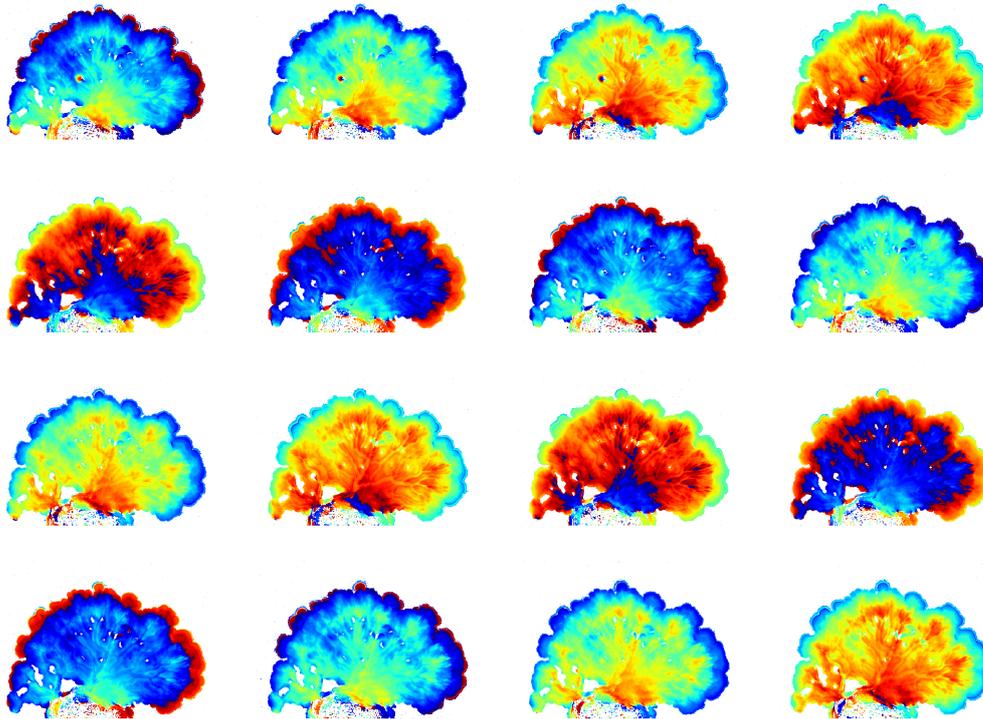


FIGURE III.2 – Phase instantanée des contractions, dans la phase de croissance (code couleur III.3). Les contractions sont globalement cohérentes et leur longueur d'onde est égale à la taille du pseudopode. Elles se propagent radialement à partir de la source de nourriture vers le bord du pseudopode. Les images sont espacées de 12s de gauche à droite et de haut en bas.

La dynamique temporelle de ces ondes de contractions est représentée dans la figure III.2. Les ondes sont cohérentes dans l'ensemble du cytoplasme et leur longueur d'onde s'étend sur l'organisme entier. Ce mécanisme d'ondes péristaltique chasse le cytosol vers le front de propagation à travers le cytogel poreux et les proto-veines (veines primitives).

Lorsque l'onde arrive à l'extrémité de la cellule, la surpression créée par l'accumulation de cytosol déforme la paroi et déplace la ligne de contact cellule-substrat. Cette surpression est succédée par un léger ressac insuffisant à déplacer la ligne de contact qui adhère au substrat. Cette asymétrie permet un déplacement non-nul du plasmode. Dans le front de propagation, le cytosol fraîchement advecté n'est pas encore structuré. Il est constitué d'un mélange de cytosol et de cytogel relativement homogène formant un milieu effectif poreux. La transition sol-gel et les écoulements vont entraîner la percolation de veines dans ce milieu poreux et conduire ultimement à une structure vasculaire.

Il faut également noter qu'il existe une corrélation entre la structure du réseau de veines primitif et la dynamique. Durant cette phase de forte croissance, le réseau de proto-veines est hiérarchisé et arborescent avec une orientation principale allant de la base de l'éventail

vers le front de croissance, les diamètres des veines diminuent avec la distance à la base. Cette structure arborescente intégrée dans le cytoplasme poreux crée une anisotropie de la conductivité hydraulique effective qui est plus grande dans la direction radiale que dans la direction transverse.

### III.2. – Phase désynchronisée

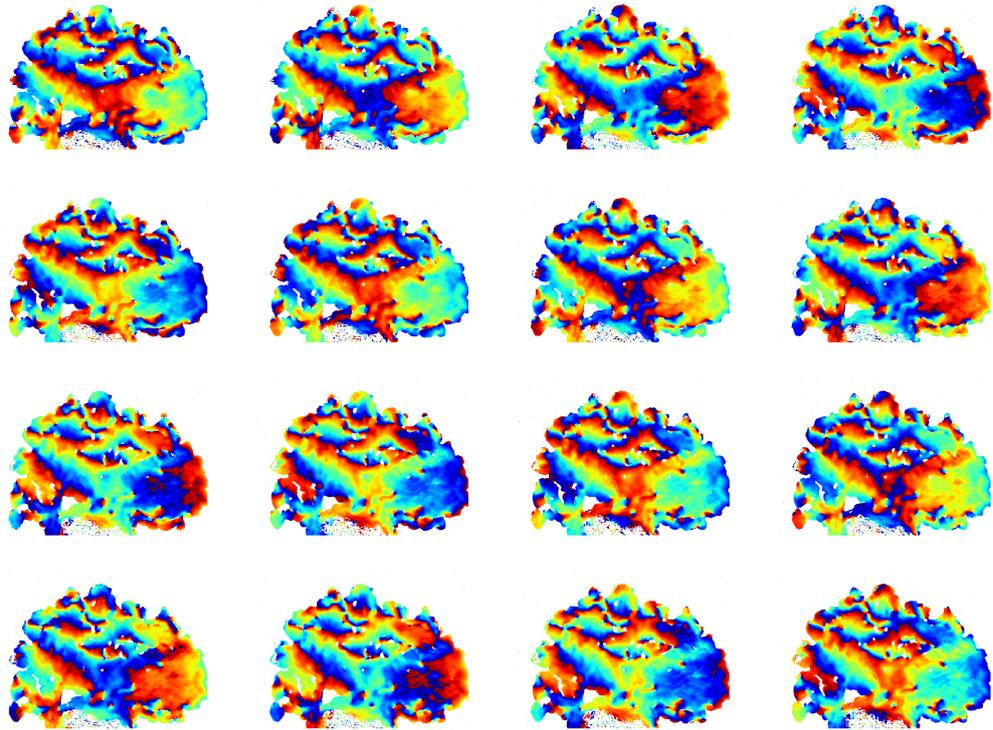


FIGURE III.4 – Phase instantanée des contractions, en absence de croissance (code couleur III.3). Aucune direction de propagation privilégiée n'est visible et les contractions ont une longueur de cohérence petite devant la taille du pseudopode. les images sont espacées de 12s de gauche à droite et de haut en bas.

Dans la figure III.1(b), la cellule a interrompu sa croissance. On distingue moins de veines (en particulier sur la gauche du plasmode) et le réseau restant semble moins hiérarchisé. La dynamique temporelle des contractions présentée dans la figure III.4 est beaucoup moins cohérente spatialement. Les ondes de contractions se propagent sur de petites distances sans aucune direction de propagation privilégiée. En parallèle de cette dynamique que nous appelons désynchronisée, la migration/croissance du plasmode est interrompue. En l'absence de synchronisation des contractions sur une échelle de taille comparable à celle de l'organisme,

les ondes péristaltiques ne sont pas suffisantes pour coordonner les écoulements internes. Le fluide qui n'est déplacé que localement n'entraîne pas de croissance.

### III.3. – Phase de réorganisation et remodelage du réseau

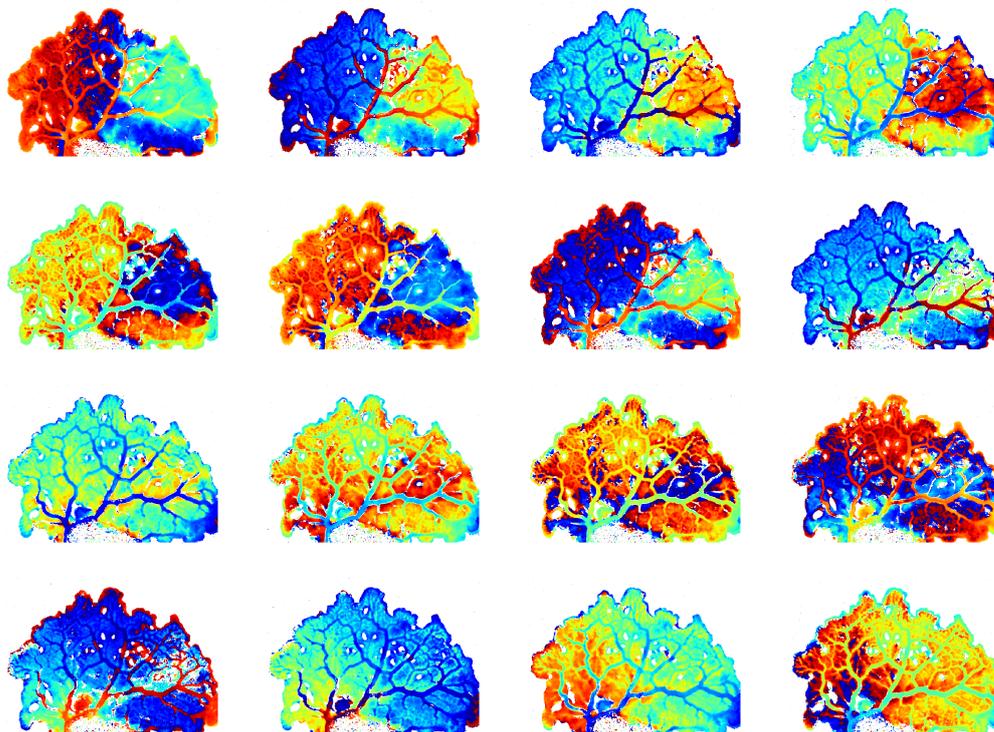


FIGURE III.5 – Phase instantanée des contractions pendant la réorganisation (code couleur III.3). On observe des ondes de contraction relativement cohérentes. Cette fois elles se propagent de gauche à droite. D'autre part, on observe un déphasage entre les veines et le cytosol poreux. Les images sont espacées de 12s de gauche à droite et de haut en bas.

À la suite de cette période de désynchronisation le réseau se réorganise en une structure plus réticulée (fig III.1(c)). Certaines veines principales disparaissent et d'autres veines sont renforcées. D'autre part, des canaux secondaires reliant perpendiculairement les veines principales de la structure arborescente décrite précédemment se développent. La croissance reprend ensuite, toutefois moins rapidement qu'au début de l'acquisition. La dynamique temporelle des ondes de contractions est représentée dans la figure III.5. Les ondes péristaltiques s'étendent à nouveau sur l'ensemble du cytoplasme. Néanmoins, leur direction de propagation a changé et

est maintenant orientée de gauche à droite. On constate également un léger déphasage entre les contractions des veines et les contractions du lit poreux les environnant. Ce déphasage semble être d'autant plus prononcé que les veines sont grosses.

Il est remarquable que la réorganisation du réseau fasse suite à une interruption de la croissance/migration durant laquelle il n'y a pas de direction principale claire.

### III.4. – Croissance post-réorganisation

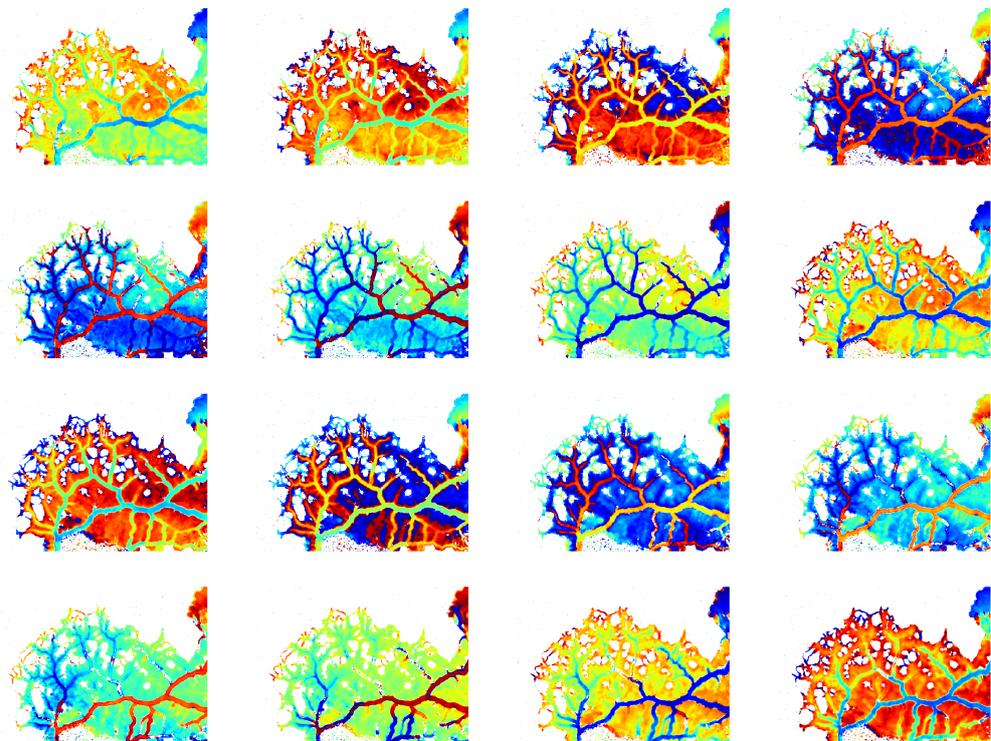


FIGURE III.6 – Phase instantanée des contractions, durant la croissance après restructuration (code couleur III.3). Le cytoplasme poreux a été partiellement résorbé et transporté vers un nouveau front de croissance (partiellement visible en haut à droite). Des ondes de contraction se propage le long de la veine principale vers le front de croissance. Le déphasage est de plus en plus marqué entre le cytoplasme poreux restant et la veine principale qui irrigue le front de croissance. Les images sont espacées de 12s de gauche à droite et de haut en bas.

Quelques heures plus tard, la croissance continue mais la structure du réseau s'est réorganisée et est devenue plus hiérarchisée et arborescente comme l'illustre la figure III.1(d). Le front de croissance, désormais à droite (presque hors champ), est alimenté par une veine principale. Cette dernière est maintenant connectée à des ramifications perpendiculaires plus petites dont certaines forment des boucles. À gauche, le cytoplasme poreux a été complètement ré-absorbé

pour alimenter le front de croissance, et le réseau de veines restantes est plus clairsemé et sa structure est fortement hiérarchisée. La dynamique des ondes de contraction est similaire à la précédente avec une orientation des ondes péristaltiques de gauche à droite. La figure III.6 montre que le front de propagation et la veine principale sont en phase, mais le déphasage entre les veines principales et le reste du réseau est encore plus marqué que précédemment. Cette dynamique présente des similitudes avec l'hydrodynamique des mangroves "riverines" (voir figure III.7). Ces dernières sont constituées d'une forêt dense où les arbres (et leurs racines en particulier) sont sources de dissipation visqueuse. Cette forêt entoure un canal principal plus profond se jetant dans la mer. Dans ce dernier, les écoulements oscillants sont générés par le forçage dû aux marées. Le déphasage entre la hauteur d'eau dans le canal et le niveau de la mer dépend du sens du flux d'eau, en raison de la dissipation visqueuse, le déphasage est plus important durant le reflux ou la mangrove se vidange [116]. Similairement, un mécanisme lié à une différence de dissipation entre les veines et le lit "poreux" de *Physarum* pourrait expliquer les déphasages observés entre ces derniers.

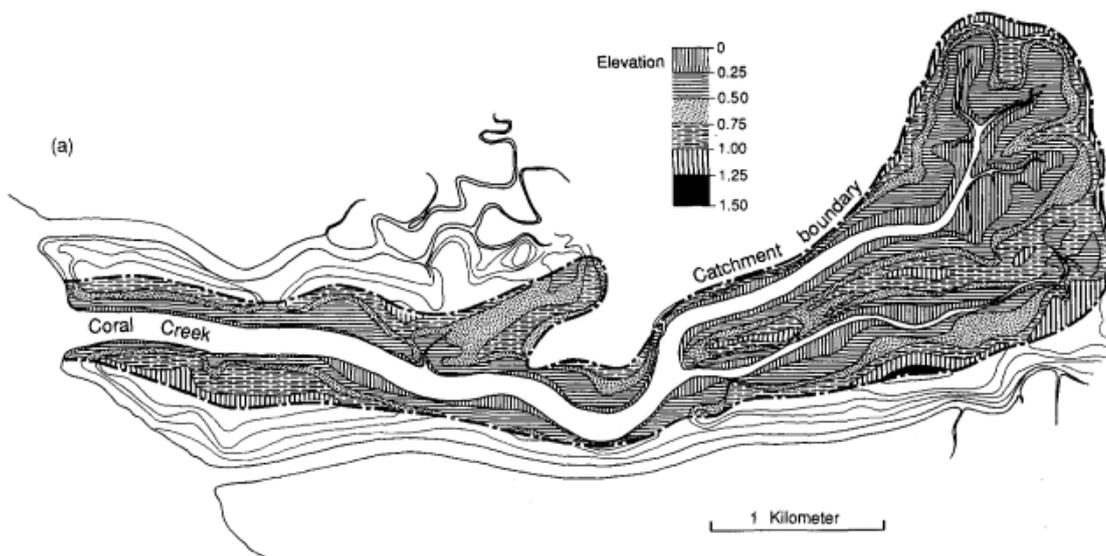


FIGURE III.7 – relevé topographique d'une mangrove riverine, image issue de [116]

### III.5. – Résumé des résultats

Cette analyse illustre les interrelations entre la dynamique contractile, les écoulements et la formation du réseau :

- Les ondes de contraction sont présentes dans tout l'organisme avec des longueurs d'ondes variables :
  - Les grandes longueurs d'ondes (état synchronisé) coordonnent globalement les écoulements et entraînent un flux net de cytoplasme par pompage péristaltique (croissance, migration).
  - Les petites longueurs d'ondes (état désynchronisé) ne permettent pas de pomper efficacement le cytosol et n'entraînent pas de croissance.
- L'architecture du réseau et les motifs contractiles s'influencent mutuellement par le biais des écoulements :
  - La synchronisation, entraîne un renforcement des veines orientées dans la direction de l'écoulement péristaltique provoqué par les ondes.
  - Inversement, lorsque les contractions sont désynchronisées, une partie du réseau de proto-veines disparaît.
- Il y a un déphasage entre les veines et le cytoplasme poreux dans lequel elles sont intégrées. Localement, ce déphasage est interprété comme la conséquence des différences de propriétés mécaniques du poreux et des veines plutôt qu'un déphasage dans le cycle de contraction.

Ces couplages étant très complexes, nous avons choisi pour la suite de notre étude de confiner spatialement l'organisme afin d'orienter la dynamique contractile et la direction principale des écoulements. Ce confinement nous permettra d'une part de nous affranchir de la migration/croissance pour quantifier les écoulements et d'autre part de déterminer leur lien avec la ré-organisation du réseau. Pour cela, nous avons choisi une géométrie annulaire, dans laquelle l'organisme ne sent ni avant ni arrière.

## Confinement en géométrie annulaire : dynamique aux temps courts

---

Lors du chapitre précédent, nous avons montré que l'activité contractile est liée à différents comportements macroscopiques émergents comme la migration ou le remodelage du réseau.

Les phénomènes cycliques sont un exemple d'ordre temporel omniprésent dans l'ensemble du monde vivant. Les exemples les plus communs incluent les cycles de division cellulaire et métaboliques, les battements cardiaques ou les mouvements de membres pour la locomotion. La coordination de ces rythmes individuels pourrait être en principe organisée par une unité centrale faisant office de chef d'orchestre (le cœur ou le cerveau par exemple), mais bien souvent les systèmes biologiques ne disposent pas d'une telle unité centrale, les sous-constituants du système ont leur propre rythme interne et le rythme global émerge des interactions ou couplages entre les différents éléments du système conduisant ainsi à des activités synchrones (en phase : synchronisation des divisions cellulaires ou de scintillement de lucioles par exemple) ou métachrones (les constituants sont décalage de phase conduisant à une onde progressive apparente, comme par exemple les battements de cils de micro-organismes pour la nage). Les mouvements péristaltiques sont un autre exemple de rythme métachronal dans lequel une onde de contraction se propage le long d'un organe creux afin de déplacer le fluide qu'il contient. Le système lymphatique, le tube digestif et l'urètre sont des organes dont les fonctions de transport sont assurées par péristaltisme résultant d'ondes de contraction des muscles lisses les entourant.

Bien qu'il n'y ait pas de régulateur centralisé pour les coordonner, les contractions générées dans le cytoplasme de *Physarum polycephalum* présentent une grande coordination spatiale dont résulte le rythme métachronal responsable d'écoulements péristaltiques. Biologiquement, cette coordination permet d'établir des écoulements portant sur des distances comparables à la taille de l'organisme et d'assurer un transport efficace sur lequel repose la communication intracellulaire et la migration.

Des simulations numériques ont montré que le transport est maximisé sur un réseau lorsque la longueur d'onde péristaltique est égale à la taille<sup>1</sup> de l'organisme [114]. Néanmoins, ces simulations se basent sur une dynamique déjà synchronisée dans laquelle les unités sont découplées. Il est communément admis que la régulation des contractions est de nature chimique. Des oscillations d'intensité de fluorescence du  $\text{Ca}^{2+}$  en phase avec les contractions ont été reportées par Ridgway [21]. Bien que ces oscillations d'intensité pourrait être dues aux variations d'épaisseurs, le  $\text{Ca}^{2+}$  est un régulateur de la contraction musculaire chez de nombreuses espèces, ce qui en fait le principal candidat à la régulation chimique des contractions chez *Physarum*. Son mode de régulation exact reste toutefois inconnu et deux hypothèses de régulation sont avancées :

- L'activation des contractions par le  $\text{Ca}^{2+}$  stocké dans des vésicules du cytogel qui serait libéré lors de d'étirement de ce dernier [26,27] via des canaux ioniques mécanosensibles. Cette hypothèse est supportée expériences de [21].
- L'inhibition des contractions par l'action conjuguée du  $\text{Ca}^{2+}$  et cAMP [22, 23] présent dans le cytosol. Cette hypothèse est supportée par les expériences de [28].

Indépendamment de la nature de la boucle de rétroaction (inhibition ou activation), ces deux hypothèses reposent sur deux approches de nature différentes. La première est de nature mécano-sensitive et la seconde repose essentiellement sur la cinétique chimique imposée par les différences de concentrations d'ions créés par les écoulements.

Afin de sonder le rôle des écoulements sur la coordination des contractions, nous avons confiné une nappe de cytoplasme dans une région annulaire pour contraindre la direction principales des écoulement. Parallèlement, des simulations numériques ont été réalisées par une équipe du *Max Planck Institute for Dynamics and Self-Organization* en considérant un système similaire constitué d'un tube périodique contractile. Ces simulations serviront de point de comparaison à nos résultats expérimentaux. Elles prédisent une dynamique comportant des motifs stables qu'on peut classer en trois groupes (cf figure IV.1) :

- **Les motifs symétriques** correspondent à des ondes de contraction progressives dont la phase de l'onde de contraction varie linéairement (dans une direction ou l'autre) le long du tube et sa longueur d'onde est une fraction entière de la longueur totale du tube.
- **Les motifs antisymétriques** sont le résultat d'une paire<sup>2</sup> d'ondes de contraction se propageant dans des directions opposées pour lesquelles la taille des ondes de contraction (à différentier de la longueur d'onde qu'on ne saurait définir dans ce cas) est la moitié de la longueur du tube.

---

1. La plus grande longueur pour un réseau planaire.  
2. Ou éventuellement plus.

- **Les motifs asymétriques** sont en quelque sorte une forme hybride des deux précédents types de motifs. Dans ces derniers une paire d'ondes contra-propagatives est générée mais l'une des deux ondes est stoppée par une onde pré-existante se propageant dans le sens opposé.

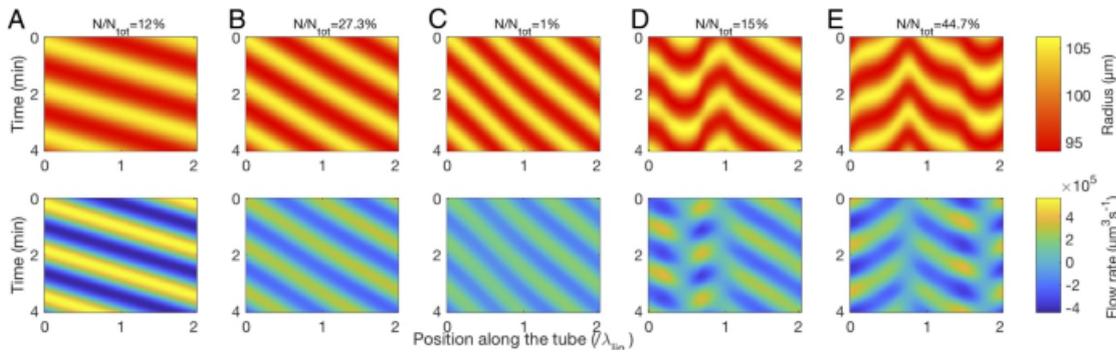


FIGURE IV.1 – Kymographes des rayons et débits pour les différents modes stables obtenus par la modélisation numérique de Julien *et al.* [117]. Modes symétriques (A-C) de longueurs d'ondes  $1$ ,  $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{3}$  circonférences d'anneau respectivement, mode asymétrique (D) et mode antisymétrique (E). Les probabilités d'obtentions de ces modes sur 300 simulations sont indiquées en tête.

## IV.1. – Analyse de l'activité contractile en géométrie annulaire

### Cartographies

On rappelle l'expression de la décomposition du signal d'intensité lumineuse et de vitesse de phase introduite en II.3.3.

$$\begin{aligned}
 I(t) &= \underbrace{D(t)}_{\text{dérive}} + \underbrace{A(t)}_{\text{modulation}} \underbrace{\cos(\phi(t))}_{\text{porteuse}} \\
 \underbrace{f(t)}_{\text{fréquence instantanée}} &= \frac{1}{2\pi} \frac{\partial}{\partial t} \left[ \underbrace{\phi(t)}_{\text{phase instantanée}} \right] \\
 \underbrace{v_\phi(x, t)}_{\text{vitesse de phase}} &= -\frac{\partial \phi}{\partial t} / \frac{\partial \phi}{\partial x}
 \end{aligned}$$

La figure IV.2 est une représentation typique des différents éléments de cette décomposition. Elle est constituée de kymographes dont l'ordonnée représente l'espace périodique le long de l'anneau de périmètre  $L$  (l'orientation de

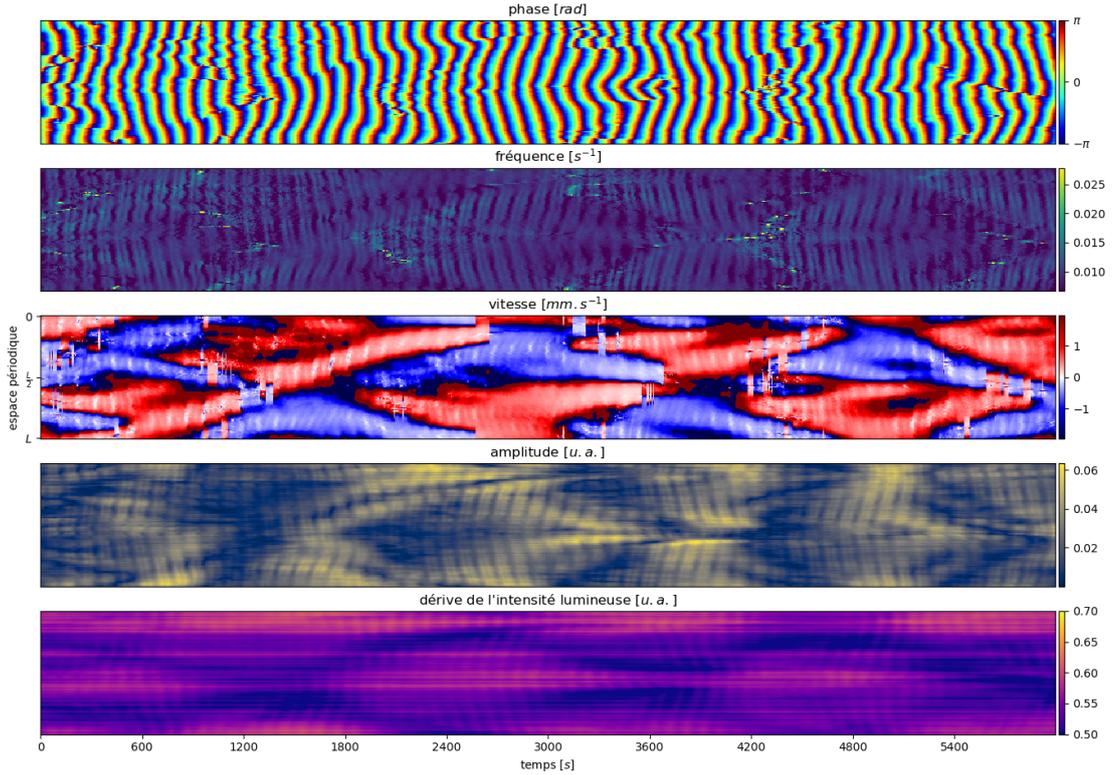


FIGURE IV.2 – Kymographes de la phase  $\phi(x, t)$ , de la fréquence  $f(x, t)$ , de la vitesse de phase  $v_\phi(x, t)$ , de la modulation d'amplitude  $A(x, t)$  et de la dérive  $D(x, t)$  de l'intensité lumineuse.

cet axe est définie positive de haut en bas). Le temps est représenté en abscisse.

Les différentes informations caractérisant la dynamique sont les suivantes :

- Pour la **phase instantanée** qui caractérise l'état contractile, on distingue différentes structures ou motifs spatio-temporels. On définit une structure contractile comme l'ensemble des points formant une isophasse continue dans le temps et l'espace. Notre choix de représentation couleur permet d'identifier facilement l'isophasse  $\theta = \pi = -\pi$  (discontinuité rouge/bleu) correspondant au maximum de relaxation. La pente des isophases est proportionnelle à la vitesse de propagation.
- La **fréquence instantanée** dont on représente par ailleurs l'histogramme échantillonné sur des temps longs en figure IV.3. (Les stries manifestes peuvent être dues soit à une différence de vitesse entre contraction et relaxation soit à un artéfact du mapping intensité-hauteur<sup>3</sup>).
- Les **vitesse de propagation** des isophases (ou vitesses de phase). Étant donné la symétrie spatiale du système on s'attend à une distribution bimodale des vitesses sans

3. L'intensité étant en première approximation donnée par une loi de Beer-Lambert  $I(h(t)) \propto e^{-\frac{h(t)}{\lambda}}$  et en supposant  $h(t) \propto \cos(\omega t)$  il vient  $\dot{I}(t) \propto -\frac{\omega}{\lambda} \sin(\omega t) e^{-\frac{h(t)}{\lambda}} \propto \sin(\omega t) I(t)$ .

direction privilégié. En moyennant aux temps longs cette symétrie semble respectée (voir histogramme IV.4). Dans la figure IV.2, les discontinuités verticales bleu-rouge et rouge-bleue correspondent à des créations et annihilations de train d'ondes respectivement.

- L'**amplitude** des oscillations pour laquelle on constate une structure en chevrons. Les maxima d'amplitude se propagent dans le sens de la vitesse des isophases remontant des zones d'annihilation vers les zones de création.
- Enfin la **dérive** de l'intensité lumineuse "inversement proportionnelle" à celle de la hauteur. Celle-ci est plus grande au niveau des zones de création et plus petite au niveau des zones d'annihilation ce qui suggère que le volume de fluide est transporté des premières vers les secondes dans la même direction que la vitesse de la phase.

En raison de la périodicité spatiale de l'anneau, la phase doit varier d'un multiple de  $2\pi$  sur un tour complet. On appelle ce multiple, nombre d'enroulement (ou "*winding number*" en anglais) qui est défini comme  $w(t) = \frac{1}{2\pi} \sum_{ij} \Delta\phi_{ij}(t)$ <sup>4</sup>. C'est un entier relatif qui caractérise la circulation orientée de la phase des ondes de contractions le long de l'anneau. Lorsque  $w \neq 0$ , il y a  $|w|$  ondes de contractions qui se propagent sans interruption dans le sens défini par son signe. On dit de ces modes qu'ils sont *circulants*. En revanche lorsque  $w = 0$  les différentes ondes de contractions présentes dans l'anneau s'annihilent mutuellement. Ces modes sont appelés *non-circulants*.

Expérimentalement, on peut trouver des discontinuités dans la phase instantanée (ce qui affaiblit la définition du nombre d'enroulement). Néanmoins la circulation est corrélée à la vitesse de phase moyenne dans l'anneau (cf figure IV.5).

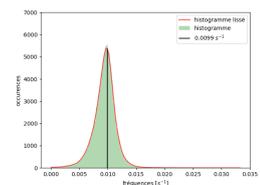


FIGURE IV.3. – Histogramme des fréquences correspondant à la figure IV.2. Les fréquences sont centrées autour de la valeur  $0.0099s^{-1}$ .

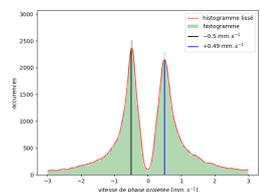


FIGURE IV.4. – Histogramme des vitesses correspondant à la figure IV.2. Les distributions sont approximativement log-normales avec des modes de différentes hauteurs pour les valeurs  $\pm 0.5mm.s^{-1}$ .

4. Avec les différences de phases  $\Delta\phi_{ij} \in ]-\pi, \pi]$ .

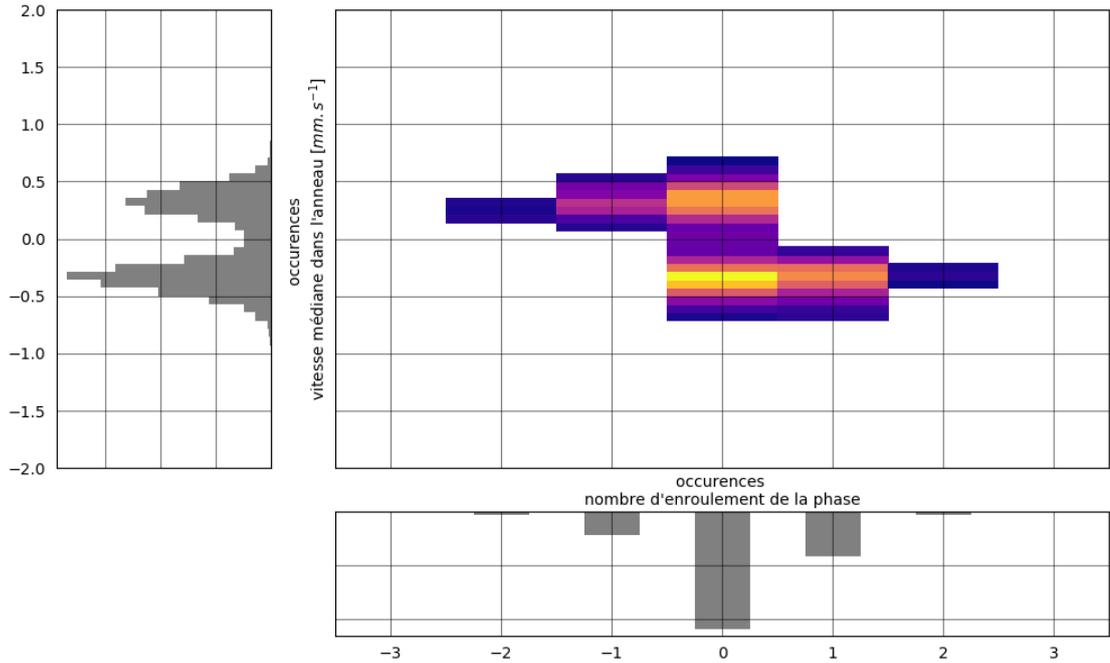


FIGURE IV.5 – Distribution jointe du nombre d’enroulement et de la vitesse de phase médiane (au centre) la couleur code le nombre d’occurrences (jaune > violet). Les distributions marginales de vitesse de phase et de nombre d’enroulement sont représentées à gauche et en bas respectivement. On observe une anti-corrélation entre le nombre d’enroulement non-nuls et la vitesse de phase médiane le long de l’anneau.

## IV.2. – Débit instantané

En supplément des informations concernant l’activité contractile on souhaite obtenir des informations sur les écoulements. Pour cela, nous avons développé une méthode d’inférence de débits permettant de réaliser une cartographie des débits volumiques à partir du champ de hauteur discrétisé. On la présente succinctement dans cette section. Le lecteur trouvera plus de détails ainsi qu’une comparaison avec des résultats analytiques et une généralisation de la méthode d’inférence sur des réseaux en annexe B.

Notre modèle consiste à représenter l’anneau sous la forme d’un réseau ou graphe  $G(N, E)$  où  $N$  est l’ensemble des nœuds et  $E$  l’ensemble des arêtes ou arcs reliant les nœuds. Dans le cas présent, l’ensemble des nœuds correspond aux fenêtres d’échantillonnage spatial et les arêtes correspondent aux relations d’adjacence entre deux fenêtres limitrophes. Les propriétés topologiques du réseau sont entièrement contenues dans la matrice d’adjacence  $A$  telle que  $A_{ij} = 1$  lorsque les nœuds  $i$  et  $j$  sont connectés par une arête et  $A_{ij} = 0$  sinon.

On construit ensuite une matrice d’adjacence pondérée, usuellement notée  $W$ , pour tenir compte du couplage hydrodynamique entre deux nœuds adjacents. De manière générale, on écrit  $W_{ij} = C_{ij} = R_{ij}^{-1}$  ou  $C_{ij}(l_{ij}, S_{ij})$  est la conductance hydrodynamique de l’arête. Les

valeurs  $W_{ij}$  de cette matrice dépendent de la géométrie du problème ainsi que du modèle hydrodynamique considéré (écoulements de Poiseuille ou de Darcy, dans une géométrie donnée : dans un tube ou encore pour un écoulement quasi parallèle entre deux plaques).

Le calcul des débits sur un réseau est un problème de type *réseau de flots*. On cherche à calculer les débits à partir des termes sources et de la conservation du volume. L'idée générale consiste à calculer le champ de pression  $\vec{P}$  aux nœuds du réseau à partir des termes sources puis de remonter aux débits en appliquant la loi d'Ohm :  $\Delta P_{ij} \equiv P_i - P_j = R_{ij} Q_{ij}$  avec  $Q_{ij}$  le le débit ou flux du nœud  $i$  au nœud  $j$ .

Pour un fluide et des conduites incompressibles, la conservation de la masse impose la conservation du débit aux nœuds<sup>5</sup>. La conservation des débits aussi appelée première loi de Kirchhoff s'écrit  $\forall i, \sum_j Q_{ij} = 0$  en l'absence de sources. En présence de termes sources, on définit le vecteur  $\vec{F}$  tel que  $\forall i, \sum_j Q_{ij} = F_i$  ou  $F_i$  est le terme source du nœud  $i$  (pour  $F_i > 0$  le nœud  $i$  est une source de courant, et pour  $F_i < 0$  nœud  $i$  est un puits de courant). A partir de la première loi de Kirchhoff et de la loi d'Ohm hydraulique<sup>6</sup> on a pour chaque nœud  $i$  :

$$F_i = \sum_j \frac{A_{ij}}{R_{ij}} (P_i - P_j) \quad (\text{IV.1})$$

En formulation matricielle on a alors :

$$\mathbf{L}\vec{P} = \vec{F} \quad (\text{IV.2})$$

Où  $\mathbf{L}$  est le laplacien de la matrice des conductances<sup>7</sup>.

La distribution de pressions est obtenue en "pseudo-inversant" la matrice laplacienne (détail en annexe B) :

$$\vec{P} = \mathbf{\Lambda}\vec{F} \quad (\text{IV.3})$$

$$\Lambda_{ij} = \sum_{n=2}^N (\vec{v}_n)_i \frac{1}{\lambda_n} (\vec{v}_n)_j \quad (\text{IV.4})$$

Où  $(\lambda_n, \vec{v}_n)$  sont les paires de valeurs et vecteurs propres normalisés de  $\mathbf{L}$ .

Les potentiels de pression sont alors donnés par :

$$P_i = \sum_j \sum_{n=2}^N (\vec{v}_n)_i \frac{1}{\lambda_n} (\vec{v}_n)_j F_j \quad (\text{IV.5})$$

Cette équation est au cœur de notre méthode de calcul de débits. À partir des différences de potentiels de pression des nœuds adjacents on peut calculer le débit  $Q_{ij}(t) = C_{ij}(P_i - P_j)$  le long des arêtes étant données leurs conductances.

5. La somme des débits entrants est égale à la somme des débits sortants pour chaque nœud.

6. loi d'Ohm hydraulique :  $(P_i - P_j) = R_{ij} Q_{ij}$  où  $R_{ij}$  est la résistance hydraulique

7.  $L_{ij} = (\delta_{ij} - 1) \frac{A_{ik}}{R_{ik}} + \delta_{ij} \sum_k \frac{A_{ik}}{R_{ik}}$

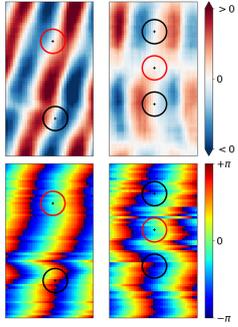
Pour calculer le terme source à chaque nœud  $i$  on leur associe un volume  $V_i(t) = h_i(t)S_i$  ou  $h_i$  et  $S_i$  sont l'épaisseur et la surface de chaque fenêtre d'échantillonnage. Les fenêtres ayant des surfaces égales  $S$ , on peut réécrire le volume en supposant une loi de type Beer-Lambert pour l'épaisseur :

$$V_i(t) = S\lambda \ln\left(\frac{I^0}{I_i(t)}\right) \quad (\text{IV.6})$$

Avec  $I_i(t)$  l'intensité lumineuse mesurée en transmission,  $I_0$  l'intensité de référence et  $\lambda$  le coefficient d'absorption du matériau, supposé homogène et constant sur des échelles de temps courtes. Pour imposer la conservation du volume, on le normalise à chaque instant

$$\tilde{V}_i(t) = \frac{V_i(t)}{\sum_i V_i(t)} \quad (\text{IV.7})$$

Cette normalisation élimine le coefficient d'absorption  $\lambda$  qui ne varie pas aux temps courts. Les termes sources sont égaux à  $F_i(t) = \frac{d\tilde{V}_i(t)}{dt}$  et on a  $\forall t, \sum_i F_i(t) = 0$ .



### IV.3. – Motifs spatio-temporels d'écoulements observés

Les deux structures d'écoulements élémentaires observées sont les modes dits **péristaltiques** et **amphistaltiques**. Ces deux motifs sont invariants par renversement du temps et de l'espace. La figure IV.7 montre un exemple de dynamique d'écoulement sous forme de kymographe. Afin de mettre en valeur la propagation d'ondes, l'espace (périodique le long de l'anneau) a été répliqué de part et d'autre. Les encarts détaillent la dynamique du débit pour les modes péristaltiques et amphistaltiques. Une autre représentation des modes péristaltiques et amphistaltiques est donnée dans les figures IV.8 et IV.9 respectivement. Le mode péristaltique est un mode circulant dans lequel une onde de débit se propage dans l'anneau. Cette propagation est illustrée par la distribution spatiale des débits à des instants successifs dans l'encart 1. Aux points où le débit est nul (espacés d'un demi-périmètre) une contraction et une dilatation sont advectées avec l'onde.

Dans la figure IV.6 on voit que dans le cas péristaltique (à gauche), le point de rencontre de deux flux convergents (cercle rouge) est une zone dont la phase instantanée est nulle, autrement dit, elle est à son maximum de contraction et va entamer une phase de dilatation en raison des flux convergents. À l'inverse, le lieu où s'initient deux flux divergents (cercle noir) est une zone de relaxation maximale entamant sa contraction (sa phase instantanée est égale à  $\pi$ ). Les deux

FIGURE IV.6. – Débits volumiques et phases instantanées. Modes péristaltique à gauche et amphistaltique à droite. Les cercles sont centrés autour de points de débit nuls. Ce sont aussi les lieux des extrema des oscillations (cercle rouge = contraction, cercle noir = dilatation).

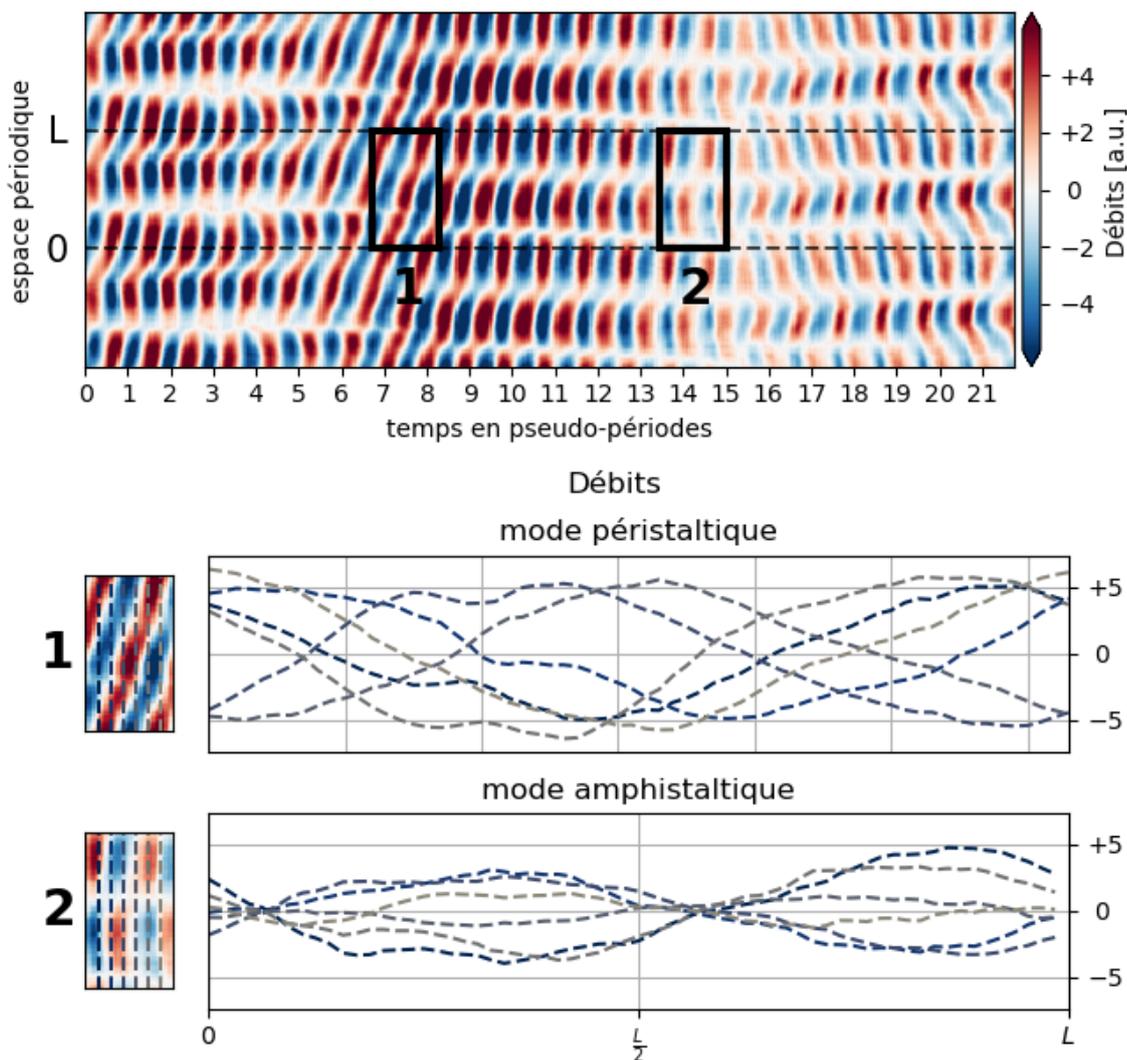


FIGURE IV.7 – Modes d'écoulements péristaltiques et amphistaltiques sur un anneau de périmètre  $L$  (durée totale de 31 minutes). La figure du haut est un kymographe des débits dans l'anneau sur lequel on observe une transition d'un mode d'écoulement péristaltique (1) à un mode amphistaltique (2). Pour chacun d'eux, la répartition spatiale des débits est représentée dans les figures inférieures, chaque niveau de bleu représente fixe un instant marqué par des pointillés de même teinte dans le zoom du kymographe correspondant à gauche. Le mode péristaltique est caractérisé par une onde progressive de débit relativement peu déformée. Le mode amphistaltique est caractérisé par une onde stationnaire des débits (dans le cas présenté la longueur d'onde est égale au périmètre de l'anneau).

zones se déplacent dans le même sens. Il y a une corrélation entre les isophases et les valeurs relatives des débits.

Pour le mode amphistaltique, la correspondance entre la phase instantanée et la convergence/divergence des flux est identique bien qu'un peu moins nette. En revanche la corrélation entre les isophases et les valeurs relative des débits est perdue.

Ces deux modes sont les configurations d'écoulements oscillants non-nuls les plus simples permettant la conservation du volume. Leur longueur d'onde est égale à la longueur disponible

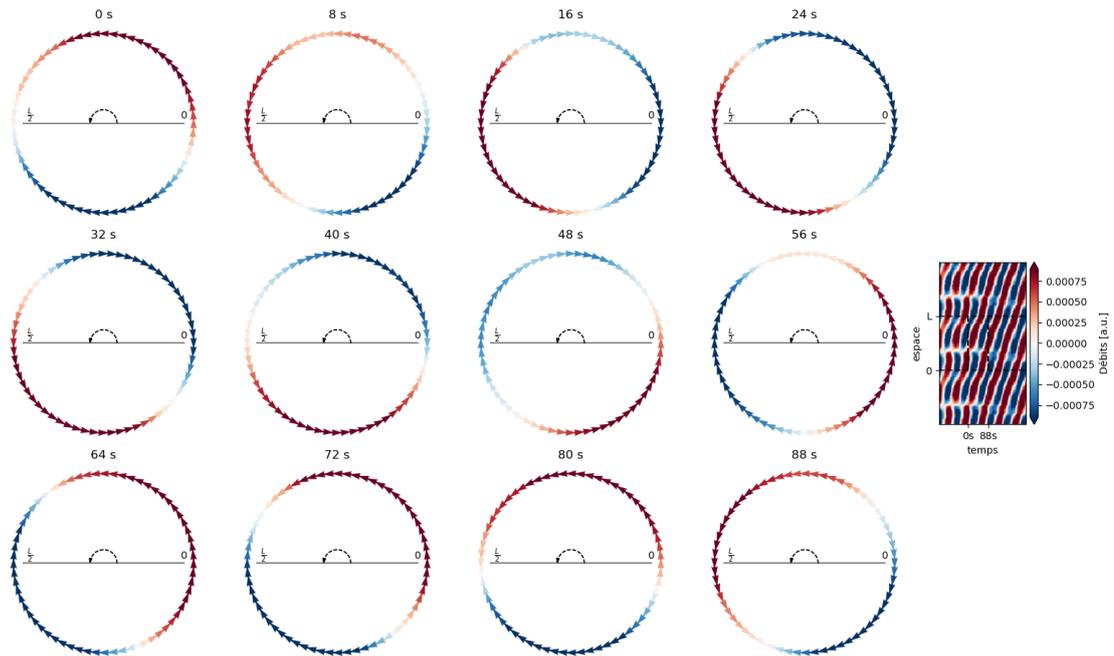


FIGURE IV.8 – Représentation alternative des débits d'un mode péristaltique durant une pseudo-période. Les flèches représentent l'orientation des flux le long de l'anneau, et les teintes de rouge et bleu codent l'intensité du débit selon la carte des couleur du kymographe correspondant à droite. Les deux domaines de flux positifs (en rouge) et négatifs (en bleu) sont en rotation, leurs tailles approximativement égales à une demi circonférence restent constantes. Le sens de rotation dépend des intensités dans chaque domaine.

soit la longueur de l'anneau. Autrement dit, leur mode de Fourier spatial dominant est le mode 1 ce qui rend leur distinction automatique impossible avec une analyse de Fourier. Qualitativement, les modes amphistaltiques sont plus fréquents et leur durée de vie plus longue.

La figure IV.10 illustre la dynamique des débits sur plusieurs centaines de pseudo-périodes. Le kymographe des débits (en haut) montre un caractère intermittent de la dynamique. Celle-ci présente des périodes durant lesquelles les débits ont une forte amplitude entrecoupées de périodes durant lesquelles les débits sont négligeables. Le débit intégré le long de l'anneau est représenté en bleu dans la partie centrale de la figure. Sa dynamique est également quasi-périodique (de même pseudo-période que les variations de hauteur). En raison de la résolution de l'image on n'observe ici que l'amplitude des oscillations et on constate une asymétrie plus ou moins prononcée. Le transport de volume le long de l'anneau est la conséquence de cette asymétrie. On représente le débit total intégré dans le temps en rouge. La variation nette du débit total intégré est importante pour un mode péristaltique (rectangle noir et encarts en bas à gauche **1**) c'est un mode de transport directif).

À l'inverse pour les modes amphistaltiques (rectangle et encarts en bas à droite **2**), la variation nette du débit total intégré est nulle malgré d'importante oscillations (épaisseur du trait rouge).

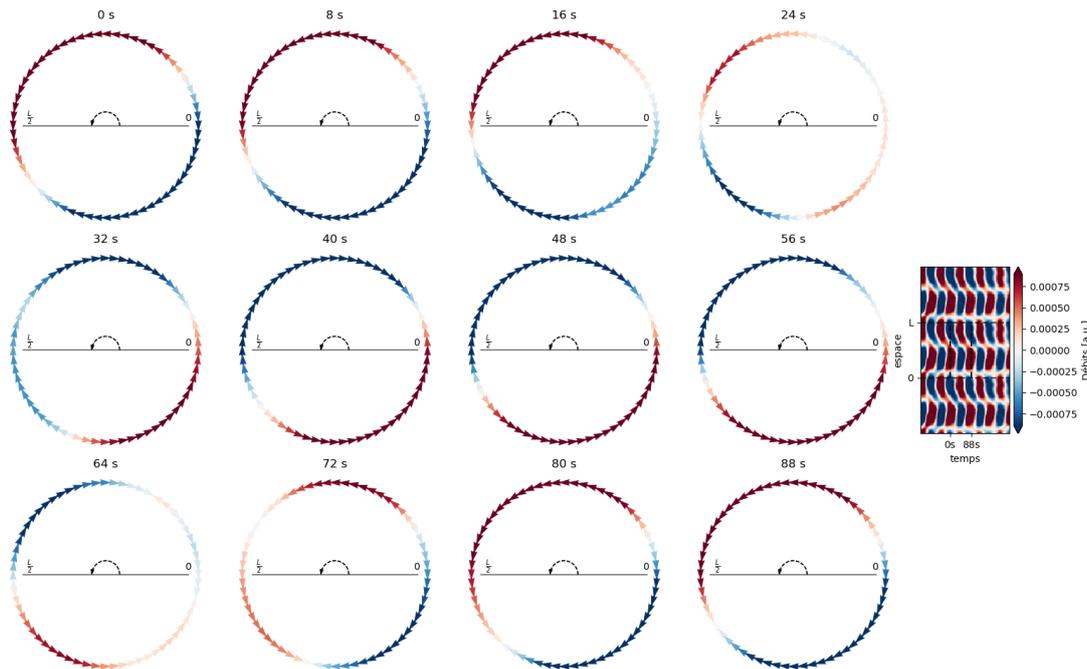


FIGURE IV.9 – Représentation alternative des débits d'un mode amphistaltique durant une pseudo-période. Les flèches représentent l'orientation des flux le long de l'anneau, et les teintes de rouge et bleu codent l'intensité du débit selon la carte des couleur du kymographe correspondant à droite. Les deux domaines de flux positifs (en rouge) et négatifs (en bleu) sont fixes, leurs tailles en moyenne égales à une demi circonférence varient. En particulier lors des changements rapides de direction ( $t = 24\text{ s}$  et  $t = 64\text{ s}$ )

Ce mode de transport n'est pas directif. Cependant, le caractère oscillant du courant a un effet indirect pour le transport : le cisaillement augmente la diffusion effective (dispersion de Taylor) des molécules présentes dans le cytosol [118–120].

À l'instar des modes d'une corde vibrante, des modes d'ordres supérieurs sont théoriquement possibles mais nos expériences ne nous ont cependant pas permis d'en observer. Ces modes correspondent à plusieurs trains d'ondes se propageant dans la même direction pour le cas péristaltique, et à plusieurs paires d'ondes contra-propagatives pour le cas amphistaltique.

Nos observations confirment l'existence de ces modes prédits dans la littérature. Néanmoins, dans les modèles existants les modes amphistaltiques et péristaltiques sont des points fixes stables de la dynamique. Or nos expériences montrent que le système visite successivement ces modes canoniques et que leur durée de vie est plutôt limitée (de l'ordre d'une dizaine de pseudo-périodes). Nous observons également des changements de sens de propagation des ondes péristaltiques sur quelques pseudo-périodes (figure IV.10,  $t \approx 300T$ ). Cette observation remet en question l'hypothèse avancée dans la littérature [121, 122] de la pré-existence d'un contraste de rigidité selon l'axe antéro-postérieur du plasmode pour expliquer la brisure de symétrie à l'origine du sens de propagation des ondes de contraction (et

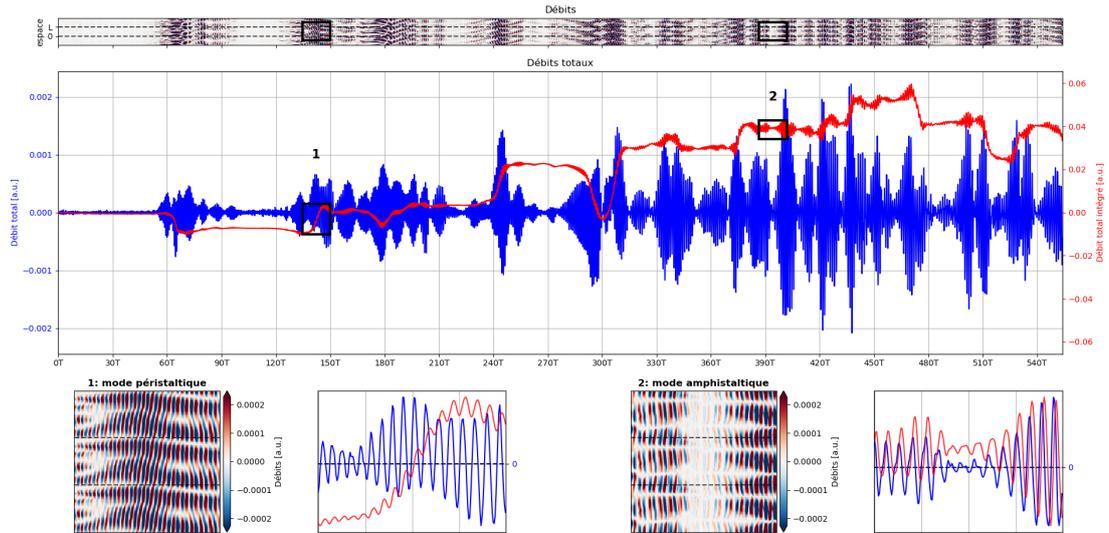


FIGURE IV.10 – Kymographe des flux volumique sur  $\sim 13h$ . La courbe centrale représente les flux associés (flux total en bleu et son intégration temporelle en rouge). Les figures de la partie inférieure sont des zoom sur modes péristaltique à gauche et amphistaltique à droite

donc de migration du plasmode).

D'autre part, nous observons une riche zoologie de nouveau modes oscillants dont certains sont remarquablement stables.

- Un mode asymétrique (voir figure IV.11 (c)) caractérisé par un unique nœud statique.
- Un mode anti-symétrique stable ressemblant au mode amphistaltique IV.11(d). Dans celui-ci, l'anneau est séparé par 2 nœuds en deux domaines de tailles approximativement égales. Dans chaque domaine les flux et reflux<sup>8</sup> successifs ont des magnitudes et des durées respectives différentes. Une autre particularité réside dans la mobilité des nœuds. Ceux-ci se déplacent sur des échelles de temps plus grande que la pseudo-période. Leur distance deux à deux fluctue autour d'une valeur proche du demi-périmètre de l'anneau. En moyenne, le débit total est du même signe que la vitesse des nœuds mais lorsque leur distance varie trop, le domaine le plus grand peut inverser la tendance (voir figure IV.12 pour  $120T < t < 160T$ ).
- Un autre mode antisymétrique stable IV.11(e). Sa dynamique est intermittente : des paires de flux-reflux de durée égale et d'intensité comparable sont suivies d'un entracte de durée égale. La dynamique est répartie sur deux domaines de même taille séparés par deux nœuds. Durant l'entracte, les flux sont nuls ou très faibles en comparaison de ceux des flux-reflux principaux. Les nœuds se déplacent également mais le débit moyen

8. On appelle arbitrairement flux les débits positifs et reflux les débits négatifs

est faible (voir figure IV.13). En revanche les amplitudes des oscillations d'épaisseurs se déplacent dans la même direction et permettent du transport de volume (dérive) sur des temps plus long (cf fig IV.14)(b).

- Enfin le dernier mode IV.11(f) est spatialement hétérogène. Il y a trois domaines dans deux desquels les débits sont de signes opposés et un domaine dans lequel il n'y a presque pas de débit. Sa durée de vie est moins importante et le débit total est faible.

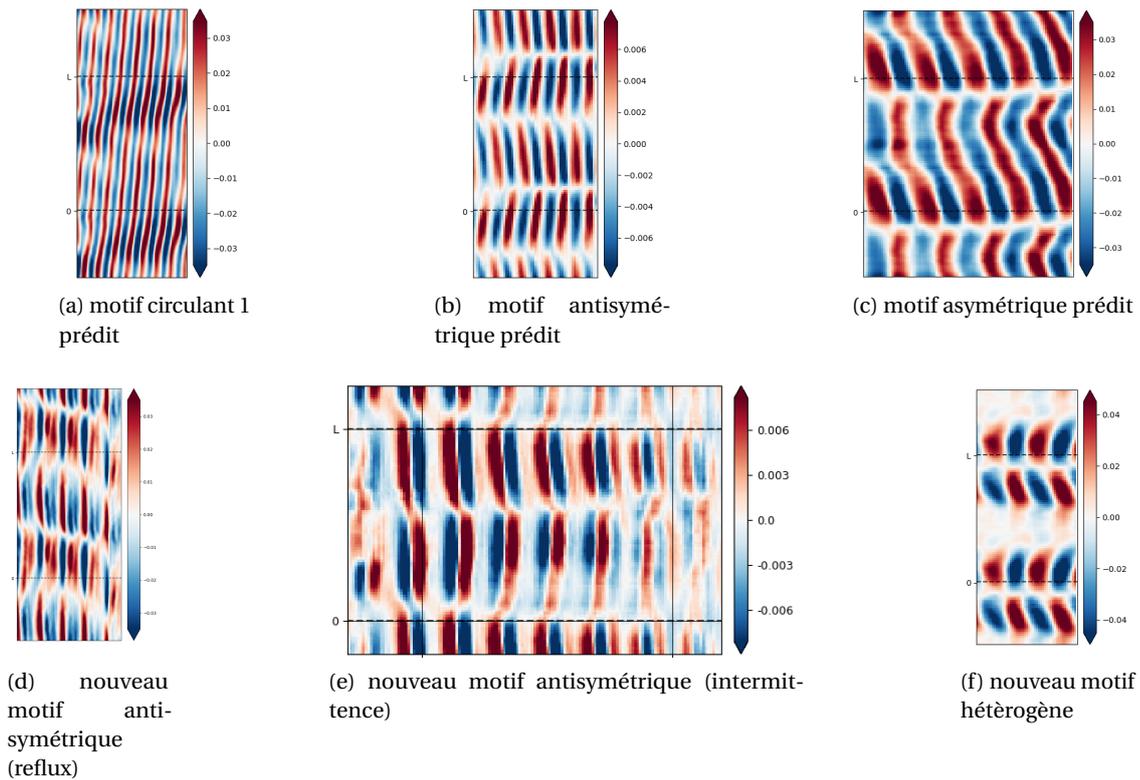


FIGURE IV.11 – Modes d'écoulements observées

La dynamique de ces domaines comme support du transport à longue distance est discutée dans le paragraphe suivant.

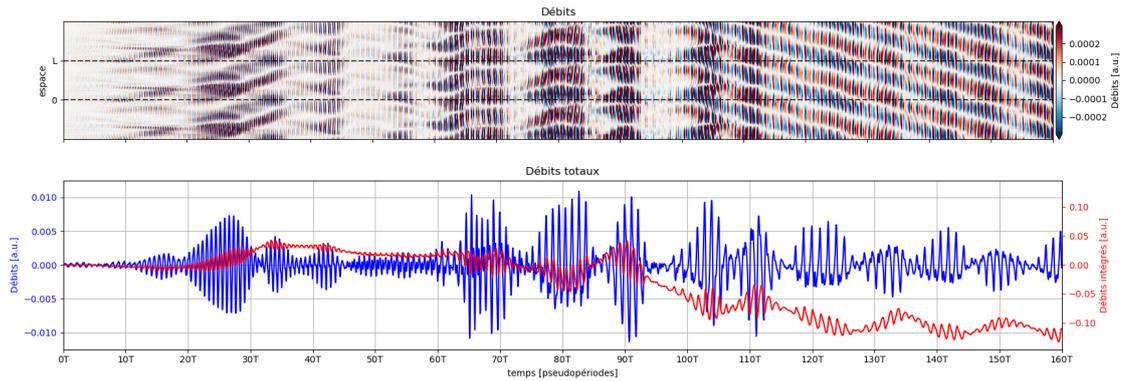


FIGURE IV.12 – Kymographes et débits instantanés (total en bleu et son intégration temporelle en rouge). Le mode anti-symétrique stable apparaît à  $t = 100 T$ . Le débit total est fortement asymétrique. Les pics correspondent aux flux de grande magnitude, en raison de leur faible durée, le débit intégré varie en moyenne dans le sens opposé du signe de ces pics. Il faut également remarquer que ces pics changent de direction. Ces changements de direction sont liés à la largeur du ruban de débits dans le kymographe.

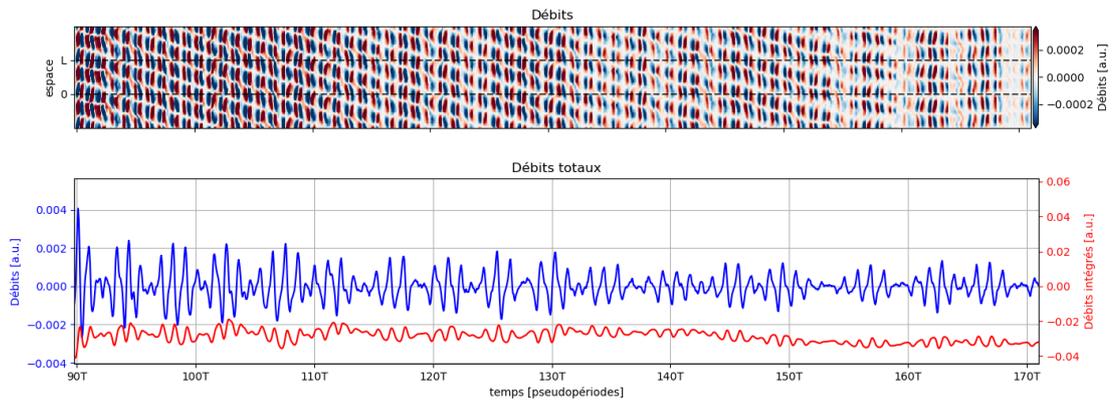
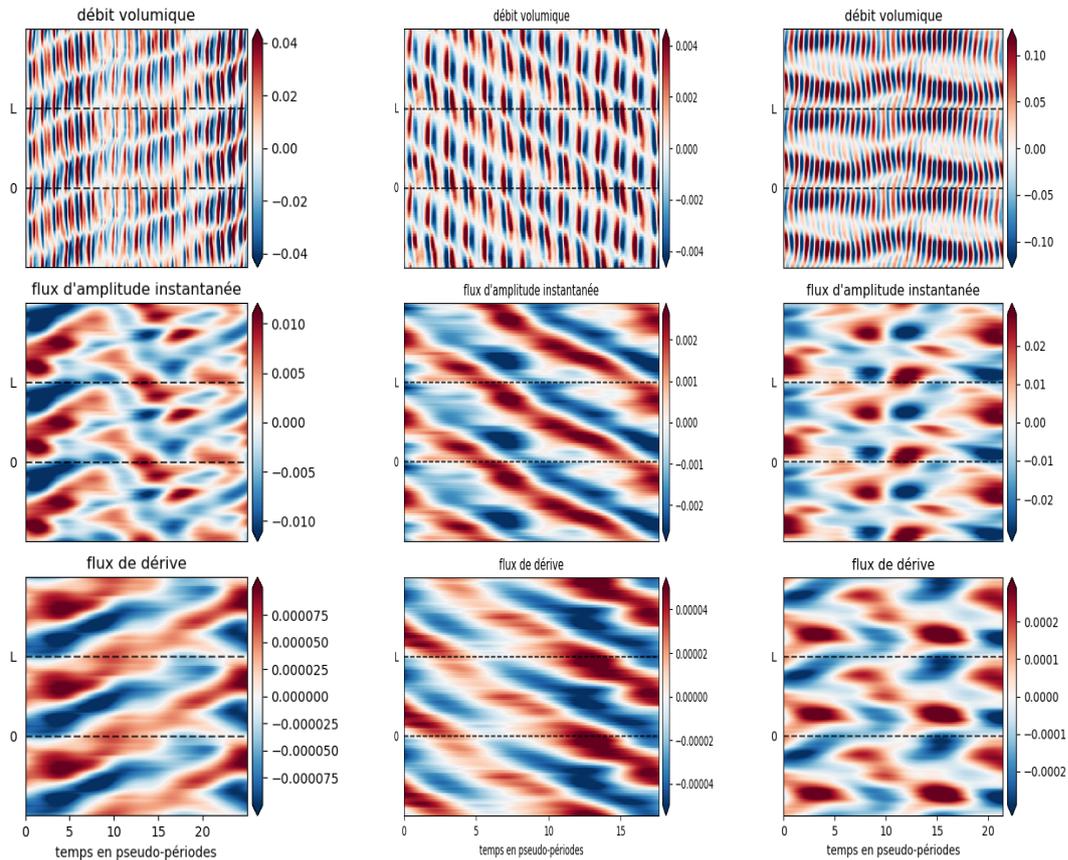


FIGURE IV.13 – Kymographes et débits instantanés (total en bleu et son intégration temporelle en rouge). Le mode anti-symétrique intermittent apparaît à  $t = 110 T$ . Le débit total est symétrique et le débit intégré fluctue autour d'une valeur constante. Il n'y a pas de transport significatif.

## IV.4. – Échelle de temps intermédiaire : structures et transport d'amplitude et de volume.

À l'instar d'une onde porteuse en télécommunications, les oscillations aux temps courts peuvent être le support du transport de l'information pertinente. On caractérise maintenant cette information : le transport de volume au temps intermédiaire. Pour cela, on utilise le même formalisme que précédemment pour la dérive du signal d'intensité lumineuse. De la même manière, le flux de dérive de la hauteur est converti à partir de la dérive de l'intensité lumineuse en supposant une loi de Beer-Lambert. Les termes sources sont obtenus en convoluant les signaux avec la première dérivée d'une gaussienne d'écart type 1.5 pseudo-périodes.

Expérimentalement, il a été montré que transport de traceurs au sein de plasmodes est lié aux variations d'amplitude d'oscillation [100]. Bien que amplitude du signal analytique n'obéisse pas à des relations de conservation, notre méthode peut être utiliser pour cartographier qualitativement les variation d'amplitudes.



(a) le motif (d) de la figure IV.11 créé des débits circulants aux temps longs

(b) le motif intermittent (e) de la figure IV.11 créé des débits circulants aux temps longs

(c) le motif hétérogène (f) de la figure IV.11 créé des débits asymétriques aux temps longs asymétrique

FIGURE IV.14 – Dynamiques des débits aux temps courts, des flux d'amplitudes et du flux des dérivées au temps longs observées

Nos résultats (figure IV.14) indiquent que le déplacement des domaines sur des échelles de temps de l'ordre d'une pseudo période génèrent des flux volumiques sur des échelles de temps dix fois plus grandes. D'autre part les écoulements au temps longs respectent les mêmes symétries que ceux aux temps courts et on retrouve également des modes circulants/péristaltiques (a,b), d'autres asymétriques (c). Pour compléter ce répertoire on présente un état transitoire des modes antisymétriques aux temps courts créant des écoulements antisymétrique intermittents aux temps intermédiaires en figure IV.15.

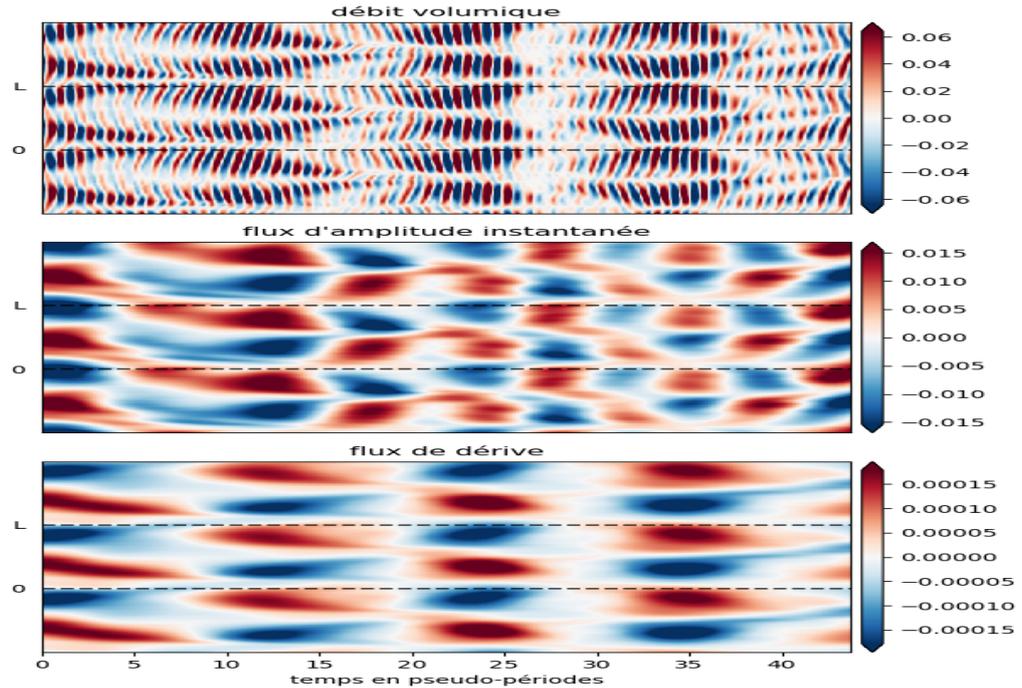


FIGURE IV.15 – La modulation spatiale de l'intensité des motifs antisymétriques crée des motifs d'écoulements antisymétriques intermittents sur les mêmes échelles de temps.

## IV.5. – Résumé des résultats

En résumé, la méthode d'inférence de flux que nous avons développée nous a permis d'identifier expérimentalement des motifs d'écoulements sur de grandes échelles spatiales. Nous identifions deux modes de transport correspondant à deux motifs contractiles distincts. Jusqu'alors de telles mesures n'avaient été réalisées que par *P.I.V.* sur des microplasmodes de tailles bien inférieures. Nos résultats expérimentaux soulignent la capacité de l'organisme à générer des écoulements de même nature sur des échelles de taille beaucoup plus importantes. Bien que communément admis, jusqu'à maintenant seuls des modèles numériques étayaient cette capacité de mise à l'échelle. Nos résultats s'accordent partiellement avec ceux de ces modèles numériques. En particulier, nous n'avons pas pu observer les motifs d'écoulement de petite longueur d'onde prédits numériquement. Enfin nous avons mis en évidence le caractère transitoire de la dynamique ainsi que de nouveaux motifs d'écoulement.

Bien que notre méthode d'inférence prédise des flux s'accordant totalement avec les prédictions analytique dans le cas d'un écoulement péristaltique dans un tube, la loi d'absorption utilisée n'est censé être applicable qu'à une lumière monochromatique. D'autre part, la géométrie est différente et le modèle d'écoulement en milieu poreux uniforme et isotrope a ses limites

---

notamment quand des veines sont formées. Dans nos recherches futures, nous chercherons à confirmer par des traceurs que les débit inférés correspondent bien aux débit réels.



# Dynamique aux temps longs en géométrie annulaire

---

Dans le chapitre précédent, nous avons étudié la dynamique contractile et les écoulements au sein d'une nappe de cytoplasme initialement homogène confinée dans une région annulaire. Dans ce chapitre nous nous intéressons au cas du plasmode sous sa forme de réseau tubulaire tout en conservant la géométrie confinée afin d'étudier la réorganisation du réseau lorsque les écoulements ont une orientation principale.

Les réseaux plasmodiaux ont deux caractéristiques principales : d'une part, les veines le composant sont toutes contractiles et agissent à la fois comme sources et comme puits ce qui leur confère un caractère fondamentalement décentralisé. Et d'autre part, une structure hiérarchique qui permet de transférer efficacement le volume dans les différentes veines malgré les fluctuations. Ces propriétés sont enviables pour les futures infrastructures de transport d'électricité (*smart grid*) qui, en raison de la part croissante d'énergies renouvelables, doivent s'adapter aux fluctuations inhérentes à ces nouveaux mode de production.

Nous verrons d'abord expérimentalement que la structure hiérarchique des veines entraîne une modification de la capacité de transport de volume (ou d'information), et étudierons ses conséquences sur la dynamique oscillante. Pour cela, nous aborderons la notion de distance dans de telles structures. Puis nous proposerons un modèle numérique pour générer des graphes planaires aléatoires ayant des propriétés géométriques similaires à celles des réseaux plasmodiaux. Enfin nous proposerons des modèles d'adaptation permettant la réorganisation de ces structures.

## V.1. – Mesures expérimentales

### V.1.1. – Protocole expérimental

Afin de contraindre la fonction des réseaux formés (croissance, migration, distribution de nutriments,...), de s'affranchir de la dynamique migratoire et d'imposer une direction principale au réseau en rendant le système quasi-unidimensionnel, nos mesures expérimentales sont réalisées sur des réseaux confinés dans une région annulaire en l'absence de nutriments et de tout autre stimuli extérieurs.

Les régions confinées ont été réalisées en extrudant du plexiglass. Elles forment des circuits de 6,5 mm de largeur pour un rayon de 14 mm au centre du canal, soit un rapport d'aspect  $\approx 9$ . L'ensemencement est réalisé à partir de sclérotés réduits en grains qu'on dépose dans la région annulaire. Au cours de leur hydratation, les sclérotés forment progressivement des microplasmodes qui entrent en contact et fusionnent petit à petit jusqu'à former un unique réseau. Ce processus s'étale en général sur 48h.

L'acquisition est réalisée avec un microscope 72h après l'ensemencement.

On utilise les méthodes de segmentation d'image et d'extraction de réseau détaillées au chapitre II pour étudier la structure statique des réseaux de veines formées. Pour des raisons pratiques, nos mesures de rayons sont réalisées sur l'image segmentée et données en pixels (avec une résolution de  $10\mu\text{pixel}^{-1}$ ). Avant de réaliser la segmentation, on moyenne l'intensité lumineuse sur quelques pseudo-périodes (600s) afin de s'affranchir des phénomènes oscillatoires. Pour la discrétisation des arêtes sous forme de graphe, cette approche est plus pratique qu'une mesure directe de l'intensité lumineuse et qualitativement équivalente. La figure V.1 montre la dépendance linéaire entre le logarithme de l'intensité lumineuse et les distances extraites avec la méthode simplifiée, ce qui justifie *a posteriori* l'utilisation d'une loi de type Beer-Lambert.

### V.1.2. – Propriétés structurelles

La relation entre structure et fonction occupe une place centrale dans l'étude des réseaux complexes. Tandis que la structure d'un réseau peut se définir rigoureusement dans le cadre de la théorie des graphes (voir annexe A), la notion de fonction est plus floue et dépend du contexte d'étude. La première est essentiellement liée à la représentation topologique des interactions entre les éléments formant le réseau tandis que la seconde cherche à exprimer comment ces éléments interagissent, échangent de l'information ou évoluent dynamiquement.

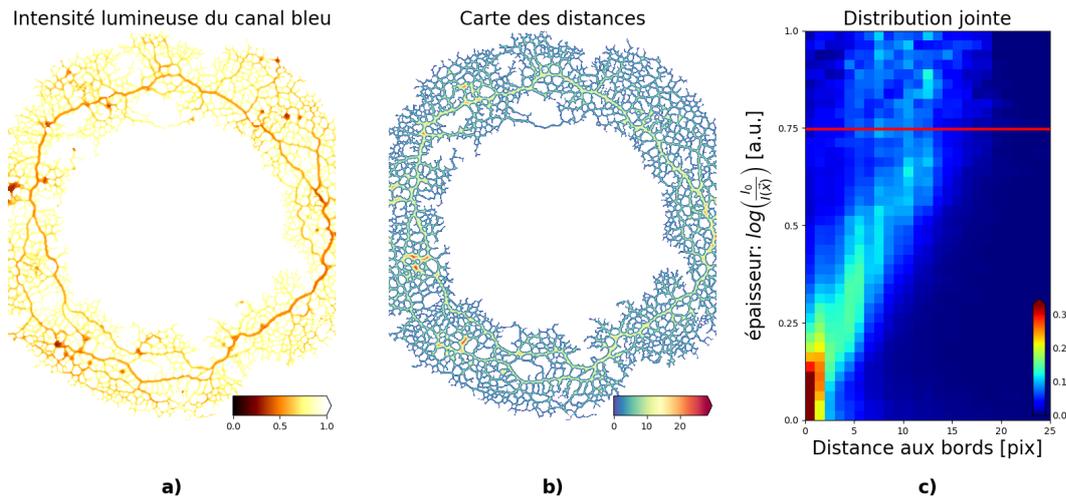


FIGURE V.1 – Les images obtenues en éclairage en transmission sont segmentées avant l'extraction des données géométriques (longueurs et rayons des veines) du réseau. **a)** Intensité lumineuse transmise du canal bleu moyennée sur 600s. **b)** carte des distances obtenue avec la librairie *python-scipy*. **c)** la distribution jointe des distances et du logarithme inverse de l'intensité (normalisée à chaque pas de distance pour plus de visibilité). Le profil linéaire justifie l'utilisation d'une loi d'absorption de beer-lambert. La longueur d'absorption est donnée par l'inverse de la pente. 99% des points mesurés sont situés sous la ligne rouge. Les points au dessus correspondent aux amas foncés visibles sur la figure **a)**.

Différentes approches méthodologiques existent pour quantifier cette dernière et on peut les classer en deux catégories :

- Des approches statiques en considérant la distribution statistique des poids des connexions de la structure par exemple.
- Des approches dynamiques s'attachant à mesurer les similarités entre les dynamiques temporelles inter-éléments indépendamment de l'existence physique de connexions dans la structure.

Notre étude des réseaux plasmodiaux sera découpée en 2 niveaux :

- Nous décrirons tout d'abord le squelette des réseaux formés d'un point de vue topologique (nœuds et connexions) et géométrique (longueurs et sections des arêtes).
- Nous chercherons ensuite à décrire la fonction en nous intéressant aux portées d'interaction.

Afin d'illustrer l'importance des distances pour l'étude fonctionnelle, nous corrélons en annexe C la dynamique contractile sur le réseau aux différentes notions de distances d'interactions abordées plus loin.

## Extraction des nœuds et arêtes

La propriété la plus fondamentale pour caractériser un graphe d'un point de vue topologique concerne la statistique ou distribution des degrés aux nœuds. Cette propriété peut avoir des impacts très importants pour la dynamique dans bon nombre de réseaux complexes.

Les réseaux extraits forment des graphes planaires. La condition de planarité<sup>1</sup> impose des contraintes géométriques : deux arêtes ne pouvant pas se croiser les diamètres des veines imposent donc une borne supérieure aux degrés des nœuds. Notre méthode d'extraction génère un grand nombre de nœuds de degré 2 qui n'ont pas de signification pour la topologie du réseau. Pour supprimer ces artéfacts, les arêtes reliant des nœuds de degrés 2 sont fusionnées. Les informations géométriques relatives aux arêtes fusionnées sont conservées en additionnant les longueurs et en faisant la moyenne des rayons pondérés par la longueur. Cette opération nous permet de construire des histogrammes comme celui présenté figure V.2(a). Cet histogramme ne reproduit cependant pas correctement la structure du réseau car notre méthode d'extraction est basée sur un diagramme de Voronoi (voir figure II.9). Il est virtuellement impossible d'obtenir des degrés supérieurs à 3 avec cette méthode (Il faudrait que les points dont on fait le diagramme soient situés précisément aux sommets de polygones parfaitement réguliers). En utilisant la distribution des rayons moyens des arêtes, on agrège certains nœuds. On procède en fusionnant deux à deux les nœuds de degrés strictement supérieurs à 2 dont la distance est inférieure à 2 rayons typiques (obtenus figure V.2 (b)). Les nœuds résultants sont placés à mi-distance de ceux dont la fusion résulte. De plus propriétés géométriques des arêtes incidentes sont mises à jour comme précédemment.

La figure V.2 (c) représente la distribution typique des degrés des nœuds après agrégation. Une grande majorité des nœuds sont de degré 3 mais un nombre significatif de nœuds ont des degrés 1 et 4 en proportions presque égales ce qui conduit à un degré moyen légèrement inférieur à 3. Ce résultat nuance ceux de Baumgarten *et al.* [123] qui observent que durant l'évolution d'un réseau plasmodial, le ratio du nombre d'arêtes  $\mathcal{N}_e$  sur le nombre de nœuds  $\mathcal{N}_v$  est conservé tel que  $\mathcal{N}_e = \frac{1}{2}k\mathcal{N}_v$  avec  $k = 3$ . Ils concluaient que les plasmodes formaient des graphes  $k$ -réguliers, c'est à dire un graphe dont chaque nœud a un degré  $k = 3$ .

Les propriétés géométriques (longueurs, rayons et résistances) des arêtes sont représentées en échelle semi-log en figure V.3. Les longueurs et rayons sont distribués selon une loi

1. La condition de planarité aussi appelée formule d'Euler relie le nombre de composants connexes du graphe  $k$  aux nombres de nœuds  $\mathcal{N}_v$ , d'arêtes  $\mathcal{N}_e$  et de faces  $\mathcal{N}_f$  comme suit :  $\mathcal{N}_v - \mathcal{N}_e + \mathcal{N}_f = k + 1$

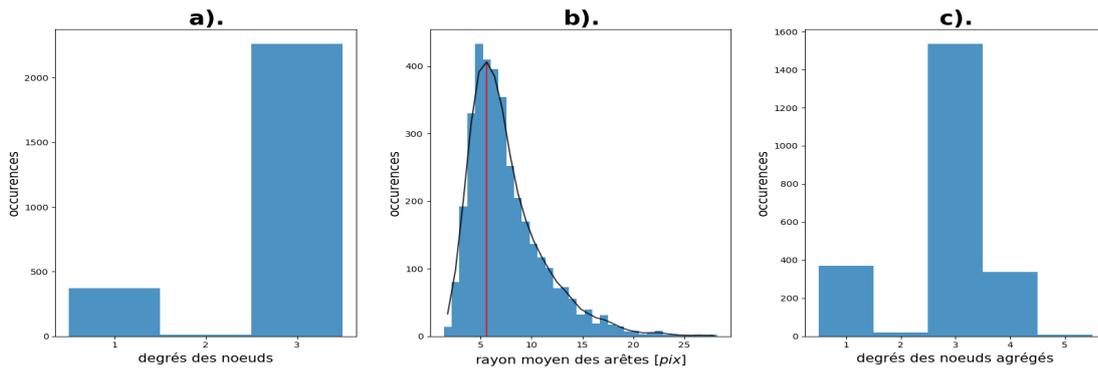


FIGURE V.2 – Distributions typiques des degrés des nœuds et rayons moyens des arêtes (avec une résolution de  $10\mu\text{m}\text{pixel}^{-1}$ ). **a)** Distribution des degrés avant agrégation. **b)** distribution des rayons moyens des arêtes, le rayon le plus probable est souligné par une ligne rouge. **c)** distribution des degrés après agrégation.

log-normale typique. Cependant une petite portion de veines de faibles longueurs dévie de la distribution log-normale. Cette déviation correspond aux protrusions (arêtes dont une extrémité est de degré 1) qui n'ont pas été agrégées. La distribution des résistances hydrodynamiques pour un écoulement de Poiseuille dans un cylindre ( $R_{Pois.} \propto \frac{\text{longueur}}{\text{rayon}^4}$ ) n'est pas log-normale. Cette forme plus piquée est principalement due aux intersections dont la taille est plus large que le seuil d'agrégation<sup>2</sup>.

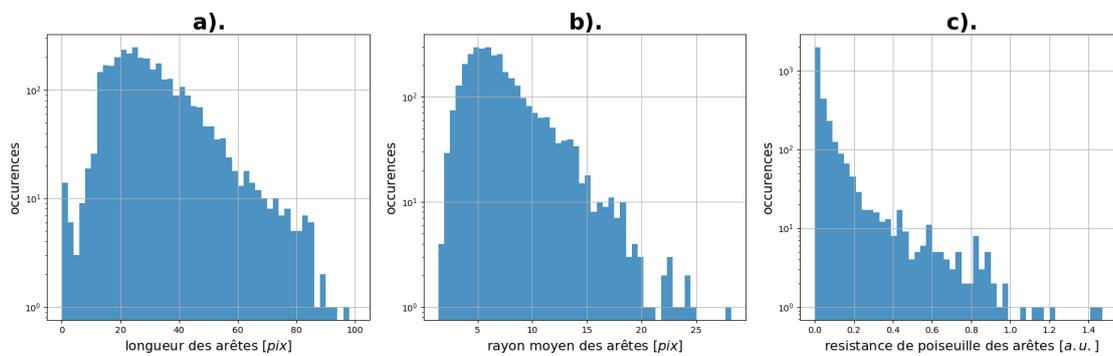


FIGURE V.3 – Distributions en échelle semi-log des propriétés géométriques des arêtes après agrégation (avec une résolution de  $10\mu\text{m}\text{pixel}^{-1}$ ). **a)** Distribution des longueurs. La distribution suit une loi log-normale à l'exception d'une petite portion de veines de faibles longueurs. Ce sont des protrusions (arête dont une extrémité est de degré 1) qui n'ont pas été agrégées. **b)** La distribution des rayons moyens des arêtes, suit également une loi log-normale. **c)** La distribution des résistances hydrodynamiques pour un écoulement de Poiseuille dans un cylindre ( $R_{Pois.} \propto \frac{\text{longueur}}{\text{rayon}^4}$ ) est beaucoup plus piquée, l'histogramme est tronqué à  $R_{Pois.} = 1.5$  pour plus de lisibilité.

2. Dans ce cas, les intersections ont une projection approximativement circulaire ce qui conduit à une conductivité  $\propto \text{rayon}^{-3}$ .

## Densité de maillage et taille caractéristique

Une autre propriété importante des réseaux planaires est la densité de maillage du graphe  $\alpha = \frac{\mathcal{N}_f}{2\mathcal{N}_v - 5} = \frac{\mathcal{N}_e - \mathcal{N}_v + 1}{2\mathcal{N}_v - 5}$  définie comme le nombre de faces bornées du graphe sur le nombre maximum de faces.  $\alpha$  est une mesure globale qui varie entre 0 pour un arbre et 1 pour un graphe planaire maximal<sup>3</sup>. Elle caractérise d'une certaine façon la redondance du graphe en terme de chemins. Lorsque  $\alpha$  est proche de 1 on dit du graphe qu'il est très réticulé. On mesure une densité de maillage  $\alpha = 0.2$  sur les graphes extraits.

Enfin, on peut mesurer l'étendue du réseau au travers de son diamètre  $D_G$  et de son rayon  $R_G$ . Pour cela on introduit l'excentricité d'un nœud comme la plus grande distance géodésique (ou plus court chemin) entre celui ci et tous les autres nœuds du réseau. À titre de comparaison, la densité de maillage d'un réseau hexagonal infini est de 0,25. L'excentricité dépend donc de la métrique utilisée pour caractériser l'étendue spatiale du réseau, on utilise une métrique euclidienne le long de chaque arête. Le diamètre et le rayon du réseau sont définis comme :

$$D_G = \max_{i,j} d(i, j) \quad (\text{V.1})$$

$$R_G = \min_{i,j} d(i, j) \quad (\text{V.2})$$

avec  $d(i, j)$  la longueur de la géodésique entre les nœuds  $i$  et  $j$ . Le diamètre du réseau sert d'échelle caractéristique pour comparer les distances relatives des nœuds indépendamment de l'étendue du réseau considéré. En particulier nous l'utiliserons pour normaliser les distances d'interaction hydrodynamique pour les différentes métriques détaillées ci-après.

## Distances et métriques

Les graphes permettent de représenter les relations entre des objets discrets (les nœuds). Ces relations sont matérialisées par des arêtes qui caractérisent la capacité d'échange d'information entre deux objets connectés. Par exemple, deux pendules couplés échangent de l'énergie cinétique, tandis que pour les réseaux électriques l'information est transportée par les électrons. Néanmoins, deux objets qui ne sont pas directement couplés par une arête peuvent échanger de l'information en la propageant de proche en proche. Pour caractériser ces interactions au delà des relations d'adjacence, nous allons utiliser plusieurs notions de distance entre les nœuds du réseaux. La plus évidente est la **distance euclidienne** entre les positions des nœuds dans le plan. Cependant, à l'instar des réseaux routiers, les graphes sont des structures discrètes, les automobilistes sont contraints de suivre les voies et ne peuvent

3. Un graphe planaire maximal est tel que l'ajout d'une arête brise la relation de planarité. Ces graphes sont des triangulations pour lesquelles tous les nœuds sont de degré 6.

pas se déplacer en ligne droite en traversant des obstacles. La plus petite distance d'un point à un autre en empruntant les arêtes est appelée **distance géodésique**. Contrairement au cas euclidien, il peut exister plusieurs chemins géodésiques entre deux points. Pour un graphe planaire pondéré par les distances euclidiennes ( $W_{ij} = \|\vec{x}_i - \vec{x}_j\|^{-1}$ ), si les faces du graphe sont relativement homogènes et leur taille caractéristique petite devant la distance euclidienne entre deux nœuds, la distance géodésique est directement proportionnelle à la distance euclidienne ( $d_{ij}^{g\acute{e}od.} = \beta d_{ij}^{euclid.}$  ou  $\beta$  dépend du maillage), les détails sont gommés à grande échelle <sup>4</sup>.

Dans le cas de réseaux hydrauliques (ou électriques par analogie), la pondération ne dépend pas seulement des distances mais également de la conductivité des tuyaux (câbles). On considère que les veines du réseau plasmodial sont essentiellement des formes paraboliques de cytogel enveloppant une conduite approximativement cylindrique dans laquelle l'endoplasme circule à des vitesses pouvant atteindre  $1\text{ mms}^{-1}$  [124, 125]. Dans nos expériences, les diamètres extérieurs des veines n'excédaient pas  $400\mu\text{m}$ , ce qui, donne une borne supérieur au nombre de Reynolds  $\mathcal{R}_e = \frac{2ur}{\nu} \simeq 6 \cdot 10^{-2}$  avec  $\nu = 6,4 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  [126]. Le régime hydrodynamique est donc dominé par les termes visqueux et les écoulements adoptent un profil de Poiseuille [124]. La pondération des arêtes est alors donnée par :

$$W_{ij} = \frac{r_{ij}^4}{l_{ij}}. \quad (\text{V.3})$$

Avec  $l_{ij} = \|\vec{x}_i - \vec{x}_j\|$  et  $r_{ij}$  le rayon de la veine joignant les nœuds  $i$  et  $j$ .

La **résistance géodésique** est la résistance minimale parmi tous les chemins reliant deux nœuds. Lorsque les conductivités des arêtes sont toutes égales, les distances et résistances géodésiques sont proportionnelles mais elles peuvent être très différentes lorsque les veines ont une organisation hiérarchique.

Pour décrire la capacité de transport (de volume ou d'électrons) on doit également prendre en compte la multiplicité des chemins entre deux points. Lorsqu'on impose une différence de potentiel entre deux nœuds pour transférer une quantité, cette dernière n'emprunte pas uniquement le chemin de plus faible résistance. Parmi tous les écoulements vérifiant la loi des nœuds, il existe une répartition unique qui minimise la puissance dissipée (par frottements visqueux, ou effet joule). C'est cette configuration d'écoulements qui est réalisée physiquement (théorème de Helmholtz). La **résistance effective** également appelée **résistance distance** mesure le coût effectif du transfert : pour entretenir le flux  $I$  d'une quantité il faut dépenser

4. Dans le cas particulier d'un réseau plongé dans une région annulaire de rayon  $r_{anneau}$ , il y a un gros défaut au centre du réseau! Mais on peut retomber sur une relation similaire en passant en coordonnées polaires  $d_{ij}^{g\acute{e}od.} = \beta r_{anneau} \text{chord}(\theta_i - \theta_j)$  avec  $(r_i, \theta_i)$  les coordonnées du nœud  $i$  et  $\text{chord}(\theta) = \sqrt{2 - 2\cos(\theta)}$

une énergie  $U = R^{eff} I$  par unité de quantité considérée (charge, volume,...). On la calcule par inversion de la matrice laplacienne des conductances. Une propriété supplémentaire de la résistance distance est qu'elle satisfait l'inégalité triangulaire :  $R_{ij}^{eff} \leq R_{ik}^{eff} + R_{kj}^{eff} \forall (i, j, k)$  ce qui fait d'elle une métrique rigoureuse<sup>5</sup>.

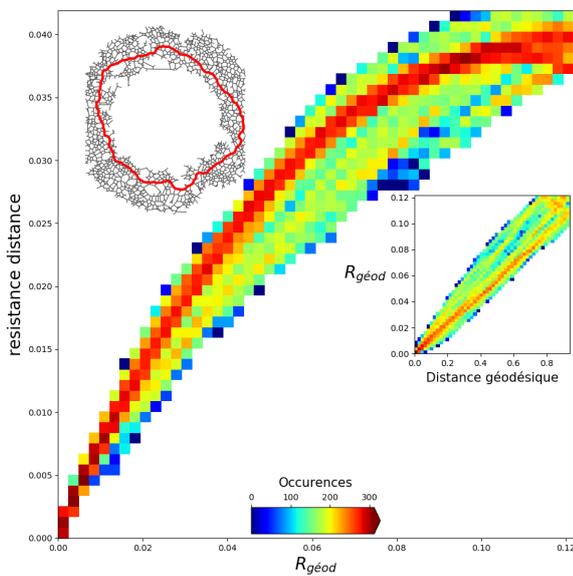
Ces différentes notions de distances sont représentées le long de la veine principale (figure V.4 a)). La résistance et la distance géodésique sont proportionnelles le long de la veine principale car celle-ci a un rayon approximativement constant et il y a peu de "raccourcis". De la même manière, les résistances effectives et géométriques sont proportionnelle jusqu'à environ un tiers de la résistance géodésique maximale car le lit capillaire est relativement homogène et invariant par translation le long de la veine principale. Au delà d'un 1/3 de la résistance géodésique maximale la résistance effective sature car elle sent de plus en plus les chemins parcourant l'anneau dans l'autre sens.

Lorsque l'on inclut les autres nœuds (V.4 b)), la représentation se complique. Pour simplifier, on décrit les variations d'accessibilités avec la distance en terme de dimension du réseau. On introduit pour cela le "volume d'une sphère" de rayon  $d$  centrée au nœud  $i$ . C'est le nombre de nœuds dont la distance à  $i$  est inférieure ou égale à  $d$ . On a alors  $\mathcal{V}_{ol}(d) = d^n$  on appelle  $n$  la dimension de la sphère. Un exemple de "sphère" est représenté en bleu dans l'encart figure V.4 b) la métrique utilisée est la résistance effective. On voit sur cet exemple que pour une même différence de pression on peut transporter un volume sur une distance équivalente à un demi anneau dans sa direction orthoradiale alors que d'autres nœuds beaucoup plus proches sont inaccessibles. Les courbes représentent les moyennes des volumes normalisés en fonction des rayons normalisés en échelle log-log. En d'autres termes, elles représentent le volume d'une sphère en fonction de son rayon. Typiquement en dimension 2 pour une géométrie euclidienne, une sphère est un disque dont le "volume", *i.e.* la surface, croit avec le carré du rayon. Plus généralement pour une géométrie euclidienne dans un espace de dimension  $n$ , le volume d'une sphère de rayon  $r$  est proportionnel à  $r^n$ . On définit les pentes de la représentation log-log comme la "dimension" associée à la géométrie formée par la structure du réseau. De la même manière on mesure la taille des fronts de croissance, définie par le nombre de nœuds dans la sphère partageant au moins une arête avec un nœud hors de la "sphère" (figure V.5).

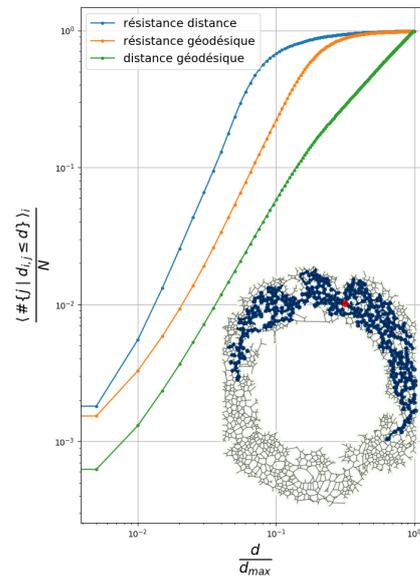
5. Une métrique doit satisfaire l'inégalité triangulaire et satisfaire les propriétés d'identité des indiscernables  $R_{ij}^{eff} = 0 \iff i = j$  et de symétrie  $R_{ij}^{eff} = R_{ji}^{eff}$ . Les distances et résistances géodésiques satisfont ces dernières mais pas l'inégalité triangulaire aux petites échelles.

De l'analyse des figures V.4 et V.5, on fait les constats suivants :

- Pour la métrique euclidienne (non présentée) on peut montrer facilement que dans le cas limite d'un cercle  $\mathcal{V}_{ol}(d_{euclid.}) = 2r_{anneau} \arccos\left(1 - \frac{1}{2}\left(\frac{d_{euclid.}}{r_{anneau}}\right)^2\right) \sim d_{euclid.}$ . Lorsque l'épaisseur de l'anneau est non nulle on s'attend à avoir  $n = 2$  pour les distances inférieures à l'épaisseur puis un régime asymptotique  $n = 1$  au delà. Dans les deux cas, la dimension de la frontière est 0.
- La distance géodésique est similaire à la métrique euclidienne on mesure  $n = 1,8$  et  $n = 1,1$  avec une transition à  $\sim 0,2d_{max}$  qui correspond à la largeur  $L$  de l'anneau<sup>6</sup>. Similairement, les fronts de propagation ont des exposants 1 ce qui signe une croissance isotropique puis 0 lorsque la progression n'est plus possible à la périphérie de l'anneau.
- La résistance géodésique a une dimension  $n = 2$  et l'exposant du front de propagation est 1.5. Ensuite ces valeurs saturent en raison des conditions aux bords, et les frontières diminuent relativement au volume.
- La résistance effective a un comportement similaire avec une dimension  $n = 2,5$  et un exposant du front de croissance 2.



(a) Distances le long de la veine principale.



(b) Volume des sphères en fonction des rayons mesurés dans les différentes métriques. On définit la dimension  $D$  du réseau telle que  $V \propto r^D$ .

FIGURE V.4 – Distances et dimensions des réseaux annulaires.

La nature discrète et hiérarchique des réseaux nous oblige à repenser les notions usuelles de distances, sur des réseaux planaires, lorsque les arêtes sont pondérées avec l'inverse de la

6. On a approximativement :  $R_{max}^{géod} \approx \pi r_{anneau} + L$  et on a le rapport d'aspect de l'anneau  $\frac{circonférence}{L} = 9$ .

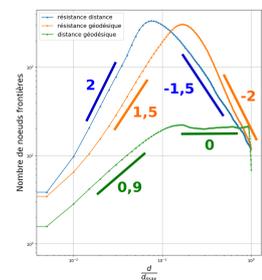


FIGURE V.5. – Tailles des fronts des croissance pour ( $R_{eff}$ ,  $R_{géod}$ ,  $l_{géod}$ ) en bleu, orange et vert respectivement. Les exposants représentés par les pentes changent à partir de la distance caractéris-

distance euclidienne (à un facteur d'échelle commun près) la distance géodésique ne modifie pas notre intuition géométrique continue, en particulier à grande échelle. En revanche, lorsque les pondérations dépendent d'autres facteurs, par exemple la section des veines comme pour les conductances hydrodynamiques et la distribution des chemins disponibles, des caractéristiques géométriques non triviales émergent. Ainsi, des éléments du réseau distants dans le plan peuvent être très liés en terme d'interaction et certains d'entre eux, par leur centralité (ils sont "proches" d'une grande partie des autres éléments), peuvent avoir un rôle dominant dans la dynamique globale. Ces notions de distance soulignent l'importance de la structure topologique d'une part et du caractère hiérarchique des connexions du réseau d'autre part.

### Structure hiérarchique

Les réseaux formés sont organisés selon une structure hiérarchique autour d'une veine centrale principale<sup>7</sup> entourée d'un lit capillaire. Ce dernier est également irrigué par des veines de rayon intermédiaires issues de la veine centrale. D'un point de vue fonctionnel, cette veine centrale joue un rôle de bouclier contre les dommages qu'encourt le réseau. En particulier, il a été montré pour des sources et puits stationnaires qu'elle permet de confiner la reconfiguration globale des écoulements en cas de défaillance d'une veine du lit capillaire [127]. Cette structure hiérarchique est donc à la fois un acteur de la résilience du réseau plasmodial et contribue à l'efficacité du transport sur de longues distances.

Pour visualiser cette hiérarchie on utilise 2 indices de centralité par ailleurs illustrés en figure V.6 :

- L'intermédiarité des arêtes qui mesure la proportion des chemins de plus faible résistance (des géodésiques) passant par chaque arête pour toutes les paires de nœuds. La veine principale héberge  $\approx 30\%$  des géodésiques.
- La centralité harmonique effective des nœuds, qui mesure pour chaque nœud la moyenne harmonique des résistances effectives entre celui-ci et tous les autres nœuds du réseau.

Ces deux indices traduisent deux fonctions différentes. L'intermédiarité mesure la quantité de courant devant être redistribué dans le réseau si la veine était supprimée tandis que la

7. Pour extraire la veine centrale (visible en rouge dans l'encart de la figure V.4) nous avons développé l'heuristique algorithmique suivante :

Tant que le réseau possède au moins 2 boucles ( $\mathcal{N}_e - \mathcal{N}_v \geq 0$ ) :

- Calcul de l'intermédiarité
- Calcul de la base des cycles (elle permet de décomposer n'importe quel cycle du graphe sous la forme d'une combinaison linéaire de cycle de la base).
- Parmi les arêtes appartenant à au moins un cycle de la base, celle de plus faible intermédiarité est supprimée.

centralité harmonique exprime la capacité de distribution (ou l'influence) d'un nœud sur le reste du réseau.

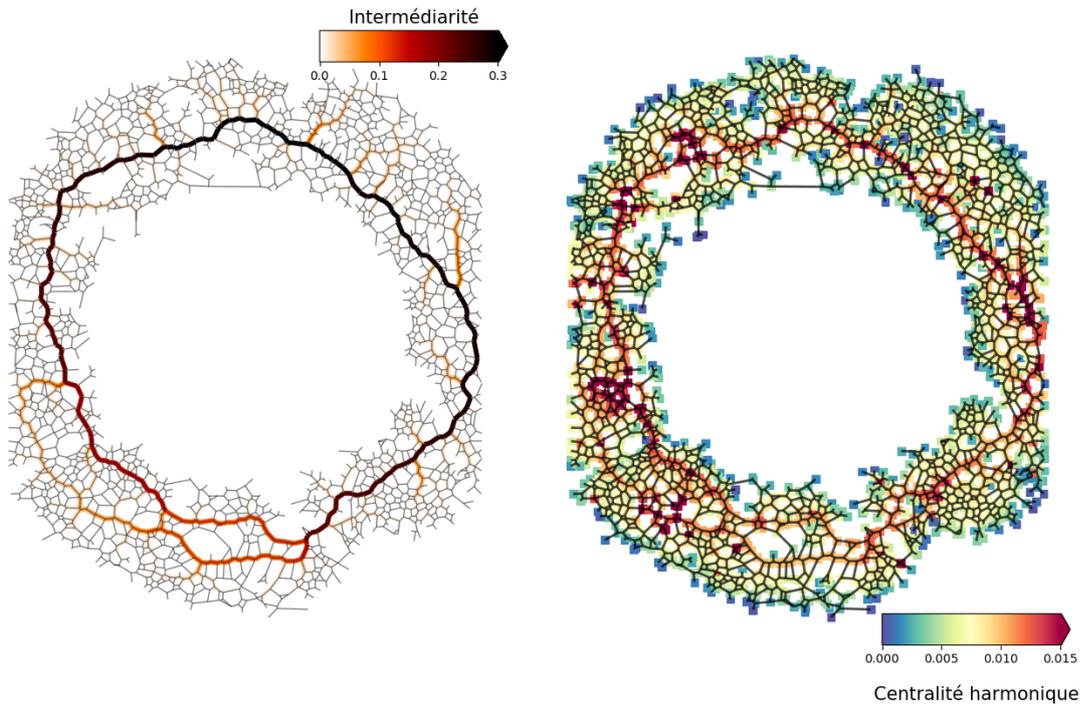


FIGURE V.6 – Centralités : **l'intermédiarité** mesure la proportion des chemins de plus faible résistance passant par chaque arête pour toutes les paires de nœuds. **La centralité harmonique** mesure pour chaque nœud la moyenne harmonique des résistances entre celui ci et tous les autres. Il y a une forte corrélation entre ces deux mesures à l'exception de zones de faibles résistances avoisinant la veine centrale.

## V.2. – Modélisation par des réseaux planaires

Afin d'explorer les propriétés de transport du réseau développé par *Physarum*, nous proposons ici de modéliser celui-ci par des réseaux planaires. Dans un premier temps, nous étudierons uniquement des réseaux non-hiérarchisés. L'effet de la hiérarchisation sera étudié à la section V.3. La quantification des caractéristiques géométriques et topologiques réalisée précédemment va nous servir de guide pour générer des graphes planaires de morphologie comparables à ceux formés par *P. polycephalum* en l'absence de hiérarchie des veines afin d'explorer statistiquement les propriétés de transport hydrodynamique de telles structures.

### Graphes planaires aléatoires et hiérarchie de Toussaint

Les approches classiques pour générer des graphes planaires consistent à utiliser des pavages réguliers du plan, à réaliser une triangulation de Delaunay<sup>8</sup> (DT) ou encore réaliser le diagramme de Voronoï<sup>9 10</sup> (VD) de points générés aléatoirement. Tandis que les nœuds des graphes associés aux pavages et aux diagrammes de Voronoï sont tous de degré égal à 3, ceux associés à la triangulation de points aléatoires sont majoritairement de degré supérieur ou égal à 5. Ces processus aléatoires ne sont donc pas appropriés pour générer des graphes planaires comparables aux réseaux plasmodiaux. Nous allons construire des *graphes de proximités*. Ces derniers sont obtenus en imposant des contraintes géométriques locales ou globales pour construire les arêtes.

Étant donné l'ensemble des nœuds  $V$  formé par  $N$  points dans un espace métrique<sup>11</sup> : le plan euclidien. On définit les graphes de proximités suivants :

- **Le graphe des plus proches voisins** (NNG) est obtenu en formant une arête  $e = (i, j)$  entre 2 points  $i$  et  $j$  lorsque  $j$  est le plus proche voisin de  $i$ . Ce graphe n'est pas connexe en général.
- **L'arbre couvrant de poids minimal** (MST) est un graphe connexe tel que la somme des poids associés aux arêtes est minimale. Il n'existe pas de règle géométrique locale pour générer de tels graphes mais ils ont une grande importance pour les réseaux de transport dont on souhaite minimiser le coût de fabrication.

8. La triangulation de Delaunay d'un ensemble  $P$  de points du plan est une triangulation  $DT(P)$  telle qu'aucun point de  $P$  n'est à l'intérieur du cercle circonscrit d'un des triangles de  $DT(P)$  [128].

9. Un diagramme de Voronoï est un pavage (découpage) du plan en cellules (régions adjacentes) à partir d'un ensemble discret de points appelés « germes ». Chaque cellule enferme un seul germe, et forme l'ensemble des points du plan plus proches de ce germe que d'aucun autre [129].

10. La triangulation de Delaunay d'un ensemble discret  $P$  de points est le graphe dual (c.f. A) du diagramme de Voronoï associé à  $P$ .

11. Un espace métrique est un espace  $A$  muni d'une distance  $d(.,.)$  telle que  $\forall (u, v, w) \in A^3, d(u, w) \leq d(u, v) + d(v, w)$ .

- **Le graphe de voisinage relatif (RNG)** est obtenu en formant une arête  $e = (i, j)$  entre 2 points  $i$  et  $j$  lorsque qu'il n'existe pas d'autre point  $k$  qui soit à la fois plus proche de  $i$  et de  $j$  que ce derniers ne le sont entre eux (voir figure V.7). Ce graphe contient le MST et est donc connexe.
- **Le graphe d'Urquhart (UG)** est obtenu en supprimant le plus long coté de chaque triangle issu de la triangulation des points de  $V$ .
- Enfin **le graphe de Gabriel (GG)** est construit en formant une arête  $e = (i, j)$  entre 2 points  $i$  et  $j$  lorsque qu'il n'existe pas d'autre point  $k$  appartenant au disque de diamètre  $e = (i, j)$  (voir figure V.7).

Ces graphes de proximité sont liés par une relation d'inclusion hiérarchique appelée **hiérarchie de Toussaint** [130–133] :  $NNG \subset MST \subset RNG \subset UG \subset GG \subset DT$ . Le MST est le seul qui n'obéit pas à des règles locales. On utilise l'algorithme de Kruskal<sup>12</sup> dont la complexité varie en  $\mathcal{N}_e \log(\mathcal{N}_e)$  pour le construire, où  $\mathcal{N}_e$  est le nombre d'arêtes du graphe connexe dont on cherche le MST. On utilise donc le RNG qui le plus petit sous-graphe de la DT le contenant. La figure V.8 présente ces différents graphes à l'exception du graphe d'Urquhart dont la distinction avec le RNG est difficile (historiquement il a été introduit comme approximation du RNG) pour 300 nœuds générés suivant un processus de Poisson.

On mesure les densités de maillage pour 300 triangulations de Delaunay (de 300 nœuds) ainsi que leurs sous-graphes de Gabriel et de voisinage relatif. Pour les sous graphes de Gabriel et de voisinage relatif, la suppression d'arêtes ne satisfaisant pas les contraintes géométriques laisse un nombre important de nœuds de degrés 2 pour le RNG. De la même manière que nos mesures expérimentales, ces points sont supprimés en agrégeant leurs arêtes incidentes de la même manière que décrit précédemment. Après cette opération de nettoyage, les densités de maillages sont les suivantes :

$$\langle \alpha_{DT} \rangle = 0.91$$

$$\langle \alpha_{GG} \rangle = 0.48$$

$$\langle \alpha_{RNG} \rangle = 0.22$$

où  $\langle \cdot \rangle$  représente la moyenne géométrique<sup>13</sup> sur les 300 réalisations. La densité de maillage des triangulations de Delaunay n'est égale à 1 que pour des graphes infinis ( $\mathcal{N}_e \rightarrow \infty$ ) ou pour des graphes plongés sur la surface d'une sphère. Dans notre cas il est toujours possible d'ajouter

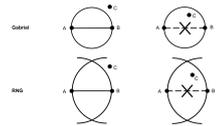


FIGURE V.7. – Conditions géométriques pour la conservation de l'arête AB selon la position du point C. La condition pour graphe de Gabriel est représentée en haut et celle du RNG est représentée en bas.

12. L'algorithme de Kruskal permet de construire un MST en agrégeant successivement les arêtes classées par poids croissant tant qu'elles n'ajoutent pas de cycle au graphe jusqu'à ce que tous les nœuds soient inclus [134].

13. On utilise la moyenne géométrique car la densité de maillage est un ratio.

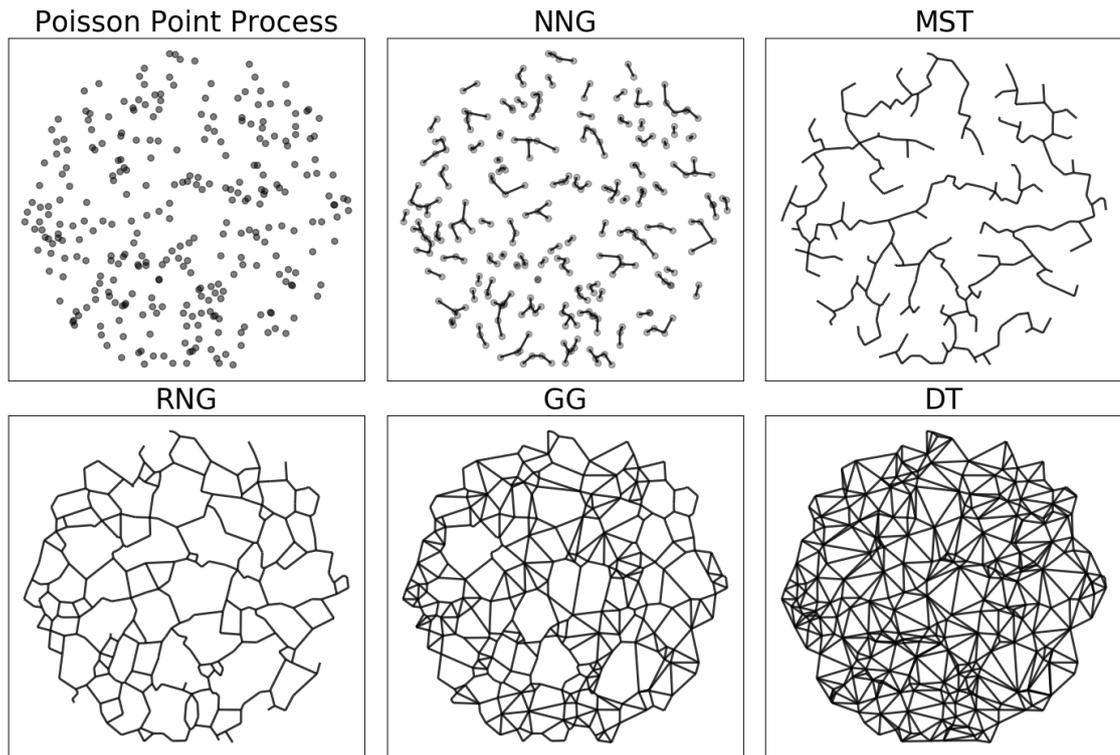


FIGURE V.8 – Graphes planaires approximaux de la croissance du réseau plasmodial

des arêtes sur les bords du graphe sans briser la condition de planarité.

On extrait également la statistique des longueurs d'arêtes en figure V.9 pour les comparer aux réseaux extraits par le traitement d'image détaillé en II.3.2.

La forme de la distribution des longueurs des arêtes ainsi que la densité de maillage suggèrent que le graphe de voisinage relatif est le modèle de graphe planaire le plus adapté pour reproduire le réseau de veines formé par *Physarum polycephalum* dans nos expériences.

A. Adamatzky a également remarqué que les réseaux formés par *Physarum polycephalum* suivaient approximativement la hiérarchie de Toussaint [135]. Ses expériences consistaient à disposer des sources de nourriture ponctuelles sous la forme de flocons d'avoine sur un papier filtre imbibé d'eau. Il note en particulier qu'en fonction du mode d'inoculation de l'organisme (c'est-à-dire de la façon dont il est réparti spatialement à l'instant initial), les réseaux résultant différaient de la manière suivante :

- Lorsque l'organisme est inoculé sur une seule source de nourriture le réseau grandit selon un mode directionnel en connectant successivement les sources de nourriture les plus proches avant de former progressivement des boucles. Les réseaux forment successivement un arbre couvrant partiel puis un graphe de proximité final incluant

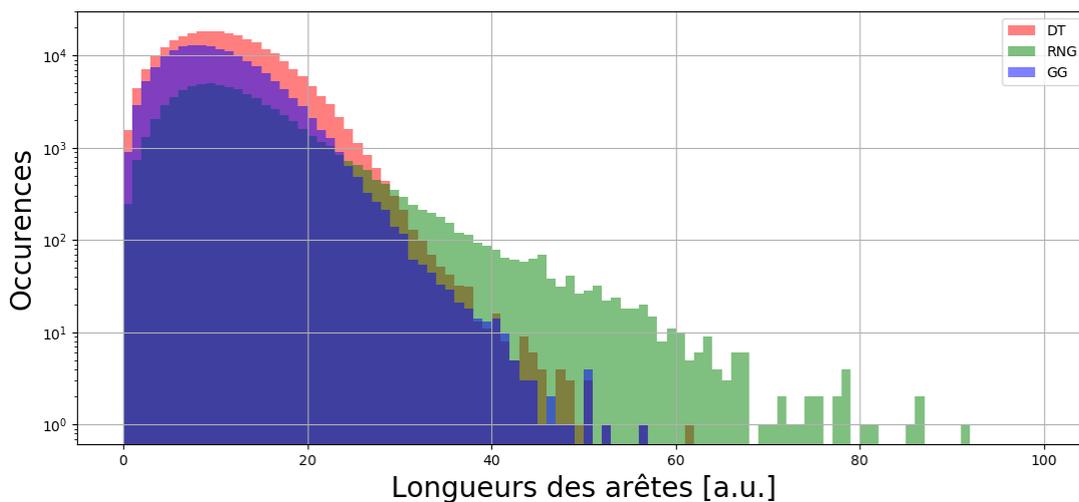


FIGURE V.9 – Statistique des longueurs des arêtes pour 300 triangulations de Delaunay et leurs sous-graphes GG et RNG. Les 3 distributions ont une forme comparable à celle des expériences (figure V.3-(a)).

le graphe de voisinage relatif mais n'est pas nécessairement inclus dans le graphe de Gabriel.

- *A contrario*, quand l'organisme est inoculé sur toutes les sources de nourriture en parallèle, la croissance est radiale et le réseau final forme un graphe de Gabriel pour les grosses veines auquel s'ajoutent des petites veine appartenant à la triangulation de Delaunay.

Il suggère que le comportement chimiotactique de l'organisme serait à l'origine de cette différence. Néanmoins, la masse initiale de l'innoculum ainsi que le taux de croissance lié aux ressources disponibles ont vraisemblablement un effet sur la densité de veines du réseau final.

Finalement, pour des réseaux de proximités de conductivités uniformes et de volume total commun<sup>14</sup>, on compare les différentes notions de distances sur la figure V.10. La résistance effective (qui représente la distance de l'interaction hydrodynamique) entre toutes les paires de nœuds dépend non-linéairement de la distance euclidienne avec un régime d'interaction à courte portée pour lequel les chemins alternatifs au chemin géodésique ont une contribution négligeable et la résistance effective croît rapidement suivit d'un régime d'interaction à longue portée où la résistance effective croît plus lentement. Ces deux régimes sont suivis d'effets de bords pour les nœuds séparés par des distances comparables au diamètre du réseau. À volume constant, les distances d'interactions entre les nœuds sont plus petites pour des réseaux moins

14. Pour chaque graphe, on fixe un volume total commun  $V_{tot}$ , la conductivité et la conductance d'une arête sont reliée par l'expression  $\bar{\kappa}_e = \frac{\kappa_e}{l_e}$ , la conductance d'une arête s'écrit alors  $\kappa_e = l_e \left( \frac{\sum_{\bar{e}} l_{\bar{e}}}{V_{tot}} \right)^2$

connectés topologiquement mais dont les connections entre voisins (conductances) sont plus fortes. Ce résultat peut se comprendre comme l'expression d'une relation d'optimalité entre la connectivité et la qualité des connexions. Cette relation présente des similitudes avec le paradoxe de Braess qui énonce contre-intuitivement que l'ajout d'une nouvelle route dans un réseau routier ou électrique peut réduire sa performance globale [136–139].

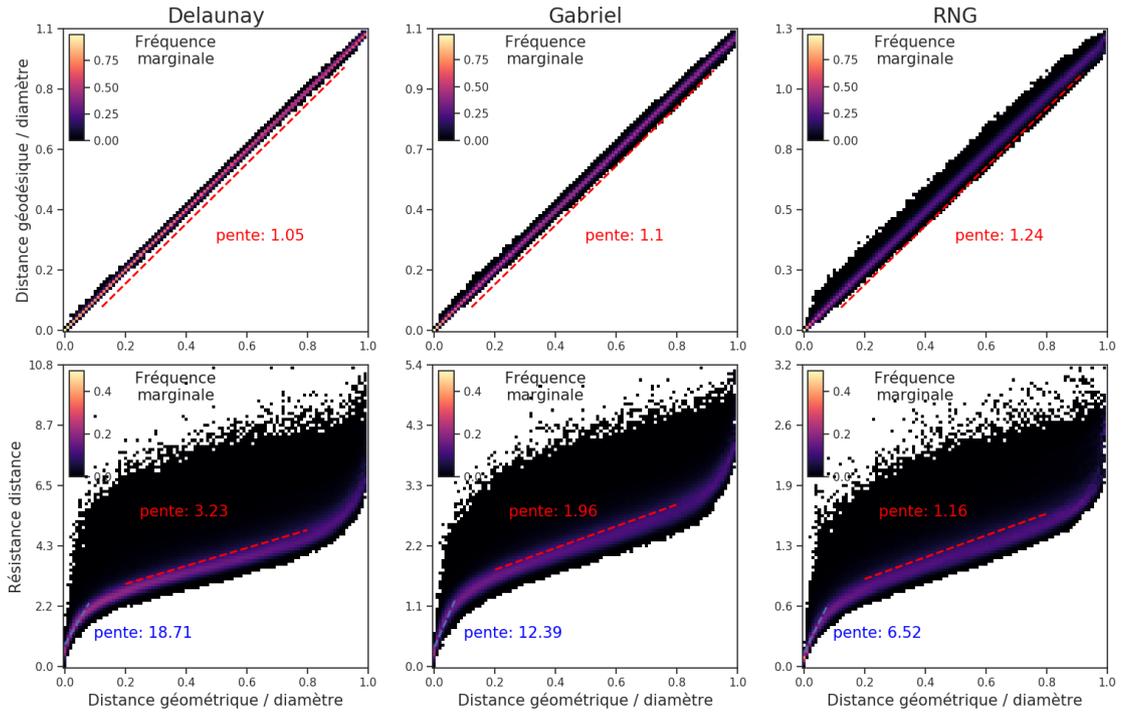


FIGURE V.10 – Relations entre les différentes notions de distances sur des graphes de proximité confinés dans un disque. On fixe un volume commun  $V_{tot}$  à ces réseaux : les arêtes ont alors une conductance  $\kappa_e = l_e \left( \frac{\sum_{\tilde{e}} l_{\tilde{e}}}{V_{tot}} \right)^2$ . Dans chacun des cas, la distance géodésique est directement proportionnelle à la distance euclidienne, les coefficients de proportionnalité augmentent avec la taille des défauts du maillage. La résistance effective qui représente la distance de l'interaction hydrodynamique entre deux nœuds est une fonction croissante non-linéaire de la distance euclidienne.

### Distribution des écoulements comme amorce à la réorganisation

La réorganisation d'un réseau initialement dense et homogène en une structure hiérarchique peut s'expliquer intuitivement à partir de la statistique des écoulements sur ce dernier. En effet, on peut raisonnablement supposer que mécaniquement, le diamètre des veines dans lesquelles la pression ou encore la friction sont les plus importantes tend à augmenter. On peut aussi justifier ce raisonnement par un argument biochimique : les veines par lesquelles transitent le plus de nutriments et/ou de signaux chimiques internes tendent à être renforcées. On s'attend alors à un renforcement des arêtes transportant en moyenne le plus de volume.

Ce renforcement local tend à favoriser les capacités globales de transport du réseau. Pour illustrer cet argument, on considère un réseau initial formé par la triangulation de Delaunay<sup>15</sup> de points générés aléatoirement. Les conductivités initiales des arêtes sont toutes égales et leurs conductances sont inversement proportionnelles à leurs longueurs indépendamment du modèle hydrodynamique considéré (Poiseuille ou Darcy). On écrit sans perte de généralité la matrice d'adjacence pondérée  $\mathbf{W}$  telle que  $W_{ij} = l_{ij}^{-1} \mid (ij) \in \mathcal{E}$  et 0 ailleurs. On construit la matrice laplacienne (voir Annexe A)

$$\mathbf{L} = \mathbf{D}_W - \mathbf{W} \quad (\text{V.4})$$

où  $\mathbf{D}_W$  est la matrice des degrés pondérée, définie par  $(D_W)_{ij} = \delta_{ij} \sum_j W_{ij}$ .

On calcule ensuite les courants  $Q_{ij}^{(sp)}$  dans le réseau étant donné une paire de nœuds  $(s, p)$  agissant comme une source et un puits de courant en  $s$  et  $p$ <sup>16</sup>. La conservation du débit aux nœuds (1<sup>ère</sup> loi de Kirchhoff) donne :

$$Q_{ij}^{(sp)} = W_{ij} \sum_{n=1}^N ((\vec{v}_n)_i - (\vec{v}_n)_j) \frac{1}{\lambda_n} ((\vec{v}_n)_s - (\vec{v}_n)_p) \quad (\text{V.5})$$

avec  $\lambda_n$  et  $\vec{v}_n$  sont les paires de valeurs et vecteurs propres de  $\mathbf{L}$  et ou  $N$  est le nombre de nœuds du graphe.

On définit le débit moyen  $\langle Q_{ij}(t) \rangle_{sp}$  le long d'une arête  $(i, j)$  comme la moyenne statistique du courant (en valeur absolue) calculée sur l'ensemble des paires  $(s, p)$  :

$$\langle Q_{ij} \rangle_{sp} = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{s=1}^{N-1} \sum_{p=s+1}^N |Q_{ij}^{(sp)}| \quad (\text{V.6})$$

Les écoulements moyens sur les arêtes exclusives à chaque sous-graphe sont représentés en figure V.11 b). Ils montrent que l'intensité des écoulements moyen dépend du niveau hiérarchique des arêtes. Plus le niveau hiérarchique des veines est bas (c'est à dire qu'elles appartiennent exclusivement à un sous ensemble de plus en plus restreint dans la hiérarchie de Toussaint), plus celles-ci portent de courant en moyenne. Ce résultat suggère qu'une rétroaction positive entre les écoulements traversants une veine et l'augmentation de sa conductivité est suffisante pour initier une hiérarchisation de la structure proche de celle de Toussaint comme celle décrite dans la référence [135].

## Effet du confinement géométrique

Jusqu'à maintenant, nous avons considéré la distribution des écoulements sur des graphes de proximité sans direction principale. Nous montrons maintenant que cette dernière joue un

15. À deux dimensions, la condition de Delaunay affirme qu'un réseau de triangles est une triangulation de Delaunay si tous les cercles circonscrits des triangles du réseau sont vides.

16. Cette opération est analogue à brancher un générateur de courant entre  $s$  et  $p$  de telle sorte que  $\sum_j Q_{sj} = +1$  et  $\sum_j Q_{pj} = -1$ .

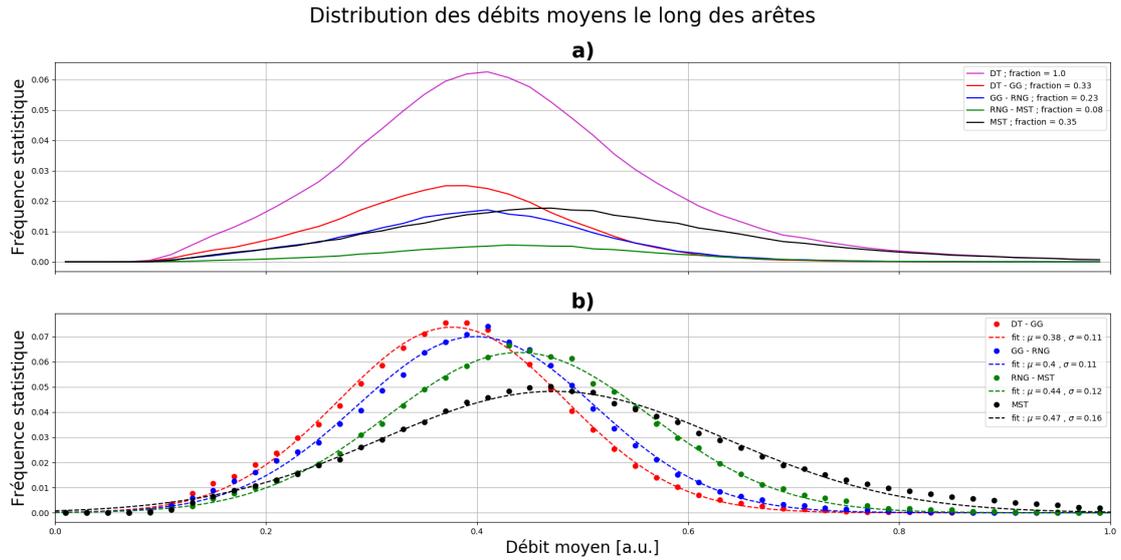


FIGURE V.11 – Débits moyens le long des arêtes pour 300 triangulations de Voronoi de 300 nœuds générés selon un processus de Poisson. **a)** distributions des débits moyens sur les arêtes de la triangulation puis sur les arêtes exclusives à chaque sous graphe. Les fractions du total d’arêtes ( $\approx 2,5 \cdot 10^5$ ) sont également donnés en légende. **b)** Distributions de débit normalisées. Les courbes en pointillés correspondent à des fit par une loi normale. Plus le niveau hiérarchique baisse plus les débits moyen sont important et plus l’écart type grandit.

rôle majeur sur la distribution statistique des écoulements. À partir de 300 processus de Poisson, nous construisons les RNG pour des confinements en forme de disques et d’anneaux. Puis nous calculons les distributions statistiques des écoulements sur les arêtes selon leur orientation. On introduit pour cela l’angle  $\theta_{ab}$  que l’arête reliant les nœuds  $a$  et  $b$  fait avec l’axe radial passant par le centre de l’arête. Pour chaque graphe, les valeurs des débits dans chaque arête sont normalisées par la somme des débits. La figure V.12 montre que lorsqu’un réseau a une orientation principale (orthoradiale dans notre cas), la proportion des écoulements circulant dans une arête augmente avec son alignement avec la direction du réseau. Inversement, dans le cas de réseaux sans direction principale, la proportion du débit ne dépend pas de l’orientation des arêtes.

Nos résultats suggèrent que les écoulements sont distribués dans les réseaux de conductivité uniforme selon des critères géométriques locaux (hiérarchie de Toussaint) et globaux (orientation principale). Nous allons maintenant proposer différents modèles d’adaptation permettant de reproduire la hiérarchisation des veines et d’optimiser le transport. Afin de prendre en compte la réorganisation des réseaux, le mécanisme adaptatif le plus simple consiste à dilater les veines portant les écoulements les plus importants.

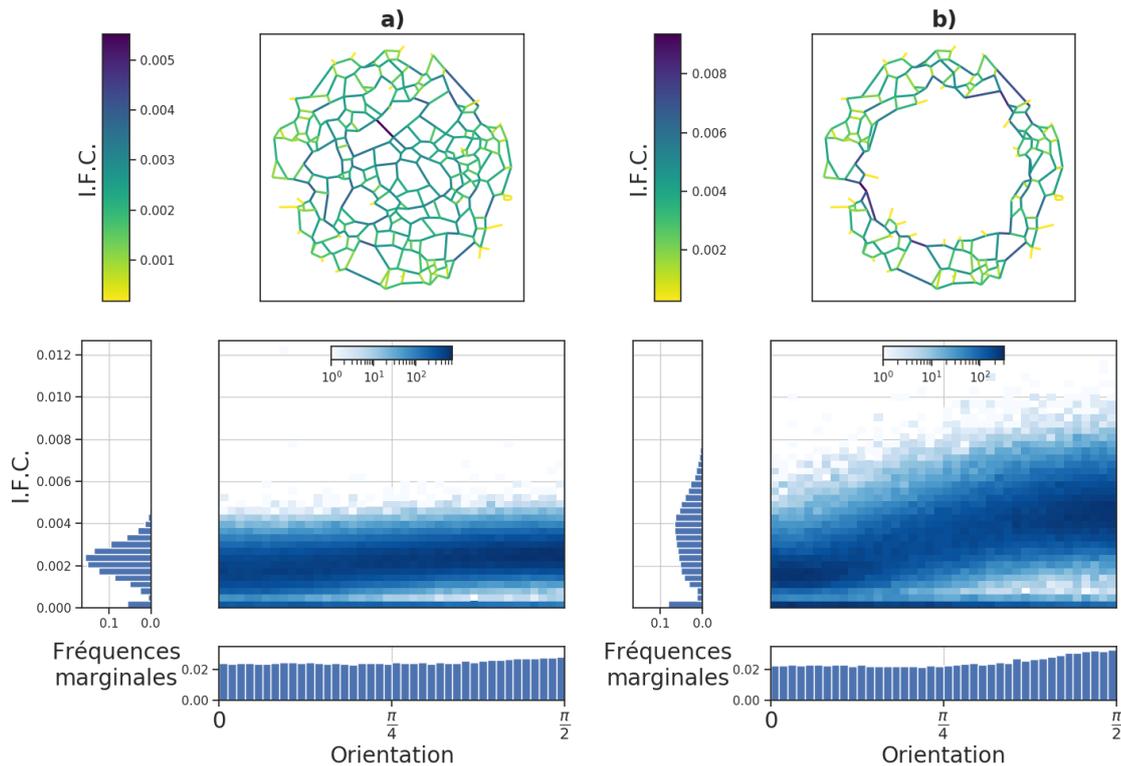


FIGURE V.12 – Proportion des débits totaux moyennée sur toutes les paires des sources/puits (aussi appelée *Information Flow centrality* (I.F.C.)). La statistique est réalisée sur 300 RNG limités à une région circulaire ainsi que leurs sous-graphes limités à des anneaux, dont on trouve des exemples en haut. **a)** Lorsque la forme du réseau n'a pas de direction principale l'intensité des écoulements est la même pour toutes les orientations (définie comme l'angle entre le rayon reliant le centre géométrique du réseau au milieu d'une arête et la direction de l'arête  $\text{mod}(\frac{\pi}{2})$ ). **b)** Pour les sous-graphes dont la direction principale est orthoradiale, les écoulements d'intensités relatives les plus importantes sont préférentiellement répartis le long de la direction principale.

## V.3. – Modèles de hiérarchisation et d'optimisation

Jusqu'ici nous n'avons décrit qu'indirectement la fonction des réseaux à l'aide des distances d'interactions entre les éléments du réseau et des liens induits sur la dynamique oscillatoire nécessaire à la survie de l'organisme. En général la fonction d'un réseau est entendue selon un critère d'optimalité fixé *a priori*. De plus, plusieurs fonctions peuvent coexister pour un même réseau. Par exemple, pour un réseau routier, on peut chercher à minimiser le temps de parcours des usagers, à minimiser les coûts de construction et de rénovation des routes, ou encore à désenclaver un territoire. Mais comme il est aussi douteux de soutenir que les réseaux biologiques sont faits pour être efficaces que d'affirmer que "les fruits sont taillés pour la bouche de l'homme", nous substituerons à cette interprétation finaliste celle de la sélection naturelle bien que celle-ci ne garantisse pas d'optimum global. Cette dernière exerce une sélection parmi les processus locaux dont émergent les propriétés globales. Bien souvent,

on peut reformuler les lois locales sous un principe variationnel global, par exemple dans le cas des réseaux de drainage formés de torrents et de rivières, la dynamique d'érosion locale peut se reformuler comme la minimisation d'une certaine fonction définie sur tout le réseau de rivières [140].

À titre d'exemple, de nombreuses études se sont intéressées à caractériser la structure du réseau minimisant le coût associé à la distribution des ressources [141–145]. Ce coût total dépend à la fois du coût de construction et d'entretien du réseau et de l'énergie dépensée pour transporter les ressources d'un ensemble de lieux de production (sources) à un ensemble de lieux de consommation (puits). La structure optimale du réseau résulte de l'équilibre entre ces contraintes. En régime stationnaire, par exemple dans les systèmes respiratoires et vasculaires des animaux<sup>17</sup> ou dans le réseau de xylème transportant la sève brute des plantes, la loi de Murray relie les rayons des veines d'un embranchement :  $r_0^\gamma = \sum_{i=1}^n r_i^\gamma$ , où  $r_0$  est le rayon du vaisseau parent (en amont) et  $r_i$ ,  $i \in [1, n]$  sont les rayons des vaisseaux enfants (en aval) [144]. L'exposant  $\gamma = \frac{\gamma_1 - \gamma_2}{2}$  résulte de la minimisation conjointe des coûts de création du réseau ( $\propto r^{\gamma_1}$ ) et de transport ( $\propto r^{\gamma_2}$ )<sup>18</sup>. En outre, la structure qui minimise la puissance dissipée est arborescente, c'est-à-dire qu'elle ne contient pas de boucles [145]. Pourtant, la plupart des réseaux biologiques sont réticulés, et non arborescents. Deux raisons sont généralement avancées pour expliquer la présence de boucles : i) la réticulation augmente la robustesse du réseau en cas de dommages; ii) un réseau réticulé sera optimal en moyenne, lorsque les courants entrants et sortants fluctuent, car il résulte du compromis entre les différentes structures arborescentes optimales à chaque instant.

Les structures hiérarchiques et redondantes des réseaux sont des stratégies évolutives complémentaires permettant de distribuer à moindre coût et limiter les conséquences des fluctuations ou d'éventuels dégâts [141–143]. Il a notamment été montré que pour des systèmes possédant une source unique constante et des puits fluctuants (ou inversement) comme c'est le cas pour la vasculature des feuilles, on observe une transition d'une structure arborescente hiérarchique vers une structure réticulée homogène lorsque l'amplitude des fluctuations augmente.

Contrairement à ces systèmes, dans les réseaux plasmodiaux, les écoulements oscillent sur des périodes d'une centaine de secondes en raison de la dynamique contractile. Les fluctuations des sources étant le moteur des écoulements plutôt que des perturbations pour ce système, on

17. Les propriétés visco-élastiques des parois des artères amortissent les fluctuations de débits dues aux pulsations cardiaque. En conséquence les écoulements sont stationnaires loin du cœur [146].

18. Par exemple lorsque le coût d'entretien dépend du volume du tube on a  $\gamma_1 = 2$  et pour un écoulement de Poiseuille  $\gamma_2 = -4$  d'où  $\gamma = 3$

peut se demander dans quelle mesure les morphologies optimales diffèrent [141, 142] dans ces réseaux.

### V.3.1. – Modélisation

Notre modèle de réorganisation, consiste à minimiser le taux de dissipation totale avec une quantité fixée de ressources. On modélise le cytoplasme comme un réseau connexe constitué de  $N$  nœuds et  $M$  arêtes. Une arête orientée  $e = (i, j)$  est caractérisée par sa conductance  $\kappa_e$  et sa longueur  $l_e$ . Étant donné  $\vec{S} = (S_1, \dots, S_N)$  une distribution (fluctuante) de termes sources de courants aux nœuds du réseaux satisfaisant la conservation du volume total :  $\sum_{i=1}^N S_i = 0$ , il existe une unique distribution de courant  $I_{ij}$  dérivant d'un potentiel qui satisfait la loi des nœuds  $\sum_j I_{ij} = S_i$  en chaque nœud.

Le réseau optimal minimise la dissipation totale moyenne

$$\langle J \rangle = \sum_e \frac{\langle I_e^2 \rangle}{\kappa_e} \quad (\text{V.7})$$

sous contrainte d'un volume total constant

$$V = \sum_e \mathcal{V}_e \quad (\text{V.8})$$

$$= \sum_e \kappa_e^\gamma l_e^\delta \quad (\text{V.9})$$

La solution de problème d'optimisation s'obtient en minimisant

$$\Omega = \langle J \rangle + \lambda \sum_e \kappa_e^\gamma l_e^\delta \quad (\text{V.10})$$

où  $\lambda$  est un multiplicateur de Lagrange. La minimisation de  $\Omega$  par rapport à  $\kappa_e$  est obtenue pour

$$\kappa_e^{\gamma+1} = -\lambda^{-1} \frac{\langle I_e^2 \rangle}{\gamma l_e^\delta} \quad (\text{V.11})$$

Après l'ajustement de  $\lambda$  afin de satisfaire la contrainte V.9, la conductance optimale satisfait l'équation

$$\kappa_e = \left[ \frac{\langle I_e^2 \rangle}{l_e^\delta} \right]^{\frac{1}{\gamma+1}} \left[ \frac{V}{\sum_e \langle I_e^2 \rangle^{\frac{\gamma}{\gamma+1}} l_e^{\frac{\delta}{\gamma+1}}} \right]^{\frac{1}{\gamma}} \quad (\text{V.12})$$

Lorsque la conductance d'une arête est de la forme  $\kappa_e = \frac{s_e^\beta}{l_e}$  on a alors  $\delta = \gamma + 1$  et

$$\kappa_e = \frac{\langle I_e^2 \rangle^{\frac{1}{\gamma+1}}}{l_e} \left[ \frac{V}{\sum_e \langle I_e^2 \rangle^{\frac{\gamma}{\gamma+1}} l_e} \right]^{\frac{1}{\gamma}} \quad (\text{V.13})$$

L'équation V.13 est au cœur de notre heuristique d'adaptation du réseau. Dans la suite on supposera que les écoulements ont un profil de Poiseuille dans les arêtes, ce qui correspond à  $\gamma = \frac{1}{2}$ . L'échantillonnage statistique d'une dynamique stochastique avec des termes

sources fluctuants étant irréaliste en terme de temps de calcul, nous proposons, de calculer les écoulements pour toutes les paires sources-puits du réseau. Cette méthode a une complexité  $\mathcal{O}(N^3)$  et n'est pas compatible avec des réseaux d'un grand nombre de nœuds<sup>19</sup> Les fluctuations des écoulements dans les veines dépendent des contributions relatives de chaque paire source-puits, et nous utiliserons 3 types de contributions :

- Une **contribution uniforme (symétrique)** pour laquelle, sur chaque paire la source injecte un courant +1 et le puits extrait un courant -1. Par symétrie source-puits, on a besoin de considérer  $\frac{N(N-1)}{2}$  paires pour calculer les fluctuations.
- Une **contribution pondérée symétrique** pour laquelle le courant injecté est proportionnel aux "volumes" des nœuds source et puits définis comme la somme des volumes des arêtes adjacentes aux deux points.<sup>20</sup> On a alors pour une paire  $(s, t)$  un courant injecté en  $s$  :  $S_s = -S_t = \alpha \left( \sum_j \kappa_{sj}^\gamma l_{sj}^{\gamma+1} + \sum_i \kappa_{ti}^\gamma l_{ti}^{\gamma+1} \right)$ . Ici aussi, la symétrie des écoulements ne nécessite la considération que des paires non-ordonnées de sources et de puits.
- Une **contribution pondérée asymétrique** pour laquelle le courant injecté est proportionnel au volume du nœud d'injection ( $S_s = \alpha \sum_j \kappa_{sj}^\gamma l_{sj}^{\gamma+1}$ ) et ou le courant extrait au puits est borné par son volume ( $S_t = -\max \left( S_s, \alpha \sum_i \kappa_{ti}^\gamma l_{ti}^{\gamma+1} \right)$ ). L'éventuel volume restant est alors distribué sur les voisins du nœud puits en fonction de leur distance dans la limite de leurs capacités :  $S_k = -\max \left( (S_s + S_t) \frac{G_{kt}}{\sum_p G_{pt}}, \alpha \sum_i \kappa_{ki}^\gamma l_{ki}^{\gamma+1} \right)$ ,  $\forall k | (t, k) \in \mathcal{E}$ <sup>21</sup> avec  $G_{ij}$  la conductance de l'arête  $(i, j)$ . Dans ce cas, il faut considérer l'ensemble des paires ordonnées de sources et de puits.

Les conductances sont alors remplacées par les conductances optimales et on réitère l'opération. Les morphologies obtenues après 50 itérations sont présentés en figure V.13 accompagnées des histogrammes des rayons des veines n'ayant pas disparu durant le processus.

Les structures hiérarchiques obtenues sont visuellement semblables à celles observées expérimentalement (figure V.14 **b-c**). Les densités de maillage (en figure V.15 **c**) convergent également vers 0.2 en accord avec nos mesures expérimentales. Similairement, les longueurs totales des arêtes mesurant la disparition progressives des veines redondantes relaxent toutes vers une longueur finale  $\approx \frac{1}{3}$  de la longueur de la triangulation initiale (figure V.15 **a**). Néanmoins cette décroissance abrupte commence plus tôt que celle de la densité de maillage ce qui permet de dire que ce sont d'abord les veines longues (en particulier celles du périmètre qui sont supprimées. Enfin on mesure de grandes disparités dans l'évolution du rayon du réseau

19. On peut néanmoins réduire cette complexité pour des réseaux de distribution d'électricité en ne considérant que les nœuds producteurs et consommateurs pour le calcul des fluctuations.

20. On peut également imaginer une pondération proportionnelle à la surface des arêtes.

21. On continue la propagation sur les voisins suivants tant qu'il reste du volume.

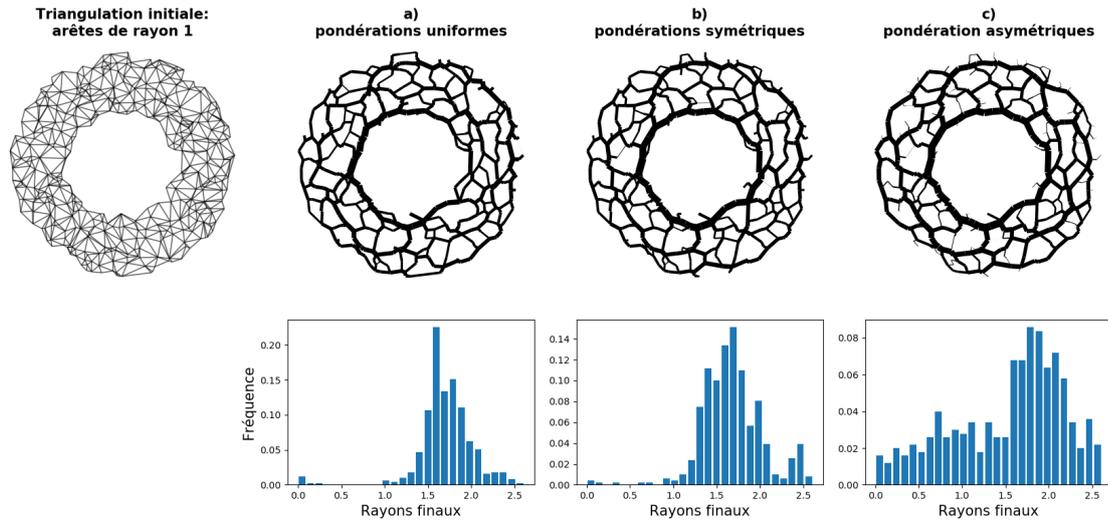


FIGURE V.13 – Réorganisation d'une triangulation d'une région annulaire par minimisation itérée de la dissipation visqueuse sous contrainte de volume constant. La dissipation visqueuse est moyennée sur les configurations d'écoulements. Les écoulements sont calculés pour chaque paire (source-puits) de nœuds. La contribution de chaque paire à la dissipation moyenne est déclinée selon 3 variantes.

pour la résistance effective (figure V.15 **b**). En raison des pondérations asymétriques, le rayon du réseau (au sens de la définition V.2) de cette configuration "diverge"<sup>22</sup> car le flux moyen des veines excentrées est très fortement diminué et la conductance optimale de ces veines réduite en conséquence. Ces veines étant souvent l'unique chemin d'accès aux nœuds excentrés conduisent à la "divergence" de la résistance équivalente (et donc du rayon du réseau) entre ceux-ci et n'importe quel autre nœud, indépendamment du caractère hiérarchique du réseau. On voit également en figure V.15 **b**) que la réorganisation se fait en deux temps selon une dynamique de *stick-slip* pour les pondérations asymétriques : le rayon du réseau atteint une première asymptote puis après 21 itérations d'autres arêtes sont résorbées pour atteindre une seconde asymptote 1000 fois plus grande.

Lorsque les paires de nœuds ont des contributions symétriques (pondérées ou uniformes) les rayons des arêtes ont une distribution semblable, relativement centrée autour du rayon moyen, et seulement quelques grosses veines. La distribution des rayons pour les contributions asymétriques est beaucoup plus étalée avec  $\sim 25\%$  de capillaires irrigués par des veines plus importantes, avec également seulement quelques grosses veines. Pour ce dernier cas, les capillaires correspondent essentiellement aux protrusions (visibles principalement sur la face extérieure). Ces distributions diffèrent de la loi log-normale obtenue expérimentalement et en particulier pour le modèle de contributions pondérées asymétriques pour lequel les petits

22. On parle de divergence en comparaison des autres contributions bien qu'on aie en réalité une convergence vers des valeurs très grandes.



(a) Cytoplasme isotrope avant la formation du réseau.



(b) Réorganisation hiérarchique avec anisotropie prononcée après 6h.

FIGURE V.14 –

rayons sont sur-représentés. Dans les 3 cas, la veine centrale est située sur la face intérieure du confinement annulaire ce qui contraste avec les expériences présentées dans ce chapitre. Cette divergence est probablement due à l'historique de la croissance. Cette dernière est notamment connue pour modifier la morphologie vasculaire des tissus en croissance [147]. Par un mécanisme en quelque sorte dual, lors de la croissance du réseau sur une surface constante, l'histoire des veines joue un rôle important sur le destin des nouvelles veines (et tout particulièrement lorsque celles-ci sont peu nombreuses, c'est à dire lorsque le volume de cytoplasme est limité en comparaison de la surface couverte). Lors de la phase de croissance du réseau suivant l'hydratation des sclérotés, une veine importante se forme au niveau du premier point de fusion entre deux sclérotés<sup>23</sup>. Si d'autres connexions sont réalisées, même si elles forment des "raccourcis" dans le plan euclidien, si leurs conductances initiales ne sont pas importantes, elles n'offriront pas de raccourcis hydrodynamiques significatifs à l'échelle du réseau entier et resterons des veines secondaires.

### Robustesse des réseaux

Pour chaque arête  $(i, j)$  on réécrit la résistance effective  $R_{ij}^{dist}$  entre ses extrémités comme deux résistances en parallèle.

$$R_{ij}^{dist} = \left( \frac{1}{R_{ij}^{g\acute{e}od}} + \frac{1}{R_{ij}^{alt}} \right)^{-1} \quad (\text{V.14})$$

La résistance géodésique  $R_{ij}^{g\acute{e}od}$  (ou résistance de Poiseuille) de la veine est la résistance que l'on mesurerait entre les nœuds  $i$  et  $j$  en l'absence du reste du réseau. Elle porte l'information

<sup>23</sup>. La formation de cette veine s'explique facilement par un argument statistique : une veine reliant deux groupes de nœuds (de même taille) autrement disjoints est sur le passage de la moitié des écoulements entre les paires source-puits.

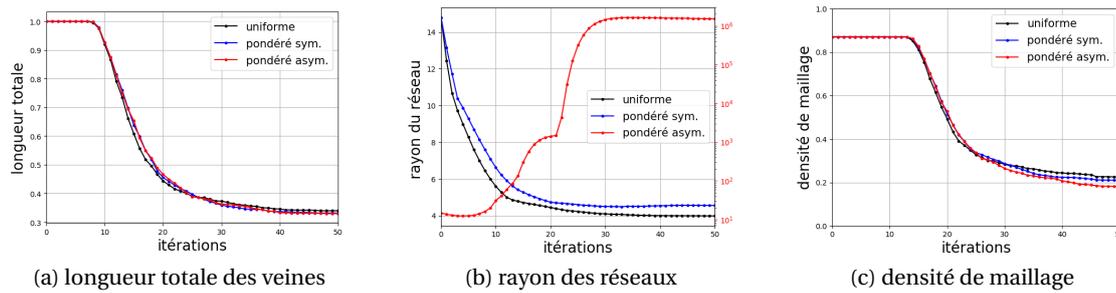


FIGURE V.15 – Réorganisation des distances et des mailles du réseau.

relative à la géométrie de la veine. La résistance alternative  $R_{ij}^{alt}$  est la résistance que l'on mesurerai entre les nœuds  $i$  et  $j$  en retirant la veine  $(i, j)$ . Elle inclut l'ensemble des chemins alternatifs entre  $i$  et  $j$  et porte l'information relative à la topologie du reste du réseau.

On introduit la redondance moyenne  $S = \langle S_{ij} \rangle$  pour quantifier la robustesse du réseau. Pour chaque arête, la redondance  $S_{ij}$  mesure le rapport de la conductance alternative sur la conductance géodésique :  $S_{ij} = \frac{R_{ij}^{géod}}{R_{ij}^{alt}}$ . On a alors

$$S_{ij} = \frac{R_{ij}^{géod}}{R_{ij}^{alt}} - 1 \quad (V.15)$$

Les valeurs moyennées sur l'ensemble des paires de nœuds et sur l'ensemble des paires nœuds adjacents (figure V.16 a) sont décroissantes avec la diminution du nombre d'arêtes au cours des itérations. Néanmoins les réseaux finaux restent globalement robustes avec des conductances alternatives une à deux fois supérieures à la conductance du chemin de moindre résistance. Plus localement (encadré figure V.16 a), cette redondance moyenne tombe en dessous de 0.5. Nous interprétons cette différence en termes de redistribution des écoulements lorsqu'une veine est sectionnée : lorsque une veine est supprimée, les flux entre deux nœuds sont d'autant plus facilement redistribués que les nœuds sont éloignés.

Enfin on compare en figure V.16 b la hiérarchie des différentes pondérations à l'aide des moyennes des centralités d'accès locale et globale des nœuds introduites à cet effet par Mones [148]. La centralité locale d'un nœud est définie comme la moyenne des inverses des distances (ici la résistance effective) à tous les autres nœuds. Pour la pondération asymétrique, la mesure locale est inférieure à celles des pondérations symétriques ce qui signifie qu'en moyenne les nœuds du réseau sont individuellement mieux connectés. L'étalement des distributions (entre 10-90%) est en revanche beaucoup plus grand pour celle-ci. Il y a de grandes disparités entre les nœuds ce qui reflète une organisation hiérarchique globale. Cette dernière est mesurée à l'aide de la centralité d'accès globale simplement définie comme la moyenne de la différence entre la centralité d'accès locale maximale et la centralité d'accès de chaque nœud. Elle permet de

quantifier le caractère hiérarchique à partir des disparités. Au vu de nos résultats, l'intensité et l'asymétrie des flux entre les paires source-puits semblent être des facteurs importants pour la formation de structures hiérarchiques dans les réseaux de transport minimisant la dissipation.

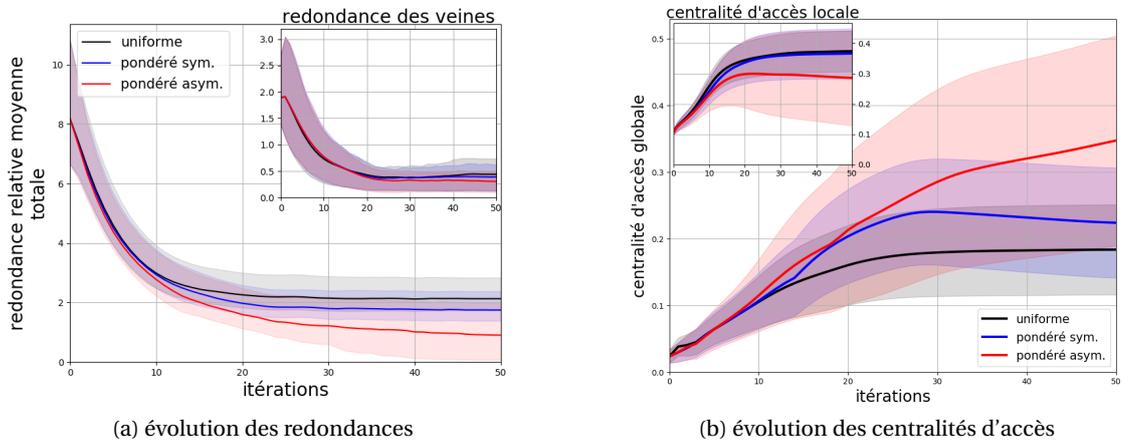


FIGURE V.16 – Apparition d'une structure hiérarchique.

## V.4. – Résumé des résultats

Dans ce chapitre, nous avons analysé les propriétés topologiques (connectivité des nœuds, et densité de maillage), et géométriques (longueurs et rayons des veines) des réseaux de transport plasmodiaux. Ces réseaux semblent obéir à des règles géométriques sous-jacentes tant leurs propriétés sont similaires à celles d'une classe de graphes planaires appelés graphes de proximité. Nous avons ensuite exploré numériquement les propriétés statistiques de transport hydrodynamique sur des triangulations de Delaunay dans lesquelles sont contenus tous les autres graphes de proximité. Cette étude nous a permis de montrer que l'intensité moyenne des écoulements sur les arêtes est liée à sa position dans la hiérarchie de Toussaint qui caractérise l'inclusion successive des graphes de proximité ainsi qu'à l'orientation de l'arête relativement à l'orientation du réseau. Nous montrons également que la distance hydrodynamique entre deux nœuds du réseau dépend non-linéairement de leur distance euclidienne. Enfin nous proposons 3 modèles de réorganisation de réseaux minimisant la dissipation visqueuse pour des écoulements fluctuants. Ces modèles conduisent à une hiérarchisation des veines similaire à celle observée expérimentalement. En particulier, les mesures des densités de maillage résultantes sont remarquablement proches de celles observées dans l'organisme. Pour compléter ce travail, il faudrait quantifier dans quelle mesure les structures résultantes influent sur la synchronisabilité du réseau et quantifier la réorganisation en présence d'un gradient de contributions au débit moyen pour les sources et d'imiter ainsi la présence d'un chimio-attractant.

Pour cela, on fait l'hypothèse que les amplitudes des contractions sont proportionnelles à la concentration de nutriments disponibles dans le substrat et on pondère les contributions des nœuds sources en conséquence, la figure V.17 présente une ébauche de ce travail).

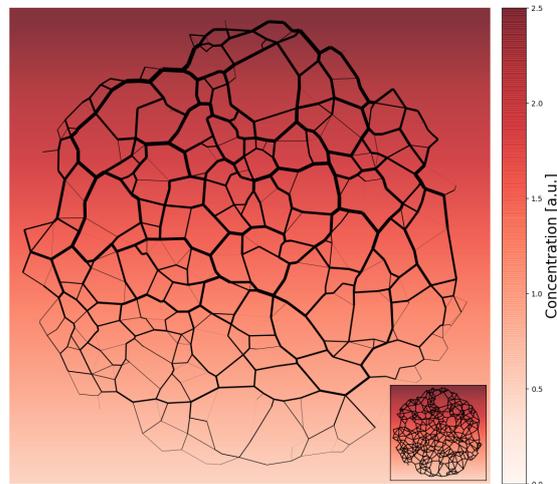


FIGURE V.17 – Réorganisation d'un réseau en présence d'une substance augmentant la contractilité. Les contributions des nœuds sources sont proportionnelles à la concentration de la substance. Initialement (réseau en encart) les rayons des veines sont uniformes. Le réseau final est asymétrique, les veines du front de forte concentration ont une plus grande conductivité et celle-ci décroît à mesure que l'on s'éloigne du front. Cette organisation diffère de celle observée dans des plasmodes en migration par l'absence de structure arborescente reliant l'arrière du réseau à l'avant plus réticulé.



## Conclusion et perspectives

---

Dans ce travail de thèse nous souhaitons avant tout nous intéresser aux mécanismes d'auto-organisation dans le Vivant. Comme nous l'avons souligné en introduction, l'exploitation de tels phénomènes par les systèmes vivants est une stratégie évolutive remarquable tant elle permet d'assurer des fonctions biologiques complexes à moindre coût. Nous avons choisi d'étudier ces phénomènes au sein de l'organisme modèle *P. polycephalum*, un unicellulaire géant et structurellement "simple", qui présente toutefois une riche phénoménologie comportementale. En particulier, en raison de sa taille macroscopique, cette cellule géante rencontre des problématiques de transport que l'on trouve habituellement chez les organismes multicellulaires plus complexes. Celle-ci développe un réseau tubulaire dans lequel des écoulements sont générés par la contraction de la couche membraneuse entourant les tubes. Sur des échelles de temps courtes, on observe une auto-organisation de l'activité contractile qui se manifeste sous la forme d'ondes de contraction se propageant sur l'entièreté de la cellule, permettant ainsi de générer un flux cytoplasmique nécessaire à la croissance ou lors de la migration de l'organisme. À des échelles de temps longues, on observe une auto-organisation de l'architecture du réseau permettant de répartir efficacement les divers signaux biochimiques au sein de l'organisme.

Afin d'étudier ces phénomènes, nous avons mis au point un protocole de culture et développé un dispositif d'imagerie en transmission permettant d'observer à la fois la structure du réseau et les ondes de contractions parcourant l'organisme.

Ensuite, une part importante du travail effectué au cours de cette thèse a été consacré au développement des outils numériques de traitement d'images et de traitement du signal adaptés à *P. polycephalum*. Nous avons vu que les outils classiques de segmentation n'étaient pas efficaces pour obtenir la structure du réseau avec précision, du fait de la grande gamme

d'échelles spatiales sur laquelle celui-ci s'étend. De même, l'activité contractile dans le Vivant est trop "bruitée" pour que l'on puisse analyser sérieusement ses propriétés spectrales par les techniques classiques telles que les transformées de Fourier. *In fine*, les outils numériques que nous avons développés nous permettent d'une part de reconstruire le réseau et analyser ses propriétés statistiques, et d'autre part d'analyser l'amplitude et la fréquence des ondes de contraction en tout point de la cellule.

Armés de ces outils, nous avons d'abord étudié les différentes phases de l'activité contractile et leur lien avec le développement et la réorganisation du réseau. Nous avons vérifié que l'auto-organisation de l'activité contractile sur des échelles comparables à la taille du plasmode coïncidait avec les phases de croissance et de migration du plasmode. Réciproquement, en dehors de ces phases, l'activité contractile en différents points du plasmode est décorellée et aucun flux net n'est généré. De plus nous avons mis en évidence un lien entre la direction de propagation des ondes de contraction et la réorganisation du réseau. Tandis qu'une coordination marquée induit un renforcement des veines orientées selon le sens de propagation des ondes contractiles, les phases de désynchronisation conduisent à une réorganisation globale du réseau dont le degré de réticulation diminue.

Afin d'étudier plus finement le couplage entre l'activité contractile et les flux cytoplasmiques générés, nous avons ensuite confiné l'organisme dans une chambre de géométrie annulaire dont on a pu faire varier le rayon et la largeur de l'anneau. Cette géométrie quasi-unidimensionnelle simplifie l'étude de ce couplage, qui est fortement non local, et permet de classifier les motifs contractiles. De plus, le confinement permet de bloquer la migration et la croissance. Bien que la classification systématique des motifs contractiles se soit avérée plus difficile que prévu, nous avons observé deux modes principaux associés à deux type d'écoulements (péristaltique et amphistaltique), correspondant à ceux prédits par le modèle numérique réalisé par Julien & Alim [117]. Toutefois, nous n'avons pas pu conclure sur le lien supposé entre longueur d'onde et périmètre de l'anneau prédite par cette même étude. De plus, nous avons également observé d'autres motifs d'écoulements qui ne sont prédits par aucun modèle à notre connaissance.

Nous avons montré qu'il était possible d'inférer les flux cytoplasmiques à partir des variations spatio-temporelles du champ d'épaisseur. Les modes péristaltiques, qui génèrent un flux net dans le sens de propagation de l'onde, sont l'équivalent unidimensionnel des ondes propagatives impliquées dans les phénomènes de croissance ou migration du plasmode. À ce

titre, il est remarquable que ces modes apparaissent ici alors même que ces phénomènes sont bloqués. Cela n'est possible qu'à cause de la géométrie périodique choisie. De plus, au cours de cette étude, nous avons observé que ces modes propagatifs pouvaient soudainement changer de sens. Cette observation remet en question l'hypothèse souvent avancée dans la littérature de la pré-existence d'un contraste de rigidité selon l'axe antéro-postérieur du plasmode pour expliquer la brisure de symétrie à l'origine du sens de propagation des ondes de contraction (et donc de migration du plasmode).

Enfin, sur le plan de la modélisation, nous avons développé les outils numériques permettant de caractériser les propriétés géométriques et topologiques des réseaux de veines plasmodiales. De ces propriétés nous avons proposé une méthode pour générer des réseaux planaires comparables. Nous avons également proposé un modèle de réorganisation du réseau basé sur la minimisation de la puissance dissipée par frottement visqueux à contrainte de volume total fixé. Cette minimisation est réalisée en moyenne pour l'ensemble des paires de source (veine contractante) et de puits (veine dilatante) du réseau. Ce modèle s'appuie sur nos observations où la désynchronisation des contractions était étroitement liée à la réorganisation du réseau. Les réseaux obtenus présentent une organisation hiérarchique qualitativement similaire à celle des réseaux observés dans nos expériences. Cependant, les distributions des rayons des veines diffèrent entre modèle et expériences.

Les travaux menés ont prouvé l'intérêt que constituait *P. polycephalum* en tant qu'organisme modèle pour l'étude des phénomènes d'auto-organisation dans le Vivant. Toutefois, de nombreux points n'ont pu être abordés, faute de temps :

- Dans notre caractérisation des modes observés lorsque le plasmode était confiné en géométrie annulaire, il nous a été difficile de quantifier précisément la durée de vie moyenne de ces modes, qui nécessiterait une automatisation. De plus, la situation étudiée jusque-là est celle d'un plasmodium privé de nutriments ainsi que tout stimulus, de sorte que le passage d'un mode péristaltique à amphistaltique ou l'inverse ne semble pas avoir de rôle physiologique particulier dans cette configuration. Il serait intéressant de poursuivre ces travaux en étudiant comment l'ajout d'une source locale de nutriment ou d'un autre stimulus (notamment lumineux) modifiait les modes observés et leurs durées de vie.

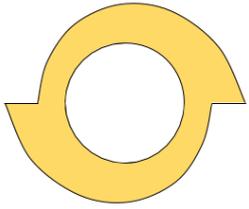


FIGURE VI.1. – Exemple de géométrie biaisée pouvant influencer le sens des écoulements.

- Sur la brisure de symétrie à l'origine de l'orientation des ondes propagatives le long du plasmode annulaire, il aurait été intéressant d'étudier l'influence de la géométrie du plasmode, par exemple en choisissant une géométrie annulaire avec un gap s'élargissant progressivement le long de l'anneau (voir figure VI.1).

- Concernant la méthode d'inférence des débits que nous avons développée, celle-ci a été vérifiée en comparant avec l'expression analytique du débit dans une conduite déformable générée par une onde de contraction de forme sinusoïdale. Une vraie validation *in situ* de la méthode aurait consisté à confronter le débit inféré à celui mesuré simultanément par une technique de vélocimétrie classique. La difficulté technique réside dans le fait que les deux mesures nécessitent des grossissements différents : la méthode par inférence nécessite d'avoir le champ d'épaisseur dans l'entièreté du plasmode, tandis que la technique de vélocimétrie requiert un grossissement suffisant pour pouvoir suivre les traceurs dans le fluide circulant.

- Afin de mieux comprendre le mécanisme d'auto-organisation de l'activité contractile, il aurait également été intéressant d'imager la concentration en ions Calcium simultanément à l'activité contractile. En effet, les ions Calcium jouant un rôle fondamental dans l'activité du complexe d'acto-myosine, l'advection de ces ions avec l'écoulement devrait fortement influencer la coordination des contractions. Toutefois, le plasmode étant fortement opaque, l'utilisation d'un microscope confocal s'avère sans doute nécessaire.

- Enfin, sur notre modélisation de la hiérarchisation du réseau, le modèle pourrait être enrichi en indexant les pondérations des contributions sur les corrélations spatiales des phases contractiles observées *in situ* (voir annexe C) afin d'avoir des valeurs des rayons obtenus plus proches de ceux observés expérimentalement. Pour compléter ce travail, on aurait également souhaité quantifier l'influence des structures résultantes sur la synchronisabilité du réseau, et modéliser la réorganisation en présence d'un chimio-attractant.

# Éléments de théorie des graphes

---

Cette annexe a pour objet d'introduire le lecteur à la théorie des graphes. Cette branche des mathématiques est vaste et plutôt "jargonneuse", aussi un style mêlant des phrases complètes, des notations mathématiques et des exemples est adopté. Cette annexe n'a pas pour but d'être exhaustive, j'y compile quelques notions d'ordre général et d'autres plus spécifiques à mon travail. Afin de faciliter la lecture aucune preuve ne sera donnée (le lecteur intéressé pourra les trouver facilement tant la littérature sur le sujet est riche).

Les graphes sont des abstractions mathématiques formalisant les inter-relations d'un ensemble d'entités. Il tiennent leur nom du fait qu'on peut les représenter sous forme graphique. Pour cela, on fait correspondre à chaque entité un point appelé nœud (également appelés sommets, par analogie avec des polyèdres) et les relations entre entités sont représentées par des lignes ou des flèches (appelées arêtes). Ces dernières ne sont pas nécessairement rectilignes. Ainsi, il existe une infinité de représentations graphiques pour un graphe donné.

## Définitions générales

**Définition 1** On appelle *graphe* un doublet  $G = (V, E)$  pour lequel :

- $V$  est un ensemble non vide fini de sommets (ou nœuds)
- $E$  est un ensemble fini d'arêtes (ou arcs) tel qu'à chaque arête on associe un  $n$ -uplet de sommets ( $n \geq 2$ ) appelés extrémités.

**Définition 2** La structure de l'ensemble des arêtes définit le type de graphe :

- Un **hypergraphe**, est un graphe  $G(V, E)$  pour lequel il existe au moins une arête  $e \in E$  associée à un  $n$ -uplet avec  $n \geq 3$ .
- Un **multigraphe** est un graphe  $G(V, E)$  admettant des arêtes parallèles.  
 $\exists \{e_1, e_2\} \in E^2, e_1 \neq e_2 \mid e_1 \mapsto (x, y), e_2 \mapsto (x, y)$ .  
Autrement dit, 2 arêtes différentes peuvent avoir les mêmes extrémités.
- Un **graphe dirigé** (ou **digraphe**) est un graphe  $G(V, E)$  tel que  $E$  est un sous-ensemble des paires ordonnées de  $V^2$ .

**Définition 3** Une arête ayant deux sommets identiques est appelée **boucle**.

**Définition 4** Un **graphe simple**  $G(V, E)$  est un graphe tel que  $E$  est un sous-ensemble des paires non-ordonnées de  $V^2$  ne contenant pas de **boucles**.

**Définition 5** Un **graphe pondéré** est un graphe pour lequel un poids est associé à chaque arête (on considérera uniquement le cas des poids positifs).

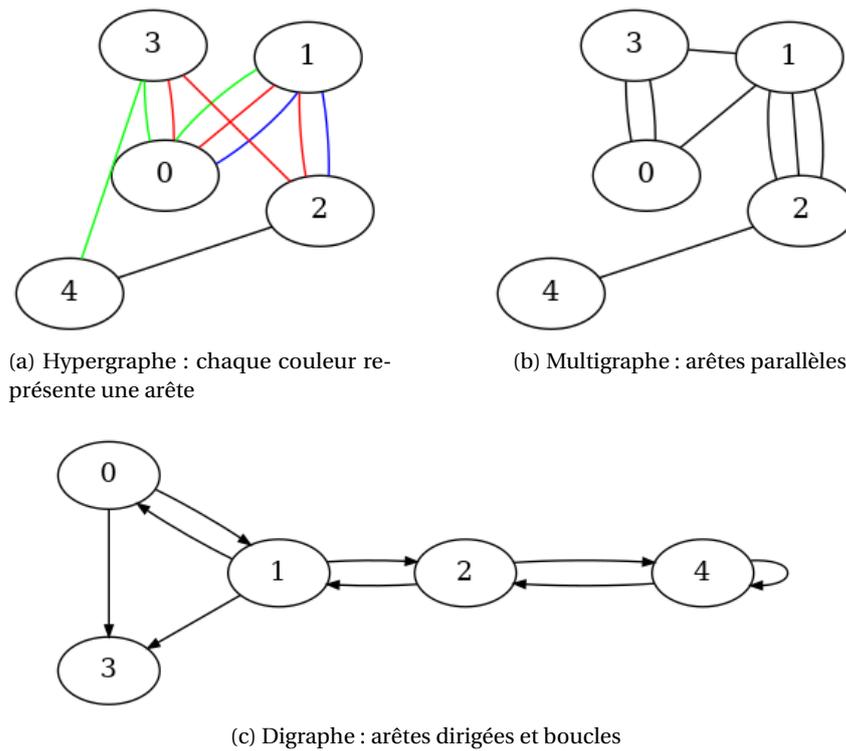


FIGURE A.1 – Exemples de graphes au sens large.

Pour ce travail nous nous intéresserons uniquement aux graphes pondérés simples et dirigés. Bien que de nombreuses définitions et résultats soient généralisables aux multigraphes [149] on les omettra dans la suite pour faciliter la lecture<sup>1</sup>.

**Définition 6** Un **chemin** est une suite d'arêtes consécutives, telle que chaque paire d'arêtes consécutives ont une extrémité en commun.

**Définition 7** Un **chemin dirigé** est un chemin tel que toutes les arêtes successives ont la même direction. C'est à dire que pour tout couple d'arêtes successives  $(e, e')$  d'un chemin dirigé tel que  $e = (v_1, v_2)$ ,  $e' = (v_3, v_4)$  on a  $v_2 = v_3$ .

**Définition 8** Un **circuit** (dirigé) est un chemin (dirigé) dont les extrémités terminales sont identiques. Autrement dit un circuit (dirigé) est un chemin (dirigé) reliant un nœud à lui-même. On appelle  $n$ -circuit, un circuit constitué de  $n$  arêtes.

**Définition 9** Un **graphe orienté** est un graphe simple auquel on assigne une orientation à chaque arête. Ce processus transforme le graphe initial en un graphe dirigé ne contenant pas de 2-circuit.

**Définition 10** On appelle **composant connexe** d'un graphe (dirigé)  $G(V, E)$ , un sous-graphe (dirigé)  $G'(V', E') \mid V' \in V, E' \in E$  tel qu'il existe un chemin (dirigé) reliant tout couple de nœuds  $(x, y) \in E'^2$ .

**Définition 11** • Un graphe simple composé d'un seul composant connexe est dit **connexe**.

1. Le lecteur intéressé par les hypergraphes pourra consulter l'ouvrage "Hypergraph Theory : An Introduction", Alain Bretto, Springer, 2015

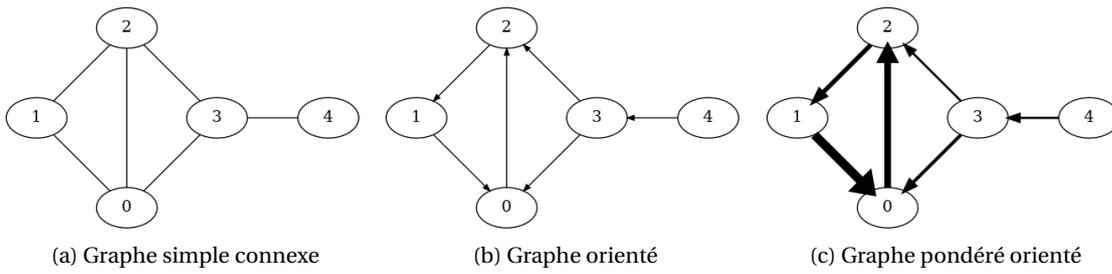


FIGURE A.2 – Exemples de graphes au sens restreint utilisé dans ce manuscrit. Graphe simple (a) sous-jacent au graphe orienté (b). Le graphe (c) résulte de l'application de la même orientation que (b) sur un graphe simple pondéré de même topologie que (a). Le graphe (a) est planaire et contient 2 faces ( $\{0,1,2\}$  et  $\{0,2,3\}$ ). Les graphes (b) et (c) ont un composant fortement connexe, c'est le sous-graphe induit par les nœuds  $\{0,1,2\}$ .

- Un graphe dirigé dont le graphe simple sous-jacent est composé d'un seul composant connexe est dit connexe.
- Un graphe dirigé composé d'un seul composant connexe est dit fortement connexe.

**Définition 12** Un graphe planaire un graphe qu'on peut représenter sur un plan sans qu'aucune arête n'en croise une autre.

**Théorème A.0.1** Soit un graphe simple planaire  $G(V, E)$ . On appelle face, les régions du plan délimitées par un ensemble d'arêtes qui ne contiennent ni d'autres arêtes ni d'autres nœuds. Un graphe simple planaire satisfait la formule d'Euler :  $N_v - N_e + N_f = k + 1$  ou  $N_v = |V|$ ,  $N_e = |E|$  et ou  $N_f$  est le nombre de faces et  $k$  le nombre de composants connexes de  $G$ .

**Définition 13** Étant donné un graph  $G(V, E)$ , on appelle **graphe adjoint** (ou line graphe) le graphe  $L(G)$  tel que :

- Chaque sommet de  $L(G)$  correspond à une unique arête de  $G$ .
- 2 noeuds de  $L(G)$  sont adjacents si et seulement si, leurs arêtes correspondantes sont incidentes dans  $G$  (elles ont une extrémité en commun).

## Représentation algébrique

Les graphes simples, et orientés sont facilement représentables sous forme matricielle ce qui permet de les manipuler aisément.

**Définition 14** Étant donné un graphe simple ou dirigé  $G(V, E)$  tel quel  $|V| = n$ , on appelle **matrice d'adjacence** de  $G$ , la matrice  $A^{n \times n}$  telle que :

$$A_{ij} = \begin{cases} 1, & \text{si } (i, j) \in E \\ 0, & \text{sinon} \end{cases} \tag{A.1}$$

**Définition 15** Étant donné un graphe simple  $G(V, E)$  tel quel  $|V| = n$ , on appelle **matrice d'adjacence pondérée** de  $G$ , la matrice  $W^{n \times n}$  telle que :

$$W_{ij} = \begin{cases} w_{ij}, & \text{si } (i, j) \in E, w_{ij} \in \mathbb{C} \\ 0, & \text{sinon} \end{cases} \tag{A.2}$$

**Corollaire A.0.1.1** Les matrices d'adjacence d'un graphe simple sont symétriques ( $A = A^T, W = W^T$ ).

**Définition 16** *Étant donné un graphe simple  $G(V, E)$  tel quel  $|V| = n$ , on appelle **matrice des degrés** de  $G$ , la matrice  $\Delta^{n \times n}$  telle que :*

$$\Delta_{ij} = \sum_k W_{ik} \delta_{ij} \quad (\text{A.3})$$

Où  $\delta_{ij}$  est le symbole de Kronecker.

**Corollaire A.0.1.2** *Pour un graphe dirigé, on définit les matrices des degrés entrants et sortants  $\Delta^{in}$  et  $\Delta^{out}$  par :*

$$\Delta_{ij}^{in} = \sum_k W_{ki} \delta_{ij} \quad (\text{A.4})$$

$$\Delta_{ij}^{out} = \sum_k W_{ik} \delta_{ij} \quad (\text{A.5})$$

**Définition 17** *Étant donné un graphe  $G(V, E)$  tel quel  $|V| = n$  et  $|E| = m$ , on appelle **matrice d'incidence** de  $G$ , la matrice  $\mathbf{B}^{n \times m}$  telle que*

$$B_{ie} = \begin{cases} -1, & \text{si } e = (i, j) \in E \\ 1, & \text{si } e = (j, i) \in E \\ 0, & \text{sinon} \end{cases} \quad (\text{A.6})$$

Pour un graphe simple,  $E$  est un ensemble de paires non-ordonnées. On choisit alors une orientation arbitraire des arêtes. Dans ce cas, chaque colonne de  $\mathbf{B}$  à une somme nulle. Cette matrice existe également en version pondérée. On la construit similairement en remplaçant les entrées  $\pm 1$  par le poids des arêtes  $\pm w_e$ . Et sa version non signée  $\tilde{\mathbf{B}}$  où toute les entrées non-nulles sont positives.

**Corollaire A.0.1.3** *Étant donné un graph  $G(V, E)$  de matrice d'incidence non signée  $\tilde{\mathbf{B}}$ . Le graphe adjoint  $L(G)$  a pour matrice d'incidence  $\mathbf{A}_{L(G)} = \tilde{\mathbf{B}}^\top \tilde{\mathbf{B}} - 2\mathbf{I}_d$*

## Matrices laplaciennes et spectre

Les matrices laplaciennes sont le pendant discret de l'opérateur laplacien. Selon le contexte on trouve plusieurs définitions. Commençons par définir la version standard  $\mathbf{L} = \Delta - \mathbf{W}$ .

$$L_{ij} = \begin{cases} \sum_k W_{ik} & \text{si } i = j \\ -W_{ij} & \text{sinon } A_{ij} = 1 \end{cases}$$

**Corollaire A.0.1.4** *La matrice laplacienne d'un graphe simple  $G$  est définie semi-positive. Ses valeurs propres  $\lambda_i$  (dans l'ordre croissant) sont positives  $\lambda_i \geq 0$ . La première valeur propre est nulle  $\lambda_0 = 0$  et sa multiplicité est  $k$  où  $k$  est le nombre de composantes connexes de  $G$*

L'équation de diffusion d'une quantité scalaire  $\phi$  sur un graphe s'écrit en l'absence de sources  $\frac{\partial \phi_i}{\partial t} = -C \sum_j W_{ij} (\phi_j - \phi_i)$  où  $C$  la conductivité "linéique"<sup>2</sup> des arêtes. On définit cette quantité pour l'ensemble des nœud  $\vec{\phi}$ . L'équation de diffusion en formulation matricielle s'écrit alors :

$$\frac{\partial \vec{\phi}}{\partial t} + \mathbf{C}\mathbf{L}\vec{\phi} = \vec{0} \quad (\text{A.7})$$

Le spectre de la matrice laplacienne contient un certain nombre de propriétés du graphe, il est particulièrement étudié en théorie spectrale des graphes. Ses vecteurs propres sont analogue à des modes de Fourier, ainsi on peut décomposer importe quelle fonction définie sur le graph sur la base des vecteurs propres. Les vecteur propres associés aux plus petites valeurs propres sont analogues à des sinus et cosinus basse fréquence.

2. Plus formellement :  $C$  est une conductivité par unité de pondération des arêtes.

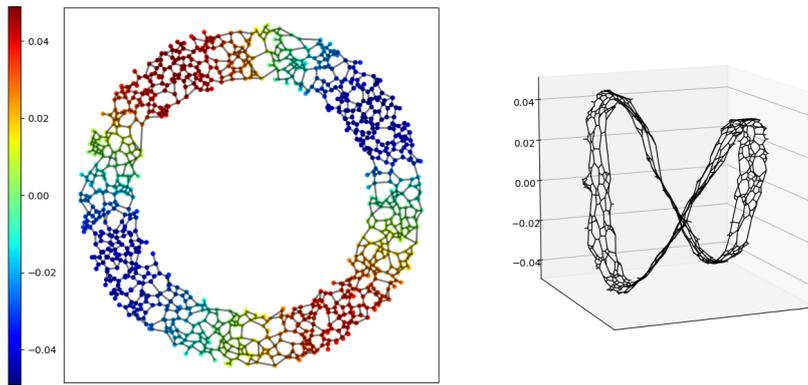


FIGURE A.3 – Représentation 3d d'un vecteur propre

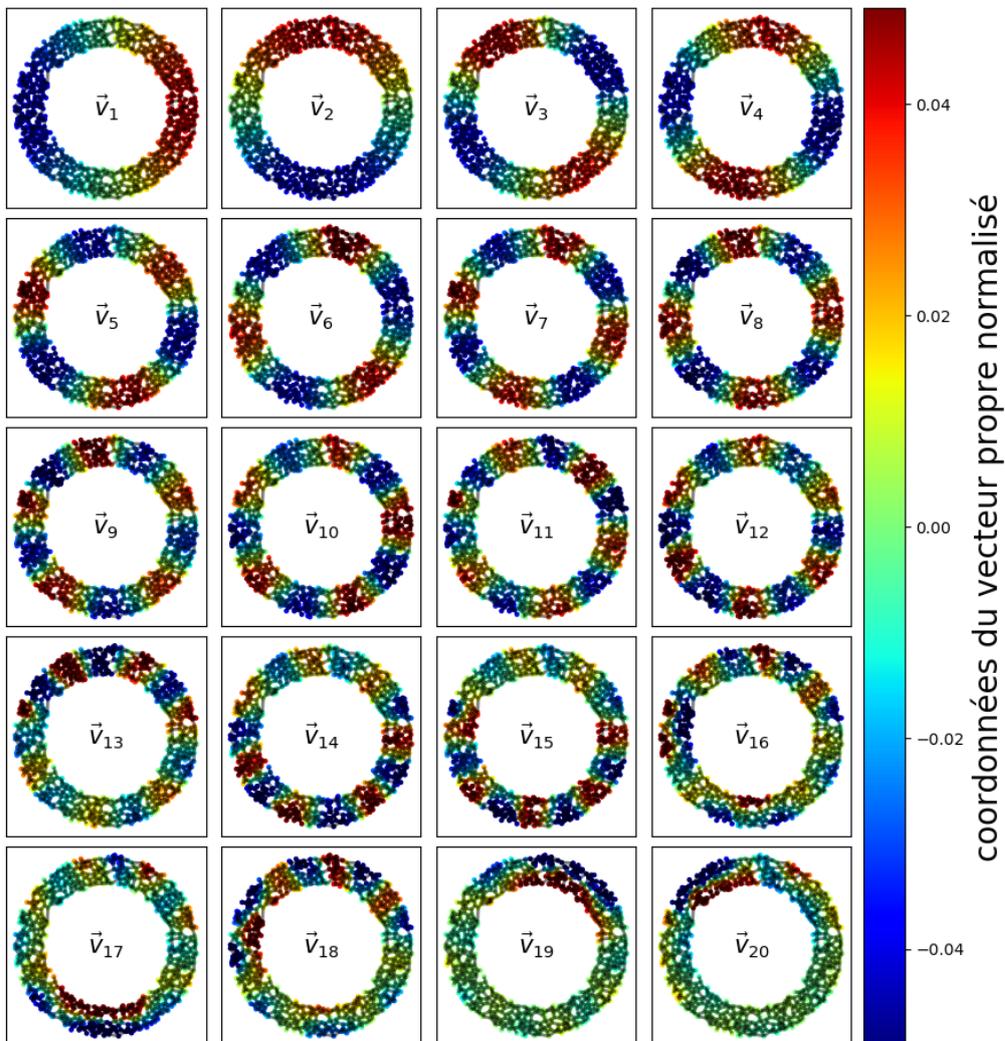


FIGURE A.4 – Premiers vecteurs propres d'un graphe annulaire appareillés en "sinus" et "cosinus".



## Inférence de flux

Dans cet annexe nous développons une méthode d'inférence de flux basée sur la résolution du problème de Monge-Kantorovitch<sup>1</sup> entre les distributions spatiales successives du cytoplasme.

### B.1. – Discrétisation du problème continu

Pour résoudre le plan de transport optimal entre les distributions successives de cytoplasme, on fait l'hypothèse que l'intensité lumineuse  $I(\vec{r}, t)$  et le champs d'épaisseur  $h(\vec{r}, t)$  sont liés par une loi de Beer-Lambert  $h(\vec{r}, t) = \lambda \ln\left(\frac{I^0}{I(\vec{r}, t)}\right)$  ou  $\lambda$  est la longueur d'absorption du cytoplasme supposée uniforme et dont la variation est négligeable entre deux instants successifs.  $I^0$  est l'intensité avec laquelle le cytoplasme est éclairé en transmission.

On fait également l'hypothèse de conservation du volume total de cytoplasme. On a alors l'égalité suivante pour 2 instants quelconques  $t_1$  et  $t_2$  :

$$\int_{\Omega(t_1)} h(\vec{r}, t_1) d\vec{r} = \int_{\Omega(t_2)} h(\vec{r}, t_2) d\vec{r} = V_{total} \quad (\text{B.1})$$

Avec  $\Omega(t)$ , la surface couverte par le cytoplasme à l'instant  $t$ . On considère maintenant le cas où  $\Omega(t)$  est constante et on adopte une formulation discrète. Pour cela on considère  $n$  éléments de surface  $dS_i$  de telle sorte qu'on peut considérer que l'intensité lumineuse (et donc le champs d'épaisseur) est uniforme sur chaque élément de surface.

Ces éléments de surface constituent l'ensemble  $V$  des nœuds d'un graphe simple pondéré  $G(V, E, W)$ . L'ensemble des arêtes  $E$  résulte des contacts entre éléments de surface deux à deux. Leurs pondérations  $W$  dépendent de la géométrie et du modèle hydrodynamique considéré. On construit les matrices d'adjacence  $\mathbf{A}_{n \times n}$  et d'adjacence pondérée  $\mathbf{W}_{n \times n}$ .

- Dans le cas du chapitre IV, les anneaux sont complètement recouverts de cytoplasme. Ce dernier n'est pas structuré (il n'y a pas véritablement de veines). On choisit un modèle d'écoulement en milieu poreux. Et on écrit les conductances hydrodynamiques entre deux éléments de surface  $i$  et  $j$  au contact  $W_{ij}(t) \propto w \frac{h_i(t)+h_j(t)}{2l_{ij}}$ , avec  $l_{ij} = \frac{2\pi r}{N}$  pour un anneau de rayon médian  $r$  et de largeur  $w$ . En introduisant le facteur de forme  $\beta = \frac{2\pi r}{w}$  on a finalement  $W_{ij}(t) \propto \frac{N}{\beta} \frac{h_i(t)+h_j(t)}{2}$
- Dans le cas du chapitre V, le cytoplasme est constitué d'un réseau de veines de longueurs constantes et de diamètres variables qu'on mesure. On choisit dans ce cas un modèle de Poiseuille :  $W_{ij}(t) \propto \frac{r_{ij}^4(t)}{l_{ij}}$

1. Ce problème consiste à trouver une fonction de transport optimal entre deux distributions. Le critère d'optimalité est atteint en minimisant une certaine fonction coût (ici, la puissance dissipée par les écoulements).

## B.2. – Graphe cyclique

### Termes sources et loi des nœuds

À bas nombre de Reynolds, les écoulements d'un fluide incompressible obéissent à la loi d'Ohm<sup>2</sup> de manière complètement analogue aux flux de charges électriques dans un conducteur.

$$\vec{Q} = -(C_x \Delta P_x \vec{e}_x + C_y \Delta P_y \vec{e}_y) \quad (\text{B.2})$$

Avec  $\vec{Q}$  le débit volumique (qu'on appellera également flux ou courant indifféremment),  $C_i$  la conductance hydrodynamique dans la direction  $i$  et  $\Delta P_i$  la différence de pression dans la direction  $i$ . On appelle  $Q_{ij}$  le courant unidirectionnel le long de l'arête reliant les nœuds  $i$  à  $j$  ( $Q_{ij} = -Q_{ji}$ ). Pour des conduites incompressibles, la somme des débits entrants dans un nœud est égale à la somme des débits sortants. La conservation des débits aussi appelée première loi de Kirchhoff s'écrit :

$$\sum_j Q_{ij} = F_i, \quad \forall i \quad (\text{B.3})$$

Avec  $F_i$  une source de courant au nœud  $i$ . Le courant entre dans le réseau pour  $F_i > 0$  et sort pour  $F_i < 0$ . Comme le volume est conservé dans l'ensemble du réseau, le vecteur  $\vec{F}$  doit être "équilibré" ( $\sum_i F_i = 0$ ). A partir de la première loi de Kirchhoff de la loi d'Ohm hydraulique on a pour chaque nœud  $i$  :

$$F_i = \sum_j C_{ij} (P_i - P_j) \quad (\text{B.4})$$

En construisant le laplacien de la matrice des conductances  $\mathbf{L}$  tel que  $L_{ij} = (\delta_{ij} - 1)C_{ik} + \delta_{ij} \sum_k C_{ik}$ . On a l'équation matricielle suivante :

$$\mathbf{L}\vec{P} = \vec{F} \quad (\text{B.5})$$

Étant donné  $\vec{F}$  on peut remonter à la distribution de pressions en "inversant" la matrice laplacienne.

$$\vec{P} = \mathbf{\Lambda}\vec{F} \quad (\text{B.6})$$

En réalité pour un graphe connexe simple  $\mathbf{L}$  est une matrice de rang  $n-1$  et n'est pas directement inversible. On remarque aisément que  $\sum_j L_{ij} = 0, \forall i$  ce qui implique que  $\mathbf{L}\vec{1}_n = \vec{0}$ .  $\mathbf{\Lambda}$  est la pseudo-inverse de Moore-Penrose de  $\mathbf{L}$  qui satisfait  $\mathbf{L}\mathbf{\Lambda}\mathbf{L} = \mathbf{L}$  [150]. Cette matrice généralise la notion d'inverse sur le sous-espace de  $\mathbb{R}^n$  complémentaire du noyau<sup>3</sup> de  $\mathbf{L}$ . On la construit suivant l'équation :

$$\Lambda_{ij} = \sum_{k=2}^n (\vec{v}_k)_i \frac{1}{\lambda_k} (\vec{v}_k)_j \quad (\text{B.7})$$

Où  $(\lambda_k, \vec{v}_k)$  sont les paires de valeurs et vecteurs propres normalisés de  $\mathbf{L}$  tels que  $0 = \lambda_1 \leq \lambda_2 \leq \dots \leq \lambda_n$  et  $\vec{v}_1 = \frac{1}{\sqrt{n}} \vec{1}_n$ . Les potentiels de pression sont alors donnés par :

$$\vec{P} = \mathbf{\Lambda}\vec{F} \quad (\text{B.8})$$

$$P_i = \sum_j \sum_{k=2}^n (\vec{v}_k)_i \frac{1}{\lambda_k} (\vec{v}_k)_j F_j \quad (\text{B.9})$$

Cette équation est au cœur de notre méthode de calcul de débits. À partir des différence de potentiels de pression des nœuds adjacents on peut calculer le débit  $Q_{ij}(t) = C_{ij} (P_i - P_j)$  le

2.  $\vec{j} = -\sigma \vec{\nabla} V$ , avec  $\vec{j}$  la densité de courant,  $\sigma$  le tenseur de conductivité et  $V$  le potentiel électrique

3. Une matrice  $\mathbf{A}_{p \times q}$  est un morphisme de  $\mathcal{E}$  dans  $\mathcal{F}$  (avec  $\dim(\mathcal{E}) = p$  et  $\dim(\mathcal{F}) = q$ ). On appelle noyau ou *nullspace* de l'application le sous-espace de  $\mathcal{E}$  qui a pour image  $\vec{0}$  dans  $\mathcal{F}$ . Autrement dit c'est le sous espace engendré par les vecteurs colonnes  $\vec{v}$  non nuls satisfaisants  $\mathbf{A}\vec{v} = \vec{0}$ .

long des arêtes étant données leurs conductances.

Étant donné que les débits résultent des différences de pressions on peut facilement se convaincre que restreindre l'inversion sur l'espace orthogonal à  $\vec{\mathbb{T}}_n$  ne modifie pas le résultat (de la même manière qu'une fonction potentiel est définie à une constante additive près).

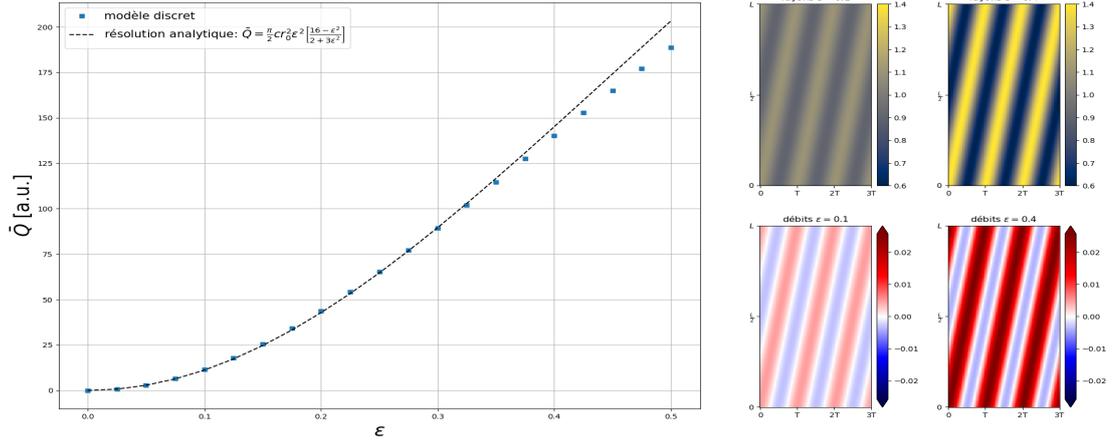
À chaque instant, on calcule les termes source à chaque nœud  $i$  :  $F_i(t) = \frac{d\tilde{V}_i(t)}{dt}$  avec le volume normalisé à chaque instant  $\tilde{V}_i(t) = \frac{V_i(t)}{\sum_i V_i(t)}$  et  $V_i(t) = S_i h_i(t)$  avec  $S_i$  est la surface de l'élément source.

### Onde péristaltique dans un tube cylindrique

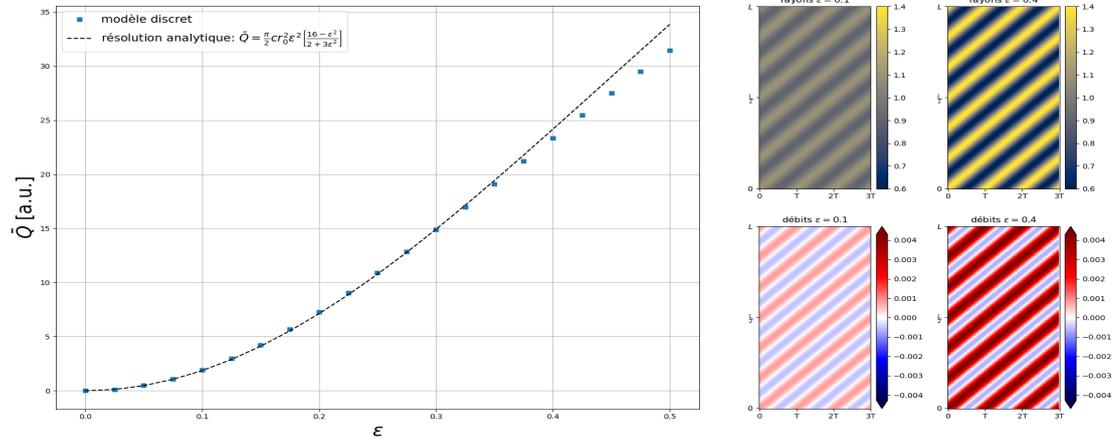
Pour tester notre méthode d'inférence, on considère un tube rempli par un fluide visqueux à la surface duquel se propage une onde sinusoïdale. La géométrie du tube est axisymétrique dans la direction  $z$  et le rayon du tube  $r(z, t)$  suit l'équation

$$r(z, t) = r_0 \left[ 1 + \epsilon \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda}(z - ct)\right) \right] \quad (\text{B.10})$$

Avec  $\epsilon$  l'amplitude relative d'oscillation autour du rayon moyen  $\bar{r} = r_0$ ,  $\lambda$  la longueur d'onde et  $c$  la vitesse de propagation de l'onde à la paroi du tube. Ce modèle d'écoulements péristaltiques a été largement étudié aussi bien pour la compréhension de la motilité de micro-organismes [151], que pour la compréhension des mécanismes de reflux dans l'urètre pouvant conduire à la contamination de la vessie [152]. Le fonctionnement des pompes péristaltiques repose également sur ce modèle de parois mobiles. Le cas qui nous intéresse concerne les écoulements dans un tube à bas nombre de Reynolds. Dans le cas de *Physarum polycephalum*, l'approximation des grandes longueurs d'onde ( $\lambda \gg \epsilon$ ) est souvent faite dans la littérature. Cependant Barton et Raynor [153] dérivent analytiquement le débit moyen pour des longueurs d'ondes pouvant être aussi petites que le rayon moyen  $r_0$ . Leur analyse donne  $\bar{Q} = \frac{\pi}{2} c r_0^2 \epsilon^2 \left[ \frac{16 - \epsilon^2}{2 + 3\epsilon^2} \right]$ .



(a) Débits moyens en fonction de l'amplitude relative à gauche pour une onde péristaltique dans un tube de longueur d'onde  $\lambda = L$  et de vitesse  $c = \frac{L}{T}$ . Les kymographes des rayons et des débits pour 2 amplitudes relatives  $\epsilon = 0.1$  et  $\epsilon = 0.4$  sont visibles à droite.



(b) Débits moyens en fonction de l'amplitude relative pour une onde péristaltique dans un tube de longueur d'onde  $\lambda = \frac{L}{6}$  et de vitesse  $c = \frac{L}{6T}$ . Les kymographes des rayons et des débits pour 2 amplitudes relatives  $\epsilon = 0.1$  et  $\epsilon = 0.4$  sont visibles à droite.

FIGURE B.1 – Comparaisons entre les débits moyens théoriques prédits par Barton et Raynor [153] et les débits moyens inférés par notre méthode pour une contraction sinusoïdale.

### B.3. – Généralisation aux graphes complexes

Dans le réseau formé par *Physarum polycephalum* ce sont les veines qui sont les sources des écoulements. Tandis que cette spécificité ne pose pas de problème sur un graphe cyclique, l'inférence de flux nécessite une étape supplémentaire pour des graphes plus complexes. Après segmentation (détaillée au chapitre II) nous avons une structure de graphe connexe  $G(V, E)$  ainsi que la longueur  $l_{ij}$  et le rayon moyenné le long de chaque veine. Appareiller chaque veine et chaque nœud du réseau à deux instants différents est compliqué et couteux en ressources de calcul. On considèrera une structure statique pour laquelle les rayons sont calculés à partir de l'intensité lumineuse des pixels associée à chaque veine.

Supposons donc que nous ayons à chaque instant un volume normalisé  $\tilde{V}_{ij}(t)$  associé à chaque veine tel que  $\forall t, \sum_{(i,j) \in E} \tilde{V}_{ij}(t) = V_{tot} \equiv 1$ . Les termes sources étant situés sur les arêtes, nous pouvons résoudre l'équation B.9 sur un nouveau graphe augmenté d'autant de nœuds qu'il y a de veines dans le réseau. Ces nouveaux nœuds porteront les termes sources non nuls

tandis que l'ensemble des nœuds restant correspond aux intersections et leurs termes sources sont nuls. Néanmoins, l'augmentation de la taille des matrices à inverser ( $\mathcal{N}_E + \mathcal{N}_V$  nœuds) rend cette méthode peu efficace. Pour optimiser les ressources numérique, nous allons inférer les flux sur le graphe adjoint (ou line graph)  $L(G)$  qui contiennent  $\mathcal{N}_E$  nœuds.

### Graphe adjoint

Le graphe adjoint  $L(G)$  est formé à partir du graphe  $G$  tel que chaque arête de  $G$  est associée à un unique nœud de  $L(G)$ . Soit une arête  $(i, j)$  de  $G$  associée au nœud  $e_k$  dans  $L(G)$ . On dit que  $e_k$  est "l'enfant" de  $i$  et  $j$  et on note  $\mathcal{E}(i, j) = e_k$ . Réciproquement, on dit que  $\{i, j\}$  sont les "parents" de  $e_k$  qu'on note  $\mathcal{P}(e_k) = \{i, j\}$ .

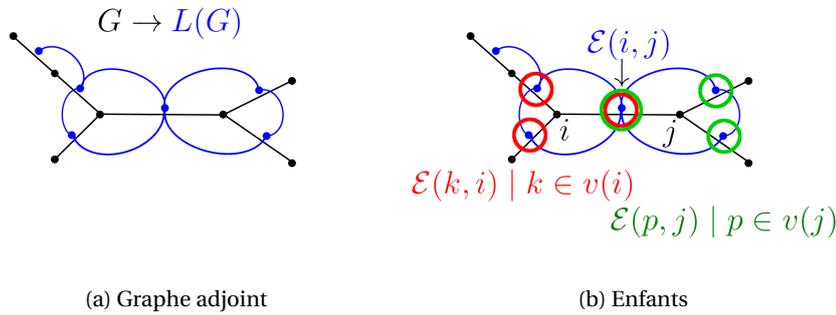


FIGURE B.2 – Graphe adjoint, parenté et voisinages

Deux nœuds de  $L(G)$  sont reliés par une arête s'ils ont un parent en commun. Ce qui permet de construire la matrice d'adjacence de  $L(G)$  :  $A_{LG}$ <sup>4</sup>.

Pour pondérer les arêtes de  $L(G)$ , on crée en premier lieu une nouvelle pondération  $\tilde{W}$  pour  $G$  suivant :

- Pour toute arête  $(i, j)$  de  $G$  contenant un nœud terminal ( $deg(i) = 1$  ou  $deg(j) = 1$ ) on ne change pas la pondération :  $\tilde{W}_{ij} = C_{ij}$ .
- Dans le cas contraire ( $deg(i) \neq 1$  et  $deg(j) \neq 1$ ), on remplace la conductance par la conductance à mi distance de l'arête :  $\tilde{W}_{ij} = 2C_{ij}$ .

On utilise ensuite la *transformation étoile-polygone* ("star-mesh transform") pour composer les conductances. C'est une technique d'analyse de circuits électriques permettant de transformer un circuit électrique en forme d'étoile en un circuit équivalent avec un nœud de moins ( ce qui en terme de graphe revient à passer d'une topologie d'étoile à  $n$  branches ( $n+1$  nœuds) à la topologie adjointe : un graphe  $n$ -complet) [154, 155] (voir figure B.3). Pour un nœud  $j$  de  $G$  tel que  $deg(j) > 1$ , on a alors  $W_{L(G), e_a e_b} = \frac{\tilde{W}_{ij} \tilde{W}_{jk}}{\sum_{p \in \mathcal{V}(j)} \tilde{W}_{jp}}$ . A partir de  $W_{L(G)}(t)$  et de  $\vec{V}(t)$  on peut inférer les débits  $Q^L(t)$  sur le graphe adjoint comme précédemment.

Enfin on remonte aux flux entrants et sortants dans les arêtes de  $G$  :  $Q^{in}(t)$   $Q^{out}(t)$ .

$$Q_{ij}^{out} = \sum_{p \in \mathcal{V}(j)} Q_{\mathcal{E}(i,j)\mathcal{E}(p,j)}^L$$

$$Q_{ij}^{in} = \sum_{k \in \mathcal{V}(i)} Q_{\mathcal{E}(k,i)\mathcal{E}(i,j)}^L$$

$$Q_{ij}^{out} = -Q_{ji}^{in}$$

Ou encore  $Q^{out} = -(Q^{in})^T$ . Puisque les arêtes ont des volumes qui varient on a en général

4. On peut également la construire avec  $\tilde{B}$  la matrice d'incidence non signée de  $G$   $A_{L(G)} = \tilde{B}^T \tilde{B} - 2I_d$ .

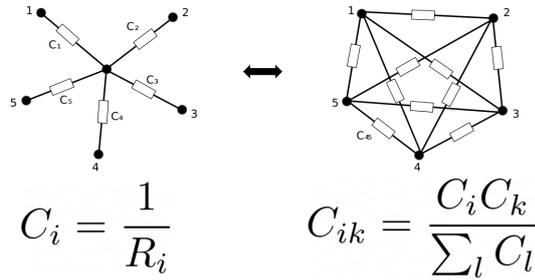


FIGURE B.3 – star-mesh transform

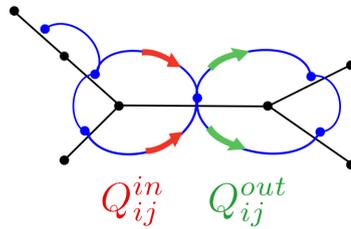


FIGURE B.4 – Flux entrant et sortants sur le graphe adjoint.

$\mathbf{Q}^{in}(t) \neq \mathbf{Q}^{out}(t)$ . Néanmoins pour chacun des flux la loi des nœuds est vérifiée  $\sum_j Q_{ij}^{in} = 0$  et  $\sum_i Q_{ij}^{out} = 0$ . La représentation des écoulements à la fois entrants et sortants pour chaque arête est difficilement lisible.

On introduit le flux moyen traversant une arête  $\tilde{Q}_{ij} = \frac{Q_{ij}^{in} + Q_{ij}^{out}}{2}$ . Cette expression vérifie  $\tilde{Q}_{ij} = -\tilde{Q}_{ji}$  ce qui permet de représenter une seule valeur par arête. En rappelant  $F_{\mathcal{E}(i,j)} + Q_{ij}^{in} = Q_{ij}^{out}$  La loi des nœuds vérifie :

$$\begin{aligned} \sum_j \tilde{Q}_{ij} &= \frac{1}{2} \sum_j Q_{ij}^{in} + Q_{ij}^{out} \\ &= \frac{1}{2} \sum_j Q_{ij}^{out} \\ &= \frac{1}{2} \sum_j F_{\mathcal{E}(i,j)} + Q_{ij}^{in} \\ &= \frac{1}{2} \sum_j F_{\mathcal{E}(i,j)} - Q_{ji}^{out} \\ &= \frac{1}{2} \sum_j F_{\mathcal{E}(i,j)} \end{aligned}$$

Ce qui revient à travailler sur le graphe  $G$  initial avec les termes sources des arêtes redistribués équitablement sur les 2 nœuds formant ses extrémités, on a alors pour chaque nœud  $F_i = \frac{1}{2} \sum_j F_{\mathcal{E}(i,j)}$ .

---

## Analyse fonctionnelle des réseaux actifs

---

### C.0.1. – Fonction du réseau : dynamique aux temps court

On effectue une analyse aux temps courts des corrélations spatiales et temporelles des phases instantanées aux nœuds du réseau (figure C.1). Les corrélations temporelles (figure C.2 encarts de gauche) ont une signature typique des modes amphistaltiques et péristaltiques détaillés dans le chapitre précédent. Cette signature nous permet de supposer raisonnablement que les écoulements sont principalement orientés le long de l'anneau. On ne peut toutefois pas connaître leur répartition et en particulier leur amplitude au sein des différentes veines. Cette quantification est réservée pour un travail futur grâce à la généralisation de notre méthode d'inférence de flux utilisée au chapitre précédent (annexe B). En effet, les expériences présentées ne contiennent pas le réseau complet, et les parties tronquées fausseraient l'inférence.

Les corrélations spatiales (encarts du bas) sont qualitativement différentes selon la mesure de distance utilisée. Tandis que la distance géodésique révèle une anti-corrélation croissante pour des nœuds distants d'une distance supérieure à  $0,5 d_{max}$  (soit  $\simeq \frac{1}{4}$  de la circonférence), il n'y a pas d'anticorrélations franches pour la résistance géodésique et la résistance distance. Néanmoins on remarque en comparant avec les axes de la figure V.4 a), que le changement de signe des corrélations spatiales pour toutes les paires de points a lieu pour une résistance géodésique (et de la même manière pour la résistance distance) égale à la plus grande distance entre des paires de points appartenant la veine principale. Autrement dit, les contributions des phases instantanées des points proches séparés par le lit capillaire résistif sont compensées par celles des points éloignés séparés par des chemins de résistance moindre. Au delà, on observe des structures de très faibles amplitudes mais suffisamment cohérentes pour être signalées sur les cartes "*distance* –  $\delta t$ ". Celles-ci pourraient être des résidus liés au déphasage entre la veine principale et le lit capillaire l'entourant mais notre méthode d'agrégation des corrélations sans classification (veine principale / lit capillaire) ne nous permet pas de conclure sur cette question.

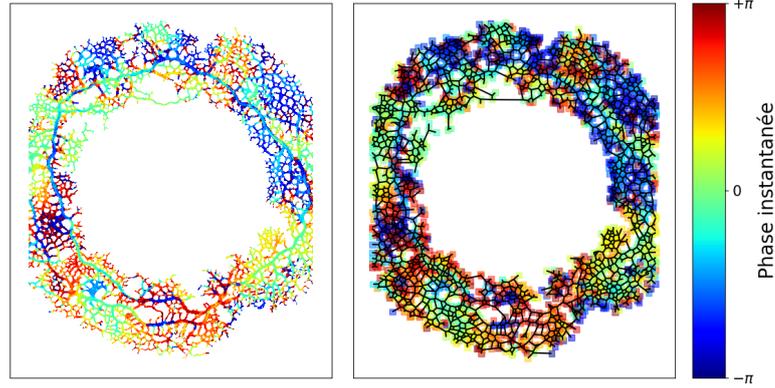


FIGURE C.1 – Phase instantanée d'un plasmode confiné dans une région annulaire et sa représentation sous forme de graphe planaire. La phase instantanée aux intersections est enregistrée et assignée aux nœuds du graphe.

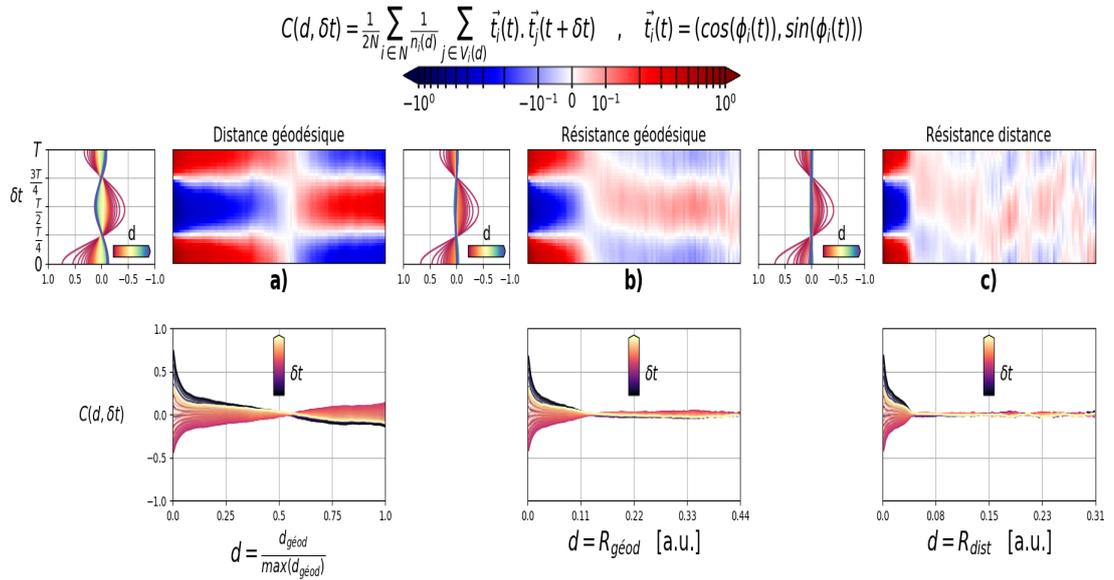


FIGURE C.2 – Mesures des corrélations entre les phases instantanées  $\phi_i(t)$  et  $\phi_j(t + \delta t)$  pour toutes les paires de nœuds  $(i, j)$  du réseau. Les cartes **a-c** représentent la répartition des corrélations avec le décalage temporel  $0 \leq \delta t \leq T$  en ordonnée (avec  $T$  la pseudo période d'oscillation) et différentes métriques en abscisses. Le code couleur des cartes est en échelle *double lin-log* pour rendre visible des structures. Les amplitudes sont également représentées à gauche et en dessous de chaque carte. À  $d = 0$  la corrélation temporelle a une forme sinusoïdale typique des phénomènes oscillants. Lorsque  $d$  augmente, la corrélation oscille pour la *distance géodésique* (le plus court chemin) **a**). Autrement dit, les nœuds de l'anneau diamétralement opposés sont en opposition de phase ce qui est typique des modes péri et amphistaltiques. Pour les métriques *résistance géodésique* (le chemin de plus petite résistance) **b**) et *résistance distance* (la résistance équivalente) **c**), il y a une rapide décorrélation aussi bien spatialement que temporellement. Pour ces dernières, la corrélation est nulle pour une distance correspondante à la plus grande distance correspondante le long de la veine principale V.4. Ce résultat apparemment en contradiction avec celui de la distance géodésique est dû à la hiérarchie du réseau : la contribution des nœuds en phase, plus proches géodésiquement mais moins accessibles hydrodynamiquement, est contrebalancée par celle des nœuds plus éloignés géodésiquement qui sont plus proches hydrodynamiquement.

---

# Bibliographie

---

- [1] P. W. Anderson. More is different. *Science*, 177(4047) :393–396, 1972.
- [2] Lewis David von Schweinitz and Christian Friedrich Schwagrichen. *Synopsis fungorum Carolinae superioris : secundum observationes; Ludovici Davidis de Schweinitz; edita a D.F. Schwaegrichen*. s.n., 1822.
- [3] Henry C. Aldrich. *Cell Biology of Physarum and Didymium V1 : Organisms, Nucleus, and Cell Cycle*. Academic Press, dec 2012.
- [4] Henry C. Aldrich. *Cell Biology of Physarum and Didymium V2 : Differentiation, Metabolism, and Methodology*. Academic Press, dec 2012.
- [5] Helmut Sauer. *Developmental Biology of Physarum (Developmental and Cell Biology Series)*. Cambridge University Press, oct 1982.
- [6] Timothy G. Burland, Lilianna Solnicakrezel, Juliet Bailey, David B. Cunningham, and William F. Dove. Patterns of inheritance, development and the mitotic cycle in the protist physarum polycephalum. In *Advances in Microbial Physiology*, pages 1–69. Elsevier, 1993.
- [7] A. Adamatzky. Routing physarum with repellents. *The European Physical Journal E*, 31(4) :403–410, April 2010.
- [8] Wung-Wai Tso and Tag E. Mansour. Thermotaxis in a slime mold, physarum polycephalum. *Behavioral Biology*, 14(4) :499–504, August 1975.
- [9] T. Schreckenbach Donat-P. Häder. Phototactic orientation in plasmodia of the acellular slime mold, physarum polycephalum. *Plant and Cell Physiology*, January 1984.
- [10] David Vogel, Stamatios C. Nicolis, Alfonso Perez-Escudero, Vidyanand Nanjundiah, David J. T. Sumpter, and Audrey Dussutour. Phenotypic variability in unicellular organisms : from calcium signalling to social behaviour. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 282(1819) :20152322, November 2015.
- [11] Audrey Dussutour, Qi Ma, and David Sumpter. Phenotypic variability predicts decision accuracy in unicellular organisms. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 286(1896) :20182825, February 2019.
- [12] J. McCormick, Judith Blomquist, and Harold Rusch. Isolation and characterization of an extracellular polysaccharide from physarum polycephalum. *Journal of bacteriology*, 104 :1110–8, 01 1971.
- [13] C. R. Reid, T. Latty, A. Dussutour, and M. Beekman. Slime mold uses an externalized spatial "memory" to navigate in complex environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(43) :17490–17494, October 2012.

- [14] S. Kuroda, S. Takagi, T. Nakagaki, and T. Ueda. Allometry in physarum plasmodium during free locomotion : size versus shape, speed and rhythm. *Journal of Experimental Biology*, 218(23) :3729–3738, October 2015.
- [15] Ragnhild Halvorsrud and Geri Wagner. Growth patterns of the slime mold *Physarum* on a nonuniform substrate. *Physical Review E*, 57(1) :941–948, January 1998.
- [16] Atsuko Takamatsu, Eri Takaba, and Ginjiro Takizawa. Environment-dependent morphology in plasmodium of true slime mold *Physarum polycephalum* and a network growth model. *Journal of Theoretical Biology*, 256(1) :29–44, January 2009.
- [17] Peter J. M. Van Haastert and Leonard Bosgraaf. Food searching strategy of amoeboid cells by starvation induced run length extension. *PLoS ONE*, 4(8) :e6814, August 2009.
- [18] Surya G. Nurzaman, Yoshio Matsumoto, Yutaka Nakamura, Kazumichi Shirai, Satoshi Koizumi, and Hiroshi Ishiguro. From lévy to brownian : A computational model based on biological fluctuation. *PLoS ONE*, 6(2) :e16168, February 2011.
- [19] Philip Ball and Neil R Borley. *The self-made tapestry : pattern formation in nature*, volume 198. Oxford University Press Oxford, 1999.
- [20] Peter S Stevens. *Patterns In Nature, Boston : Atlantic*. Little, Brown Books, 1974.
- [21] E. B. Ridgway. Oscillations of calcium ion concentrations in *Physarum polycephalum*. *The Journal of Cell Biology*, 69(1) :223–226, April 1976.
- [22] D.A. Smith and R. Saldana. Model of the  $Ca^{2+}$  oscillator for shuttle streaming in *Physarum polycephalum*. *Biophysical Journal*, 61(2) :368–380, February 1992.
- [23] D. A. Smith. A local-oscillator theory of shuttle streaming in *Physarum polycephalum*. *Protoplasma*, 177(3-4) :171–180, September 1994.
- [24] G. F. Oster and G. M. Odell. Mechanics of cytogels i : Oscillations in *Physarum*. *Cell Motility*, 4(6) :469–503, 1984.
- [25] G. F. Oster and G. M. Odell. A mechanochemical model for plasmodial oscillations in *Physarum*. In *Modelling of Patterns in Space and Time*, pages 302–317. Springer Berlin Heidelberg, 1984.
- [26] V. A. Teplov. Autooscillations in *Physarum plasmodium* i. correlation between force generation and viscoelasticity during rhythmical contractions of protoplasmic strand. In *Protoplasma*, pages 81–88. Springer Vienna, 1988.
- [27] Vladimir A Teplov. Role of mechanics in the appearance of oscillatory instability and standing waves of the mechanochemical activity in the *Physarum polycephalum* plasmodium. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 50(21) :213002, May 2017.
- [28] Y. Yoshimoto, F. Matsumura, and N. Kamiya. Simultaneous oscillations of  $Ca^{2+}$  efflux and tension generation in the permealized plasmodial strand of *Physarum*. *Cell Motil.*, 1(4) :433–443, 1981.
- [29] Thi-Hanh Nguyen, Anne Eichmann, Ferdinand Le Noble, and Vincent Fleury. Dynamics of vascular branching morphogenesis : The effect of blood and tissue flow. *Physical Review E*, 73(6), June 2006.
- [30] Alia Al-Kilani, Sylvie Lorthois, Thi-Hanh Nguyen, Ferdinand Le Noble, Annemiek Cornelissen, Mathieu Unbekandt, Olena Boryskina, Loïc Leroy, and Vincent Fleury. During vertebrate development, arteries exert a morphological control over the venous pattern through physical factors. *Physical Review E*, 77(5), May 2008.

- [31] Werner Risau. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, 386(6626) :671–674, April 1997.
- [32] Toshiyuki Nakagaki, Hiroyasu Yamada, and Ágota Tóth. Maze-solving by an amoeboid organism. *Nature*, 407(6803) :470–470, September 2000.
- [33] T. Nakagaki, R. Kobayashi, Y. Nishiura, and T. Ueda. Obtaining multiple separate food sources : behavioural intelligence in the physarum plasmodium. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 271(1554) :2305–2310, November 2004.
- [34] Atsushi Tero, Ryo Kobayashi, and Toshiyuki Nakagaki. Physarum solver : A biologically inspired method of road-network navigation. *Physica A : Statistical Mechanics and its Applications*, 363(1) :115–119, April 2006.
- [35] Jacques Prost, Frank Jülicher, and Jean-François Joanny. Active gel physics. *Nature physics*, 11(2) :111–117, 2015.
- [36] Tamás Vicsek, András Czirók, Eshel Ben-Jacob, Inon Cohen, and Ofer Shochet. Novel type of phase transition in a system of self-driven particles. *Physical Review Letters*, 75(6) :1226–1229, August 1995.
- [37] John Toner and Yuhai Tu. Long-range order in a two-dimensional DynamicalXYModel : How birds fly together. *Physical Review Letters*, 75(23) :4326–4329, December 1995.
- [38] Martin Lenz, Todd Thoresen, Margaret L. Gardel, and Aaron R. Dinner. Contractile units in disordered actomyosin bundles arise from f-actin buckling. *Physical Review Letters*, 108(23), June 2012.
- [39] M. P. Murrell and M. L. Gardel. F-actin buckling coordinates contractility and severing in a biomimetic actomyosin cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(51) :20820–20825, December 2012.
- [40] K. Kruse, J. F. Joanny, F. Jülicher, J. Prost, and K. Sekimoto. Asters, vortices, and rotating spirals in active gels of polar filaments. *Physical Review Letters*, 92(7), February 2004.
- [41] K. Kruse, J. F. Joanny, F. Jülicher, J. Prost, and K. Sekimoto. Generic theory of active polar gels : a paradigm for cytoskeletal dynamics. *The European Physical Journal E*, 16(1) :5–16, January 2005.
- [42] F. Jülicher, K. Kruse, J. Prost, and J. F. Joanny. Active behavior of the cytoskeleton. *Physics Reports*, 449(1-3) :3–28, September 2007.
- [43] A. C. Callan-Jones and F. Jülicher. Hydrodynamics of active permeating gels. *New Journal of Physics*, 13(9) :093027, September 2011.
- [44] R. Voituriez, J. F. Joanny, and J. Prost. Spontaneous flow transition in active polar gels. *Europhysics Letters (EPL)*, 70(3) :404–410, May 2005.
- [45] Shiladitya Banerjee and M. Cristina Marchetti. Instabilities and oscillations in isotropic active gels. *Soft Matter*, 7(2) :463–473, 2011.
- [46] Markus Radszweit, Sergio Alonso, Harald Engel, and Markus Bär. Intracellular mechanochemical waves in an active poroelastic model. *Physical Review Letters*, 110(13), March 2013.
- [47] A. C. Callan-Jones and R. Voituriez. Active gel model of amoeboid cell motility. *New Journal of Physics*, 15(2) :025022, February 2013.
- [48] Carl A. Whitfield, Davide Marenduzzo, Raphaël Voituriez, and Rhoda J. Hawkins. Active polar fluid flow in finite droplets. *The European Physical Journal E*, 37(2), February 2014.

- [49] J. Prost, F. Jülicher, and J-F Joanny. Active gel physics. *Nature Physics*, 11(2) :111–117, February 2015.
- [50] T. Putelat, P. Recho, and L. Truskinovsky. Mechanical stress as a regulator of cell motility. *Physical Review E*, 97(1), January 2018.
- [51] A. Turing. The chemical basis of morphogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 237(641) :37–72, August 1952.
- [52] Hans Meinhardt. Models of biological pattern formation : From elementary steps to the organization of embryonic axes. In *Current Topics in Developmental Biology*, pages 1–63. Elsevier, 2008.
- [53] Arthur T. Winfree. *The Geometry of Biological Time*. Springer Berlin Heidelberg, 1980.
- [54] Valentin I. Krinsky Harry L. Swinney. *Waves and Patterns in Chemical and Biological Media (Special Issues of <i>Physica D</i>)*. A Bradford Book, 1991.
- [55] Raymond Kapral and Kenneth Showalter, editors. *Chemical Waves and Patterns*. Springer Netherlands, 1995.
- [56] J Tyson, H Schuster, and M Gerhardt. Simulation of wave processes in excitable media, manchester university press (1987). *Bulletin of Mathematical Biology*, 52(5) :697–700, 1990.
- [57] Alexander S. Mikhailov. *Foundations of Synergetics I*. Springer Berlin Heidelberg, 1994.
- [58] Eugene M Izhikevich. *Dynamical Systems in Neuroscience : The Geometry of Excitability and Bursting (Computational Neuroscience) by Izhikevich, Eugene M. (2010) Paperback (Computational Neuroscience Series)*. MIT Press, 2010.
- [59] V. A. Davydov, V. S. Zykov, and A S Mikhaïlov. Kinematics of autowave structures in excitable media. *Soviet Physics Uspekhi*, 34(8) :665–684, August 1991.
- [60] Matjaž Perc. Spatial coherence resonance in excitable media. *Physical Review E*, 72(1), July 2005.
- [61] Marc Courtemanche, Leon Glass, and James P. Keener. Instabilities of a propagating pulse in a ring of excitable media. *Physical Review Letters*, 70(14) :2182–2185, April 1993.
- [62] Hortensia González, Yoshihiko Nagai, G. Bub, Leon Glass, and Alvin Shrier. Reentrant waves in a ring of embryonic chick ventricular cells imaged with a  $ca^{2+}$  sensitive dye. *Biosystems*, 71(1-2) :71–80, September 2003.
- [63] Andrew Adamatzky. *Reaction-Diffusion Computers*. Elsevier Science, dec 2005.
- [64] A. Adamatzky, B. De Lacy Costello, and T. Shirakawa. Universal computation with limited resources : Belousov–Zhabotinsky and physarum computers. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 18(08) :2373–2389, August 2008.
- [65] Andrew Adamatzky and Jérôme Durand-Lose. Collision-based computing. In *Handbook of Natural Computing*, pages 1949–1978. Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [66] Filippo Radicchi and Hildegard Meyer-Ortmanns. Reentrant synchronization and pattern formation in pacemaker-entrained kuramoto oscillators. *Physical Review E*, 74(2), August 2006.
- [67] Daniel A. Wiley, Steven H. Strogatz, and Michelle Girvan. The size of the sync basin. *Chaos : An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 16(1) :015103, March 2006.

- [68] Karoly Denes, Bulcsu Sandor, and Zoltan Neda. Pattern selection in a ring of kuramoto oscillators. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 78 :104868, November 2019.
- [69] Juan A. Acebrón, L. L. Bonilla, Conrad J. Pérez Vicente, Félix Ritort, and Renato Spigler. The kuramoto model : A simple paradigm for synchronization phenomena. *Rev. Mod. Phys.*, 77 :137–185, Apr 2005.
- [70] J. W. Daniel, J. Kelley, and H. P. Rusch. Hematin-requiring plasmodial myxomycete. *J. Bacteriol.*, 84 :1104–1110, Nov 1962.
- [71] John W. Daniel and Helen H. Baldwin. Chapter 2 methods of culture for plasmodial myxomycetes. In *Methods in Cell Biology*, pages 9–41. Elsevier, 1964.
- [72] H. R. Henney and M. R. Henney. Nutritional requirements for the growth in pure culture of the myxomycete *Physarum rigidum* and related species. *Journal of General Microbiology*, 53(3) :333–339, October 1968.
- [73] E. M. Goodman. Axenic culture of myxamoebae of the myxomycete *Physarum polycephalum*. *J. Bacteriol.*, 111(1) :242–247, Jul 1972.
- [74] C. H. R. McCullough and J. Dee. Defined and semi-defined media for the growth of amoebae of *Physarum polycephalum*. *Journal of General Microbiology*, 95(1) :151–158, July 1976.
- [75] F.-S. Hu, J. Clark, and T. Lott. Recurrent senescence in axenic cultures of *Physarum polycephalum*. *Microbiology*, 131(4) :811–815, April 1985.
- [76] Romain P. Boisseau, David Vogel, and Audrey Dussutour. Habituation in non-neural organisms : evidence from slime moulds. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 283(1829) :20160446, April 2016.
- [77] W. G. Camp. A method of cultivating myxomycete plasmodia. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 63(4) :205, April 1936.
- [78] Chun-Min Lo, Hong-Bei Wang, Micah Dembo, and Yu li Wang. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate. *Biophysical Journal*, 79(1) :144–152, July 2000.
- [79] Ludovic G. Vincent, Yu Suk Choi, Baldomero Alonso-Latorre, Juan C. del Álamo, and Adam J. Engler. Mesenchymal stem cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength. *Biotechnology Journal*, 8(4) :472–484, February 2013.
- [80] Guillaume Charras and Erik Sahai. Physical influences of the extracellular environment on cell migration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(12) :813–824, October 2014.
- [81] Jie Yan, Bochu Wang, and Yong Zhou. A root penetration model of *Arabidopsis thaliana* in phytigel medium with different strength. *Journal of Plant Research*, 130(5) :941–950, March 2017.
- [82] John A. Jump. Studies on sclerotization in *Physarum Polycephalum*. *American Journal of Botany*, 41(7) :561–567, July 1954.
- [83] I. Chet and Naomi Kislev. Scanning electron microscopy of spherules of *Physarum polycephalum*. *Tissue and Cell*, 5(4) :545–551, January 1973.
- [84] Travis E. Oliphant. Python for scientific computing. *Computing in Science & Engineering*, 9(3) :10–20, 2007.
- [85] Stéfan van der Walt, Johannes L. Schönberger, Juan Nunez-Iglesias, François Boulogne, Joshua D. Warner, Neil Yager, Emmanuelle Gouillart, and Tony Yu. scikit-image : image processing in python. *PeerJ*, 2 :e453, June 2014.

- [86] L. Grady. Random walks for image segmentation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 28(11) :1768–1783, November 2006.
- [87] Steven K. Shevell. *The Science of Color*. Elsevier Science, 2003.
- [88] Christopher M. Bishop. *Pattern Recognition and Machine Learning (Information Science and Statistics)*. Springer, 2011.
- [89] M.J. Black, G. Sapiro, D.H. Marimont, and D. Heeger. Robust anisotropic diffusion. *IEEE Transactions on Image Processing*, 7(3) :421–432, March 1998.
- [90] Pedro F. Felzenszwalb and Daniel P. Huttenlocher. Efficient graph-based image segmentation. *International Journal of Computer Vision*, 59(2) :167–181, September 2004.
- [91] Luke Heaton, Boguslaw Obara, Vincente Grau, Nick Jones, Toshiyuki Nakagaki, Lynne Boddy, and Mark D. Fricker. Analysis of fungal networks. *Fungal Biology Reviews*, 26(1) :12–29, April 2012.
- [92] Mark D Fricker, Dai Akita, Luke LM Heaton, Nick Jones, Boguslaw Obara, and Toshiyuki Nakagaki. Automated analysis of Physarum network structure and dynamics. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 50(25) :254005, June 2017.
- [93] M. Dirnberger, T. Kehl, and A. Neumann. NEFI : Network extraction from images. *Scientific Reports*, 5(1), November 2015.
- [94] Jana Lasser and Eleni Katifori. NET : a new framework for the vectorization and examination of network data. *Source Code for Biology and Medicine*, 12(1), February 2017.
- [95] Prasad Tetali. Random walks and the effective resistance of networks. *Journal of Theoretical Probability*, 4(1) :101–109, January 1991.
- [96] Peter G. Doyle and J. Laurie Snell. *Random Walks and Electric Networks*. The Mathematical Association of America, 2009.
- [97] Sonu Kumar Jha, Purnendu Bannerjee, and Subhadeep Banik. Random walks based image segmentation using color space graphs. *Procedia Technology*, 10 :271–278, 2013.
- [98] Shizuo Kakutani. Markoff process and the dirichlet problem. *Proceedings of the Japan Academy*, 21(4) :227–233, 1945.
- [99] Fan R. K. Chung. *Spectral Graph Theory (CBMS Regional Conference Series in Mathematics, No. 92)*. American Mathematical Society, 1996.
- [100] Karen Alim, Natalie Andrew, Anne Pringle, and Michael P. Brenner. Mechanism of signal propagation in Physarum polycephalum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(20) :5136–5141, May 2017.
- [101] P. Welch. The use of fast fourier transform for the estimation of power spectra : A method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics*, 15(2) :70–73, June 1967.
- [102] Pierre Etévenon. *Brain Topography*, 12(2) :129–137, 1999.
- [103] John Canny. A computational approach to edge detection. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, PAMI-8(6) :679–698, November 1986.
- [104] P. V. C. Hough. Machine Analysis of Bubble Chamber Pictures. *Conf. Proc.*, C590914 :554–558, 1959.
- [105] Richard O. Duda and Peter E. Hart. Use of the hough transformation to detect lines and curves in pictures. *Communications of the ACM*, 15(1) :11–15, January 1972.

- [106] Raymond E. Goldstein and Jan-Willem van de Meent. A physical perspective on cytoplasmic streaming. *Interface Focus*, 5(4) :20150030, August 2015.
- [107] Elena F. Koslover, Caleb K. Chan, and Julie A. Theriot. Cytoplasmic flow and mixing due to deformation of motile cells. *Biophysical Journal*, 113(9) :2077–2087, November 2017.
- [108] Heiko Blaser, Michal Reichman-Fried, Irinka Castanon, Karin Dumstrei, Florence L. Marlow, Koichi Kawakami, Lilianna Solnica-Krezel, Carl-Philipp Heisenberg, and Erez Raz. Migration of zebrafish primordial germ cells : A role for myosin contraction and cytoplasmic flow. *Developmental Cell*, 11(5) :613–627, November 2006.
- [109] Jean-Paul Rieu, H el ene Delano e-Ayari, Seiji Takagi, Yoshimi Tanaka, and Toshiyuki Nakagaki. Periodic traction in migrating large amoeba of *Physarum polycephalum*. *Journal of The Royal Society Interface*, 12(106) :20150099, May 2015.
- [110] Motoki Tominaga, Atsushi Kimura, Etsuo Yokota, Takeshi Haraguchi, Teruo Shimmen, Keiichi Yamamoto, Akihiko Nakano, and Kohji Ito. Cytoplasmic streaming velocity as a plant size determinant. *Developmental Cell*, 27(3) :345–352, November 2013.
- [111] K. Yoshida. Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. *Journal of Cell Science*, 119(18) :3833–3844, August 2006.
- [112] Tim Lammermann, Bernhard L. Bader, Susan J. Monkley, Tim Worbs, Roland Wedlich-Soldner, Karin Hirsch, Markus Keller, Reinhold Forster, David R. Critchley, Reinhard Fassler, and Michael Sixt. Rapid leukocyte migration by integrin-independent flowing and squeezing. *Nature*, 453(7191) :51–55, May 2008.
- [113] F. Bosveld, I. Bonnet, B. Guirao, S. Tlili, Z. Wang, A. Petitalot, R. Marchand, P.-L. Bardet, P. Marcq, F. Graner, and Y. Bellaiche. Mechanical control of morphogenesis by fat/dachsous/four-jointed planar cell polarity pathway. *Science*, 336(6082) :724–727, April 2012.
- [114] K. Alim, G. Amselem, F. Peaudecerf, M. P. Brenner, and A. Pringle. Random network peristalsis in *Physarum polycephalum* organizes fluid flows across an individual. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(33) :13306–13311, July 2013.
- [115] D. L. Taylor, J. S. Condeelis, P. L. Moore, and R. D. Allen. THE CONTRACTILE BASIS OF AMOEBOID MOVEMENT. *The Journal of Cell Biology*, 59(2) :378–394, November 1973.
- [116] Eric Wolanski. Hydrodynamics of mangrove swamps and their coastal waters. *Hydrobiologia*, 247(1-3) :141–161, November 1992.
- [117] Jean-Daniel Julien and Karen Alim. Oscillatory fluid flow drives scaling of contraction wave with system size. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(42) :10612–10617, October 2018.
- [118] On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 235(1200) :67–77, April 1956.
- [119] I. Frankel and H. Brenner. On the foundations of generalized Taylor dispersion theory. *Journal of Fluid Mechanics*, 204(-1) :97, July 1989.
- [120] J. Salles, J.-F. Thovert, R. Delannay, L. Prevors, J.-L. Auriault, and P. M. Adler. Taylor dispersion in porous media. determination of the dispersion tensor. *Physics of Fluids A : Fluid Dynamics*, 5(10) :2348–2376, October 1993.
- [121] Shun Zhang, Juan C Lasheras, and Juan C del Alamo. Symmetry breaking transition towards directional locomotion in *Physarum microplasmidia*. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 52(49) :494004, September 2019.

- [122] Owen L Lewis and Robert D Guy. Analysis of peristaltic waves and their role in migrating *Physarum plasmodia*. *Journal of Physics D : Applied Physics*, 50(28) :284001, June 2017.
- [123] Werner Baumgarten, Tetsuo Ueda, and Marcus J. B. Hauser. Plasmodial vein networks of the slime mold *Physarum polycephalum* form regular graphs. *Physical Review E*, 82(4), October 2010.
- [124] Alexander V. Bykov, Alexander V. Priezzhev, Janne Lauri, and Risto Myllylä. Doppler OCT imaging of cytoplasm shuttle flow in *Physarum polycephalum*. *Journal of Biophotonics*, 2(8-9) :540–547, September 2009.
- [125] Tatiana I. Avsievich, Sergey V. Frolov, and Sergey G. Proskurin. Characterization of endoplasmic streaming in *physarum polycephalum* using direction sensitive laser doppler microscopy. *Optical and Quantum Electronics*, 48(2), January 2016.
- [126] R. Swaminathan, C.P. Hoang, and A.S. Verkman. Photobleaching recovery and anisotropy decay of green fluorescent protein GFP-s65t in solution and cells : cytoplasmic viscosity probed by green fluorescent protein translational and rotational diffusion. *Biophysical Journal*, 72(4) :1900–1907, April 1997.
- [127] Tatyana Gavrilchenko and Eleni Katifori. Resilience in hierarchical fluid flow networks. *Physical Review E*, 99(1), January 2019.
- [128] B. N. Delaunay. Sur la sphère vide. *Bull. Acad. Sci. URSS*, 1934(6) :793–800, 1934.
- [129] STEVEN FORTUNE. VORONOI DIAGRAMS and DELAUNAY TRIANGULATIONS. In *Lecture Notes Series on Computing*, pages 193–233. WORLD SCIENTIFIC, September 1992.
- [130] Godfried T. Toussaint. The relative neighbourhood graph of a finite planar set. *Pattern Recognition*, 12(4) :261–268, January 1980.
- [131] Roderick B. Urquhart. Some properties of the planar euclidean relative neighbourhood graph. *Pattern Recognition Letters*, 1(5-6) :317–322, July 1983.
- [132] J.W. Jaromczyk and G.T. Toussaint. Relative neighborhood graphs and their relatives. *Proceedings of the IEEE*, 80(9) :1502–1517, 1992.
- [133] David W. Matula and Robert R. Sokal. Properties of gabriel graphs relevant to geographic variation research and the clustering of points in the plane. *Geographical Analysis*, 12(3) :205–222, September 2010.
- [134] Joseph B. Kruskal. On the shortest spanning subtree of a graph and the traveling salesman problem. *Proceedings of the American Mathematical Society*, 7(1) :48–48, January 1956.
- [135] Does the plasmodium follow toussaint hierarchy? In *World Scientific Series on Nonlinear Science Series A*, pages 65–87. WORLD SCIENTIFIC, August 2010.
- [136] Eric I. Pas and Shari L. Principio. Braess' paradox : Some new insights. *Transportation Research Part B : Methodological*, 31(3) :265–276, June 1997.
- [137] Dirk Witthaut and Marc Timme. Braess's paradox in oscillator networks, desynchronization and power outage. *New Journal of Physics*, 14(8) :083036, August 2012.
- [138] Martin Rohden, Andreas Sorge, Marc Timme, and Dirk Witthaut. Self-organized synchronization in decentralized power grids. *Physical Review Letters*, 109(6), August 2012.
- [139] M. G. Pala, S. Baltazar, P. Liu, H. Sellier, B. Hackens, F. Martins, V. Bayot, X. Wallart, L. Desplanque, and S. Huant. Transport inefficiency in branched-out mesoscopic networks : An analog of the braess paradox. *Physical Review Letters*, 108(7), February 2012.

- [140] Kevin Sinclair and Robin C. Ball. Mechanism for global optimization of river networks from local erosion rules. *Physical Review Letters*, 76(18) :3360–3363, April 1996.
- [141] Francis Corson. Fluctuations and redundancy in optimal transport networks. *Physical Review Letters*, 104(4), January 2010.
- [142] Eleni Katifori, Gergely J. Szöllösi, and Marcelo O. Magnasco. Damage and fluctuations induce loops in optimal transport networks. *Physical Review Letters*, 104(4), January 2010.
- [143] Dan Hu and David Cai. Adaptation and optimization of biological transport networks. *Physical Review Letters*, 111(13), September 2013.
- [144] Katherine A. McCulloh, John S. Sperry, and Frederick R. Adler. Water transport in plants obeys murray's law. *Nature*, 421(6926) :939–942, February 2003.
- [145] Marc Durand. Structure of optimal transport networks subject to a global constraint. *Physical Review Letters*, 98(8), February 2007.
- [146] Neil Brown. Impedance matching at arterial bifurcations. *Journal of Biomechanics*, 26(1) :59–67, January 1993.
- [147] Henrik Ronellenfitsch and Eleni Katifori. Global optimization, local adaptation, and the role of growth in distribution networks. *Physical Review Letters*, 117(13), September 2016.
- [148] Enys Mones, Lilla Vicsek, and Tamás Vicsek. Hierarchy measure for complex networks. *PLoS ONE*, 7(3) :e33799, March 2012.
- [149] Reinhard Diestel. *Graph Theory (Graduate Texts in Mathematics)*. Springer, oct 2010.
- [150] *Generalized Inverses*. Springer-Verlag, 2003.
- [151] G.I. Taylor. Analysis of the swimming of microscopic organisms. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 209(1099) :447–461, November 1951.
- [152] A. H. Shapiro, M. Y. Jaffrin, and S. L. Weinberg. Peristaltic pumping with long wavelengths at low reynolds number. *Journal of Fluid Mechanics*, 37(4) :799–825, July 1969.
- [153] Charles Barton and Severin Raynor. Peristaltic flow in tubes. *The Bulletin of Mathematical Biophysics*, 30(4) :663–680, December 1968.
- [154] L. Versfeld. Remarks on star-mesh transformation of electrical networks. *Electronics Letters*, 6(19) :597, 1970.
- [155] V.V. Bapeswara Rao and V.K. Aatre. Mesh-star transformation. *Electronics Letters*, 10(6) :73, 1974.