



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS**

**ORDEN Y DESORDEN EN SISTEMAS DE PARTÍCULAS ELONGADAS ACTIVAS:  
APLICACIONES A COLONIAS DE BACTERIAS**

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**DOCTOR EN CIENCIAS (FÍSICA)**

**PRESENTA:**  
**SIRIO ANEL OROZCO FUENTES**

**DR. DENIS PIERRE BOYER**  
**INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM**

**DR. VÍCTOR MANUEL ROMERO ROCHÍN**  
**INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM**

**DR. JOSÉ ROBERTO ZENIT CAMACHO**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES, UNAM**

**MÉXICO, D. F. OCTUBRE DE 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



# Dedicatoria

Con todo cariño, a mi más grande tesoro,

Aurora Eloísa Ruiz Orozco



# Agradecimientos

A mi esposo Élfego, ya que sin su ayuda,  
amor y paciencia no hubiera conseguido  
terminar este trabajo.

A mis padres Eloísa Fuentes Morales y  
Aníbal Orozco López, mi hermano,  
Aníbal Orozco Fuentes, por el apoyo  
que me han dado a lo largo de toda mi  
vida para conseguir mis metas.

A mis suegros, Dr. Élfego Ruiz Schneider y  
Aurora Gutiérrez Torres por adoptarme y apoyarme.

A mi director de tesis,  
el Dr. Denis Pierre Boyer por la paciencia,  
los valiosos consejos y el apoyo invaluable  
que me ha dado durante todo este tiempo.

A mi amigo entrañable y compañero de batalla  
en los predoctorales, el Dr. Alejandro Pérez Riascos.

Mis agradecimientos a los miembros del comité tutorial: Dr. Roberto Zenit Camacho y Dr. Víctor Romero Rochín. Sus ideas y consejos guiaron este trabajo de investigación por buen camino.

De igual manera, agradezco a los miembros del sínodo: Dr. Rolando Castillo Caballero, Dr. Orlando Guzmán López, Dr. Carlos Mendoza Ruíz y Dr. Adrián Huerta Hernández, por sus valiosas correcciones y comentarios.

Al Instituto de Física de la UNAM, en especial a los Departamento de Sistemas Complejos y Física Teórica por todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Extiendo mi gratitud al Dr. Germinal Cocho Gil por el apoyo económico otorgado a través de la beca PAPIIT IN103911, titulada *Dinámica de Redes Complejas Biológicas y Sociales*.

De igual manera, agradezco al Dr. Octavio Miramontes Vidal por el apoyo económico otorgado a través de la beca PAPIIT IN101712, con título *Dinámica de Sistemas Complejos y Física Biológica*.

Al Dr. Lev Tsimring, quién a través del proyecto UC-MEXUS y CONACYT, *Modelos para el crecimiento y ordenamiento de células en biopelículas y tejidos artificiales*, en conjunto con el Dr. Denis Boyer, me apoyaron con una estancia académica la Universidad de California, en San Diego.

Agradezco también al Dr. Jorge Flores Valdés por las cátedras otorgadas para la preparación de los exámenes predoctorales.

A las secretarias de los Departamentos de Física Teórica y Sistemas Complejos:  
María Luisa Araujo Galindo,  
Martha Tinoco González y  
Lizette Ramírez Bermúdez,  
por su valioso apoyo.

Al Act. Carlos Ernesto López Natarén por el soporte técnico otorgado durante estos años.

Dedicada a mis amig@s: Viridiana Evhert, Grecia Gámez, Jesús Edel, Enrique Jiménez, Ignacio Portillo, Ulises Jesús, Saúl Tapia, Nephtalí Garrido, Miztli Yépez, Laura Rosales, Francisco Favela, Ariadna Blanca María Barrera y David Dávalos, quienes con sus consejos, charlas y bromas aligeraron mis días y me alentaron a seguir adelante.

Finalmente extendiendo mis agradecimientos al CONACyT por la beca de doctorado otorgada, con el número 174695 y el Apoyo Complementario para Mujeres Indígenas, con el que se adquirió el equipo de cómputo para realizar parte de este trabajo.

# Índice general

<b>Introducción</b>	<b>13</b>
<b>1. Antecedentes y Objetivos</b>	<b>19</b>
1.1. Fenómenos colectivos en sistemas físicos . . . . .	19
1.2. Movimiento colectivo de animales y células . . . . .	21
1.2.1. Células . . . . .	24
1.2.2. Modelos de partículas auto-propulsadas . . . . .	25
1.3. Fenómenos colectivos en colonias de bacterias . . . . .	26
1.3.1. Quimiotaxis . . . . .	27
1.3.2. Biopelículas . . . . .	27
1.4. Sistema de estudio y objetivos . . . . .	28
<b>2. Ecuaciones de la nematodinámica y modelo continuo unidimensional</b>	<b>35</b>
2.1. Parámetro de orden nemático . . . . .	36
2.2. Modelo continuo unidimensional . . . . .	38
2.3. Regimen asintótico . . . . .	39
<b>3. Método de la simulación</b>	<b>41</b>
3.1. Bacterias . . . . .	41
3.2. Fuerzas . . . . .	42
3.2.1. Fuerzas de contacto normales . . . . .	43
3.2.2. Fuerzas de contacto tangenciales . . . . .	45
3.2.3. Fuerza de arrastre de Stokes . . . . .	46
3.3. Crecimiento de células y división . . . . .	47
<b>4. Colonias de células proliferando</b>	<b>49</b>
4.1. Comportamiento del parámetro de orden nemático . . . . .	50
4.1.1. Efectos de la razón de aspecto $\ell_0$ , la razón de crecimiento $a$ y la fricción $\mu$ sobre $Q$ . . . . .	50
4.1.2. Dinámica intermitente . . . . .	54
4.2. Fluctuaciones en la presión . . . . .	58

4.2.1.	Fluctuaciones globales de presión . . . . .	59
4.2.2.	Distribución de los esfuerzos locales . . . . .	62
4.2.3.	Orden en la colonia en función del ancho del canal. . . . .	66
4.2.4.	Correlaciones con presión/orden nemático . . . . .	67
<b>5.</b>	<b>Inestabilidad de doblamiento en columnas de células</b>	<b>73</b>
5.1.	Modelo continuo para columnas de células . . . . .	73
5.1.1.	Compresión de células no activas . . . . .	74
5.1.2.	Compresión de células activas . . . . .	79
5.2.	Parámetros del modelo continuo en las simulaciones . . . . .	80
5.3.	Comparación del modelo continuo con simulaciones . . . . .	86
<b>6.</b>	<b>Robustez de colonias frente a células disfuncionales</b>	<b>89</b>
6.1.	Efectos sobre el orden nemático global . . . . .	89
6.1.1.	Parámetro de orden global . . . . .	92
6.1.2.	Influencia en la presión . . . . .	93
6.2.	Teoría de campo medio para la velocidad angular de una célula . . . . .	95
6.2.1.	Dinámica de un bastón en el fluido celular . . . . .	96
6.2.2.	Evolución de la velocidad angular en un fluido bidimensional . . . . .	99
6.2.3.	Fluctuaciones del ángulo promedio de las células . . . . .	100
6.2.4.	Cálculo numérico de $r$ , $s$ y $d$ . . . . .	100
	<b>Conclusiones</b>	<b>105</b>
	<b>A. El tensor de deformación</b>	<b>111</b>
	<b>B. Ecuaciones de Euler-Lagrange</b>	<b>113</b>
	<b>C. Ecuación para el parámetro de orden</b>	<b>117</b>
	C.1. Soluciones diluidas de células elongadas . . . . .	117
	C.2. Ecuación de Smoluchowski . . . . .	118
	<b>D. Traslape cuadrático medio</b>	<b>121</b>
	<b>Artículos publicados</b>	<b>123</b>
	<b>Bibliografía</b>	<b>138</b>

# Resumen

Las bacterias elongadas no móviles confinadas en microcanales bidimensionales abiertos exhiben movimiento colectivo y forman monocapas densas, cuando las células proliferan, *i. e.*, crecen y se dividen. Usando simulaciones de dinámica molecular suave de un sistema de bastones interactuando por medio de fuerzas mecánicas de corto alcance, estudiamos los efectos de la razón de crecimiento, la razón de aspecto y la fricción de arrastre en el ordenamiento nemático y en las fluctuaciones de la presión en medios confinados. Nuestros resultados indican que bastones con razones de aspecto  $> 3.0$  alcanzan estados nemáticos cuasiperfectos a fricciones de arrastre bajas. A fricciones altas, el parámetro de orden nemático global muestra fluctuaciones intermitentes debido a pérdidas repentinas del ordenamiento. Mostramos que los intervalos de tiempo entre estas ráfagas de desorden están distribuidas siguiendo una ley de potencias. La presión transversal al canal está, en promedio correlacionada al orden nemático, pero localmente es muy heterogénea y está distribuida siguiendo una ley de potencias, en contraste con los resultados obtenidos en sistemas granulares no-activos. Observaciones experimentales en colonias de bacterias también indican que el sistema es propenso a la inestabilidad de doblamiento, la cual limita el orden orientacional en canales suficientemente grandes. Este es un mecanismo responsable de la persistencia del desorden en poblaciones de células creciendo. Efectuamos un análisis teórico y nuestros resultados sugieren que la naturaleza de esta inestabilidad está relacionada a la anisotropía del tensor de estrés en la colonia de células ordenadas. Nuestro estudio permite entender mejor la dinámica y estructura de la materia activa a altas densidades, con aplicaciones posibles a crecimiento de biopelículas y tumores.



# Abstract

Nonmotile elongated bacteria confined in two-dimensional open microchannels can exhibit collective motion and form dense monolayers with nematic order if the cells proliferate, i.e., grow and divide. Using soft molecular dynamics simulations of a system of rods interacting through short range mechanical forces, we study the effects of the cell growth rate, the cell aspect ratio, and the sliding friction on nematic ordering and on pressure fluctuations in confined environments. Our results indicate that rods with aspect ratios  $> 3.0$  reach quasiperfect nematic states at low sliding friction. At higher frictions, the global nematic order parameter exhibits intermittent fluctuations due to sudden losses of order and the time intervals between these bursts are power-law distributed. The pressure transverse to the channel axis can vary abruptly in time and shows hysteresis due to lateral crowding effects. The longitudinal pressure field is on average correlated to nematic order, but it is locally very heterogeneous and its distribution follows an inverse power law, in sharp contrast with nonactive granular systems. Experimental observations indicate that bacterial colonies are prone to a buckling instability, which limits the orientational order in sufficiently large bacterial colonies. This instability is a mechanism responsible for the persistence of disorder in growing cell populations. A continuum theory indicates that the nature of this instability is related to the anisotropy of the stress tensor in the ordered cell colony. The present study provides a better understanding of the dynamics and structure of dense active matter, with possible applications to biofilms formation and tumor growth.



# Introducción

El movimiento colectivo se ha observado en una gran variedad de animales terrestres y marinos. A escalas microscópicas, las suspensiones de bacterias de *Escherichia coli* y otros organismos móviles autopropulsados exhiben frecuentemente una organización colectiva y forman estructuras de no equilibrio ricas en la escala hidrodinámica, tales como enjambres, inestabilidades orientacionales, flujos vorticales turbulentos, atascamiento o agregación en cúmulos [1–3]. Además de estos fenómenos, también se ha estudiado ampliamente dos tipos de comportamientos cooperativos que las colonias de *E. coli* utiliza para superar las condiciones hostiles en su medio [4–6]: la quimiotaxis y la formación de biopelículas densas.

Las bacterias elongadas como la *E. coli* cuando están confinadas en el interior de un canal microfluídico bidimensional abierto exhiben un ordenamiento nemático cuando las células proliferan, es decir, crecen y se dividen [7]. En este trabajo de investigación estudiamos la formación de biopelículas de células alargadas y los flujos que generan mediante el uso de simulaciones computacionales de dinámica molecular suave inspiradas en la física de medios granulares y desarrolladas previamente en [7,8]. Cada bacteria se sustituye por un bastón rígido que crece y se divide al alcanzar una longitud típica. Estas unidades interactúan a través de fuerzas mecánicas de corto alcance y se mueven en un medio que ejerce una fricción de arrastre  $\mu$  sobre ellas.

Nuestro objetivo principal es identificar los factores relevantes que determinan el ordenamiento nemático, o bien, el desordenamiento del sistema [9, 10] cuando variamos algunos parámetros en la simulación. Hemos identificado que, a fricción  $\mu$  casi nula, la razón de aspecto  $\ell_0$  de la célula influye fuertemente en el parámetro de orden  $Q$  y la dinámica observada. Para  $\ell_0 > 3$  obtenemos sistemas ordenados nemáticamente a lo largo de las paredes del canal. Cuando disminuimos a valores  $\ell_0 < 3$ , el parámetro de orden promedio del sistema baja y la colonia se desordena. De manera similar, cuantificamos la influencia de la razón de crecimiento  $a$  de las células en el orden nemático de la colonia. Nuestros resultados indican que  $a$  tiene una influencia nula sobre el orden/desorden de la película simulada.

Cuando la fricción  $\mu$  es finita, el orden nemático puede ser menor comparado con el caso anterior (de fricción casi nula), aún para colonias con células largas  $\ell_0 \geq 3$ . Sin embargo, cuando la fricción alcanza cierto valor crítico el orden nemático asociado a un flujo laminar de las células disminuye y se observa un comportamiento intermitente en el parámetro de orden  $Q$ , ya que el sistema entra en una fase laminar con  $Q \approx 1$  que es interrumpida frecuentemente por una fase turbulenta. La duración de los períodos laminares sigue una ley de potencias inversa.

Experimentalmente la proliferación de las células de *E. coli* dentro de medios con-

finados resulta en la orientación y ordenamiento, aunque imperfectos, de las mismas a lo largo de la dirección del flujo generado por el crecimiento mismo. En este trabajo estudiamos un mecanismo responsable de la pérdida del orden orientacional en las colonias proliferando: la inestabilidad de doblamiento observada en las columnas de células. Para alcanzar este objetivo modelamos a la biopelícula como un sólido uniaxial utilizando teorías del continuo y las ecuaciones de la nematodinámica. Efectuamos una comparación de los resultados teóricos con los resultados de las simulaciones. Nuestros resultados indican que el mecanismo de inestabilidad de doblamiento está relacionado con la anisotropía del tensor de esfuerzos, el cual se va acumulando (de manera heterogénea) en el interior de la colonia ordenada mientras esta prolifera.

Esta tesis de doctorado se divide en las siguientes partes. En el capítulo 1 presentamos los antecedentes e investigaciones previas en el movimiento colectivo observado en organismos vivos tales como en las parvadas de aves o cardumenes de peces. Ponemos especial énfasis en la organización mostrada por las colonias de bacterias *E. coli*. En el capítulo 2 introducimos un modelo unidimensional de teoría del continuo, en donde modelamos a la colonia de bacterias en términos de las ecuaciones nematodinámicas que describen la evolución temporal del sistema en términos de la densidad de partículas  $\rho$ , la velocidad hidrodinámica  $\mathbf{v}$ , la presión  $p$  y el parámetro de orden tensorial  $\mathbf{Q}$ , el cual caracteriza la orientación local de las células en el interior del canal. Este modelo predice que, en el régimen asintótico y para un flujo expansivo (debido al crecimiento y división celular) que orienta a las células a lo largo del canal, el parámetro de orden tiende a la unidad, *i.e.* tenemos un sistema ordenado.

El capítulo 3 presentamos el modelo computacional de dinámica molecular suave que utilizamos para estudiar las colonias de bacterias *E. coli*. Describimos detalladamente las fuerzas que existen entre las células y entre las células con las paredes del canal que las contiene (incluyendo las fuerzas de fricción), a partir de las cuales integramos las ecuaciones de movimiento de Newton para obtener la evolución temporal del sistema. Posteriormente en el capítulo 4 presentamos uno de los principales resultados obtenidos durante la investigación, la cuantificación del fenómeno de intermitencia observado en el parámetro de orden nemático promedio  $\langle Q \rangle$  medido en simulaciones de colonias con una fricción  $\mu$  variable entre las células y las paredes del canal microfluídico. Nuestros resultados indican que el tensor de estrés es muy anisotrópico y que el campo de presiones muestra marcadas diferencias en sus propiedades en las componentes transversal y longitudinal a los ejes del canal. El campo de presiones longitudinal (tensor de estrés local) es muy heterogéneo en el espacio y el tiempo. Para valores de  $\mu$  pequeños, la distribución decae exponencialmente. Sin embargo, para  $\mu$  más grandes, la cola de la distribución está mejor descrita por una ley de potencias inversa con un exponente de 2.

En el capítulo 5 extendemos el estudio teórico presentado en el capítulo 2 a dos dimensiones. Estudiamos teóricamente el origen de la destrucción del orden nemático y la aparición de un desorden parcial, pero persistente, en la colonia. Este fenómeno se interpreta como una inestabilidad de doblamiento o pandeo en las columnas de células perfectamente ordenadas. Analizamos cómo una inestabilidad de doblamiento puede explicar por qué  $\langle Q \rangle$  toma valores más pequeños que 1.

Finalmente en el capítulo 6 cuantificamos la robustez de las colonias frente a células

disfuncionales, es decir, células que no crecen y no se dividen, en términos de la razón de células enfermas/sanas, denotada con  $\vartheta$ , dentro del canal. El parámetro de orden disminuye al aumentar  $\vartheta$ , y la forma en que decae no depende de las dimensiones del canal simulado, aunque sí del tamaño de las células. Las colonias con células con razones de aspecto  $\ell_0$  más pequeñas se desordenan más rápidamente que las colonias formadas con células más largas. Estas últimas son más robustas a las perturbaciones introducidas. También efectuamos el análisis de las presiones longitudinal y transversal, en función de  $\vartheta$  y del parámetro de orden  $\langle Q \rangle$ . Para concluir, presentamos una teoría de campo medio para la velocidad angular de una célula inmersa en un “fluido celular”, la cual acoplada con los resultados obtenidos numéricamente describe aproximadamente el comportamiento del sistema.



# Capítulo 1

## Antecedentes y Objetivos

En la actualidad es de interés desde el punto de vista teórico y de las posibles aplicaciones tecnológicas, el estudio del movimiento colectivo de organismos biológicos. El movimiento colectivo de entidades autopropulsadas es una manifestación de una clase más general de fenómenos conocidos como comportamientos colectivos, los cuales se observan frecuentemente en la naturaleza y también en el laboratorio.

Estos fenómenos surgen en sistemas con características muy distintas entre sí. Los más llamativos se observan en sistemas biológicos formados por motores moleculares [11, 12], colonias de bacterias [13, 14], amibas [15–17], células (formación de tejidos) [18–22], insectos [23, 24], peces [25–27], aves [28–30], mamíferos [31, 32] y humanos [33]. Sin embargo, también ocurren en sistemas inertes como los fluidos nemáticos [34], bastones metálicos vibrando [8, 35], robots simples [36] y botes [37]. La característica fundamental es la emergencia de patrones ordenados que no pueden ser explicados por las teorías de la física estadística que estudian los fenómenos cooperativos en equilibrio.

En este trabajo estamos interesados principalmente en los fenómenos colectivos observados en organismos unicelulares como las bacterias. Estos sistemas presentan una organización muy compleja, la cual se debe fundamentalmente a interacciones químicas y mecánicas, dependiendo de la densidad de la población. A densidades bajas, se observa el fenómeno de la quimiotaxis, un mecanismo para el intercambio de información en la población, en donde los individuos secretan sustancias químicas en respuesta a condiciones hostiles en su medio [6, 38]. A altas densidades, muestran fenómenos menos estudiados; las bacterias pueden formar biopelículas debido a interacciones esencialmente mecánicas [7].

En la siguiente sección daremos una breve descripción de las características principales de los fenómenos colectivos en algunos sistemas, desde los inertes hasta los compuestos de organismos vivos y con capacidad de comunicación entre los individuos, como los compuestos de seres humanos.

### 1.1. Fenómenos colectivos en sistemas físicos

El movimiento colectivo no se ha observado únicamente en organismos vivos, también sistemas compuestos de objetos con interacciones físicas entre sí muestran patrones

y organización colectiva. En particular, en la materia granular se obtienen ejemplos de sistemas en no-equilibrio y disipativos que muestran una variedad enorme de fenómenos colectivos como convección, patrones ondulatorios y segregación. En esta sección daremos énfasis a los sistemas compuestos de bastones rígidos y la organización colectiva observada en ellos. Estos sistemas resultan interesantes debido al parecido entre la geometría que tienen con la de las bacterias *Escherichia coli*, objeto de estudio de este trabajo.

Un conjunto de bastones simétricos (apolares) vibrando verticalmente forman vórtices como los que se muestran en la figura 1.1A debido únicamente a las interacciones mecánicas. Por encima de cierta fracción de empaquetamiento se forman dominios compuestos de bastones ordenados colocados en posición vertical, los cuales coexisten con grupos de bastones en posición horizontal. Al transcurrir el tiempo, estos vórtices sufren una nucleación y se hacen más grandes. También en un sistema compuesto de bastones vibrando, dentro de un *annulus* con una única fila de bastones, se observa un movimiento organizado que se genera cuando estos objetos están inclinados con respecto a la vertical, el cual ocurre siempre en la dirección de inclinación, figura 1.1B.

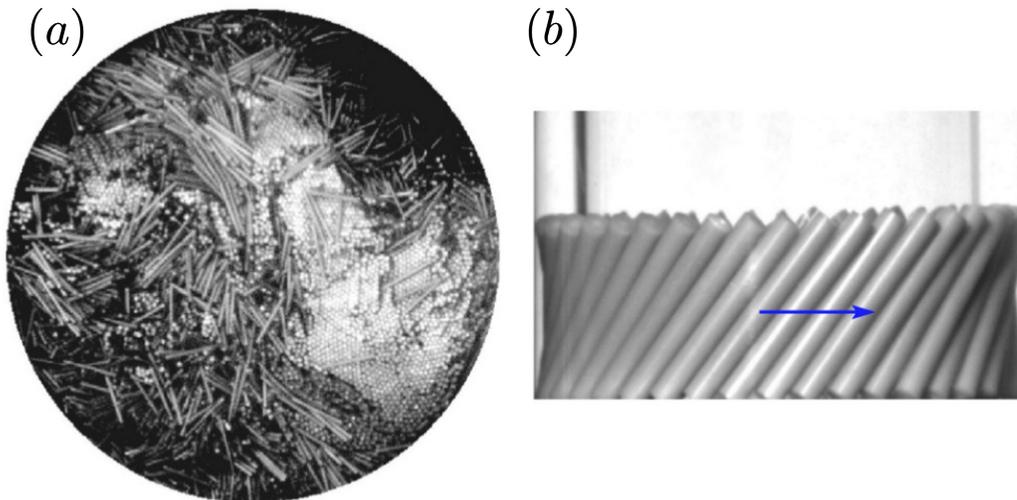


Figura 1.1: (a) Bastones granulares forzados a vibrar periódicamente a lo largo de la dirección vertical. Estos sistemas forman espontáneamente vórtices, los cuales se hacen más grandes al transcurrir el tiempo. (b) Experimento efectuado dentro de un *annulus* con una única fila de bastones. Este ejemplo revela que el movimiento de los bastones comienza cuando éstos están inclinados con respecto a la vertical y siempre ocurre hacia la dirección de inclinación. Imágenes tomadas de la referencia [39].

Otro sistema similar compuesto de bastones apolares forman ordenamientos nemáticos cuando se colocan sobre superficies vibrando y bajo ciertas condiciones exhiben remolinos persistentes [34]. La figura 1.2 muestra una imagen del orden nemático adquirido por 2820 bastones granulares (un 66 % del área total) que vibran sinusoidalmente perpendicularmente al plano de la figura. Se observan fluctuaciones enormes en la densidad (siguiendo la manecillas del reloj, entre las horas 10 y 11) donde se observa una región con un número escaso de bastones, la cual se relaja después de varios minutos y aparecen en otro lugar.

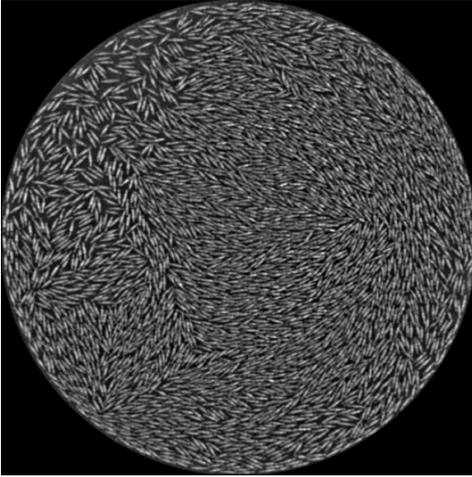


Figura 1.2: Imagen del orden nemático alcanzado por 2820 bastones granulares activos que vibran sinusoidalmente perpendicularmente al plano de la figura. Imágen tomada de la referencia [34].

Ambos ejemplos muestran que el movimiento colectivo, las congregaciones y las homogeneidades a escalas grandes aparecen también en sistemas compuestos de partículas que interactúan únicamente a través del contacto. En la siguiente sección explicaremos brevemente algunos fenómenos más complejos observados en las interacciones entre organismos vivos.

## 1.2. Movimiento colectivo de animales y células

Muchas especies de animales se organizan en grupos para evitar depredadores, buscar alimento, pareja, etc. Los fenómenos colectivos surgen en sistemas conformados por muchos individuos cuyas interacciones producen patrones a una escala mayor que la del tamaño de cada individuo.

Los ejemplos más fascinantes de movimiento colectivo son observados en la naturaleza en peces y aves. Por ejemplo, los peces jóvenes de la especie *Chromis punctipinnis* la mayor parte del tiempo se alimentan alejados unos de otros en congregaciones no polarizadas<sup>1</sup> formadas con decenas hasta centenas de individuos. Sin embargo, cuando son atacados por depredadores, asumen un arreglo altamente empaquetado y ordenado, cuyo beneficio es la disminución de las probabilidades de captura. En el caso de las aves, la formación en “v” beneficia a los individuos colocados en la parte de atrás, ya que consumen menos energía debido a que aprovechan la corriente de aire (“*slipstreaming*”) generada por el individuo que va en la punta [40].

Los peces exhiben patrones de movimiento colectivo cuando se encuentran agrupados en conjuntos conocidos como bancos y escuelas de peces<sup>2</sup> cuyo estudio es importante desde el punto de vista de la pesca industrial. A través de experimentos en condiciones controladas y usando sistemas de vídeo en [25] se estudiaron las trayectorias reales de peces pertenecientes a una escuela, en términos del comportamiento colectivo como

---

<sup>1</sup>Una congregación polarizada se compone de individuos cuyos cuerpos están orientados similarmente.

<sup>2</sup>En un banco los peces se relacionan entre sí de una manera más imprecisa comparada con una escuela, además puede incluir peces de diferentes especies. Las escuelas de peces nadan de una manera más compacta y organizada, por lo tanto una escuela se considera un caso especial de un banco.

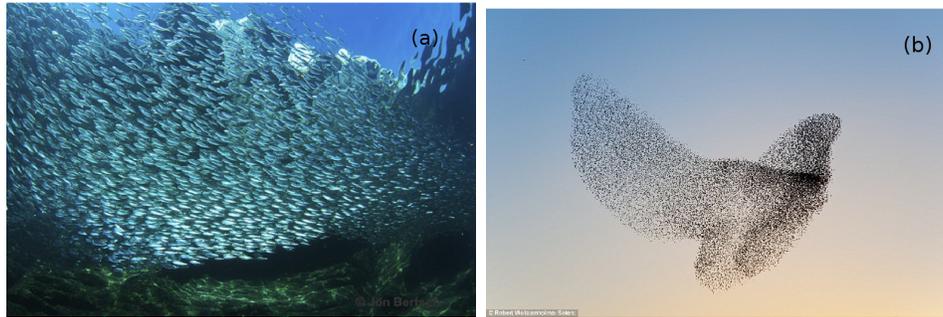


Figura 1.3: Ejemplos de movimiento colectivo de animales. (a) Una escuela de sardinas mostrando un ornamiento polar (Mar de Cortés). (b) Miles de estorninos *Sturnus vulgaris* se mueven de manera cohesiva y sincronizada (Otmoor, Inglaterra).

función de la densidad. Se demostró que ocurre una transición desde un movimiento desordenado a uno correlacionado, directamente relacionado a un valor crítico en la densidad, seguido posteriormente por una migración organizada del grupo.

La pregunta principal que surge cuando se estudian animales con capacidad de comunicación es cómo se alcanza una decisión común con respecto a la dirección de movimiento, es decir, cómo se llega a un consenso sobre dónde detenerse o forrajear, además de cómo defenderse de depredadores. En el caso de los peces, estudios han demostrado que una minoría de individuos informados (uno sólo) puede guiar a un banco a los sitios de forrajeo. Además se observó que los bancos nunca se separan y a veces guiados por el mismo pez [27].

Las aves son otros organismos que se caracterizan por mostrar patrones espaciales muy llamativos. Las bandadas de gansos salvajes y pelícanos son famosas por sus formaciones en “v” cuya ventaja es la disminución en el consumo de energía de los individuos que viajan en la parte posterior del arreglo [41]. Sin embargo, las organizaciones colectivas que involucran miles de aves volando de una manera muy compleja se observan en la especie de estorninos *Sturnus vulgaris*. Estas aves durante el día forrajean en grupos de alrededor de 20 individuos. Sin embargo, durante el atardecer forman grandes bandadas que se componen de miles de individuos que se mueven sincronizadamente exhibiendo patrones espaciales muy llamativos como el que se muestra en la figura 1.3. Se han efectuado estudios de campo a través de observaciones en donde se mide la posición tridimensional de aves individuales, miembros de parvadas compuestas de aproximadamente 2 600 individuos. Usando técnicas estereométricas y de computación en [42] se ha caracterizado la estructura de la parvada a través de la distribución espacial de los vecinos más cercanos de cada individuo. Dada un ave de referencia se mide la orientación angular de su vecino más cercano con respecto a la dirección de movimiento de la parvada, repitiendo este proceso para todos los individuos que conforman la misma. El principal resultado fue que cada estornino miembro de una parvada interactúa con sus 6-7 vecinos más cercanos independientemente de la distancia a estos vecinos. Esto tiene repercusiones sobre los modelos teóricos desarrollados para describir el movimiento de estos organismos, tales como el modelo de Vicsek (el cual detallaremos más adelante), que considera que un individuo en particular se mueve de acuerdo a los vecinos que se

encuentran dentro de un radio fijo de interacción, mientras que experimentalmente se obtiene que un ave dada interacciona con un número fijo de vecinos.

Además de los peces y las aves, también se ha observado una organización colectiva en insectos no eusociales. Una de las especies más estudiadas, debido a las pérdidas económicas que resultan de su proliferación y posterior formación de plagas, son las langostas del desierto, que afectan principalmente Asia cuando se reproducen sin control. Durante la época de las cosechas, estos insectos se reproducen y llegan a alcanzar cientos de miles de individuos los cuales después de cierto tiempo migran hacia otros lugares para seguir forrajeando. En [24] se dedicaron a investigar el factor detonante de esta migración colectiva. Hallaron que la densidad de los individuos es el parámetro que indica el momento en que ocurrirá la transición entre los estados desordenados (organismos forrajeando en el campo de cultivo) y ordenados (organismos migrando hacia nuevas zonas de alimento). Los resultados experimentales se muestran en la figura 1.4, e indican un alineamiento en el movimiento en función de la densidad de langostas, para tres casos diferentes (a) baja densidad, (b) densidad intermedia y (c) alta densidad. Se obtiene que el comportamiento de marcha coordinada depende de la densidad de los organismos. Con estos experimentos se confirmó que la transición sigue las predicciones teóricas de un modelo de partículas auto-propulsadas e identificaron una densidad crítica para la ocurrencia de la marcha coordinada.

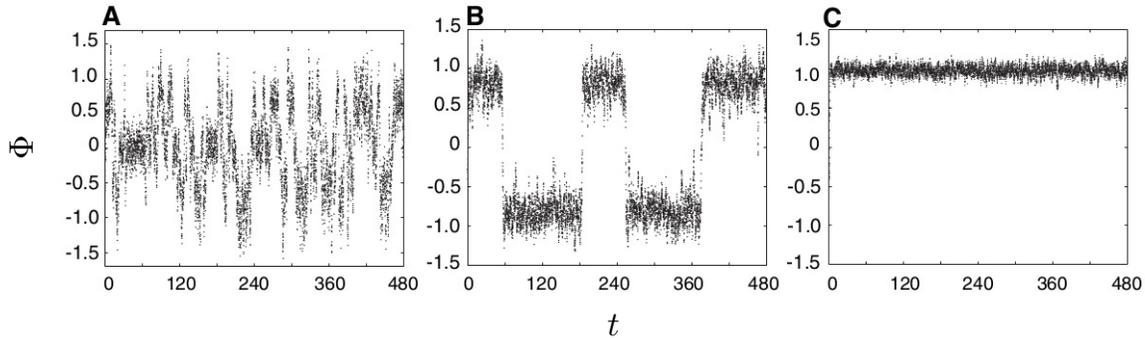


Figura 1.4: El alineamiento instantáneo del movimiento de langostas en función de la densidad de organismos. El alineamiento se define como el promedio normalizado de la orientación considerado para todos los individuos en movimiento, es decir, valores cercanos a -1 o 1 indican un movimiento fuertemente alineado (todas las langostas moviéndose en la misma dirección) mientras que los valores cercanos a cero indican un movimiento no coordinado. (a) A bajas densidades (5.3-17.2 langostas/m<sup>2</sup>) el alineamiento entre los individuos es escaso y esporádico. (b) A densidades intermedias (24.6-61.5 langostas/m<sup>2</sup>), el movimiento se caracteriza por cambios abruptos en la dirección separados por períodos largos de movimiento correlacionado. (c) A densidades superiores a 73.8 langostas/m<sup>2</sup> el alineamiento del movimiento es fuerte y persistente, las langostas aisladas adaptan su movimiento rápidamente a otras. Figura tomada de la referencia [24].

### 1.2.1. Células

No solamente los animales altamente evolucionados muestran estos fenómenos llamativos cuando se encuentran en grupos. Se han identificado comportamientos colectivos de migración durante la embriogénesis<sup>3</sup>, curación de heridas, respuesta inmunitaria, diseminación de células cancerosas [43], ocurre también particularmente en la metástasis en tumores secundarios [20, 22].

Un análisis cuantitativo del movimiento colectivo mostrado por células de pescado, motiles y autopropulsadas, se efectuó en [20]. En este sistema se determinó la presencia de una transición de fase en función de la densidad de las células. La figura 1.5 muestra el comportamiento típico de las células estromales para distintos valores en la densidad. En base a estos resultados se construyó un modelo teórico que reproduce correctamente los resultados experimentales, véase la sección 1.2.2.

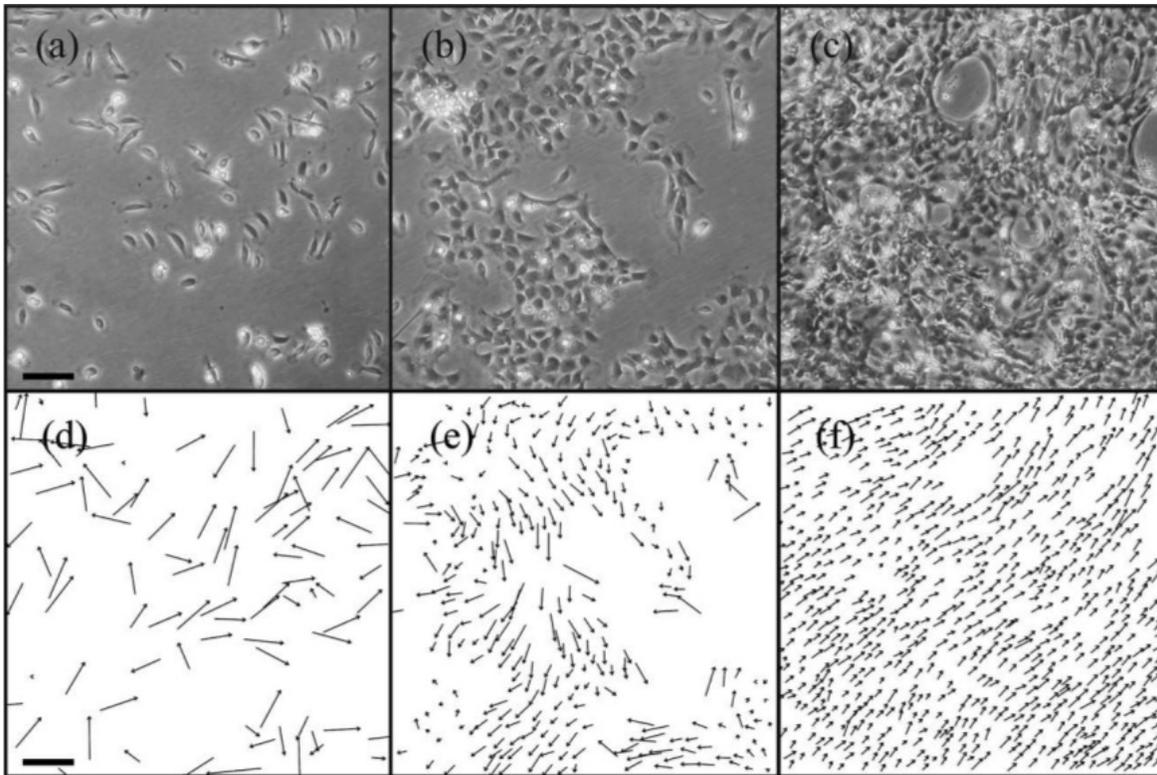


Figura 1.5: (a)-(c) Imágenes de contraste de fase que muestran el comportamiento colectivo de las células de pescado para tres densidades diferentes: (a) 1.8, (b) 5.3, (c) 14.7 células/ $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ . Barra de escala:  $200 \mu\text{m}$ . Cuando la densidad de las células aumenta se observa un movimiento ordenado en la motilidad de las mismas. (d)-(f) Análisis de las imágenes presentadas en (a)-(b), se observa que la velocidad de células moviéndose coherentemente en conjunto es más pequeña que la de las células solitarias. Barra de escala:  $50 \mu\text{m}/\text{min}$ . Imágenes tomadas de [20].

<sup>3</sup>Embriogénesis es el proceso de desarrollo que ocurre después de que un óvulo es fertilizado. Involucra la multiplicación de las células (mitosis) y su subsecuente crecimiento, movimiento y diferenciación en todos los tejidos y órganos.

En la exposición de los ejemplos anteriores hemos mencionado en algunos casos el uso de modelos teóricos que reproducen las observaciones experimentales. A continuación introduciré una de las herramientas frecuentemente utilizadas en la descripción de la dinámica de congregaciones de organismos, desde los keratocitos (células de la epidermis) [20] hasta las langostas del desierto [24]. Este es el modelo de partículas auto-propulsadas (*SPP*), el cual fué introducido por Tamás Vicsek y colaboradores en la referencia [44]. Estos modelos son útiles para identificar las condiciones bajo las que los patrones colectivos se producen, únicamente en términos de las interacciones locales entre individuos en movimiento.

### 1.2.2. Modelos de partículas auto-propulsadas

Con los modelos de partículas auto-propulsadas se ha estudiado la migración grupal de animales y se han identificado ciertas variables (tales como la densidad) como detonantes de la organización colectiva. Las predicciones indican que en estos sistemas fuera de equilibrio ocurre una transición de fase, si la densidad de los organismos se incrementa hasta alcanzar un valor crítico. En esta transición el sistema muestra un cambio de un movimiento desordenado (densidades bajas) a un movimiento altamente ordenado (densidades altas) en el que la mayoría de los individuos se mueven en una dirección similar a la dirección promedio del sistema [20, 23, 24].

El modelo de partículas auto-propulsadas considera, como su nombre lo indica, partículas moviéndose en  $d$  dimensiones donde cada partícula tiene una zona local de interacción dentro de la cual responde a la presencia de otras partículas. La forma de esta interacción varía de acuerdo al modelo estudiado, en algunos casos los individuos se repelen, atraen y/o se alinean con otros individuos que se encuentren dentro de su zona de interacción [23].

Este modelo minimalista considera un grupo de  $N$  partículas [14, 40, 44]. Cada partícula  $i$  tiene una posición  $\mathbf{x}_i$ , velocidad  $\mathbf{v}_i$  de módulo  $|\mathbf{v}_i| = v_0 = \text{constante}$  y radio de interacción  $r$  también constante y a cada paso de tiempo discreto una partícula dada asume la velocidad promedio de las partículas en su vecindad  $r$  más una perturbación aleatoria.

El carácter de auto-propulsión se impone fijando la magnitud de las velocidades a una constante  $v_0 = |\vec{v}_i(t)|$  (generalmente se toma como la unidad). A cada paso de tiempo el ángulo  $\theta_i(t)$  que  $\vec{v}_i(t)$  hace con un eje de referencia se actualiza a través de la ecuación,

$$\theta_i(t + \delta t) = \text{ángulo} \left[ \sum_{|\vec{x}_i - \vec{x}_j| < r} \vec{v}_j(t) \right] + \xi_i(t), \quad (1.1)$$

con el primer término del lado derecho indicando la dirección de la velocidad promedio de todas las partículas localizadas dentro del radio de interacción  $r$  de la partícula en la posición  $\vec{x}_i$ . El segundo término  $\xi_i(t)$  es una variable aleatoria uniformemente distribuida en el intervalo  $[-\eta/2, \eta/2]$ . Así para generar el movimiento, cada posición  $x_i(t)$  es actualizada siguiendo la regla,

$$\vec{x}_i(t + \delta t) = \vec{x}_i(t) + \vec{v}_i(t)\delta t. \quad (1.2)$$

Debido a la sencillez de este modelo, se pueden simular miles de partículas en movimiento colectivo. Se han obtenido resultados interesantes al modelar células de pescado y la migración colectiva de las langostas, en donde se ha identificado una transición de fase de segundo orden de un estado desordenado a un estado ordenado (partículas moviéndose paralelamente) cuando  $\eta$  disminuye por debajo de un valor crítico [14]. En particular, en el caso de las langostas del desierto, véase la figura 1.4, al contrastar las predicciones del modelo y los experimentos realizados en el laboratorio se obtuvo que la densidad poblacional de los animales (número promedio de vecinos con el cual interactúan) es el parámetro que lleva al sistema de uno desordenado a otro ordenado [24]. De manera similar, en el caso de las células estromales, las simulaciones computacionales tienen un fuerte parecido con las observaciones experimentales, compárense las figuras 1.5 y 1.6. Este modelo identificó a la densidad como la variable relevante para el surgimiento de la organización colectiva.

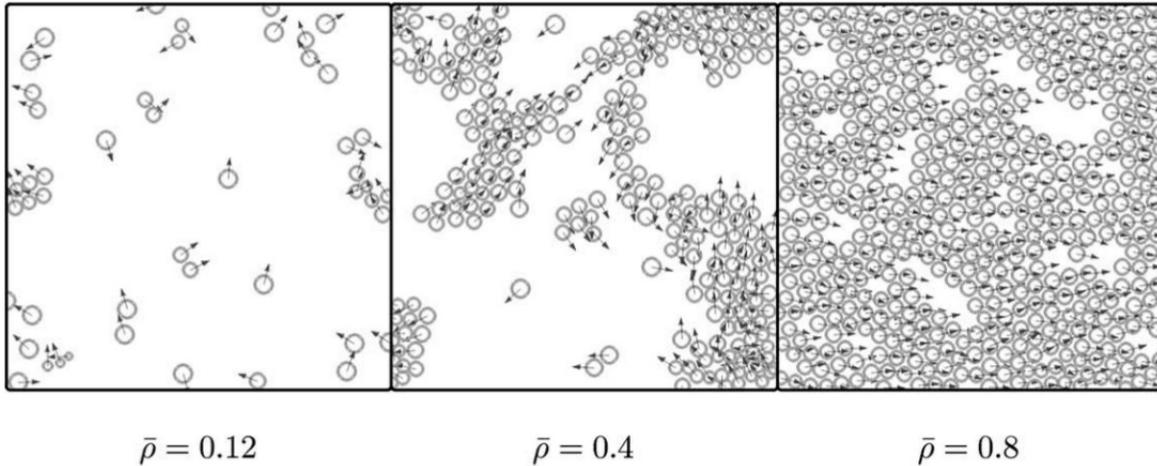


Figura 1.6: Simulaciones computacionales del experimento descrito en la sección 1.2.1, usando el modelo de partículas auto-propulsadas. Éstas se efectuaron de acuerdo al sistema descrito previamente, para tres distintos valores numéricos en la densidad. Imágenes adaptadas de [20].

### 1.3. Fenómenos colectivos en colonias de bacterias

Las colonias bacterias durante su formación, pueden mostrar una dinámica colectiva compleja que culmina con la formación de estructuras altamente organizadas como las biopelículas [45] o los anillos quimiotáxicos [4].

Para lidiar con un medio estresado debido principalmente a una densidad alta de individuos y una baja disponibilidad de nutrientes, las bacterias migran hacia pequeñas cavidades o grietas en donde se ensamblan formando biopelículas, a través de una forma

de comunicación celular conocida como detección de quórum<sup>4</sup> (*quorum sensing*). En otros casos, ciertas especies de bacterias que se encuentran en bajas densidades, forman patrones intrincados conocidos como anillos quimiotáxicos [46].

### 1.3.1. Quimiotaxis

Algunos tipos de bacterias móviles, entre ellas la *Escherichia coli*, son capaces de interactuar con su medio por medio de la detección de quórum y acumularse en regiones con altas concentraciones de ciertos químicos atractantes. De la misma forma, pueden evitarse entre sí en respuesta a químicos repelentes [5, 38, 47, 48]. La quimiotaxis es el movimiento de las células producido por la reacción de las mismas a la presencia de una sustancia química en el medio, por lo tanto, es un mecanismo para el intercambio de información dentro de la población. Con el objetivo de encontrar nutrientes (quimiotaxis atractiva) o alejarse de desperdicios y venenos (quimiotaxis repulsiva), estos organismos dirigen su movimiento en respuesta a los gradientes de los químicos presentes en su medio.

Experimentalmente se obtienen los patrones característicos de la quimiotaxis inyectando cierta cantidad de bacterias sobre una muestra de agar nutritivo, el cual es un medio de cultivo para las bacterias. Este medio favorece el desarrollo y multiplicación de las células y cuando hay suficientes nutrientes, la colonia permanece compacta con una frontera uniforme que se expande radialmente con una velocidad determinada por la propagación debido al crecimiento y la difusión. Sin embargo, cuando escasean los nutrientes, el medio impide el movimiento libre y las bacterias empiezan a comunicarse entre sí y forman patrones muy intrincados, como los mostrados en la figura 1.7.

Los anillos quimiotáxicos mostrados en la figura 1.7 son generados cuando las bacterias metabolizan nutrientes y en respuesta excretan en el medio un aminoácido [38, 49], sustancia a la que las células responden. Como resultado, las células migran lentamente en una dirección radial arregladas en un anillo compacto, figura 1.7a. Para un valor característico en la concentración de nutrientes, las bacterias generan los arreglos tipo girasol mostrados en la figura 1.7b. Es importante recalcar, que la quimiotaxis es un fenómeno que ocurre en colonias de bacterias móviles que se encuentran en bajas concentraciones y ha sido enormemente estudiado usando modelos físicos. Estos modelos teóricos indican que las estructuras son extremadamente sensibles a los campos de los desperdicios y los quimioatractantes y además explican las posiciones angulares en las que se acumulan las bacterias en puntos y cómo puntos antiguos propician la formación de puntos nuevos. La figura 1.8 es una simulación computacional de estos sistemas [6].

### 1.3.2. Biopelículas

Una biopelícula es un ensamble denso de células creciendo sobre una superficie. Casi la mayor parte de las bacterias forman biopelículas sobre una amplia variedad de superficies tales como los dientes, tejidos vivos, dispositivos médicos (catéteres), etc.

---

<sup>4</sup>La detección de quórum es un conjunto de estímulos y respuesta al medio correlacionados con la densidad. Muchas especies de bacterias la utilizan para coordinar la expresión genética de acuerdo a la densidad local de población.

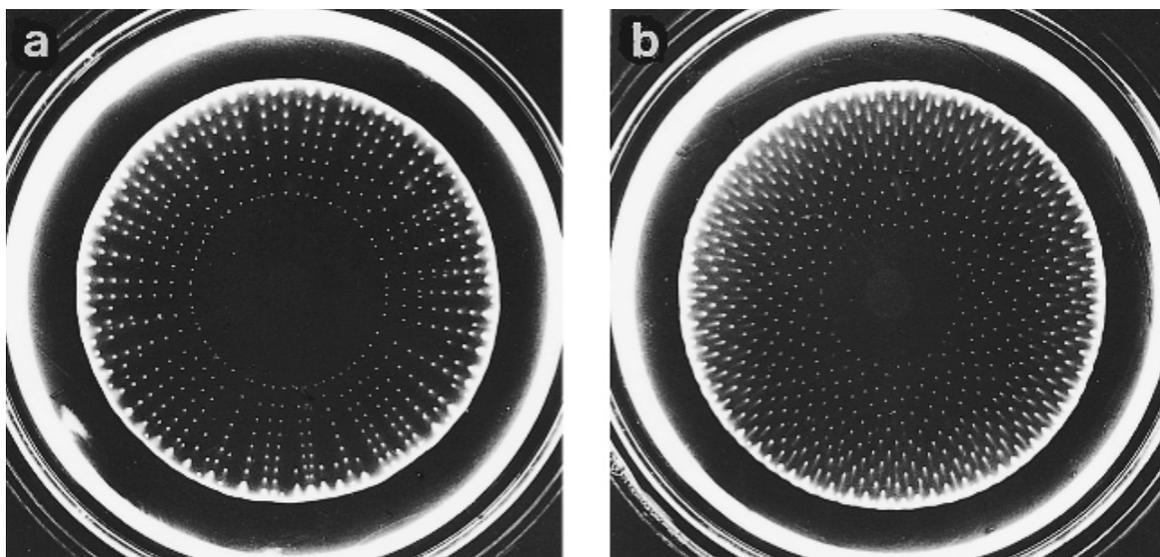


Figura 1.7: Dos ejemplos de los patrones formados por la bacteria *Escherichia coli* en experimentos [49]: (a) Alineamiento radial de los puntos y (b) arreglos tipo girasol de los puntos. Figura adaptada de la referencia [38].

Este fenómeno puede ocurrir por razones muy diversas, ya sea como respuesta a señales extracelulares, tanto ambientales como auto-producidas, con el beneficio de resistir a condiciones extremas en su medio.

La dinámica colectiva mostrada por las colonias de bacterias también depende de la movilidad, señales célula-célula, adhesión, etc. En la sección anterior, vimos que las señales químicas juegan un papel fundamental para la agregación de las bacterias. En densidades bajas de población, es la quimiotaxis quien facilita la agregación de las bacterias; cuando la densidad poblacional aumenta y las células se empujan unas a otras, la interacción biomecánica directa no se puede despreciar y propicia la organización de la colonia [7].

Para investigar el papel de las interacciones biomecánicas en el desarrollo de la colonia, en condiciones controladas de laboratorio, se han construido microcanales que tienen dos paredes horizontales separadas por una altura aproximada del grosor de una bacteria, dentro de los cuales es posible crecer capas bidimensionales de células, como la mostrado en la figura 1.9, donde las bacterias son alimentadas continuamente con flujo que transporta nutrientes y se deshace de los desperdicios. Estos dispositivos facilitan la observación y el estudio a través de microscopía de escaneo láser confocal. Algunos estudios indican que el ordenamiento nemático de las células es generado por el flujo expansivo que surge debido al crecimiento y división [7].

## 1.4. Sistema de estudio y objetivos

Las bacterias dentro del canal mostradas en la figura 1.9 no son móviles debido a que fueron modificadas genéticamente para carecer de esta propiedad, aunque crecen y

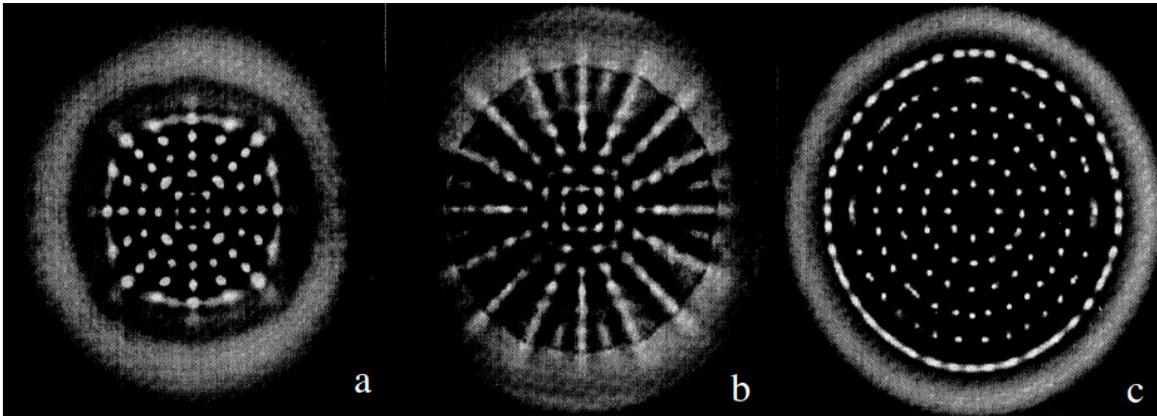


Figura 1.8: Resultados de las simulaciones numéricas efectuadas en la referencia [6]. Usando diferentes valores en los parámetros del modelo se obtiene: (a) arreglos puntuales radiales, (b) tiras radiales y (c) patrones hexagonales. Si se comparan estas imágenes con la figura 1.7 es notoria la concordancia con los experimentos.

se dividen. Estas dos propiedades resultan en un sistema que exhibe una organización espacio-temporal muy compleja que puede ser afectada por muchos factores tales como la forma de la célula, la movilidad y la comunicación entre las mismas. Particularmente, en colonias densas el contacto directo entre las células juega un papel fundamental para la organización de la colonia y debido a esto, el sistema puede mostrar fenómenos colectivos, atascamiento y agregación en cúmulos, por mencionar algunos [10].

Las biopelículas, debido a las unidades básicas de las que se componen, pertenecen a un clase más general de sistemas conocidos como sistemas activos, cuyo estudio, es de interés debido a las aplicaciones biológicas y tecnológicas involucradas directamente con los elementos que los componen. Quizás una de las más llamativas es la identificación de células líderes que guían a células vecinas enfermas en el proceso de metástasis del cáncer [19].

Aunque, en el caso particular de las colonias densas, el estudio del ordenamiento y la organización debido al contacto directo entre las células (el cual es fundamental en la organización de la colonia) tiene aplicaciones directas en la bioingeniería de tejidos y curación de heridas.

En este trabajo de investigación utilizaremos herramientas computacionales de elementos discretos para estudiar la organización colectiva observada experimentalmente en biopelículas de *Escherichia coli*. Se ha identificado que el flujo expansivo generado por el crecimiento y división de las células lleva a una orientación y ordenamiento, aunque imperfecto, de las mismas en la dirección del flujo [7], como se observa en la figura 1.9, que corresponde a una trampa con dimensiones  $100 \times 90 \mu\text{m}^2$ .

Las bacterias *Escherichia coli* son células con forma de barra con un tamaño promedio de  $\sim 2.5 \mu\text{m}$  de largo y un diámetro de  $\sim 0.8 \mu\text{m}$  (valores que corresponden a una razón de aspecto de  $\sim 3.0$ ). Aunque mediciones experimentales indican valores entre 2 y 5, dependiendo de la edad de la célula. En condiciones normales, la célula nada para desplazarse y cambia su dirección de movimiento en función de la dirección de rotación

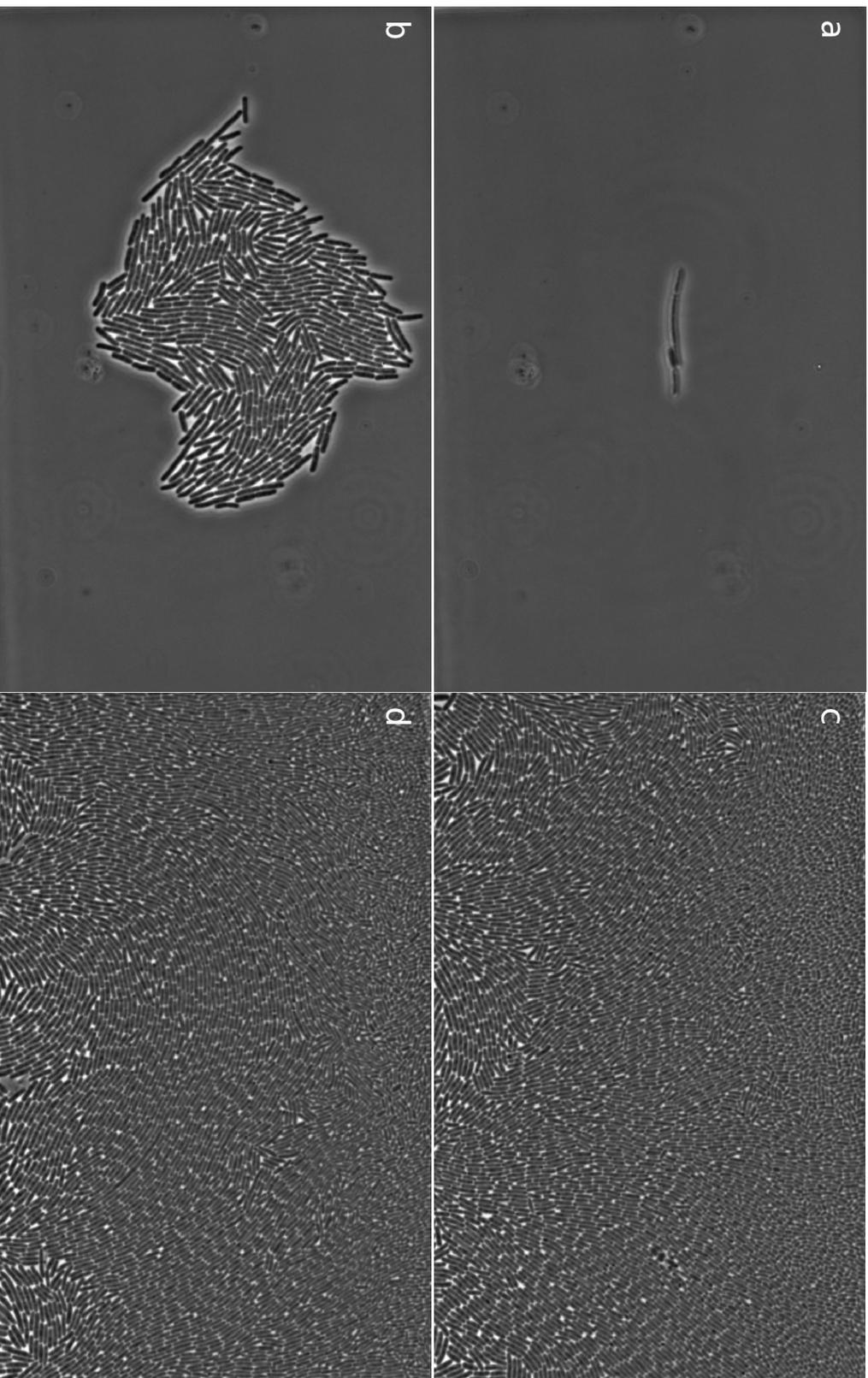


Figura 1.9: Colonia de bacterias *Escherichia coli* de la cepa K-12 (sin flagelos) multiplicándose dentro de un canal microfluídico bidimensional con dimensiones  $100 \times 90 \mu\text{m}^2$ . Inicialmente se colocan unas cuantas células en el centro del canal (a), las cuales se desarrollan y multiplican hasta formar una monocapa que ocupa toda la superficie del mismo (b-d). Estamos interesados en describir a través de simulaciones computacionales de dinámica molecular este sistema biológico.

de unos flagelos que se localizan en uno de los extremos de su cuerpo. La influencia de estos flagelos en la auto-organización de una colonia se ejemplificó con los anillos quimiotáxicos mostrados en la figura 1.7, ya que dichos flagelos son los que permiten a la bacteria moverse a regiones con nutrientes altos o alejarse de desperdicios y toxinas. Cuando una *E. coli* crece, se alarga hasta que finalmente se divide a la mitad dando como resultado dos células hijas. Podemos observar a detalle estos procesos en la figura 1.10 tomada con un microscopio electrónico. En un ambiente cálido ( $\sim 37^\circ\text{C}$ ) y rico en nutrientes este proceso toma aproximadamente 20 minutos.

Los trabajos experimentales con biopelículas de esta clase se efectuaron en las referencias [7, 9], donde utilizan la cepa K-12, la cual es un tipo particular de *E. coli* aislada en 1920, que ha sido modificada genéticamente para eliminar los flagelos. Como resultado, la dinámica de una colonia de esta cepa se debe únicamente al crecimiento, división de las células, a las interacciones mecánicas y fuerzas elásticas entre ellas. En este trabajo estamos interesados en estudiar, por medio de simulaciones computacionales de dinámica molecular (suave), la organización mostrada por una colonia densa de bacterias *E. coli* donde únicamente la característica activa es el crecimiento y división.

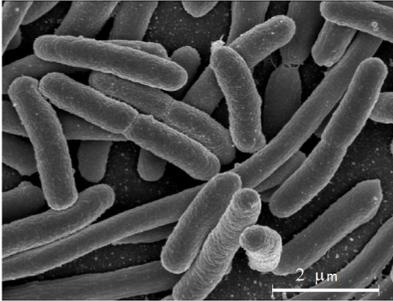


Figura 1.10: Micrografía de barrido electrónico de bacterias *Escherichia coli* creciendo en cultivo sobre un cubreobjetos. Se observa detalladamente el proceso de crecimiento y división. Imágen tomada de [www.wikimedia.org](http://www.wikimedia.org).

Para generar experimentalmente una biopelícula bidimensional de bacterias *E. coli*, se introducen cierto número de células en el interior de los tres canales del dispositivo microfluídico esquematizado en las figuras 1.11. Esto se hace dirigiendo el flujo que transporta a las células, inicialmente localizadas en la sección poco profunda (gris), hacia la dirección frontal, hasta tener atrapadas unas pocas células en los tres canales, pintados en café. Posteriormente se revierte la dirección y se disminuye la intensidad de este flujo, de tal forma que proporcione nutrientes de manera estacionaria a las células durante la duración del experimento (4-6 h). Las células crecen y llenan las cavidades durante este tiempo y se toman imágenes a intervalos de 2 minutos utilizando un microscopio de lapso de tiempos, las cuales son analizadas posteriormente. Para que el crecimiento de las bacterias sea óptimo, la temperatura del dispositivo se mantuvo constante a  $37^\circ\text{C}$ . Un experimento con una colonia real, creciendo en el interior de uno de estos canales de atrapamiento se muestra en la figura 1.12, donde las dimensiones del canal son  $30 \times 500 \times 1 \mu\text{m}^3$ , en el lado izquierdo se muestra el valor numérico del parámetro de orden mesoscópico medido como función del tiempo durante el experimento.

Inicialmente se colocan unas cuántas células, en el caso de la figura 1.12, una única célula y se alimenta el interior del canal con dimensiones  $L_x = 30 \mu\text{m}$  y  $L_z = 500 \mu\text{m}$ , con un flujo lento con una fuerza de arrastre despreciable, como medio para introducir a las células al canal más estrecho. La dinámica observada en la colonia se documenta

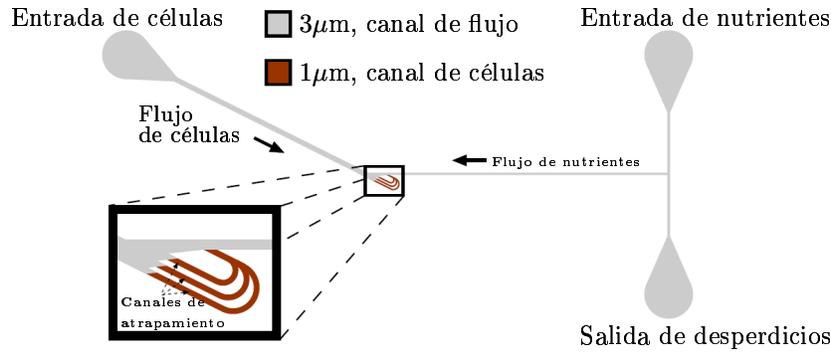


Figura 1.11: Dispositivo microfluídico Tesla: Las células de *E. coli* se colocan dentro de un dispositivo microfluídico que consiste, en este caso, de un conjunto de tres canales paralelos entre sí, con dimensiones  $30 \times 500 \times 1 \mu\text{m}^3$ . En cada canal de atrapamiento es posible crecer monocapas de células bajo condiciones controladas con una temperatura de  $37^\circ\text{C}$ . Adaptado de la referencia [7].

por medio de imágenes capturadas intervalos de tiempo fijos de dos minutos.

Durante la fase inicial de crecimiento, las células permanecen estáticas. Después de tres generaciones (aproximadamente 1 hora), la población alcanza el suficiente número de individuos que comienzan empujarse unos a otros y generan un flujo expansivo macroscópico. En este punto, la colonia aún está desordenada con un parámetro de orden de  $Q \approx 0.2$ . Alrededor de 90 min después del inicio del experimento, la densidad, por unidad de área, alcanza el régimen de alto empaquetamiento  $\rho \approx 0.8$ . La figura 1.12 muestra a la colonia después de 138 minutos del inicio del experimento. Se observa un régimen estacionario con una densidad de células constante y una alto grado de orientación de las células a lo largo de los ejes del canal, donde el valor numérico del parámetro de orden nemático es aproximadamente  $\langle Q \rangle \approx 0.8$ .

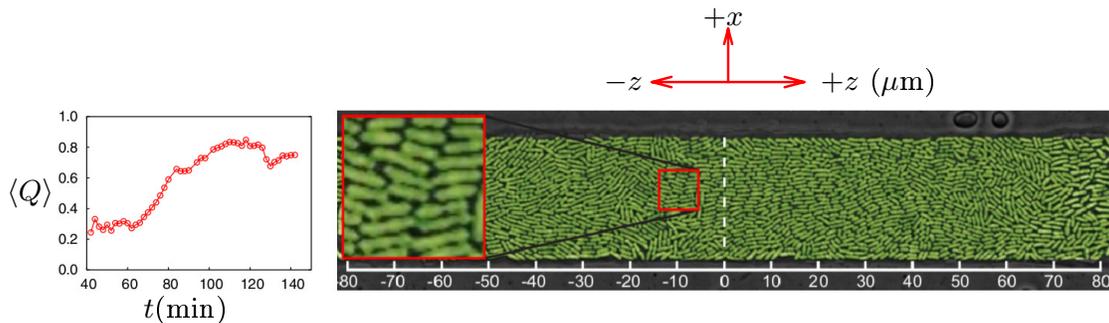


Figura 1.12: Biopelícula de bacterias *E. coli* formada a partir de una única célula dentro una cavidad microfluídica abierta cuasi-bidimensional de ancho  $L_x = 30 \mu\text{m}$ , profundidad  $L_y = 1 \mu\text{m}$  y un largo (mostrado)  $L_z = 160 \mu\text{m}$ . La imagen fué tomada al tiempo  $t = 138 \text{ min}$  del inicio del experimento. En el lado izquierdo se muestra el valor numérico del parámetro de orden mesoscópico  $\langle Q \rangle$  en función del tiempo. Adaptada de la referencia [7].

Debido a la característica granular de la bacteria *E. coli* resultan idóneas para su estudio con simulaciones de elementos discretos por medio de herramientas de dinámica molecular suave. Sin embargo, debido a esta geometría y su parecido con los cristales líquidos nemáticos, es posible modificar las herramientas desarrolladas para éstos últimos y aplicarlas en el estudio de las colonias. En el siguiente capítulo se presenta un ejemplo sencillo de la aplicación de las ecuaciones de la nematodinámica en la descripción de la evolución temporal del sistema.



## Capítulo 2

# Ecuaciones de la nematodinámica y modelo continuo unidimensional

Las bacterias *Escherichia coli* debido a su forma elongada son aptas para estudiarse con teorías del medio continuo desarrolladas y aplicadas en los cristales líquidos nemáticos. Antes de introducir el modelo computacional presentamos un modelo similar al usado para describir estos sistemas, pero adaptado para ajustarse a la dinámica que se observa en una colonia de bacterias densa.

Los cristales líquidos cuya estructura molecular tienen forma de bastones rígidos, producen a bajas temperaturas estados ordenados, arreglos nemáticos y fases esmécticas debido a la anisotropía de sus moléculas. Aunque el mecanismo de ordenamiento que actúa sobre los cristales líquidos no es el mismo que se observa en el ordenamiento observado en las bacterias y la materia granular, es posible utilizar estas herramientas bien estudiadas, modificarlas apropiadamente y aplicarlas a estos sistemas. Una de las principales diferencias entre los cristales líquidos y las bacterias es que, en el último caso, la energía térmica es mucho más pequeña que la energía potencial requerida para un rearrreglo de las partículas. Por lo tanto, en el caso de la materia granular es necesario proveer energía de manera activa al sistema para producir un movimiento sostenido [39]. En lo que sigue consideramos el hecho de que las células *E. coli* son afectadas muy débilmente por las fluctuaciones térmicas y por lo tanto despreciamos el ruido térmico en la dinámica de las partículas.

Una colonia típica de bacterias de *E. coli* creciendo dentro de una cavidad microflúidica se muestra en la figura 2.1(a), donde se observa una densidad alta de individuos arreglados casi nemáticamente. Debido a este parecido con un cristal líquido nemático, es posible despreciar la granularidad del medio y considerar una aproximación de campo medio en donde la interacción de una célula con sus vecinos se transforma en la interacción de un bastón aislado con un fluido externo que se mueve con un gradiente de velocidad dado, como se muestra en la figura 2.1(b).

Una de las diferencias principales a tomar en cuenta al desarrollar esta teoría de campo medio, es el efecto del crecimiento de las células. Una vez considerado esto, es posible desarrollar una teoría sencilla para estudiar teóricamente qué factores propician el ordenamiento en las células. En este capítulo presentamos un modelo basado en las referencias [7, 9] y lo analizamos en una dimensión espacial.

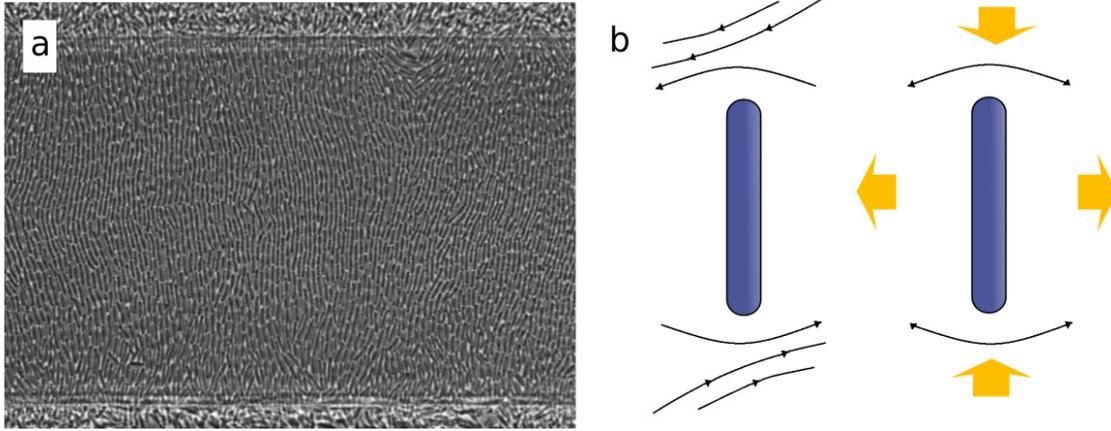


Figura 2.1: (a) Colonia densa de bacterias *E. coli*. Figura tomada de la referencia [9]. (b) La interacción de una célula con sus vecinas se aproxima por la interacción de un bastón aislado con un fluido externo. La rotación del bastón ocasiona que el fluido que lo rodea fluya. Aunque la rotación es aleatoria, en promedio el bastón se mueve como muestran las flechas gruesas. Figura adaptada de la referencia [50].

Para la descripción de la expansión del flujo de bacterias en un canal abierto de longitud  $2L$ , como el mostrado en la figura 1.12, se supone que todos los campos vectoriales dependen sólo del tiempo y la coordenada  $-L < z < L$  a lo largo del canal.

Las ecuaciones de la nematodinámica para una colonia de bacterias, describen la evolución temporal del sistema en términos de las siguientes variables de grano-grueso (*coarse-grained*): la densidad de partículas  $\rho(x, z, t)$  (número de células/volumen), la velocidad hidrodinámica  $\mathbf{v} = (v_x, v_y)(x, y, t)$ , la presión  $p(x, y, t)$  y el parámetro de orden tensorial  $\mathbf{Q}(x, z, t)$ , el cual caracteriza la orientación local de las células.

Cada célula se caracteriza por un pseudo-vector unitario  $\mathbf{u}$  a lo largo de su eje el cual especifica su orientación como se muestra en la figura 2.2. Debido a la simetría de reflexión de las células, para obtener la evolución de la orientación de las células bajo condiciones dinámicas se utiliza la función distribución de probabilidad de la orientación  $\mathbf{u}$ , denotada con  $\Psi(\mathbf{u})$ , la cual puede ser anisotrópica. La anisotropía de la distribución se caracteriza a través del parámetro de orden nemático  $\mathbf{Q}$  el cual definiremos a continuación.

## 2.1. Parámetro de orden nemático

El parámetro de orden local se define en  $d$  dimensiones de acuerdo a la siguiente expresión [50–52],

$$Q_{\alpha\beta}(\mathbf{r}) = \langle u_\alpha u_\beta - d^{-1} \delta_{\alpha\beta} \rangle, \quad (2.1)$$

donde  $\alpha, \beta \in \{x, z\}$  en dos dimensiones,  $\delta_{\alpha\beta}$  es la delta de Kronecker y  $d$  el número de dimensiones espaciales. Los paréntesis angulares denotan el promedio sobre el volumen

mesoscópico alrededor de una posición  $\mathbf{r}$ . El tensor  $Q_{\alpha\beta}$  es simétrico ( $Q_{\alpha\beta} = Q_{\beta\alpha}$ ) y de traza nula ( $Q_{\alpha\alpha} = 0$ ).

Si la distribución de  $\mathbf{u}$  tiene simetría uniaxial a lo largo de cierto vector unitario  $\mathbf{n}$ , podemos escribir,

$$Q_{\alpha\beta}(\mathbf{r}) = Q \left( n_\alpha n_\beta - \frac{1}{2} \delta_{\alpha\beta} \right), \quad (2.2)$$

donde  $n_\alpha$  son las componentes del director de Frank, el vector unitario alineado con la orientación promedio de las células en un volumen mesoscópico, véase la figura 2.2. La constante  $Q$ , indica que tanto están alineadas las partículas entre sí. Si el alineamiento es perfecto  $Q = 1$ , y si no hay alineamiento  $Q = 0$ . Por lo tanto,  $Q$  representa el grado de ordenamiento en la fase nemática y se conoce como parámetro de orden escalar.

Utilizando la definición dada por la ecuación (2.1), con  $d = 2$ , llegamos a,

$$n_\alpha n_\beta Q_{\alpha\beta} = \left\langle (\mathbf{n} \cdot \mathbf{u})^2 - \frac{1}{2} \right\rangle. \quad (2.3)$$

Por otro lado, usando la ecuación (2.2) obtenemos,

$$n_\alpha n_\beta Q_{\alpha\beta} = Q n_\alpha n_\beta \left( n_\alpha n_\beta - \frac{1}{2} \delta_{\alpha\beta} \right) = \frac{1}{2} Q. \quad (2.4)$$

Combinando las dos últimas expresiones, podemos escribir una expresión general para el parámetro de orden escalar, válida para el caso bidimensional,

$$Q = \langle 2 (\mathbf{n} \cdot \mathbf{u})^2 - 1 \rangle. \quad (2.5)$$

A partir de esta última ecuación obtenemos,

$$Q = [\langle \cos 2\phi \rangle^2 + \langle \sin 2\phi \rangle^2]^{1/2}, \quad (2.6)$$

en términos del ángulo  $\phi$  entre  $\mathbf{u}$  y  $\mathbf{n}$ . Finalmente, usando la ecuación (2.4) y las propiedades de simetría y traza nula de  $\mathbf{Q}$  obtenemos,

$$Q = \sqrt{4(Q_{xx}^2 + Q_{xz}^2)}, \quad (2.7)$$

en términos de las componentes  $Q_{xx} = -Q_{zz} = \frac{1}{2} \langle \cos 2\phi \rangle$  y  $Q_{xz} = Q_{zx} = \frac{1}{2} \langle \sin 2\phi \rangle$ . Es importante notar que en el caso de sistemas inhomogéneos y no estacionarios,  $Q$  depende de la posición y del tiempo  $Q = Q(\mathbf{r}, t)$ .

La cantidad que identificaremos en este trabajo con el parámetro de orden es el parámetro de orden promedio en el espacio o parámetro de orden global, el cual se define según la relación,

$$\langle Q(t) \rangle = \frac{1}{V} \int d\mathbf{r} Q(\mathbf{r}, t). \quad (2.8)$$

En el caso de sistemas no estacionarios donde  $\langle Q \rangle$  depende del tiempo, denotamos el promedio temporal de  $\langle Q(t) \rangle$  por  $\overline{\langle Q \rangle}$ .

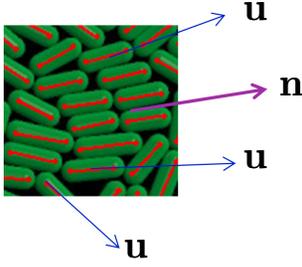


Figura 2.2: Cada célula está caracterizada por un pseudo-vector unitario  $\mathbf{u}$  que especifica su orientación (con las direcciones  $\pm\mathbf{u}$  equivalentes ya que se supone que las células son apolares). La orientación media local de las células se define a través del vector unitario  $\mathbf{n}$  llamado director de Frank.

## 2.2. Modelo continuo unidimensional

A continuación describiremos un modelo sencillo adaptado a partir de las teorías desarrolladas para los cristales líquidos nemáticos, con el que tendremos una comprensión cualitativa del flujo generado por las bacterias al crecer y dividirse, restringidas en un canal de largo  $2L$  con aberturas en sus extremos. Este modelo está basado en las ecuaciones para el campo director  $\mathbf{n}$  y el campo de velocidades, y funcionan correctamente cuando el parámetro de orden es cercano a la unidad en todas partes. Sin embargo, cerca de la transición isotrópica-nemática<sup>1</sup> [7], la magnitud del parámetro de orden cambia significativamente y es conveniente usar ecuaciones más generales de nematohidrodinámica. Las modificaciones que se hacen a dichas teorías para adaptarlas a células tipo bastón, toman en cuenta que las células están influidas en menor medida por las fluctuaciones térmicas y que las células crecen y se dividen, proceso que modifica profundamente la dinámica colectiva [7, 9]. Las ecuaciones unidimensionales (despreciando variaciones en el ancho del canal, a lo largo de la dirección  $x$ ) utilizadas para describir en una dimensión un flujo de células en un canal recto con dos aberturas en sus extremos como se muestra en la figura 1.12 son:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(\rho v)}{\partial z} = a\rho \quad \text{ecuación de continuidad,} \quad (2.9a)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} + v \frac{\partial v}{\partial z} = -\frac{1}{\rho} \frac{\partial p}{\partial z} - \mu v \quad \text{ecuación de conservación del momento,} \quad (2.9b)$$

$$\frac{\partial Q}{\partial t} + v \frac{\partial Q}{\partial z} = \frac{\partial v}{\partial z} (1 - Q^2) \quad \text{ecuación del parámetro de orden.} \quad (2.9c)$$

Para modelar la dinámica del fluido celular se debe tomar en cuenta que la masa total no se conserva y además que las células son eliminadas al alcanzar las aberturas del canal. Para modelar el primer factor se utiliza la ecuación de continuidad (2.9)a, con una modificación en el lado derecho, el cual es un término que describe el crecimiento exponencial de las células, donde  $a$  denota la razón de crecimiento. La ecuación para la velocidad es la ecuación de conservación de momento (2.9)b, la cual incluye una fuerza volumétrica  $\mathbf{f} = -\mu\rho\mathbf{v}$  debida al arrastre que experimentan las partículas con las tapas superior e inferior del contenedor (la aproximación más simple es linealmente proporcional a la velocidad  $\mathbf{v}$  de las células). El segundo requisito involucra que las

<sup>1</sup>A densidades suficientemente bajas, es más difícil para los bastones apuntar en direcciones aleatorias y de manera intuitiva se espera que el fluido sufra una transición a una fase ordenada anisotrópica con simetría uniaxial. Esto fue demostrado por Lars Onsager [53].

células se eliminan de la dinámica, se introduce a través de considerar  $p(\pm L) = 0$ . Finalmente, la ecuación (2.9)c, es la ecuación del parámetro de orden, la cual se obtiene al considerar la ecuación de Smoluchowski despreciando la difusión rotacional para un bastón moviéndose en un gradiente de velocidad débil y resolver para el parámetro de orden (el procedimiento está desarrollado a detalle en el Apéndice C). Esta ecuación es válida para colonias con  $Q \rightarrow 1$  y se obtiene a partir del ángulo de orientación de las células subtendido por el vector unitario  $\mathbf{u}$  y los ejes del canal.

Las ecuaciones (2.9) determinan el comportamiento estacionario del sistema. La ecuación (2.9)a indica una velocidad dependiente de la coordenada  $z$  ( $v = az$ ) y la ecuación (2.9)c resulta en un parámetro de orden escalar  $Q$  que tiende a 1, es decir, un sistema ordenado nemáticamente a lo largo de  $z$ . A continuación analizaremos más detalladamente este límite estacionario.

### 2.3. Regimen asintótico

Considerando el regimen asintótico o estacionario, es decir, cuando la densidad y la velocidad ya no dependen del tiempo,  $\partial_t \rho \approx 0$  y  $\partial_t v \approx 0$ , resolvemos el conjunto de ecuaciones (2.9) para  $p$  y  $Q$ . Además, suponiendo una densidad  $\rho$  espacialmente constante, la ecuación (2.9a) para la velocidad se reduce a la expresión

$$\frac{\partial v}{\partial z} = a \quad \Rightarrow \quad v = az, \quad (2.10)$$

que corresponde a un flujo expansivo. Sustituyendo este resultado, ecuación (2.10) en la ecuación (2.9b) de conservación de momento, ésta se reduce a la siguiente expresión

$$\frac{\partial p}{\partial z} = -\rho az(\mu + a). \quad (2.11)$$

e integrando con respecto a  $z$  y despejando la presión  $p$ , obtenemos

$$p = \frac{\rho(\mu + a)a}{2}(L^2 - z^2) \quad (2.12)$$

es decir, la presión dentro del canal tiene un perfil parabólico, tal que  $p(\pm L) = 0$  (células se remueven al salir del canal) y máxima en el centro ( $x = 0$ ). Despreciando variaciones espaciales en  $Q$  en la ecuación (2.9c) para el parámetro de orden obtenemos,

$$\frac{\partial Q}{\partial t} = \frac{\partial v}{\partial z}(1 - Q^2) = a(1 - Q^2), \quad (2.13)$$

expresión que al integrar resulta en,

$$Q \approx \tanh(at). \quad (2.14)$$

Esto significa que el parámetro de orden tiene el comportamiento mostrado en la figura 2.3, tiende a uno conforme avanza el tiempo. Es decir, el sistema se ordena nemáticamente.

De acuerdo a los resultados presentados en [7] para un sistema de ecuaciones no lineales similares a las ecuaciones (2.9), inicialmente la densidad crece exponencialmente a una razón  $a$  mientras que la presión es baja y no existe un gradiente de velocidad. Una vez que la densidad de las células alcanza la densidad de alto empaquetamiento aleatorio<sup>2</sup>  $\rho_c$ , la presión se incrementa rápidamente y se genera un flujo que remueve el exceso de células del canal y equilibra la densidad a un valor cercano a  $\rho_c$ . Este flujo expansivo es el que orienta a las células a lo largo del eje del canal.

Eventualmente, el sistema alcanza un régimen estacionario con una densidad y gradiente de velocidad uniformes, cuando el crecimiento de las células está exactamente balanceado por el flujo de las células salientes. En este régimen el parámetro de orden vale uno y  $\rho = \rho_c$ . Debido a la dependencia cuadrática en  $L$ , la presión dada por la ecuación (2.12) alcanza valores altos en el centro de la colonia.

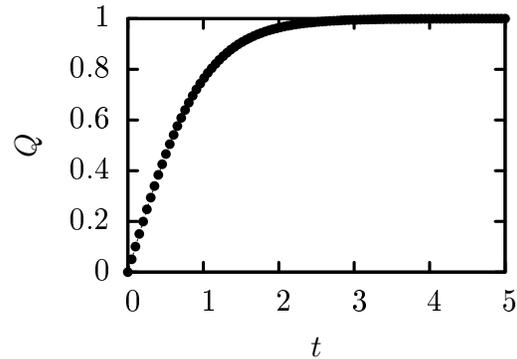


Figura 2.3: Comportamiento esquemático de la ecuación (2.14).

Los experimentos muestran que estos parámetros tienen un comportamiento similar en una colonia de bacterias *E. coli* [7]. La densidad, por unidad de área, de la colonia después de que el canal se ha llenado de bacterias, alcanza un valor numérico de 0.8. De manera similar, el parámetro de orden tiene un valor numérico alto ( $\sim 0.8$ ) y se comporta como se muestra en la figura 1.12. El tiempo en que una célula se divide en dos células hijas (*cell doubling time*) es de  $t_d \sim 30$  min en la fase inicial de crecimiento y  $t_d \sim 60$  min en la fase cuasi-estacionaria [7]. Este valor numérico nos permite calcular un valor aproximado para la razón de crecimiento  $a$  de las células, por unidad de tiempo (minutos), usando la fórmula  $t_d = \ln 2/a$  obtenemos,  $a \approx 2.3 \text{ min}^{-1}$  en la fase inicial de crecimiento y  $a = 1.2 \text{ min}^{-1}$  en la fase cuasi-estacionaria.

En el capítulo 3 presentaremos detalladamente las herramientas computacionales que utilizaremos a lo largo del desarrollo de este trabajo de investigación. Éstas se componen principalmente de simulaciones de elementos discretos usando técnicas dinámica molecular suave, con las cuales se representan a las bacterias como cilindros que crecen hasta alcanzar una longitud máxima y luego se dividen, generando dos células hijas.

---

<sup>2</sup>Alto empaquetamiento aleatorio: Es un parámetro empírico usado para caracterizar la fracción de máximo volumen de objetos sólidos obtenida cuando están empaquetados aleatoriamente.

# Capítulo 3

## Método de la simulación

En este trabajo de investigación estudiaremos con mayor detalle los factores que facilitan la organización espacio-temporal en colonias de bacterias densas (biopelículas) que crecen en un medio confinado bidimensional. Como mencionamos en el capítulo anterior, nuestro interés se centra en la modelación computacional de biopelículas formadas por la bacteria *E. coli* en el laboratorio. Experimentalmente, se ha logrado crecer biopelículas bidimensionales utilizando microcanales específicamente diseñados con tal propósito [7, 9].

Para modelar estas biopelículas bidimensionales en [7] se utilizaron simulaciones de elementos discretos con técnicas de dinámica molecular suave. A continuación introduciremos estas herramientas computacionales, las cuales serán las que modificaremos y aplicaremos en el desarrollo de nuestra investigación.

### 3.1. Bacterias

Cada bacteria *E. coli* es modelada por un cilindro con dos tapas hemisféricas en sus extremos, de longitud  $\ell$  y diámetro  $d$ , como se muestra en la figura 3.1. Aunque se trata de un objeto tridimensional, está restringido a moverse en dos dimensiones entre dos planos y dos paredes de confinamiento que representan el canal microfluídico en el que se crecen las monocapas de *E. coli*. Como resultado, cada célula tiene dos grados de libertad de traslación y un grado de libertad de rotación.

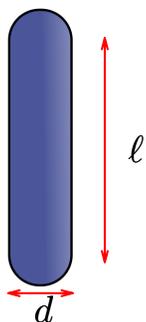


Figura 3.1: Esquema de una célula simulada, se muestran la longitud o razón de aspecto  $\ell$  (sin tapas hemisféricas) y el diámetro  $d$  de la misma.

En estas simulaciones de elementos discretos, la unidad básica es una célula de cierta longitud  $\ell$ , que crece y se divide en dos células hijas al alcanzar cierta longitud. Después de cierto tiempo, las células crecen en número y llenan el área bidimensional restringida por las paredes del canal, como se muestra en la figura 3.2. Así el modelo computacional genera una película bidimensional muy parecida a las biopelículas de *E. coli* en un canal microfluídico mostradas en las figuras 1.9 y 1.12.

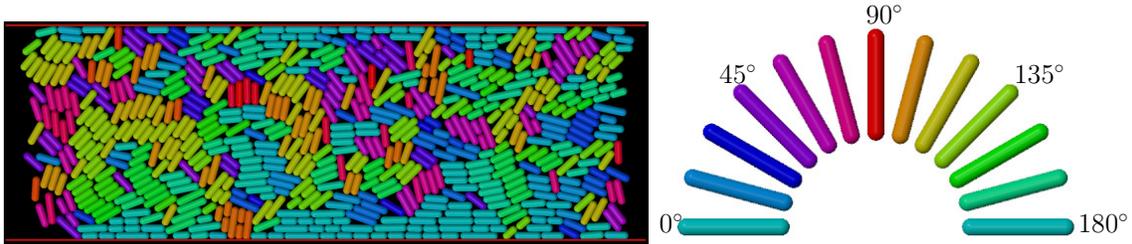


Figura 3.2: Simulación computacional de una película de células que guardan parecido en sus propiedades físicas con las bacterias *E. coli*. En este caso, las células están coloreadas de acuerdo a su orientación con los ejes de canal de acuerdo a la paleta de colores mostrada en el lado derecho.

## 3.2. Fuerzas

Si observamos detalladamente a las bacterias que forman las biopelículas mostradas en la figura 1.9, notamos que cada célula es aproximadamente rígida y a densidades altas conservan dicha rigidez, ya que no sufren deformaciones de doblamiento debidas a la presión que ejercen las células vecinas. Tomando en cuenta esta característica, las células del modelo computacional también son rígidas y conservan esta propiedad a altas densidades.

Una vez conocidas las fuerzas que existen entre las células, es decir, todas las fuerzas  $\mathbf{f}_i$  que actúan sobre la partícula  $i$  provenientes del contacto con otras partículas, con las paredes o fuerzas externas como la fuerza de arrastre hidrodinámica que siente cada célula, el problema se reduce a la integración de las ecuaciones de Newton para los grados de libertad rotacionales y traslacionales, dadas por la expresiones,

$$m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_e + \mathbf{f}_i \quad (3.1)$$

y,

$$\bar{\mathbf{I}}_i \cdot \frac{d\boldsymbol{\omega}_i}{dt} = \mathbf{t}_i, \quad (3.2)$$

con  $m_i$  la masa de la célula  $i$  localizada en la posición  $\mathbf{r}_i$ . La fuerza total  $\mathbf{f}_i = \sum_c \mathbf{f}_i^c$  es la que actúa sobre la célula  $i$  debido al contacto con otras células o con las paredes del contenedor.  $\mathbf{F}_e$  son las fuerzas externas volumétricas que actúan sobre el sistema, como la debida a la gravedad o la fuerza de arrastre hidrodinámica. La cantidad  $\mathbf{I}_i$  denota

el momento de inercia de los esfero-cilindros y  $\omega_i = d\varphi_i/dt$  su velocidad angular. El término  $\mathbf{t}_i = \sum_c (\mathbf{r}_i^c - \mathbf{r}_i) \times \mathbf{f}_i^c$ , son las torcas que la célula experimenta en los puntos de contacto ( $\mathbf{r}_c$ ) y en su centro de masas ( $\mathbf{r}_i$ ). Las torcas externas ejercidas por el fluido en una colonia experimental son despreciables.

Cuando dos células hacen contacto, las fuerzas de interacción entre ellas se calculan a partir del traslape  $\delta$  de dos esferas auxiliares cuyos centros se localizan a lo largo de los ejes de los esfero-cilindros, como se muestra en las figuras 3.3A y 3.3B. El centro de estas esferas virtuales o auxiliares se obtiene al calcular la distancia mínima entre dos segmentos de línea, por medio de la minimización de un polinomio cuadrático siguiendo la subrutina implementada en C++ por David H. Eberly [54].

Cuando una célula hace contacto con las paredes del canal, las fuerzas se calculan de una manera similar. Se dibujan dos esferas auxiliares en los puntos más cercanos al eje del cilindro y la pared, sólo que en este caso, la esfera localizada en la pared permanece fija durante la de la interacción.

Resulta menos complicado efectuar el cálculo de las fuerzas que actúan sobre cada célula si éstas se dividen en sus componentes normales ( $\mathbf{n}$ ) y tangenciales ( $\mathbf{t}$ ), con respecto a la línea de contacto (para mayor claridad localícese en la figura 3.3B los vectores unitarios  $\mathbf{n}$  y  $\mathbf{t}$ ). Es decir,

$$\mathbf{f}_{ij} = \mathbf{f}_{ij}^n + \mathbf{f}_{ij}^t. \quad (3.3)$$

### 3.2.1. Fuerzas de contacto normales

Modelar la interacción de dos células a través de la colisión inelástica de dos esferas virtuales requiere de dos términos: el primero, un término repulsivo de origen elástico que impide un traslape importante entre las esferas y el segundo, un término disipativo que modele el amortiguamiento entre las esferas mientras se traslapan (a través de un comportamiento viscoelástico lineal) [55].

Dos esferas que interactúan se traslapan durante un tiempo finito y este traslape se interpreta como la deformación elástica que sufren las células cuando están sometidas a estrés mecánico. Regresando nuevamente a la figura 3.3B, el traslape mide

$$\delta = (a_i + a_j) - (\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j) \cdot \mathbf{n}, \quad (3.4)$$

donde  $a_i$  y  $a_j$  son los radios iguales de las esferas  $i$  y  $j$  respectivamente,  $\mathbf{x}_i$  y  $\mathbf{x}_j$  los vectores de posición que apuntan desde el centro de masas de las dos células interactuantes al centro de las esferas virtuales  $i$  y  $j$ . El vector unitario  $\mathbf{n} \equiv \mathbf{n}_{ij} = (\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j)/|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j|$  apunta desde la esfera  $i$  a la  $j$ .

El primer término que mencionamos, el factor elástico repulsivo que actúa sobre la partícula  $i$  debido a la partícula  $j$  está dado por la expresión:

$$\mathbf{f}_n^{\text{elástica}} = -\tilde{k}_n \delta \mathbf{n}, \quad (3.5)$$

la cual es proporcional a una constante de rigidez  $\tilde{k}_n$  y a la elongación  $\delta$ . Esta constante  $\tilde{k}_n$ , a su vez proporcional al módulo de elasticidad del material. Aunque la ecuación (3.5)

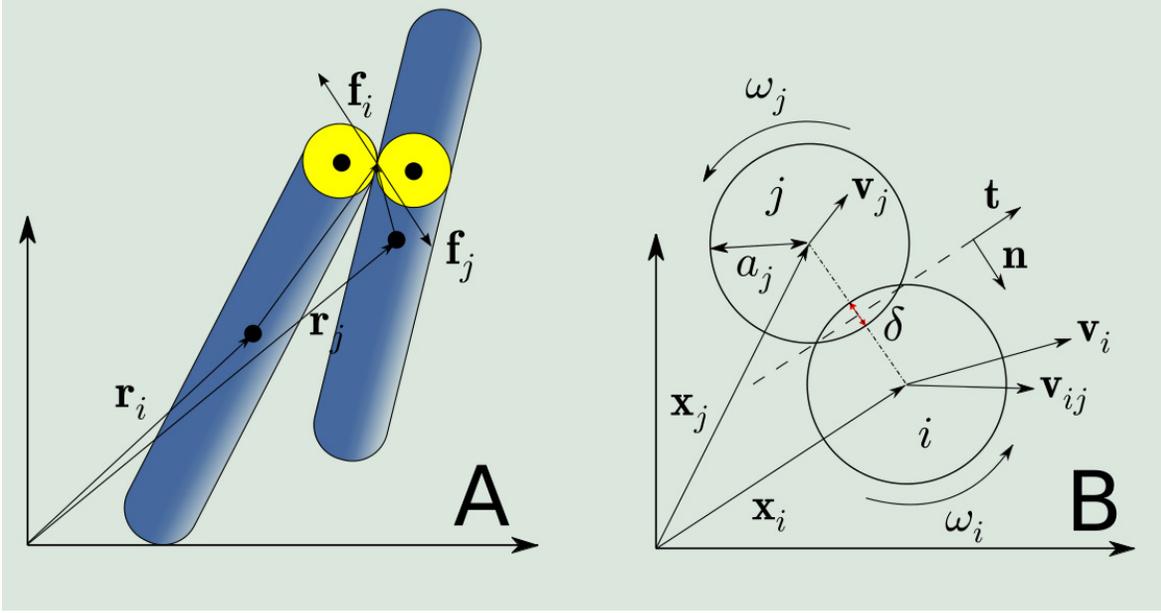


Figura 3.3: **A**: Cada célula es modelada con un esfero-cilindro, i.e. un cilindro con dos tapas hemisféricas en cada uno de sus extremos. Cuando dos células están en contacto, las fuerzas se calculan a partir de dos esferas virtuales (amarillo) con centros colocados a lo largo de los ejes del cilindro. **B**: Vista desde el marco de referencia del centro de masas de las células mostradas en (A): a partir del traslape  $\delta$  entre ambas esferas, se calculan las fuerzas de interacción. Por simplicidad en el cálculo, las fuerzas se dividen en sus componentes normal y tangencial a lo largo de los vectores unitarios  $\mathbf{n}$  y  $\mathbf{t}$  respectivamente.

modela correctamente la interacción entre dos partículas, para el caso de dos esferas elásticas, se puede usar una expresión más refinada, obtenida a partir de la teoría del contacto elástico desarrollada por Heinrich Hertz en 1882 [56–58], la cual predice,

$$\mathbf{f}_n^{\text{elástica}} = -k_n \delta^{\frac{3}{2}} \mathbf{n}, \quad (3.6)$$

como fuerza repulsiva. Aquí  $k_n$  es una constante de rigidez no lineal relacionada con las propiedades elásticas y radios de las esferas interactuando.

El segundo término considera la disipación de la energía durante las colisiones, es decir, se transfiere energía cinética a los grados de libertad internos del sistema, la cual finalmente se transforma en calor. Para modelar esto se considera una fuerza de amortiguamiento viscoelástica proporcional a la velocidad relativa en la dirección normal,

$$\mathbf{f}_n^{\text{disipativa}} = -\gamma_n m_e \delta \mathbf{v}_n, \quad (3.7)$$

en este caso,  $m_e$  es la masa reducida de las dos células en colisión,  $\mathbf{v}_n = (\mathbf{v}_{ij} \cdot \mathbf{n}) \mathbf{n} = ((\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_j) \cdot \mathbf{n}) \mathbf{n}$  es la velocidad normal y  $\gamma_n$  es un parámetro ajustable para la disipación.

Agregando las ecuaciones (3.6) y (3.7), obtenemos finalmente la fuerza de contacto

normal:

$$\mathbf{f}_n = -k_n \delta^{\frac{3}{2}} \mathbf{n} - \gamma_n m_e \delta \mathbf{v}_n. \quad (3.8)$$

El modelo descrito en los párrafos anteriores, se conoce como el modelo del resorte amortiguado, traducción del inglés de *spring dashpot model*<sup>1</sup>. Con este modelo se visualizan a las partículas como osciladores (de Hertz) amortiguados [55] y ha sido utilizado exitosamente en simulaciones de materia granular en la literatura [7, 8].

### 3.2.2. Fuerzas de contacto tangenciales

Estas fuerzas son las más difíciles de implementar computacionalmente. La fuerza en la dirección tangencial se implementa siguiendo los trabajos de Cundall-Strack [59] quienes introdujeron un modelo de resorte tangencial para tomar en cuenta la fricción estática.

Generalmente, las fuerzas tangenciales se implementan proporcionalmente a las fuerzas normales vía la ley de fricción de Coulomb [58], dada por las siguientes expresiones:

$$f_t^e \leq \mu_s f_n, \quad \text{para la fricción estática } (v_t = 0), \quad (3.9)$$

y

$$f_t^d = \mu_d f_n, \quad \text{para la fricción dinámica } (v_t \neq 0). \quad (3.10)$$

Con  $\mu_s$  y  $\mu_d$  los coeficientes de fricción estática y dinámica respectivamente, que cumplen la condición  $\mu_d \leq \mu_s$ . El caso estático, se modela con un resorte elástico, de tal manera de tener una fuerza restitutiva *i. e.* una fuerza tangencial restante, distinta de cero en el equilibrio estático debido a una fricción de Coulomb activa. El símbolo  $\leq$  en la ecuación (3.9) implica que  $f_t^e$  compensa exactamente la fuerza externa (desconocida) aplicada en el contacto, de tal forma que se mantiene  $v_t = 0$ . Si dicha fuerza externa supera la cantidad  $\mu_s f_n$  se considera ahora el régimen de la fricción dinámica y la ecuación (3.10) es aplicable.

La forma más simple de la ley de fricción de Coulomb consiste en expresar la dependencia entre la fuerzas normal y tangencial de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\mathbf{f}_t^{\text{Coulomb}} = -\mu |\mathbf{f}_n| \mathbf{t}, \quad (3.11)$$

la cual sólo considera la fricción dinámica  $\mu = \mu_d$  de la ecuación (3.10). La parte estática en la ecuación (3.9) es más compleja y la describiremos brevemente a continuación.

#### Fricción estática

La dificultad de introducir la fricción estática se origina en la discontinuidad de la ecuación (3.11) cuando  $\mathbf{v}_t \rightarrow 0$ , como se muestra con líneas punteadas en la figura 3.4. Para sortear esto se introduce una fuerza viscosa de la forma,

---

<sup>1</sup>La expresión  $\mathbf{f}_n = k_n \delta \mathbf{n} - \gamma_n m_e \delta \mathbf{v}_n$  se conoce como modelo *linear spring dashpot model*.

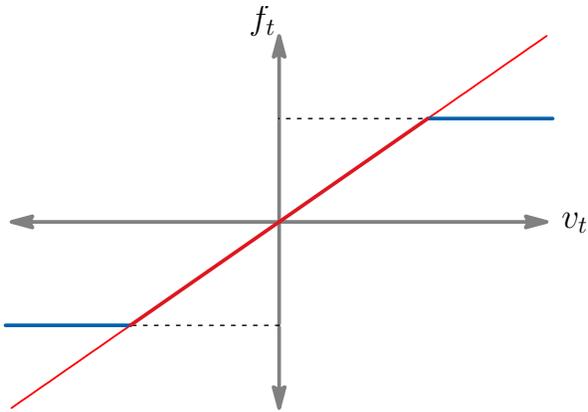


Figura 3.4: Discontinuidad en la expresión de Coulomb usada para calcular la fuerza tangencial. La expresión dada en la ecuación (3.11) se sustituye por una fuerza lineal proporcional a la velocidad tangencial.

$$\mathbf{f}_t^{\text{viscoso}} = -\gamma_t m_e \delta^{1/2} \mathbf{v}_t, \quad (3.12)$$

línea roja en la figura 3.4, la cual regulariza la ecuación (3.11), aunque no exista un equivalente real fenomenológico de una fuerza viscosa en la colisión de dos cuerpos.

La velocidad tangencial relativa en la ecuación (3.12) se obtiene a partir de la velocidad relativa de las partículas  $i$  y  $j$  en el contacto,

$$\mathbf{v}_t = \mathbf{v}_{ij} - \mathbf{v}_n = \mathbf{v}_{ij} - (\mathbf{v}_{ij} \cdot \mathbf{n})\mathbf{n}, \quad (3.13)$$

donde la velocidad relativa esta dada por la expresión:

$$\mathbf{v}_{ij} = (\mathbf{v}_i - \mathbf{v}_j) - (\omega_i a_i + \omega_j a_j) \times \mathbf{n} \quad (3.14)$$

con  $\omega$  la velocidad angular de las partículas. Esta velocidad tangencial relativa define el vector unitario tangencial  $\mathbf{t} = \frac{\mathbf{v}_t}{|\mathbf{v}_t|}$  mostrado en la figura 3.3B.

Acoplando las ecuaciones (3.11) y (3.12) y tomando el mínimo llegamos a una expresión para la fricción tangencial ampliamente utilizada en la literatura [60],

$$\mathbf{f}_t = -\min(\gamma_t m_e \delta^{1/2} |\mathbf{v}_t|, |\mu \mathbf{f}_n|) \mathbf{t}, \quad (3.15)$$

donde el parámetro  $\gamma_t$  es auxiliar y representa una constante de amortiguamiento que se ajusta a un valor numérico suficientemente grande para que la singularidad se anule y por otro lado, que las desviaciones de la ecuación (3.11) sean suficientemente pequeñas.

Las simulaciones de elementos discretos se ejecutan en unidades reducidas y todas las cantidades están normalizadas en términos de una combinación del diámetro  $d$ , la masa  $m$  de la esfera virtual y la aceleración debida a la gravedad  $g$ . Los valores típicos de los parámetros materiales son  $k_n = 2 \times 10^6 mg/d$  y  $\gamma_n = \gamma_t = 2.2 \times 10^2 (g/d)^{1/2}$  [7].

### 3.2.3. Fuerza de arrastre de Stokes

Hemos mencionado que las bacterias *Escherichia coli* crecen en el interior del canal microfluídico, rodeadas de un medio viscoso el cual les proporciona los nutrientes necesarios para su desarrollo y elimina sus desechos. Para modelar la fricción que cada

célula experimenta con las paredes y tapas del canal y el medio viscoso introducimos una fuerza de arrastre hidrodinámica tipo Stokes. Una partícula sólida de radio  $a_i$ , moviéndose con velocidad  $v_i$  en un fluido sufre una fuerza de arrastre dada por:

$$\mathbf{F}_i^{\text{Stokes}} = -\mu m_i \mathbf{v}_i, \quad (3.16)$$

la cual se conoce como la ley de Stokes. El signo negativo indica que la fuerza está dirigida en dirección contraria a la dirección de la velocidad de la partícula. El símbolo  $\mu$  es la fricción.

### 3.3. Crecimiento de células y división

Para modelar la proliferación de las células dentro de un canal microfluídico utilizamos un algoritmo previamente utilizado en la simulación de la dinámica de bastones granulares [8] modificado apropiadamente para considerar el carácter activo (crecimiento y división) de las células *E. coli* [7].

La longitud  $\ell$  de las células, véase la figura 3.1, crece exponencialmente en función del tiempo, de acuerdo a la relación

$$\ell = \ell_0 e^{at}, \quad (3.17)$$

donde  $a$  es la razón de crecimiento. En el momento en que  $\ell > \ell_m \approx 2\ell_0$ , la célula se divide en dos células hijas de igual longitud y colineales, como se representa en la figura 3.3. La longitud  $\ell_0$  y la razón de crecimiento  $a$ , son cantidades fijas que se escogen al inicio de la simulación. Las células hijas continúan creciendo independientemente, repitiendo el proceso de crecimiento y división, dando como resultado un crecimiento exponencial en la población.

Para evitar sincronizaciones y que todas las células se crezcan y se dividan al mismo tiempo, la longitud máxima de división se obtiene a partir de una distribución gaussiana centrada alrededor de  $2\ell_0$  y con una desviación estándar de 0.2. Por la misma razón, las razones de crecimiento  $a$  se obtienen a partir de una distribución gaussiana centrada en  $a$  que se asigna al inicio de la simulación y con una desviación estándar de 0.1.



Figura 3.5: Para un modelado más preciso de las bacterias *E. coli*, las células en la simulación crecen y se dividen en dos células hijas colineales cuando alcanzan una longitud máxima  $\ell_m$ .

Las unidades utilizadas en las simulaciones están normalizados en términos del diámetro  $d$  de las células. En la figura 3.6 mostramos un cubo de lados unitarios en un arreglo cúbico con una esfera virtual (azul) de diámetro unitario en cada uno de sus

vértices. El diámetro  $d$  de la célula se define en términos del diámetro de una esfera (verde) que ajusta en el interior del arreglo con  $d = \sqrt{3} - 1$ .

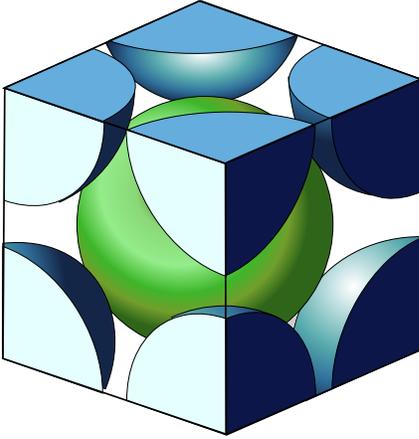


Figura 3.6: Celda unitaria de empaquetamiento de las esferas virtuales (azul) con diámetro unitario. Esta geometría define el diámetro de un bastón (verde) en  $d = \sqrt{3} - 1$ .

Al comienzo de las simulaciones, las células se distribuyen uniformemente en la cavidad, inicialmente a una densidad baja  $\rho = 0.002$  y con orientaciones aleatorias. Se imponen condiciones a la frontera abiertas en las salidas del canal, de tal forma que las células que alcanzan estas regiones son automáticamente eliminadas del sistema.

Agrupando todo lo presentado en este capítulo obtenemos un modelo computacional de bastones proliferando, que genera películas que se parecen mucho a las colonias de bacterias *E. coli* dentro de un dispositivo microfluídico. Con este modelo, podemos variar parámetros como el valor de la fricción de Coulomb, la fricción de Stokes  $\mu$ , el tamaño y razón de crecimiento de las células, el tamaño del canal, etc., y determinar a través de simulaciones los factores que ordenan o desordenan el sistema.

Usando estos modelos computacionales en [7] lograron mostrar que el ordenamiento nemático ocurre muy rápidamente en colonias pequeñas, mientras que en colonias grandes se pierde dicho orden y en lugar aparecen zonas que muestran solamente un ordenamiento local.

# Capítulo 4

## Colonias de células proliferando

El objetivo de nuestro trabajo de investigación es determinar qué factores propician el ordenamiento nemático en colonias de bacterias *E. coli* y caracterizar las propiedades dinámicas de los coeficientes obtenidos. Usando simulaciones de dinámica molecular suave, comenzamos nuestro estudio con canales pequeños que se componen de aproximadamente  $10^3$  células. El ordenamiento nemático se adquiere muy rápidamente en sistemas con células largas, véase la referencia [7], en donde se muestra que esto es propiciado fundamentalmente por las paredes al influir sobre el alineamiento de las células.

Como habíamos dicho en el capítulo 1, es conveniente para aplicaciones prácticas construir tejidos grandes en donde las células estén altamente ordenadas. Sin embargo, como se observa en la figura 1.9 en el caso de canales anchos el sistema que se obtiene es desordenado, aunque para canales más estrechos, como el mostrado en la figura 1.12 existen regiones con un ordenamiento nemático alto.

En este capítulo presentamos los resultados obtenidos a través de simulaciones para canales pequeños, los cuales inicialmente contienen dos células con posiciones y orientaciones aleatorias, que crecen exponencialmente en el tiempo y se dividen al alcanzar cierta longitud. Este proceso se repite nuevamente con las células hijas y después de diez generaciones el canal se llena completamente y se alcanza un régimen estacionario con un número de células casi constante. Debido al proceso de crecimiento y división, continuamente se crean nuevas células, las cuales empujan a las vecinas, provocando que las células cercanas a los extremos abiertos abandonen el canal. Las células que proliferan dentro del canal, llenan el área disponible muy rápidamente y debido a la influencia de las paredes, se alinean nemáticamente a lo largo del mismo como se muestra cualitativamente en la figura 4.1(a). Cuantitativamente mostramos también en la figura 4.1(b-d) con las series temporales, la evolución del parámetro de orden  $Q(t)$  y las presiones transversal  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  y longitudinal  $\langle\sigma_{zz}\rangle(t)$ , las cuales definiremos más adelante.

La variación de ciertos parámetros, como la fricción  $\mu$  de la ecuación (3.16), conduce a la desestabilización del orden nemático alcanzado en las colonias. En este capítulo exploramos lo que ocurre en el sistema cuando variamos  $\mu$ , la longitud  $\ell_0$  y la razón  $a$  de crecimiento de las células.

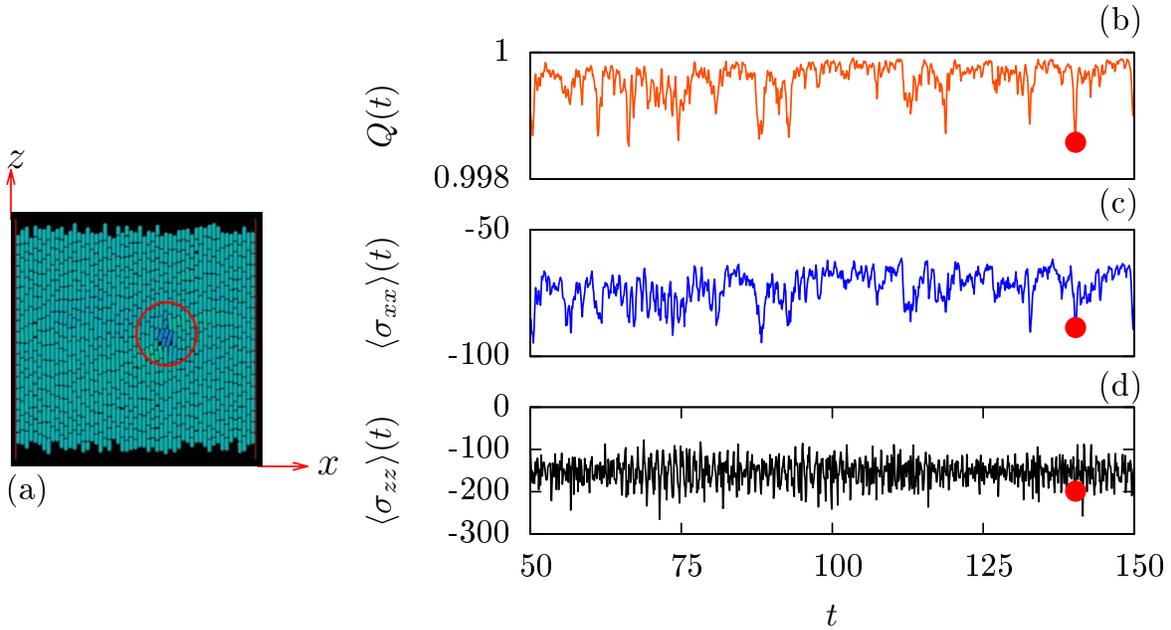


Figura 4.1: (a): (Círculo rojo) Inestabilidad observada en el tiempo  $t = 130$  para un sistema de tamaño  $L_x = L_z = 40$ . Las células tienen una razón de crecimiento  $a = 1.0$  y una longitud promedio  $\ell_0 = 4$ . (b-d) Series temporales del parámetro de orden  $Q(t)$  y las componentes del tensor de esfuerzos  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  y  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$  promediadas sobre todo el canal. El punto rojo ( $\bullet$ ) corresponde a los valores de dichas cantidades en el momento que ocurre la inestabilidad encerrada en el círculo de la izquierda.

## 4.1. Comportamiento del parámetro de orden nemático

Inicialmente las colonias simuladas comienzan con unas pocas células orientadas aleatoriamente y distribuidas dentro del canal, las cuales inmediatamente crecen y se dividen. Si dejamos transcurrir el tiempo, la densidad de bastones fluctúa en el tiempo alrededor de una constante, como se muestra en la figura 4.2, y dependiendo de la razón de aspecto de las células, el canal se llena con cerca de  $10^3$  individuos. Para medir el grado de alineamiento promedio de las células en el régimen estacionario, calculamos el parámetro de orden nemático global definido según la ecuación (2.6). Cuando la colonia está en un estado desordenado  $Q$  tiende a cero, mientras que en el ordenamiento perfectamente nemático  $Q = 1$ .

### 4.1.1. Efectos de la razón de aspecto $\ell_0$ , la razón de crecimiento $a$ y la fricción $\mu$ sobre $Q$ .

#### Fricción casi nula

Inicialmente consideramos sistemas con fricciones muy cercanas a cero ( $\mu = \nu_{cc} = 10^{-6}$ ) y razones de aspecto  $\ell_0$  variable. En la figura 4.3 mostramos imágenes en el

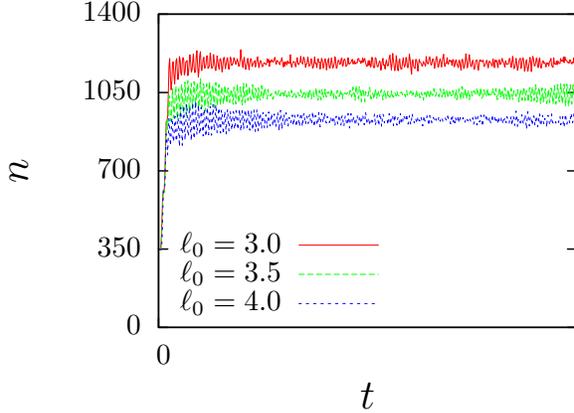


Figura 4.2: Número de células  $n$  como función del tiempo que llenan un canal bidimensional con  $L_x = L_z = 40$ . Se muestran distintas longitudes:  $\ell_0 = 4.0$ , el canal se llena con aproximadamente 900 células, para  $\ell_0 = 3.5$  con 1000 para y  $\ell_0 = 3.0$  con 1200.

régimen estacionario de los siguientes sistemas: (a)-(c) Células con razón de aspecto variable,  $\ell_0 = 2.0$  (a),  $\ell_0 = 3.0$  (b) y  $\ell_0 = 4.0$  (c), se observa que los sistemas con células más largas producen colonias con un orden nemático más alto  $Q \approx 1$ , figura 4.3(c). Sin embargo, este valor alto en el parámetro de orden  $Q$  disminuye rápidamente a  $Q \approx 0.65$  para células con longitudes  $\ell_0 < 3$ , figura 4.3(a) y (b). Para sistemas compuestos de células cortas ( $\ell_0 = 2$ ), figura 4.3(a), están presentes muchas regiones desordenadas, las cuales aparecen y desaparecen continuamente en el tiempo. Es importante notar que las bacterias *E. coli* tienen razones de aspecto más grandes que 3 [61] y por lo tanto predecimos de este análisis que pueden ser propensas a formar colonias densas ordenadas en la presencia de fronteras.

De manera similar variamos la razón de crecimiento  $a$  de las células, con valores en el rango  $[0.2 - 1]$ , donde las células con  $a$  más pequeña crecen más lentamente que las células con  $a$  cercana a la unidad. Los resultados se muestran en la figura 4.4 para tres valores diferentes. Nuestros resultados indican que  $a$  tiene poco impacto sobre  $Q$  en el régimen asintótico, ya que las tres curvas con  $a = 0.1, 0.5$  y  $1$  colapsan sobre sí mismas en la figura 4.4(a). Esto se puede observar mejor en la figura 4.5 donde se muestra en una gráfica tridimensional la variación de  $Q$  en términos de  $\ell_0$  y  $a$ .

Los resultados presentados en esta sección indican que únicamente la longitud de las células  $\ell_0$  afecta el parámetro de orden  $Q$ . Una razón de crecimiento lenta implica que la simulación tiene que ser considerablemente más larga (tiempo) para lograr el equilibrio. Debido a esto, las simulaciones con  $a$  pequeñas duraron cinco veces más que las efectuadas con  $a$  grande. Esto también se tomó en cuenta en las simulaciones con células más cortas.

### Fricción $\mu > 0$

Cuando la fricción  $\mu$  es finita en la ecuación (3.16), el orden nemático puede ser significativamente más bajo que en el caso con  $\mu = 10^{-6}$ , aún para colonias con células largas ( $\ell_0 \geq 3$ ). Como se muestra en la figura 4.3(d)-(f), los estados ordenados están aproximadamente compuestos de columnas de células fluyendo paralelas entre sí. Un valor en la fricción más grande debe incrementar la presión ejercida a lo largo del eje del canal y así incrementar las fuerzas de interacción repulsiva entre células vecinas de la misma columna. De acuerdo con el análisis continuo presentado en [9] esta energía

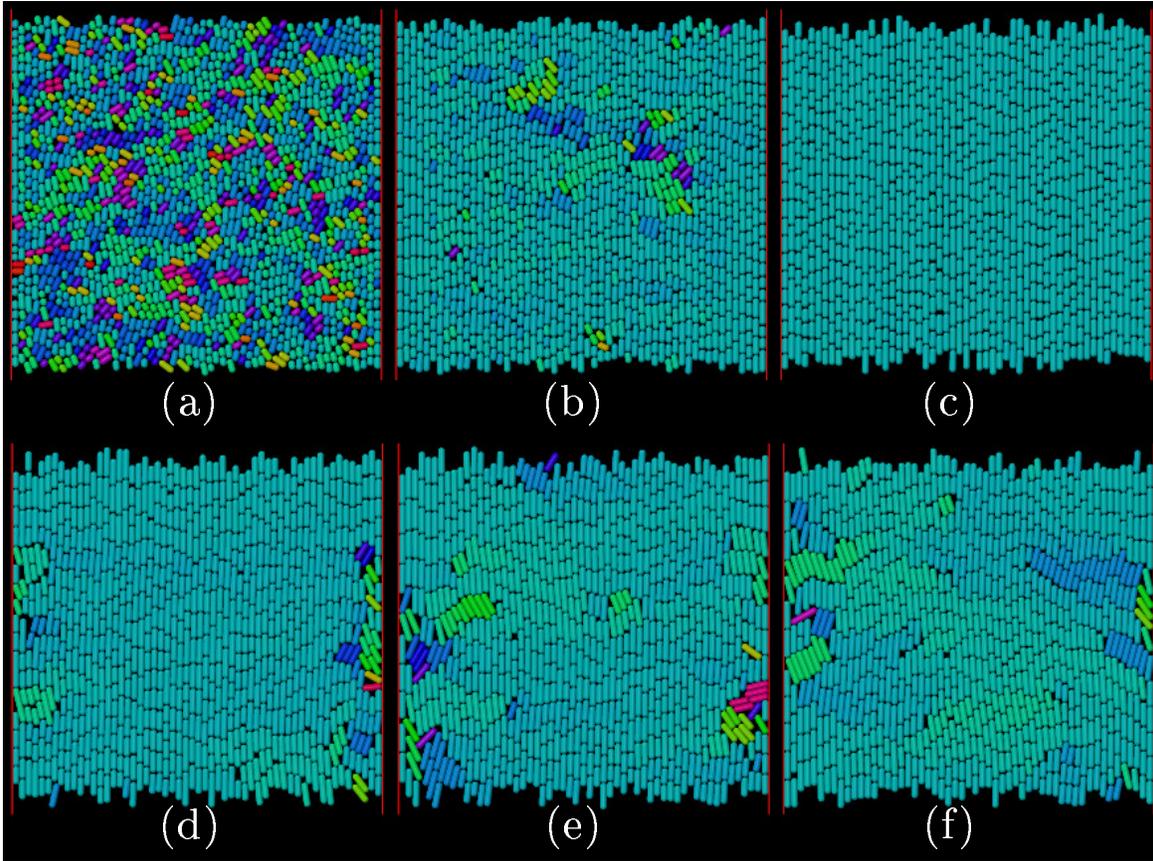


Figura 4.3: Configuraciones típicas en el régimen estacionario de colonias de bacterias simuladas llenando el canal, con los bastones coloreados de acuerdo a su orientación, véase el diagrama mostrado en la figura 3.2. (a)-(c) Sistemas con fricción de arrastre baja  $\mu = 10^{-6}$  y bastones con diferentes razones de aspecto:  $\ell_0 = 2$  (a),  $\ell_0 = 3$  (b) y  $\ell_0 = 4$  (c). La razón de crecimiento es  $a = 1$ . (d)-(f) Sistemas con  $\ell_0 = 4$  y con fricción de arrastre variable:  $\mu = 0.45$  (d),  $\mu = 0.50$  (e) y  $\mu = 0.55$  (f), donde intermitentemente aparecen regiones desordenadas.

compresiva puede ser liberada si las columnas de las células se doblan (o pandean), lo cual produce configuraciones menos ordenadas ( $Q < 1$ ). Se observa que  $Q$  en promedio decae con  $\mu$ , figura 4.4(b). Para un valor fijo de  $\mu$  los sistemas con una razón de aspecto  $\ell_0$  más grande son más ordenados. Esto está de acuerdo cualitativamente con la predicción en la referencia [9], donde la constante de doblamiento  $\xi$  en la energía elástica libre del sistema se estimó a partir del traslape de una célula con las células de una columna vecina, resultando en  $\xi \propto \ell_0^3$ .

Un caso peculiar de alto ordenamiento nemático aún para células cortas se muestra también en la figura 4.4(a), (línea negra con  $\bullet$ ). Se disminuyó la fricción entre las células y las paredes  $\mu = 10^{-6}$ , mientras que la fricción entre célula-célula se aumentó a  $\nu_{cc} = 0.5$ . El aumento en este último parámetro indujo un ordenamiento en el sistema aún para células con razón de aspecto  $\ell_0 < 3$ . Esto es debido a que es más difícil que las células se deslicen entre sí y consecuentemente el sistema ya no se desordena en

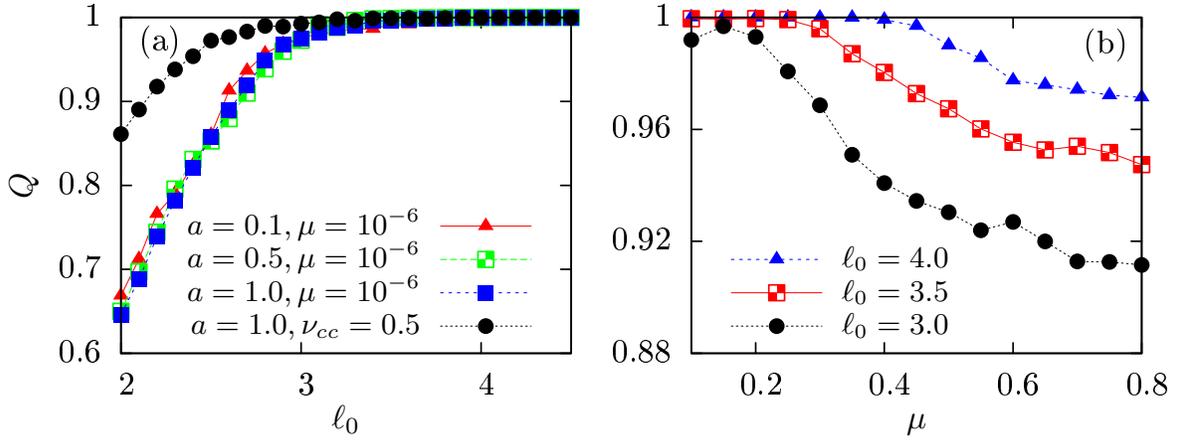


Figura 4.4: (a) Parámetro de orden promedio  $Q$  como función de la razón de aspecto de las células justo después de la división ( $\mu = 10^{-6}, \nu_{cc} = 10^{-6}$ ). La razón de crecimiento  $a$  tiene muy poco impacto sobre el valor del parámetro de orden  $Q$ , como se muestra para las tres curvas traslapándose. Se muestra también el caso con fricciones bajas entre las células y las paredes  $\mu = 10^{-6}$  y fricciones más altas entre células  $\nu_{cc} = 0.5$ , que resulta en un sistema con un parámetro de orden más alto para células cortas con  $l_0 < 3$ , línea negra con  $\bullet$ . (b) Valor promedio del parámetro de orden  $Q$  como función de la fricción  $\mu$  para distintas razones de aspecto  $l_0$  ( $\nu_{cc} = 10^{-6}$ ).

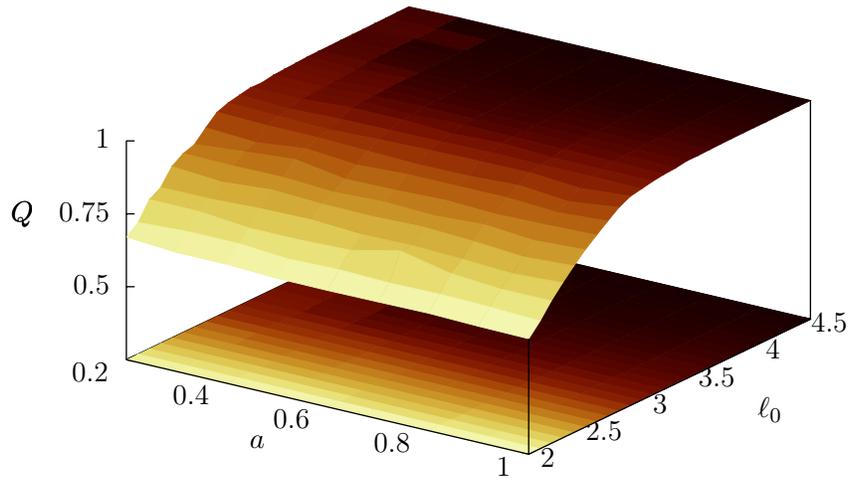


Figura 4.5: Gráfica del parámetro de orden  $Q$  en función de la razón de aspecto  $l_0$  y la razón de crecimiento  $a$  de las células. Los resultados indican que longitudes  $l_0 = 2.0$ , es decir células cortas generan colonias desordenadas con  $Q \approx 0.65$ , mientras que células largas  $l_0 = 4.0$  resultan en sistemas ordenados nemáticamente con  $Q \approx 1$ . Nótese que estos valores en el parámetro de orden son independientes del valor numérico de la razón de crecimiento  $a$ .

regiones centrales del canal.

El valor promedio del parámetro de orden, como función de las dimensiones del canal, para distintos valores en la fricción  $\mu$  se muestra en la figura 4.6(a). En este caso los parámetros relevantes en la simulación fueron  $\ell_0 = 4$ ,  $a = 1$ ,  $L_x = 40$  y  $L_z = 35, 40, 50$  y  $60$ . Inicialmente, para  $\mu < 1$  el sistema pierde el orden nemático muy rápidamente cuando aumenta la fricción. Después de cruzar el valor  $\mu = 1$ , se observa que la curva toma una pendiente positiva, que corresponde a sistemas más ordenados que en el caso con  $\mu = 1$ . Un análisis de las configuraciones para  $\mu = 0.1, 1$  y  $5$  se muestra en las figuras 4.6(b-d). Para fricciones más bajas con  $\mu = 0.1$ , figura 4.6(b), el sistema es muy ordenado y están acomodadas un total de 55 columnas de células paralelas a las paredes del mismo. Cuando  $\mu$  aumenta a 1, véase la figura 4.6(c), surgen regiones de desorden cerca de las paredes del canal, lo cual concuerda con la disminución medida en  $Q$ . Sin embargo, al aumentar aún más la fricción, figura 4.6(d), aumenta el número de células dentro del canal debido a que se eliminan más lentamente del mismo. El sistema se vuelve más denso y se ordena nemáticamente con un total de 66 columnas acomodadas en su interior. Este ordenamiento observado en la colonia a fricciones más altas, puede deberse a la ocurrencia de una inestabilidad de doblamiento en el sistema, fenómeno que introduciremos más adelante, en el que las colonias disminuyen  $Q$  durante un lapso corto de tiempo, para ordenarse nemáticamente de nuevo.

En los siguientes cálculos mantenemos fijo  $\ell_0 = 4$ . La figura 4.7 muestra la evolución en el tiempo del parámetro de orden  $Q(t)$  para diferentes  $\mu$  obtenidas tomando únicamente el promedio espacial. En particular, a una fricción relativamente alta ( $\mu = 0.45$ ), la colonia puede exhibir periodos largos con un orden nemático alto, interrumpidos de vez en cuando por ráfagas de desorden o “turbulencia”. Este comportamiento intermitente de  $Q(t)$  se observa en un rango muy estrecho de fricciones  $\mu = 0.4 - 0.5$ .

### 4.1.2. Dinámica intermitente

La intermitencia es un fenómeno frecuentemente observado en sistemas fuera de equilibrio, ha sido detectado en la dinámica de fluidos y un gran número de experimentos en sistemas biológicos [62–64]. La característica principal de la intermitencia, es la ocurrencia de una señal que muestra fases regulares (laminares) (también llamadas *intermissions*) intercalada aleatoriamente por ráfagas irregulares de duración corta [63].

La ruta al caos a través de la intermitencia fué estudiada por vez primera en los trabajos de Pomeau y Maneville [65], al resolver numéricamente las ecuaciones diferenciales del modelo de Lorenz. En este artículo identificaron las tres bifurcaciones asociadas con las intermitencias comúnmente observadas en mapas dimensionales, conocidas como intermitencias tipo-I, tipo-II y tipo III<sup>1</sup>. A pesar de las similitudes que existen entre cada uno de los tipos de intermitencia (la presencia de dos fases alternándose en la serie temporal), cada una tiene sus propias características en la dependencia en el parámetro de control de la duración de la fase laminar o la distribución de la duración de las fases laminares.

---

<sup>1</sup>Un mecanismo adicional para generar intermitencia está relacionada a una inestabilidad transversa en atractores caóticos confinados a una variedad cuya dimensión es más pequeña que todo el espacio fase, a este cuarta clasificación se le conoce como intermitencia *on-off* [64, 66]

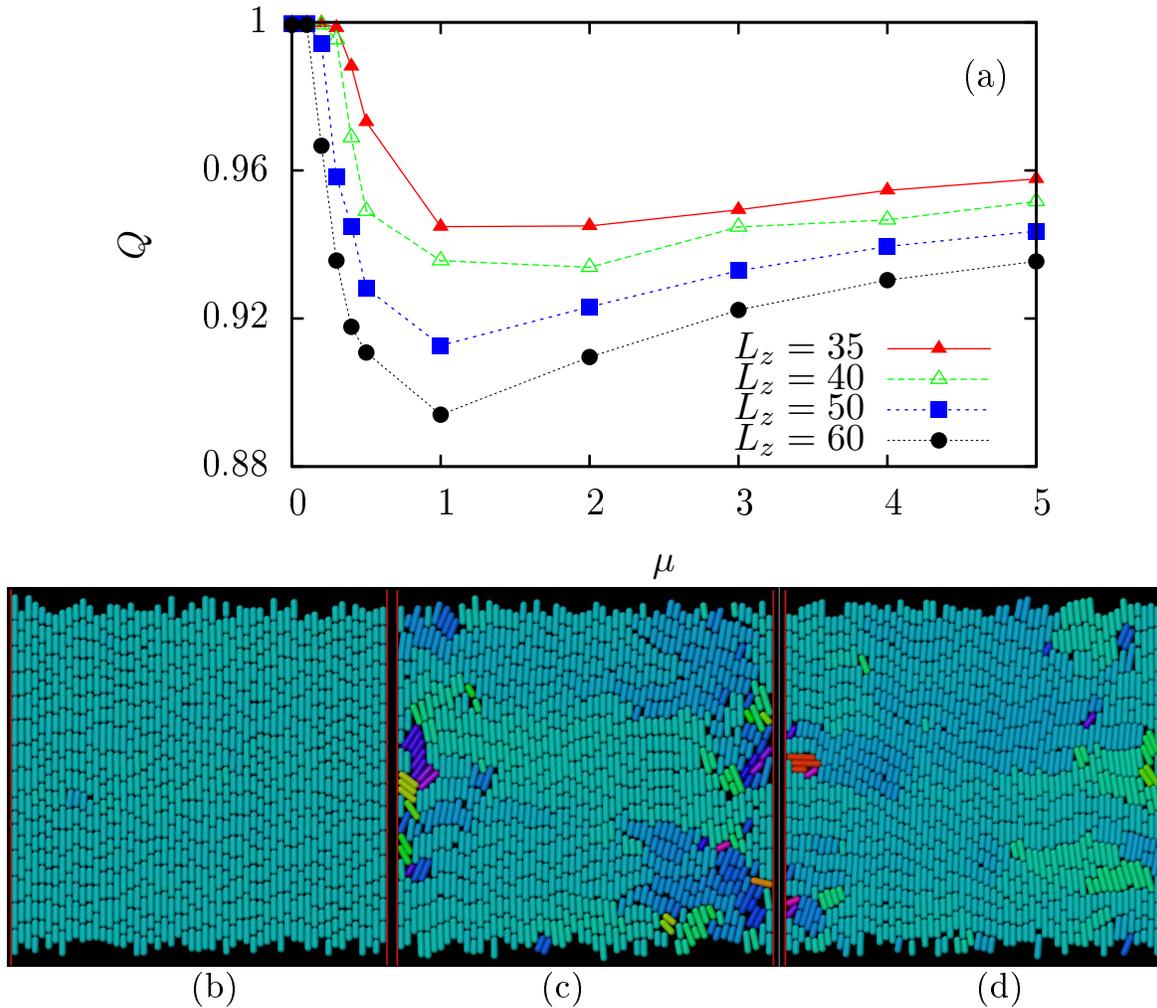


Figura 4.6: (a)  $Q$  como función de la fricción  $\mu$  para canales con dimensiones  $L_x = 40$  y  $L_z = 35, 40, 50$  y  $60$ . Se observa un desordenamiento muy rápido del sistema al incrementar la fricción  $\mu$ . Sin embargo cuando  $\mu > 1$ , el parámetro de orden  $Q$  aumenta ligeramente, lo que significa que se obtienen sistemas más ordenados que el caso  $\mu = 1$  para fricciones altas. (b-d) Analizamos algunas configuraciones para distintas fricciones  $\mu$ . (b)  $\mu = 0.1$ : A fricciones muy bajas el sistema está altamente ordenado y contiene un total de 55 columnas de células paralelas a las paredes del canal. (c)  $\mu = 1$ : El sistema muestra regiones de desorden cerca de las paredes del canal, lo cual disminuye  $Q$ . (d)  $\mu = 5$ : La fricción alta evita que las células abandonen rápidamente el canal y el sistema se vuelve más denso, con un total de 66 columnas de células en su interior. Debido a que las columnas están más compactas entre sí, las ráfagas de desorden desaparecen y el sistema es más ordenado, comparado con el caso  $\mu = 1$ .

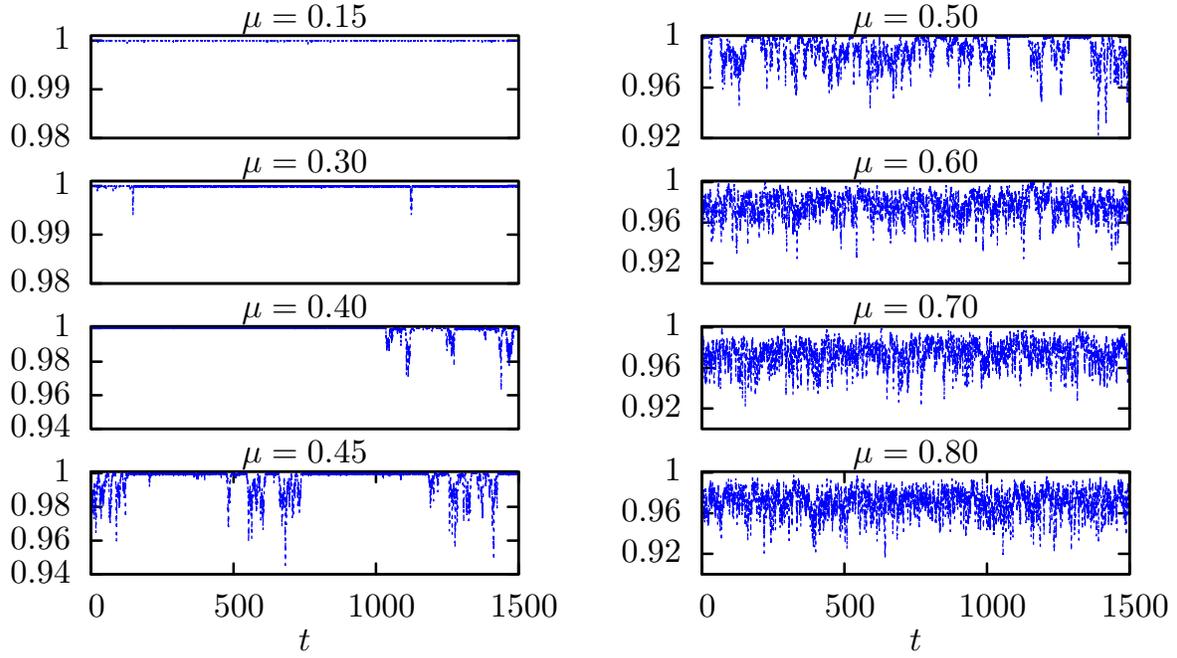


Figura 4.7: Series temporales de  $Q(t)$  para algunos valores representativos de  $\mu$ . Valores con  $\mu < 0.3$  resultan en sistemas con un orden nemático alto ( $Q \sim 1$ ). Valores intermedios, en particular  $\mu = 0.4$  y  $0.45$  corresponden a un sistema en una fase laminar interrumpida de vez en cuando por ráfagas de desorden. Finalmente con  $\mu \geq 0.5$  la colonia se encuentra en un estado “turbulento”.

En particular, el comportamiento intermitente tipo-I se caracteriza por la duración media de las fases laminares  $\tau$  inversamente proporcionales a la raíz cuadrada del parámetro de criticalidad  $(\epsilon_c - \epsilon)$ , es decir,

$$\tau \sim (\epsilon_c - \epsilon)^{-1/2}, \quad (4.1)$$

donde  $\epsilon$  es el parámetro de control y  $\epsilon_c$  es su valor de bifurcación correspondiente al punto de bifurcación a nodo silla. Cuando se agrega ruido al sistema bajo estudio, éste induce nuevas características en el comportamiento del sistema, por ejemplo, el exponente mostrado en la ecuación (4.1) tiende a un valor de  $-3/2$  [67,68].

Este comportamiento encaja perfectamente al observado en la figura 4.7 para el parámetro de orden  $Q$  en función del tiempo, con el parámetro de control  $\epsilon \equiv Q$  y  $Q_c$  el valor correspondiente a la ocurrencia del régimen caótico. Siguiendo un método similar propuesto en la referencia [69] para caracterizar la dinámica intermitente del parámetro de orden de un sistema de partículas activas ordenado, extraemos de la serie temporal correspondiente la función distribución de probabilidad de  $Q(t)$ , para diferentes valores de la fricción de arrastre  $\mu$ . La figura 4.8, muestra que el caso  $\mu = 0.4$  (o valores más pequeños) resulta en una distribución de  $Q(t)$  muy puntiaguda cerca de la unidad, mientras que  $\mu = 0.6$  (o valores más grandes) resultan en configuraciones en las que el orden perfecto  $Q \approx 1$  no se alcanza durante tiempos de simulación típicos. Para valores en la fricción  $\mu \geq 0.6$ , la distribución tiene un valor más probable  $< 1$  y una varianza más grande. Se observa también un régimen intermedio, en el rango  $\mu \in [0.4, 0.6]$ , donde

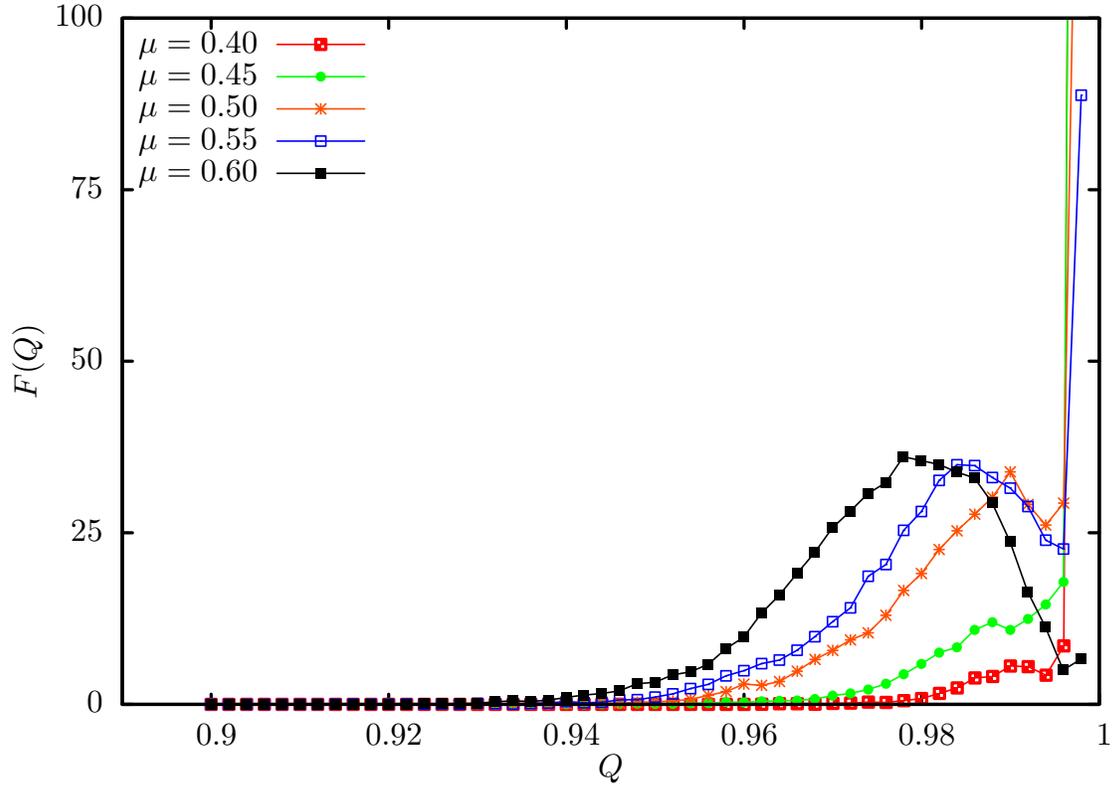


Figura 4.8: Función distribución de probabilidad  $F(Q)$  del parámetro de orden  $Q$  medido en las series temporales mostradas en la figura 4.7. Se muestran los resultados obtenidos para las fricciones  $\mu$  en el rango  $[0.4 - 0.6]$ . Para fricciones bajas la distribución es muy puntiaguda cerca de la unidad. En fricciones intermedias, la distribución tiene un valor más probable  $< 1$  y una varianza más grande.

la distribución es puntiaguda en  $Q = 1$  y también tiene un segundo máximo local en algún valor  $Q_{\max} < 1$ . Bajo este régimen, consideramos que el sistema puede estar en una fase “ordenada” o en una “desordenada” dependiendo de si  $Q(t) > Q_c$  o  $Q(t) < Q_c$  respectivamente, donde  $Q_c$  es el valor de transición. Aquí escogemos a  $Q_c$  dado por el segundo máximo  $Q_{\max}$  de la distribución. Obtenemos resultados similares si escogemos otros valores de  $Q_{\max}$ .

En este rango intermedio de fricciones, podemos definir el intervalo temporal [62] que dura el flujo ordenado (laminar) como la duración  $\tau_Q$  que separa dos episodios desordenados consecutivos. Para medir estos intervalos, almacenamos los periodos temporales durante los que  $Q(t)$  se mantuvo con un valor más alto que  $Q_c$  sin interrupciones. La función distribución de probabilidad de  $\tau_Q$  se muestra en la figura 4.9 y exhibe un claro comportamiento tipo ley de potencias inverso sobre 3 décadas,  $F(\tau_Q) \sim \tau_Q^{-\beta}$ . El valor típico de  $\beta$  es 1.2 (con una incertidumbre de  $\pm 0.15$ ) y depende muy poco del valor de  $\mu$ .

Este comportamiento con el exponente característico  $-3/2$  también fue detectado en [69] donde estudiaron un sistema de partículas auto-propulsadas. De manera similar,

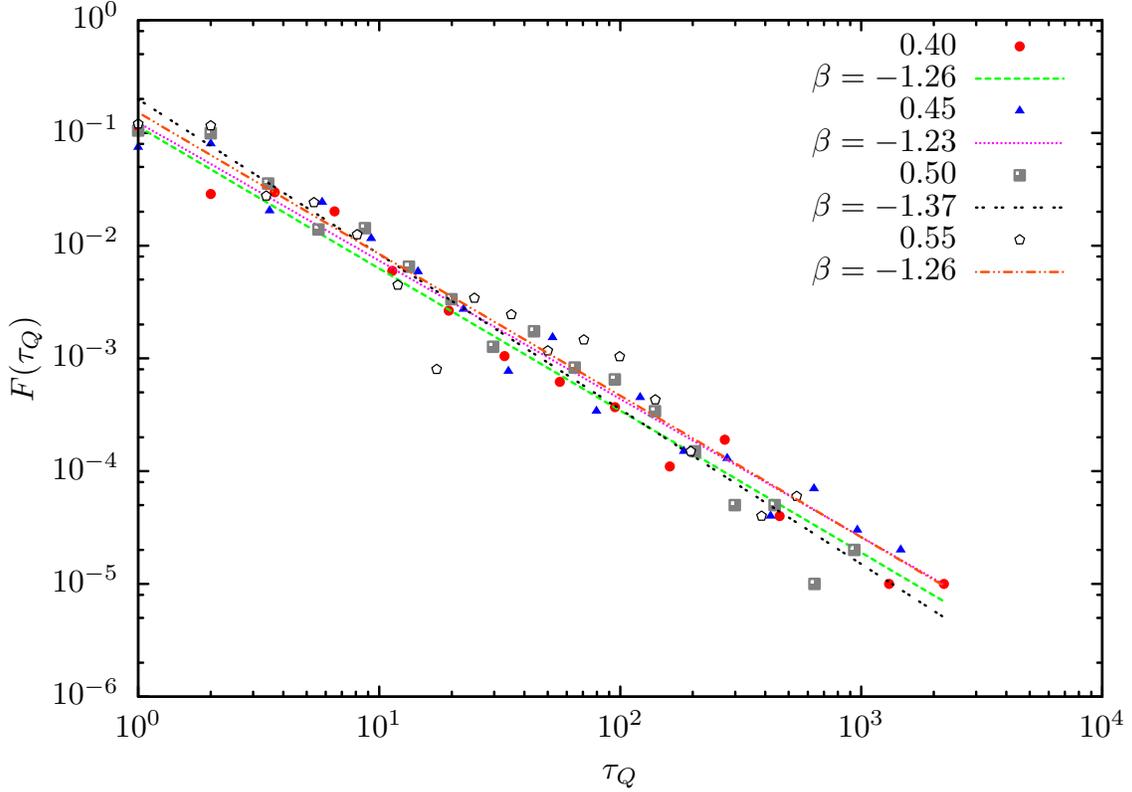


Figura 4.9: Funciones distribución de probabilidad para la duración  $\tau_Q$  de los periodos laminares, con  $\mu = 0.45 - 0.55$ . Todas las curvas muestran un comportamiento tipo ley de potencias inversa. Las líneas son los mejores ajustes a los datos, con la mejor estimación numérica de los exponentes con una incertidumbre de  $\pm 0.15$ .

nuestros resultados muestran valores muy cercanos a 1.5.

## 4.2. Fluctuaciones en la presión

En esta sección nos enfocamos en el comportamiento del tensor de esfuerzos virial que viene de las interacciones entre pares en los puntos de contacto entre las células, definido de acuerdo a la relación [7, 50, 70, 71],

$$\sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}) = \overline{\langle \sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) \rangle}, \quad (4.2a)$$

$$\langle \sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) \rangle = \left\langle \frac{1}{2} \sum_{c \neq i} r_{\alpha}^{ic} F_{\beta}^{ic} \right\rangle + \langle m^i \tilde{v}_{\alpha}^i \tilde{v}_{\beta}^i \rangle, \quad (4.2b)$$

donde  $\alpha, \beta \in \{x, z\}$  en dos dimensiones,  $r_{\alpha}^{ic} = \mathbf{r}^{ic} \cdot \mathbf{e}_{\alpha}$  es el radio vector desde el centro de masa de la célula al punto de contacto,  $F_{\beta}^{ic} = \mathbf{F}^{ic} \cdot \mathbf{e}_{\beta}$  es la fuerza en el contacto; donde los índices  $i, c$  corren sobre todas las células y los puntos de contacto, respectivamente.

La barra denota un promedio temporal y los paréntesis angulares un promedio sobre un volúmen mesoscópico. El tensor de esfuerzos definido en la ecuación (4.2) tiene dos componentes, la primera, viene del virial o contacto y describe la interacción entre pares y la segunda, una cinética o de Reynolds que viene de las fluctuaciones de la velocidad.

### 4.2.1. Fluctuaciones globales de presión

Para estudiar las fluctuaciones temporales de los esfuerzos en el sistema como un todo, consideramos el esfuerzo definido en la ecuación (4.2) promediado espacialmente:

$$\langle \sigma_{\alpha\beta} \rangle(t) = \langle \sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) \rangle. \quad (4.3)$$

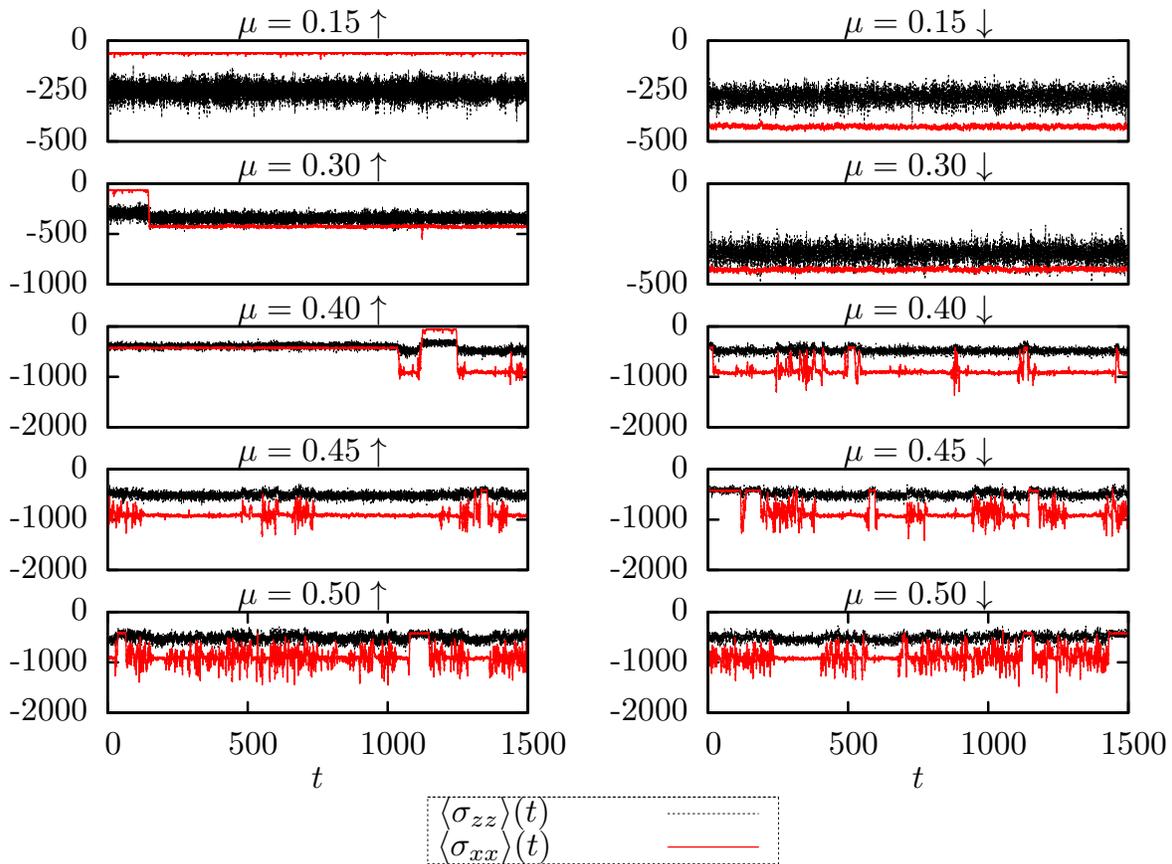


Figura 4.10: Evolución temporal de las componentes del tensor de estres  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  [línea naranja (gris) continua y  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$  (línea negra punteada)] para diferentes valores de  $\mu$  durante un ciclo. Panel izquierdo: Se incrementa la fricción en el sistema (rama  $\uparrow$ ). Panel derecho: Se disminuye la fricción en el sistema (rama  $\downarrow$ ).

Hemos mencionado que sistemas con células largas ( $\ell_0 > 3$ ) y fricciones casi nulas generan colonias altamente ordenadas con un parámetro de orden nemático unitario. Sin embargo, en ocasiones ocurren inestabilidades en estos sistemas que se reflejan muy poco en el valor numérico de  $Q$ . En la figura 4.1 mostramos un ejemplo que ocurre al tiempo  $t = 130$  después del inicio de la simulación. En el lado izquierdo se observa cómo

el bloque de células encerrado en el círculo rojo tiene un ángulo ligeramente diferente al de las células vecinas. Para ver que ocurre en los valores numéricos de cantidades importantes, en el lado derecho graficamos las series temporales típicas correspondientes a  $Q$ , y las componentes diagonales  $\langle\sigma_{xx}\rangle$  y  $\langle\sigma_{zz}\rangle$  proporcionales a las presiones (locales) transversales y longitudinales, respectivamente, marcando con un punto rojo (gris) el momento en que ocurre la inestabilidad en la simulación. Si bien, resulta difícil identificar la ocurrencia de una inestabilidad en la colonia a partir de estas series temporales, estas gráficas son útiles para tener una idea cuantitativa de qué está ocurriendo en el sistema.

En el caso del sistema en el que variamos  $\mu$  cíclicamente en la misma simulación, las series temporales típicas de  $\langle\sigma_{xx}\rangle = -\langle P_x \rangle$  se muestran en la figura 4.10. En el panel de la izquierda de la figura 4.10, se prepara un sistema con  $\mu = 0.1$ , el cual evoluciona durante 1500 unidades de tiempo. Una vez que este sistema se encuentra en equilibrio se miden los parámetros necesarios para un análisis cualitativo y la fricción se incrementa posteriormente por 0.05 y se mantiene constante por otras 1500 unidades de tiempo. Este procedimiento es repetido hasta alcanzar  $\mu = 0.8$  (esta rama se marca con  $\uparrow$ ). A partir de aquí la fricción se disminuye en decrementos de 0.05 hasta alcanzar nuevamente 0.1 (esta rama se marca con  $\downarrow$  en el panel derecho de la figura 4.10). Este proceso cíclico se efectúa con el propósito de detectar histéresis en el comportamiento del sistema.

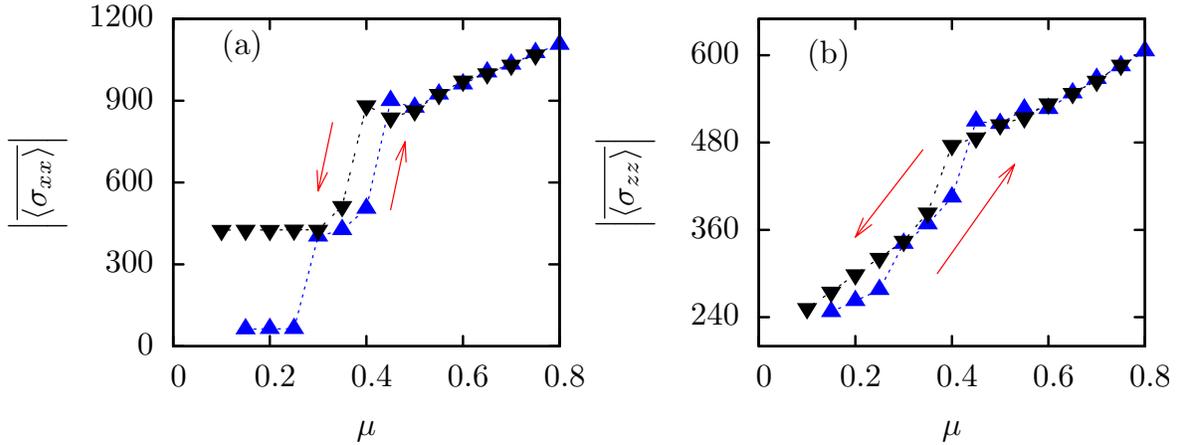


Figura 4.11: Promedios temporales  $\overline{\langle P_x \rangle} \equiv |\overline{\langle\sigma_{xx}\rangle}|$ , (a) y  $\overline{\langle P_z \rangle} \equiv |\overline{\langle\sigma_{zz}\rangle}|$ , (b) de las componentes del tensor de esfuerzos. Las ramas  $\uparrow$  y  $\downarrow$  del ciclo están graficados con las viñetas  $\blacktriangle$  azules y  $\blacktriangledown$  negras, respectivamente.

Nuestros resultados indican que la presión promediada espacialmente en la dirección longitudinal  $\langle\sigma_{zz}\rangle(t)$  (línea negra en la figura 4.10) fluctúa muy poco en el tiempo y no muestra signos de intermitencia. Sin embargo la presión en la dirección transversal  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  (línea naranja o gris) exhibe variaciones temporales mucho más grandes. Para los casos  $\mu = 0.30$  y  $\mu = 0.40$  en la rama  $\uparrow$  (panel derecho), se observan saltos abruptos a tiempos aleatorios entre diferentes valores estacionarios. La presión promedio en la dirección  $x$  puede variar por un factor de  $\sim 7$  o más en la misma dinámica.

El comportamiento promedio temporal de ambas variables,  $\overline{\langle P_x \rangle} \equiv |\overline{\langle\sigma_{xx}\rangle}|$  y  $\overline{\langle P_z \rangle} \equiv$

$|\overline{\langle \sigma_{zz} \rangle}|$  se muestra en la figura 4.11 (a) y 4.11(b) respectivamente. En esta figura es más apreciable que después del proceso cíclico la colonia está más estresada, ya que para  $\mu < 0.3$  los valores de  $|\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}|$  al inicio ( $\blacktriangle$ ) y final ( $\blacktriangledown$ ) del ciclo difieren en casi 300 unidades. Para  $0.3 < \mu < 0.5$  se observa un ligero bucle de histéresis, ya que en el caso particular de  $\mu = 0.4$  los valores promedios obtenidos para  $\uparrow$  y  $\downarrow$  difieren considerablemente. Y finalmente, para  $\mu > 0.5$ , que corresponde a una fase desordenada, ambas ramas tienen exactamente el mismo comportamiento. Por otro lado, la variable  $|\overline{\langle \sigma_{zz} \rangle}|$ , figura 4.11(b) muestra valores numéricos muy similares para ambas ramas del ciclo, lo cual era de esperarse considerando los resultados mostrados en la figura 4.10.

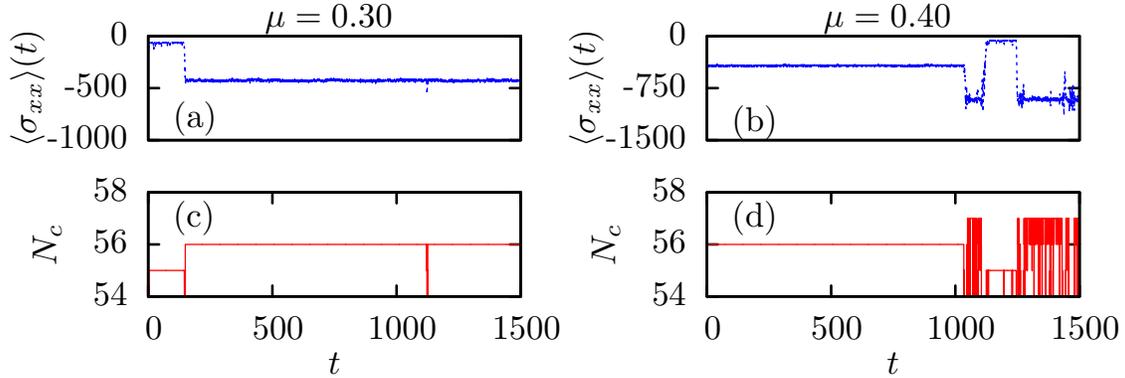


Figura 4.12: (a)-(b): Series temporales de  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  que muestran cambios abruptos en los valores numéricos, casos  $\mu = 0.3$  (a) y  $0.4$  (b). (c)-(d): Número de columnas de células acomodadas nemáticamente en el interior del canal en las mismas simulaciones. Cuando los sistemas mostrados en (a) y (b) tienen un  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  bajo, las figuras (c) y (d) indican que hay 55 columnas acomodadas. Cuando la presión aumenta también se incrementan en el número de columnas a 56, esto después de que ocurre alguna inestabilidad. Concluimos que estos cambios abruptos en los valores de la presión transversal se deben al reacondo de más células dentro del canal en forma de columnas.

Para el rango de fricciones  $0.3 < \mu < 0.5$  el sistema se encuentra durante períodos de tiempo en una fase ordenada, es decir, las células alineadas en columnas en el interior del canal, las cuales se desestabilizan ligeramente durante las fases desordenadas. Suponemos que los saltos abruptos observados en  $\langle \sigma_{xx} \rangle$ , la presión transversal, se deben a un cambio en el número de columnas ordenadas acomodadas en el canal después de ocurrido un período de desorden. Para ratificar esto, calculamos este número de columnas. Los resultados se muestran en la figura 4.12, la cual identifica que estos saltos discretos en la presión transversal, son efectivamente, causados por la formación rápida (o eliminación) de una o más columnas de células orientadas a lo largo de la dirección  $z$ . El número de columnas de células se puede calcular en la simulación a cualquier tiempo y exhibe una dinámica de saltos. Cuando aparece una nueva columna de células, el sistema se vuelve más abarrotado en la dirección  $x$ , lo cual resulta en un incremento agudo en  $|\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}|$ . Por el contrario, cuando desaparece una columna, la presión se relaja. Estos eventos de aparición y desaparición de columnas en el interior del canal son estocásticos.

Fricciones más altas  $\mu > 0.5$  causan un incremento en  $|\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}|$  y  $|\overline{\langle \sigma_{zz} \rangle}|$  en promedio,

figura 4.11. Dado que las partículas fluyen a lo largo del eje  $z$ , el incremento de  $\overline{\langle P_z \rangle}$  con  $\mu$  es debido a las fuerzas de fricción de Stokes más altas ejercidas sobre las partículas como se predice cualitativamente por la ecuación (2.12). El incremento en  $\overline{\langle P_x \rangle}$  es debido al hecho de que a fricciones más altas el sistema tiende a formar más columnas y por lo tanto, poblaciones más densas a lo largo de la dirección  $x$ . Este aumento en la densidad también se observó después de la ocurrencia de la inestabilidad de pandeo [7]. Si la fricción disminuye estas densidades transversales altas pueden persistir. Por esta razón, al final del bucle de histéresis [ $\mu = 0.15 \downarrow$ ], figura 4.10] la presión transversal puede ser mucho más alta que el caso inicial ( $\mu = 0.15 \uparrow$ ). El panel superior de la figura 4.11 muestra el comportamiento de histéresis de la presión promediada en el tiempo  $|\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}|$ . Véase también que al inicio del bucle los intervalos temporales entre los saltos pueden ser grandes y consecuentemente los promedios en el tiempo puede variar de una simulación a otra, debido a una observación en el tiempo limitada.

Finalmente, por completez mostramos el comportamiento promedio en el tiempo del parámetro de orden  $Q$  en la figura 4.13. Nuevamente las viñetas se corresponden con las ramas inicial y final del ciclo, de manera similar a lo mostrado en la figura 4.11. En este caso,  $Q$  toma aproximadamente los mismos valores numéricos, independientemente de la rama en la que se encuentre el sistema.

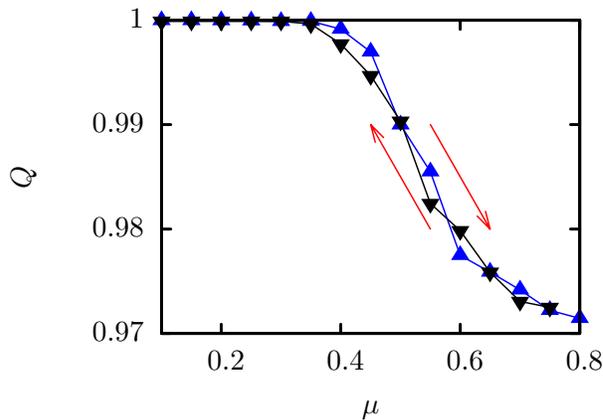


Figura 4.13: Promedios temporales  $Q$  del parámetro de orden promediado espacialmente. Las ramas  $\uparrow$  y  $\downarrow$  están graficadas con los triángulos  $\blacktriangle$  y  $\blacktriangledown$  respectivamente.

## 4.2.2. Distribución de los esfuerzos locales

Para examinar cómo la presión local fluctúa tanto en el tiempo como en el espacio, mostramos en la figura 4.14, las funciones distribución de probabilidad de los esfuerzos locales  $P_x$  y  $P_z$ , definidos por la ecuación (4.2). Estas funciones de distribución de probabilidad se obtienen promediando todas las posiciones y tiempos de una simulación dada.

Los efectos de histéresis observados previamente con  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  también son notorios en la distribución completa que tiene una escala característica dada por su valor más probable. En la rama  $\uparrow$ , los valores más probables de  $P_x$  (es decir  $-\sigma_{xx}$ ) para  $\mu \leq 0.25$  son mucho más bajos que los valores más probables para  $\mu \geq 0.60$ . Cuando se alcanzan nuevamente valores de fricción más bajos ( $\mu \leq 0.25$ ) en la rama  $\downarrow$ , el valor más probable de  $-\sigma_{xx}$  regresa a un valor más grande que su valor inicial [curvas centrales de la

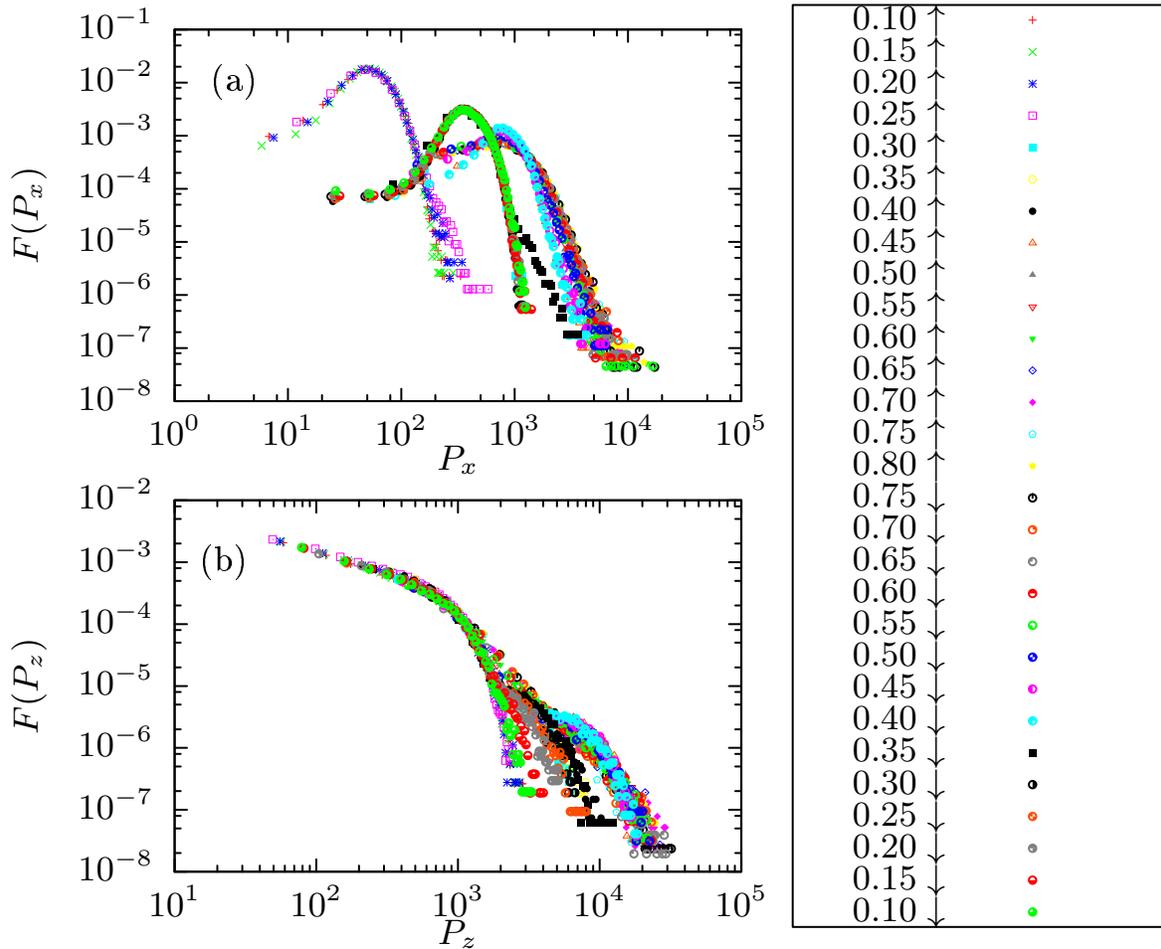


Figura 4.14: Funciones distribución de probabilidad de la presión local para diferentes valores de  $\mu$ , variada cíclicamente:  $\mu = 0.1 \rightarrow 0.8 \rightarrow 0.1$ . (a) Distribuciones de  $P_x$ , donde las curvas para  $\mu \leq 0.25$  ( $\uparrow$ ),  $\mu \geq 0.60$  ( $\uparrow$  y  $\downarrow$ ), y  $\mu \leq 0.25$  ( $\downarrow$ ) se localizan en la parte izquierda, la parte derecha y la parte central de la gráfica, respectivamente. (b) Distribuciones de  $P_z$ , donde las curvas con colas más anchas corresponden a  $\mu \geq 0.60$ .

figura 4.14(a)]. Resulta interesante notar en la figura 4.14 que las distribuciones de probabilidad se agrupan en tres conjuntos, en donde las curvas caen sobre sí mismas.

Un cálculo sencillo del número de columnas acomodadas dentro del canal (paralelas a las paredes del mismo) indica que cuando  $\mu$  va de  $0.10 \rightarrow 0.25$  hay 55 columnas de células dentro del canal. Esto corresponde con el grupo de curvas en la extrema izquierda que están distribuidas con valores  $P_x$  menores. Mientras que cuando  $\mu$  decrece de  $0.25 \rightarrow 0.10$ , (grupo de curvas en el centro), después de haber ocurrido el fenómeno de intermitencia, obtenemos 56 columnas dentro del mismo. Una diferencia de una columna de células más acomodadas en el interior del sistema resulta en presiones transversales más grandes y por lo tanto una distribución  $F(P_x)$  desplazada hacia la derecha.

La distribución de  $P_z$ , mostrada en la figura 4.14(b), no exhibe tal histéresis y tiene una forma muy diferente: es monótona decreciente y casi independiente de  $\mu$  para  $P_z$  pequeños. En este régimen, la distribución es aproximadamente libre de escala, *i.e.*, muy bien descrita por una ley de potencias con un exponente  $\sim -0.7$ . Entonces, el incremento gradual del esfuerzo longitudinal promedio al incrementar  $\mu$  [véase la figura 4.11 (a) y (b)] no modifica mucho cómo se distribuyen localmente los esfuerzos entre las células: sólo produce un ensanchamiento de las colas de las distribuciones. Muchas regiones sufren esfuerzos pequeños pero contribuyen muy poco a la presión promedio, aún con una  $\mu$  grande, mientras que algunas pocas regiones tienen esfuerzos más altos que el promedio. Por lo tanto, el campo de presiones longitudinal es muy heterogéneo en el espacio y el tiempo. Para  $\mu \leq 0.25$ , un ajuste muestra que la distribución decae exponencialmente a  $P_z$  muy grandes. Sin embargo, para  $\mu \geq 0.60$ , la cola de la distribución está mejor descrita por una segunda ley de potencias, con un exponente más pronunciado  $\approx -2$ .

Por comparación es instructivo calcular la función distribución de probabilidad  $F^{(0)}(P_z)$  predicha por la teoría del medio continuo cuando se supone que las células están perfectamente alineadas y cuando  $P_z(\mathbf{r}, t)$  es estacionario y sólo depende de  $z$ . A partir del perfil parabólico dado por la ecuación (2.12) y considerando la propiedad general de  $|F^{(0)}(P_z)|dP_z = |g(z)dz|$ , donde  $g(z)$  es la distribución de  $z$  [ $g(z) = \text{constante}$  a lo largo del canal], obtenemos,

$$F^{(0)}(P_z) \propto \frac{1}{(1 - P_z/P_0)^{1/2}}. \quad (4.4)$$

De acuerdo a este resultado, regiones elementales del espacio, donde la presión es más grande (cerca al máximo  $P_0$ , en el centro del canal) deberían ser más frecuentes [ya que  $F^{(0)}(P_z \rightarrow P_0)$  diverge] que regiones con presiones más bajas. Tal comportamiento es opuesto al de las distribuciones de la figura 4.14(b). Este resultado ilustra que el desorden local reorganiza el sistema a través de una redistribución de los esfuerzos. Esta situación recuerda las distribuciones heterogéneas de fuerzas de contacto en sistemas granulares estáticos. Aunque las distribuciones de las fuerzas de contacto son exponenciales en sistemas estáticos y por lo tanto tienen una escala típica.

Por comparación mostramos en la figura 4.15 las funciones distribución de probabilidad de los esfuerzos para el caso con fricciones nulas ( $\mu = 10^{-6}$ ) y variaciones en la razón de crecimiento  $a$  de las células. La figura 4.15(a) indica que, a diferencia de las

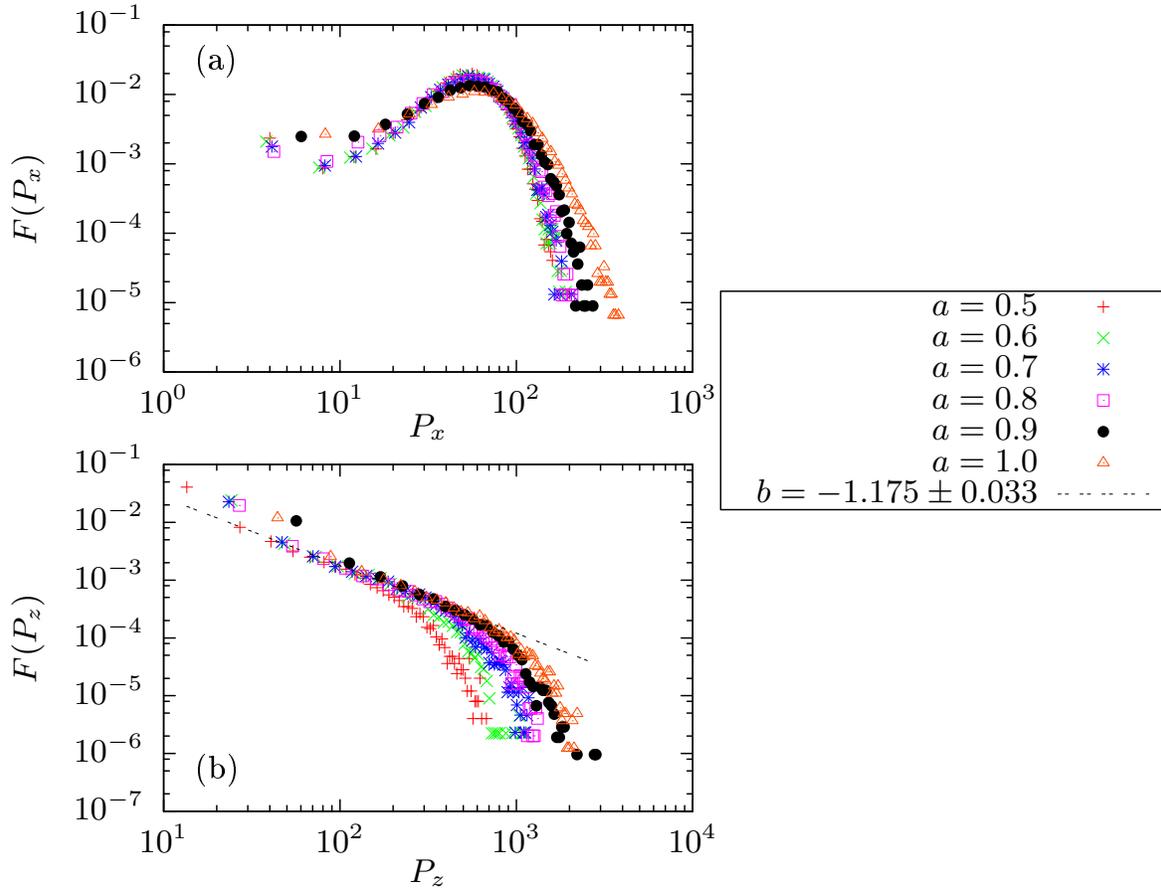


Figura 4.15: Funciones de distribución de probabilidad obtenidas cuando se varía la razón de crecimiento de las células manteniendo fijas la longitud de las células  $\ell_0 = 4$  y fricciones nulas  $\mu = \nu_{cc} = 10^{-6}$ . (a) La presión transversal  $P_x$  muestra un máximo alrededor de  $P_x \sim 60$ . (b) La presión longitudinal  $P_z$  muestra un decaimiento tipo ley de potencias inverso con un exponente  $1.17 \pm 0.1$ .

distribuciones presentadas previamente, la distribución de  $P_x$  no muestra el fenómeno de histéresis ya que todas las curvas tienen un comportamiento muy similar, con máximo global alrededor del mismo punto, independientemente del valor de  $a$  al que la curva corresponde. Por otra parte, la figura 4.15(b) muestra que la distribución de  $P_z$  es una ley de potencias inversa, aunque el ajuste es bueno dentro de un rango de  $P_z$ , particularmente para  $a = 1.0$  se obtiene un exponente  $1.17 \pm 0.1$ . Como era de esperarse, la distribución refleja la dependencia de  $P_z$  en  $a$  (recordemos que estamos considerando el caso inercial), ya que las células con  $a$  más pequeño tiene una distribución que abarca un rango de valores  $P_z$  más estrecho [compárense las colas de las distribuciones para  $a = 0.5$  y  $a = 1.0$  en la figura 4.15(b)].

La figura 4.16 corresponde a las distribuciones obtenidas al variar la longitud  $\ell_0$  de las células. La distribución de  $P_x$ , figura 4.16(a), muestra nuevamente un máximo global, aunque la probabilidad asociada a este punto depende la  $\ell_0$  de las células, ya que  $\ell_0 = 4.0$  tiene una probabilidad asociada ligeramente más alta que  $\ell_0 = 2.7$ . Nuevamente la distribución de  $P_z$ , figura 4.16(b), muestra un decaimiento tipo ley de potencias

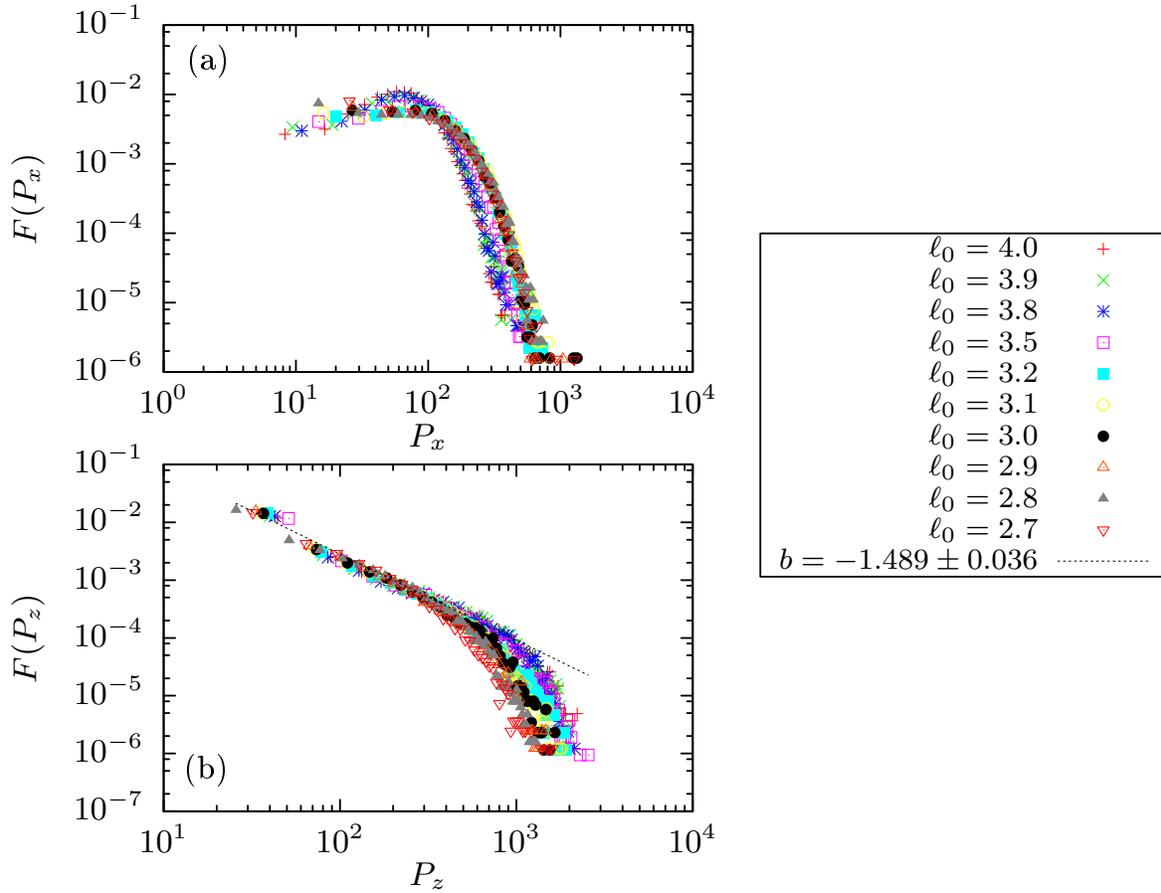


Figura 4.16: Funciones de distribución de probabilidad obtenidas cuando se varia la longitud  $\ell_0$  de las células manteniendo fijas la razón de crecimiento en  $a = 1$  y la fricción nula  $\mu = 0$ . (a) La presión transversal  $P_x$  muestra un máximo independientemente del valor en  $\ell_0$ . (b) La presión longitudinal  $P_z$  muestra un decaimiento tipo ley de potencias inverso con un exponente  $1.489 \pm 0.1$ , para valores pequeños de  $P_z$ .

inverso, cuyo exponente calculado para  $P_z$  pequeño es  $1.49 \pm 0.1$  (independientemente de  $\ell_0$ ).

### 4.2.3. Orden en la colonia en función del ancho del canal.

Hemos visto que para ciertos valores de la fricción  $\mu$  el sistema entra en una fase de intermitencia que se refleja en los valores del parámetro de orden  $Q$  y la componente transversal de la presión  $\sigma_{xx}$ . Nos interesa conocer si este fenómeno es independiente de las dimensiones del canal y para esto en esta sección, manteniendo las fricciones nulas ( $\mu = 10^{-6}$ ) investigamos los efectos de ensanchar ligeramente la sección transversal  $L_x$  del canal en el orden nemático adquirido por el mismo. Para esto, variamos  $L_x$  en incrementos de 0.1 unidades y calculamos los promedios temporales espaciales de las componentes del tensor de esfuerzos y el parámetro de orden.

La figura 4.17 muestra los resultados en las tres cantidades medidas y se observa

que tienen comportamientos oscilatorios, es decir, el ordenamiento del sistema depende fuertemente del valor numérico de  $L_x$ . Para ciertos anchos del canal las células forman arreglos compactos dentro del mismo (recordemos que éstas tienen un diámetro fijo  $d$ ) y más aún, los esfuerzos en el sistema dependen fuertemente de los espacios intersticiales entre ellas. Al cambiar  $L_x$  aumentamos dichos espacios y esto favorece el desorden.

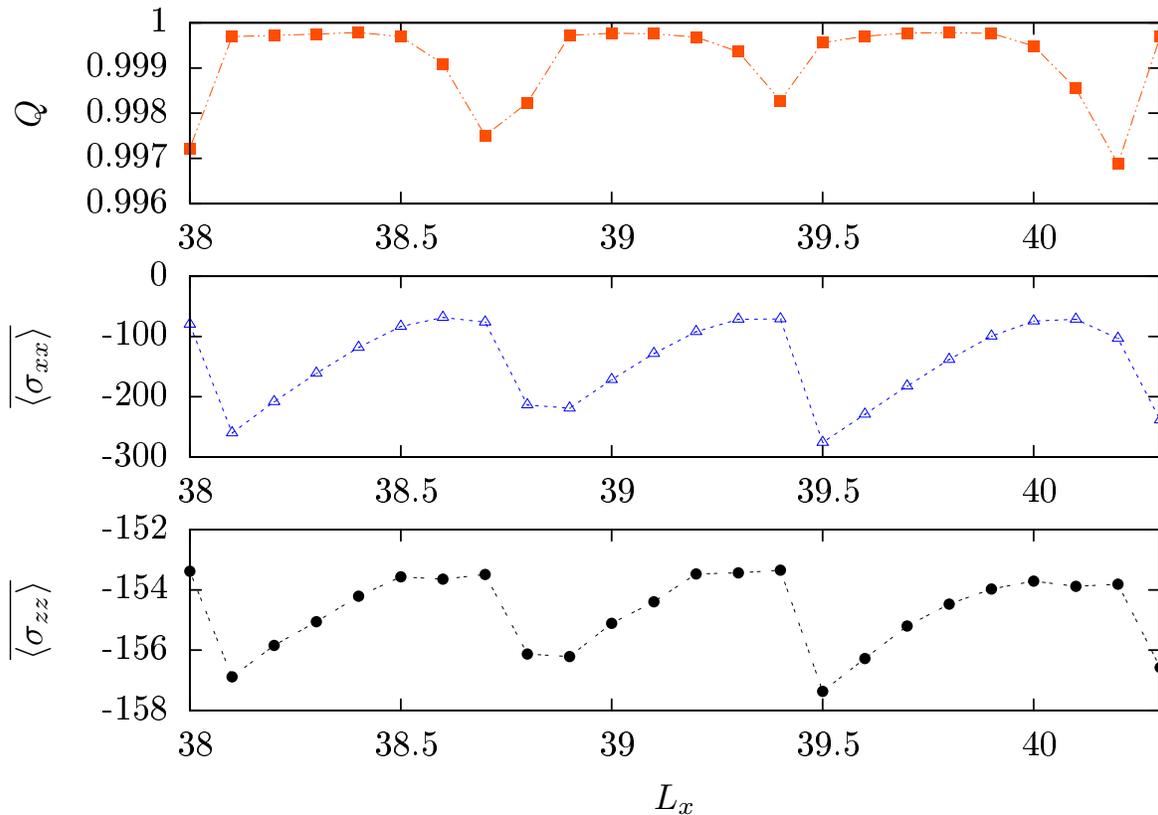


Figura 4.17: Promedios temporales de los promedios espaciales de las componentes del tensor de estres  $Q$  y  $\langle \sigma_{xx} \rangle$ , y el parámetro de orden  $\langle \sigma_{zz} \rangle$  en función del ancho  $L_x$  del canal.

El punto  $L_x = 40$  de la figura 4.17 corresponde a las simulaciones que muestran intermitencia en  $\mu = 0.45$ , se observa que  $Q$  tiene un valor máximo muy cercano a la unidad y las presiones  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  y  $\langle \sigma_{zz} \rangle$  valores mínimos que denotan un sistema muy estresado.

#### 4.2.4. Correlaciones con presión/orden nemático

Para investigar las relaciones posibles entre el orden nemático y la presión a un tiempo dado, calculamos los coeficientes de correlación de Pearson entre  $Q(t)$  y  $\langle \sigma_{xx}(t) \rangle$  o  $Q(t)$  y  $\langle \sigma_{zz}(t) \rangle$ . Dadas dos series temporales discretas  $a_i$  y  $b_i$  de medias  $\bar{a}$  y  $\bar{b}$ , respectivamente, este coeficiente está definido [72] como,

$$\rho_{ab} = \frac{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})(b_i - \bar{b})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (b_i - \bar{b})^2}} \quad (4.5)$$

Los casos  $\rho_{ab} = 1$ ,  $-1$  y  $0$  corresponden a los eventos de variables perfectamente correlacionadas, anticorrelacionadas y no correlacionadas, respectivamente. En la figura 4.18, presentamos la gráfica paramétrica del parámetro de orden  $Q(t)$  como función de las presiones transversal  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  y longitudinal  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$ , donde cada punto representa un paso en el tiempo particular de la dinámica observada para una misma simulación.

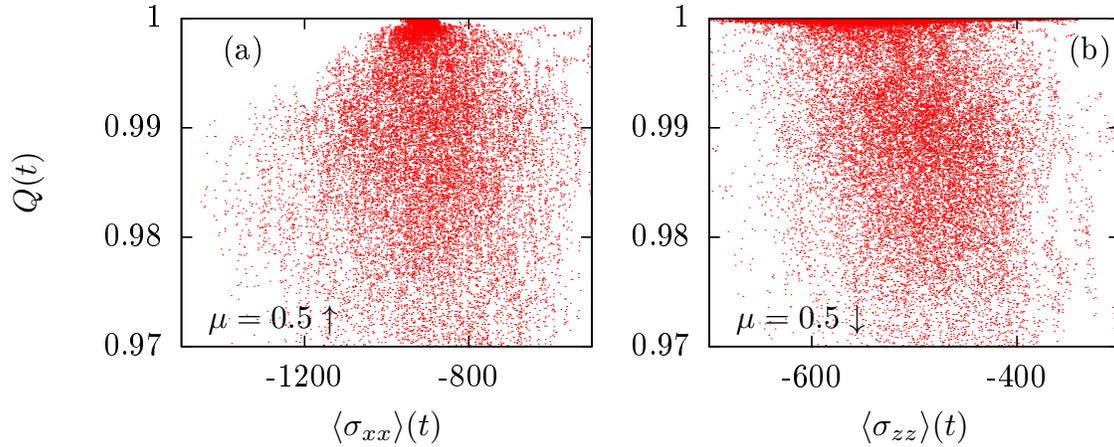


Figura 4.18: Gráficas paramétricas que muestran el diagrama de dispersión entre los puntos de  $Q(t)$  y  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  (a) y  $Q(t)$  vs  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$  (b) para el caso con fricción de Stokes  $\mu = 0.5$ . Los resultados numéricos son mostrados en la tabla 4.1 indican que en (a) no hay correlación entre las variables y en (b) una ligera correlación negativa.

La tabla 4.1 muestra que  $Q(t)$  tiene a ser significativamente anticorrelacionado a  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$ , independientemente de  $\mu$ . Esta propiedad indica que, a un tiempo dado, una configuración más ordenada tiende a estar sujeta a esfuerzos longitudinales más grandes. Esto es consistente con el hecho de que los gradientes en las orientaciones de las células (produciendo desalineación) liberan la energía longitudinal compresiva [9].

$\mu$	$Q$ & $\sigma_{zz}$	$Q$ & $\sigma_{xx}$	$Q$ & $ \dot{\sigma}_{xx} $	$\dot{Q}$ & $ \dot{\sigma}_{xx} $
0.40	-0.27	-0.17	-0.03	$\sim 0$
0.45	-0.38	-0.20	0.03	$\sim 0$
0.50	-0.34	0.04	-0.01	$\sim 0$
0.55	-0.34	0.04	-0.00	$\sim 0$

Tabla 4.1: Valores numéricos del coeficiente de correlación de Pearson obtenidos a partir de las series temporales que muestran un comportamiento intermitente en  $Q(t)$ . Estos valores corresponden a la rama  $\downarrow$  del ciclo (se obtienen valores similares para la rama  $\uparrow$ ).

Para confirmar si existe una relación entre las variaciones abruptas de la presión transversal  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  a fricciones intermedias (véase la figura 4.10) y la dinámica intermitente de  $Q(t)$  observada alrededor de ese mismo rango en las fricciones, calculamos el coeficiente de correlación de Pearson entre (i)  $Q(t)$  y  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$ , (ii)  $Q(t)$  y  $|d\langle\sigma_{xx}\rangle(t)/dt|$  y (iii)  $dQ(t)/dt$  y  $|d\langle\sigma_{xx}\rangle(t)/dt|$ . Como se muestra en la tabla 4.1, las correlaciones son muy débiles en casi todos los casos. Por lo tanto, parece no haber correlaciones sistemáticas entre las variaciones rápidas en  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  y las ráfagas de intermitencia de desorden nemático, excepto, posiblemente, para fricciones más bajas (véanse los casos  $\mu = 0.4$  y  $\mu = 0.45$  en la tabla 4.1). Esto sugiere que el mecanismo a través del cual el sistema modula su presión transversal bajo confinamiento (por medio de la formación o eliminación de columnas de células creciendo) no está relacionado directamente con la dinámica de ordenamiento. Este desalineamiento de algunas células no lleva a presiones transversales más bajas, contrario a lo que ocurre en la dirección longitudinal.

El caso con fricciones casi nulas ( $\mu = 10^{-6}$ ) se presenta a continuación. La figura 4.19 muestra la existencia de correlaciones entre  $Q(t)$  vs  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  para ciertas longitudes  $\ell_0$  de las células contrariamente al caso  $\mu \gg 10^{-6}$ . La tabla 4.2 muestra que no hay correlaciones entre  $Q(t)$  y la presión longitudinal. Tampoco existen correlaciones entre  $Q(t)$  y la presión transversal  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  para células cortas ( $\ell_0 = 2$ ). Sin embargo, al aumentar  $\ell_0$  se obtienen correlaciones cada vez más altas entre  $Q(t)$  y  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$ , la presión transversal. Esto corrobora los resultados obtenidos previamente, donde observamos que células más largas crean sistemas más ordenados, en los que la presión transversal se mantiene estable alrededor de un valor típico.

$\ell_0$	$Q$ & $\sigma_{xx}$	$Q$ & $\sigma_{zz}$
2.0	$\sim 0$	$\sim 0$
3.0	0.157	$\sim 0$
3.5	0.606	$\sim 0$
4.0	0.879	$\sim 0$

Tabla 4.2: Valores numéricos del coeficiente de correlación de Pearson obtenidos a partir de las series temporales de  $Q(t)$  al variar la longitud de las células  $\ell_0$  ( $a = 1.0$ ,  $\mu = \nu_{cc} = 10^{-6}$ ).

Hemos estudiado usando simulaciones de dinámica molecular suave el ordenamiento de sistemas de partículas elongadas creciendo confinadas dentro de un canal. Encontramos el promedio del parámetro de orden nemático tiene una dependencia crucial en la razón de aspecto de la célula, un parámetro difícil de incorporar en las teorías del medio continuo. Las colonias no se ordenan paralelamente a las paredes del canal si  $\ell_0 < 3$ , aún cuando la fricción de arrastre es casi nula. Sin embargo, para  $\ell_0 > 3$  y una fricción finita, aparecen ráfagas de desorden intermitentes y los periodos en los que el sistema esta ordenado están distribuidos siguiendo una ley de potencias.

Nuestros resultados indican que el tensor de esfuerzos es muy anisotrópico y que el campo de presiones muestra marcadas diferencias en sus propiedades en las componentes transversal y longitudinal al eje del canal ( $x$  y  $z$  respectivamente). Mientras que  $P_x$  está relativamente distribuido homogéneamente en el espacio, su promedio espacial pueda variar muy rápidamente en el tiempo debido a variaciones en la dirección lateral de

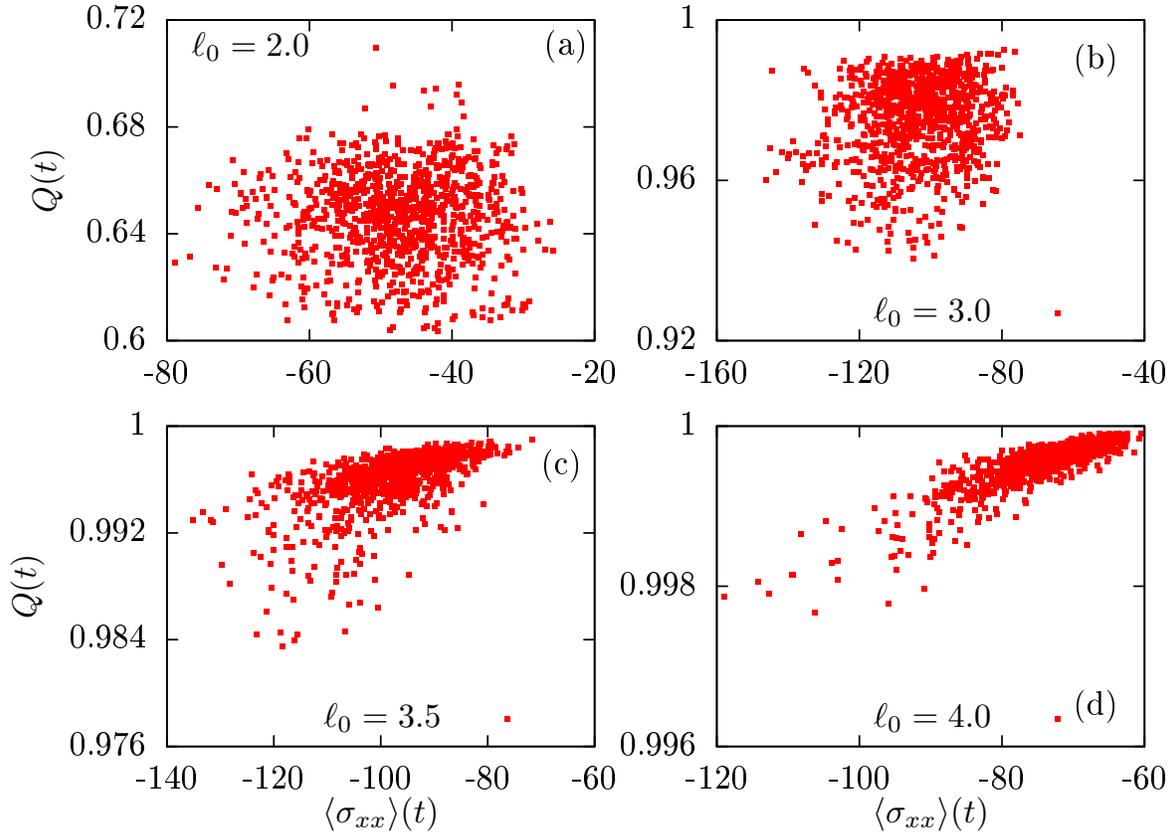


Figura 4.19: Gráficas paramétricas de  $Q(t)$  vs  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  para distintas razones de aspecto de las células: (a)  $\ell_0 = 2.0$ , (b)  $\ell_0 = 3.0$ , (c)  $\ell_0 = 3.5$  y (d)  $\ell_0 = 4.0$ . Las correlaciones se vuelven más fuertes al aumentar la longitud de las células, de acuerdo a los datos numéricos presentados en el cuadro 4.2.

la densidad que ocurren estocásticamente. Esta densidad puede permanecer constante por largos periodos de tiempo en una fricción baja, lo que lleva a efectos de histéresis [73]. Las variaciones rápidas del promedio espacial  $\langle P_x \rangle(t)$  a fricciones intermedias no parecen estar correlacionadas a la dinámica intermitente del parámetro de orden nemático. Por otro lado, el promedio espacial  $\langle P_z \rangle(t)$  tiene un comportamiento mucho más suave en el tiempo y no presenta histéresis, pero está correlacionado al parámetro nemático global. Esto se puede inferir a partir de argumentos teóricos que predicen que los esfuerzos longitudinales se deben liberar en sistemas con células desalineadas [9].

Enfatizamos que, a diferencia de  $P_x$ , la presión longitudinal  $P_z$  está distribuida en el espacio heterogéneamente, de tal manera que la mayoría de las células están sujetas a pequeños esfuerzos, mientras que los esfuerzos más grandes se encuentran recargados sobre unos cuantas células. Esta tendencia es opuesta a la predicción de una teoría simple del medio continuo (que ignora la granularidad): las células no tan estresadas deben ser menos en cantidad que las células altamente estresadas. La distribución de  $P_z$ , está bien ajustada a una ley de potencias truncada a fricciones bajas y por dos leyes de potencias a fricciones grandes. Por comparación, la función distribución de probabilidad de las fuerzas de contacto en empaquetamientos atascados de granos no-activos es genérica-

mente exponencial, es decir, comparativamente mucho más homogénea [74]. Las fuerzas de contacto también permanecen distribuidas exponencialmente en empaquetamientos cortantes de partículas elongadas [75].



# Capítulo 5

## Inestabilidad de doblamiento en columnas de células

Las bacterias *E. coli* al multiplicarse dentro del canal microfluídico llegan a formar arreglos nemáticos debido a la expansión del fluido celular ocasionado por el crecimiento y división de las células. Este fenómeno se observa en la figura 2.1(a), donde es apreciable el ordenamiento en columnas casi alineadas que forman las bacterias. Sin embargo, el ordenamiento perfecto en estos sistemas, nunca se alcanza y constantemente aparecen y desaparecen dominios con diferentes orientaciones.

La destrucción del orden nemático y aparición de un desorden parcial pero persistente en la colonia se interpreta en este capítulo como una inestabilidad de doblamiento o pandeo en las columnas de células perfectamente ordenadas. Estudiamos de manera teórica cómo una inestabilidad de doblamiento podría explicar por qué  $\langle Q \rangle$  toma valores más pequeños que 1.

### 5.1. Modelo continuo para columnas de células

De manera similar al modelo unidimensional presentado en el capítulo 2, comenzamos despreciando la granularidad del medio y aproximando el conjunto de células como un “fluido celular” caracterizado por variables del medio continuo como la densidad  $\rho(\mathbf{r}, t)$  y la velocidad  $\mathbf{v}(\mathbf{r}, t)$ . Ahora consideramos un sistema bidimensional. El medio fluye dentro una trampa rectangular con un ancho dado por  $L_x$  y un largo  $L_z$ , con dos aberturas en  $z = \pm L_z/2$  y dos paredes laterales en  $x = \pm L_x/2$  como se muestra en la figura 5.1. El sistema a estudiar consiste de columnas que inicialmente están perfectamente ordenadas, las cuales se perturbarán localmente. Se describen estas perturbaciones a través del campo de desplazamientos  $\mathbf{u}$  cuyas componentes  $u_x, u_z$  son funciones de  $x, z$  y  $t$ , véase el apéndice A. La figura 5.2 muestra una perturbación  $u_x$  que corresponde a un desplazamiento lateral de las células.

Como las células están densamente empaquetadas, el fluido se considera incompresible y de densidad (por área) unitaria. La relación de continuidad se iguala con la razón de crecimiento  $a$  de las células y se llega a la expresión,

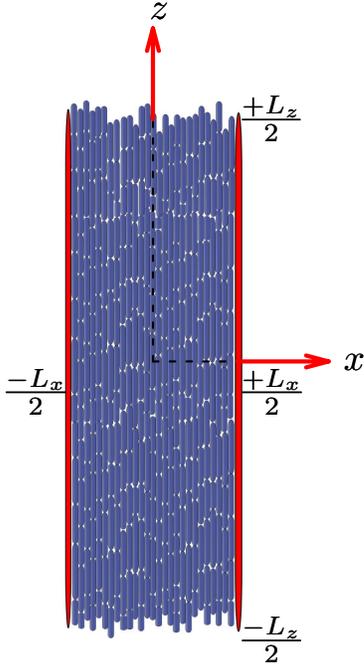


Figura 5.1: Esquema de las columnas elásticas de células orientadas paralelamente al eje  $z$  que indican las dimensiones del sistema a modelar.

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = a \quad (5.1)$$

La deformación de un sólido se expresa en términos del tensor de deformación. Si se conoce cómo cualquier deformación aumenta la energía elástica del sólido, podemos relacionar el tensor de esfuerzos con el tensor de deformación y escribir las ecuaciones de movimiento del sistema.

### 5.1.1. Compresión de células no activas

Para empezar, en esta sección consideramos el problema de un medio celular no activo y anisotrópico, orientado a lo largo del canal. Este medio representa células alineadas que no crecen, con  $a = 0$ , ordenadas nemáticamente dentro del canal. Se aplica una presión constante a lo largo del eje  $z$  denotada con  $p$ , véase la figura 5.2.

Aquí una población altamente ordenada de columnas de células puede considerarse como un sólido axial bidimensional que se puede doblar en la dirección  $x$  si la presión  $p$  es suficientemente alta. Si  $p$  es pequeña  $u_z(x)$  es diferente de cero, mientras que  $u_x(z) = 0$ . Para una compresión pura, conforme aumenta  $p$ , se incrementa la energía de compresión lo cual involucra un aumento en la energía total del sistema. Como resultado, el sistema para disminuir su energía, disminuye su energía de compresión y aumenta la energía de doblamiento y esto conlleva a un doblamiento de las columnas de células. Este es el principio de la inestabilidad de doblamiento. Para poder resolver este problema es necesario escribir una expresión de la energía libre elástica  $F$  del sistema en términos del tensor de deformación  $u_{ik}$ , que es la tasa de deformación (adimensional) del sistema y está definido según la expresión,

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left[ \frac{\partial u_k}{\partial x_i} + \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \right]. \quad (5.2)$$

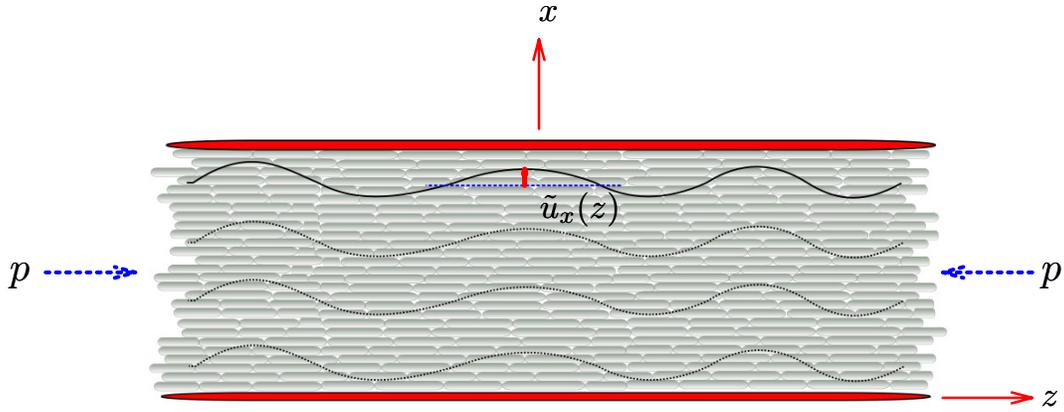


Figura 5.2: Esquema de la deformación considerada para las columnas elásticas de células orientadas paralelamente al eje  $z$ , después de aplicar una compresión uniforme  $p$  a lo largo del eje  $z$ . La energía de deformación se calcula a partir del desplazamiento  $u_x(z)$  y  $u_z(x)$ .

Para un sólido isotrópico descrito por la ley de Hooke, la energía  $F$  se puede definir como una función de dos cantidades escalares independientes formadas en términos de las componentes del tensor de deformación definido en la ecuación (5.2), la primera  $(\sum_i u_{ii})^2$  involucra el cuadrado de la suma de las componentes de la diagonal, y la segunda  $(\sum_{i \neq k} u_{ik})^2$  el cuadrado de la suma de todas las demás componentes [56].

La forma fenomenológica de la energía libre elástica para el sistema propuesto de columnas de células, es la de un sólido anisotrópico [56, 76], dada por la expresión,

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \left[ \lambda_{xx} u_{xx}^2 + \lambda_{zz} u_{zz}^2 + \lambda_{xz} u_{xz}^2 + \lambda_1 u_{zz} u_{xx} + \xi \left( \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \right)^2 \right], \quad (5.3)$$

donde  $u_{ik}$  es el tensor de deformación de Euler definido en la ecuación (5.2) y  $\lambda_{ik}$  son constantes elásticas (tensor módulo elástico). El último término del lado derecho en la ecuación (5.3) es peculiar a nuestro sistema y describe el incremento de energía debido al posible doblamiento de las columnas de células, véase la figura 5.2. Este término depende de la curvatura de las columnas e involucra la segunda derivada de la perturbación  $u_x(x, z)$  a primer orden y  $\xi$  una constante elástica de doblamiento.

Para cualquier deformación, las componentes del tensor de esfuerzos se calculan al diferenciar la energía elástica con respecto al tensor de deformación [56] es decir,

$$\sigma_{ij} = \frac{\delta F}{\delta u_{ij}}, \quad (5.4)$$

donde  $\delta$  representa la derivada funcional.

Suponiendo que las células tienen razón de Poisson<sup>1</sup> nula, es decir, que las células no

<sup>1</sup>Las componentes  $u_{xx}$  y  $u_{zz}$  dan la compresión relativa de la célula en las direcciones longitudinal y transversal, respectivamente, la razón entre ellas cuando se aplica  $p$  se conoce como razón de Poisson  $\sigma$  [56]

se expanden lateralmente cuando se comprimen longitudinalmente, podemos despreciar el término proporcional a  $\lambda_1$  en la ecuación (5.3). Y considerando además que en el estado ordenado nemáticamente, comprimido longitudinalmente, pero no doblado ( $u_x = 0$ ) hay sólo una componente diferente de cero del tensor de deformación, dígame,

$$u_{zz} = \frac{\sigma_{zz}}{\lambda_{zz}} = -\frac{p}{\lambda_{zz}}, \quad (5.5)$$

que corresponde a una compresión uniforme a lo largo de la coordenada  $z$ . Suponiendo más generalmente que las columnas de células se deforman de manera arbitraria como ha sido representado en la figura 5.2, en términos de un pequeño desplazamiento lateral  $u_x(z)$ , podemos llegar a la siguiente expresión simplificada para la energía libre,

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} \left[ \lambda_{zz} u_{zz}^2 + \lambda_{xz} u_{xz}^2 + \xi \left( \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \right)^2 \right], \quad (5.6)$$

considerando un sistema no comprimido a lo largo de la dirección  $x$  y con deformaciones independientes de  $x$  (canal muy ancho).

En la expresión para la componente  $u_{zz}$  del tensor de deformación no se desprecia el último término en el lado derecho de la ecuación (5.2), ya que  $u_x$  puede ser grande (término que usualmente se omite en elasticidad lineal),

$$u_{zz} = -\frac{p}{\lambda_{zz}} + \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_x}{\partial z} \right)^2, \quad (5.7)$$

y por otro lado,

$$u_{xz} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_x}{\partial z} + \frac{\partial u_z}{\partial x} \right) \quad (5.8)$$

Sustituyendo las ecuaciones (5.7) y (5.8) en la ecuación (5.6), considerando  $\partial_z u_x \gg \partial_x u_z$  y renombrando  $w \equiv u_x$ , obtenemos,

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int dz \left[ \frac{p^2}{\lambda_{zz}} - p \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 + \frac{1}{4} \lambda_{xz} \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 + \xi \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right)^2 \right], \quad (5.9)$$

donde el tercer y cuarto términos corresponden a la energía de corte y doblamiento respectivamente. Estos dos términos tienden a incrementar la energía elástica cuando las células se desplazan lateralmente, mientras que el segundo término tiende a reducirla debido a la liberación de la energía de compresión longitudinal. Para una compresión lo suficientemente grande  $p$ , la reducción es más grande que la ganancia en energía y ocurre la inestabilidad de doblamiento. La condición de frontera a satisfacer en los extremos es que el tensor de esfuerzos  $\boldsymbol{\sigma}$  se anule en las aberturas.

La descripción de la dinámica del campo de doblamiento  $w(z, t)$  se hace en términos del lagrangiano [56, 77],

$$L = \frac{1}{2} \int dz \dot{w}^2 - F_{el}. \quad (5.10)$$

donde el primer término de lado derecho es la energía cinética  $\frac{1}{2}mv^2 \rightarrow \frac{1}{2}\dot{w}^2$ . Sustituyendo la ecuación (5.9) en la expresión anterior, llegamos a una expresión explícita para el lagrangiano,

$$L = \frac{1}{2} \int dz \left[ \dot{w}^2 - \frac{p^2}{\lambda_{zz}} - \left( \frac{\lambda_{xz}}{4} - p \right) \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 - \xi \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right)^2 \right]. \quad (5.11)$$

Las ecuaciones de Euler-Lagrange para este tipo de sistemas están dadas por la siguiente expresión,

$$\frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\delta L}{\delta \dot{w}} \right) - \frac{\delta L}{\delta w} = - \frac{\delta F_d}{\delta \dot{w}} \quad (5.12)$$

con  $\delta$  indicando la derivada funcional de  $L$  con respecto a  $w$ . Recordando que las células experimentan una fricción de arrastre dada por la ecuación (3.16), con  $\mu$  el coeficiente de fricción debido a las paredes superior e inferior (en este caso, por simplicidad se desprecia la fricción con las paredes laterales de la trampa y la fricción entre las células) agregamos el término,

$$F_d = \mu \int dz \frac{\dot{w}^2}{2}, \quad (5.13)$$

el cual representa una fuerza de disipación [78].

Para obtener la ecuación de movimiento (5.12) con el lagrangiano dado por la ecuación (5.11), calculamos la derivada funcional de los términos que involucran a  $w$ . El cálculo detallado se efectúa en el apéndice B. El resultado fué,

$$\frac{\partial^2 w}{\partial t^2} + p \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \frac{\lambda_{xz}}{4} \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} + \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} = -\mu \frac{\partial w}{\partial t}. \quad (5.14)$$

En el límite sobreamortiguado, se puede despreciar el término inercial en la ecuación (5.14) y llegar a la siguiente expresión para  $w$ ,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} = \left( \frac{\lambda_{xz}}{4} - p \right) \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4}. \quad (5.15)$$

Para una compresión lo suficientemente grande ( $p > \lambda_{xz}/4$ ) el sistema de células se vuelve inestable con respecto a perturbaciones de onda larga. Proponiendo una solución de la forma  $w(z, t) = Z(z)T(t)$  (método de separación de variables) se llega a la expresión,

$$w(z, t) = w_0 \exp[st + ikz] \quad (5.16)$$

donde  $s$  representa la tasa de variación temporal del modo con número de onda  $k$ . Sustituyendo en la ecuación (5.15) obtenemos la relación de dispersión,

$$s = \frac{1}{\mu} \left[ \left( p - \frac{\lambda_{xz}}{4} \right) k^2 - \xi k^4 \right]. \quad (5.17)$$

Es decir, cuando existe a lo menos un valor de  $k$  tal que  $s > 0$ , ocurre la inestabilidad de doblamiento. Todas las perturbaciones con  $k \in [0, k_c]$  son inestables, de acuerdo al diagrama mostrado en la figura 5.3, con  $k_c$  dado por,

$$k_c = \left[ \frac{p - \lambda_{xz}/4}{\xi} \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (5.18)$$

Entonces la inestabilidad puede ocurrir en trampas lo suficientemente largas con longitud  $L_z > 2\pi/k_c$ .

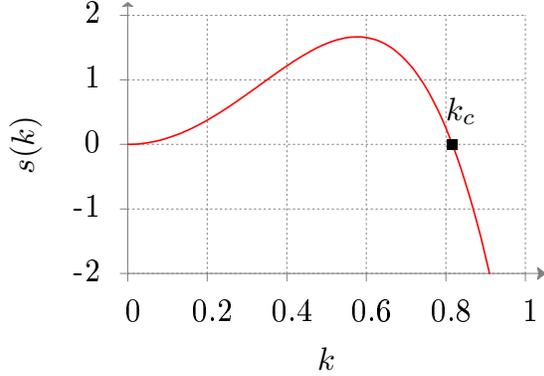


Figura 5.3: Gráfica de la expresión (5.17) donde se muestra el valor crítico  $k_c$  que marca la ocurrencia de la inestabilidad de pandeo cuando  $s > 0$ .

Se puede mejorar este cálculo considerando una trampa con ancho finito limitada por paredes laterales sólidas en  $x = \pm L_x/2$ . Tomando en cuenta que se tiene que imponer la condición de frontera  $w = 0$  en  $x = \pm L_x/2$  y considerar además la dependencia de  $w$  en  $x$ . Para este caso, la tasa de desplazamiento compresivo a lo largo de  $x$ ,

$$u_{xx} = \frac{\partial u_x}{\partial x} = \frac{\partial w}{\partial x} \quad (5.19)$$

contribuye a la energía libre dada por la ecuación (5.3), lo cual lleva,

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int dz \left[ \frac{p^2}{\lambda_{zz}} - p \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 + \frac{1}{4} \lambda_{xz} \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 + \lambda_{xx} \left( \frac{\partial w}{\partial x} \right)^2 + \xi \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right)^2 \right]. \quad (5.20)$$

Sustituyendo esta expresión en el lagrangiano, expresión (5.10) y calculando nuevamente la derivada funcional, llegamos a la siguiente ecuación para el desplazamiento local transversal,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} = \left( \frac{\lambda_{xz}}{4} - p \right) \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} + \lambda_{xx} \frac{\partial^2 w}{\partial x^2}, \quad (5.21)$$

donde nuevamente hemos despreciado la contribución inercial. Resolviendo la ecuación anterior obtenemos,

$$w(x, z, t) = w_0 \exp[st + ikz] \cos \left( \frac{\pi x}{L_x} \right), \quad (5.22)$$

por lo tanto, la razón de crecimiento  $s$  para el modo más bajo es la siguiente,

$$s = \frac{1}{\mu} \left[ \left( p - \frac{\lambda_{xz}}{4} \right) k^2 - \xi k^4 - \frac{\pi^2 \lambda_{xx}}{L_x^2} \right]. \quad (5.23)$$

Esto quiere decir que la tasa  $s$  puede ser disminuida por la constante  $\pi^2 \lambda_{xx}/L_x^2$ , por lo tanto, la inestabilidad de doblamiento puede ser suprimida en trampas poco anchas.

### 5.1.2. Compresión de células activas

Esta sección retoma el cálculo anterior con columnas de células creciendo a razón  $a$  y dividiéndose cuando su tamaño se duplica, alineadas a lo largo del eje  $z$  dentro de una trampa rectangular con dimensiones  $L_x \times L_z$ . La principal diferencia con la sección anterior es que la presión  $p$  no es uniforme y depende ahora explícitamente de  $z$ . En el límite continuo, el fluido está expandiéndose a lo largo de  $z$  con una razón  $a$  y por la conservación de la masa, véase la ecuación (5.1), se tiene que la componente  $z$  de la velocidad es  $v_z = az$  para células perfectamente alineadas.

El crecimiento de la células genera una compresión  $\sigma_{zz}$  a lo largo de la dirección longitudinal. Despreciando a primer orden el efecto de pequeñas deflexiones  $w$  sobre  $\sigma_{zz}$ , calculamos esa presión para un sistema perfectamente alineado. Considerando el límite sobreamortiguado se obtiene de la conservación del momento,

$$v_z = -\frac{1}{\mu} \frac{\partial p}{\partial z} \quad (5.24)$$

integrando la expresión anterior, obtenemos que la presión es,

$$p = \frac{\mu a}{2} \left( \frac{L_z^2}{4} - z^2 \right) \quad (5.25)$$

donde se ha aplicado la condición  $p = \frac{\pm L_z}{2} = 0$ .

Sustituyendo la ecuación (5.25) en la expresión (5.15) se obtiene,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} + \mu a z \frac{\partial w}{\partial z} = \left[ \frac{\lambda_{xz}}{4} - \frac{\mu a}{2} \left( \frac{L_z^2}{4} - z^2 \right) \right] \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} \quad (5.26)$$

donde nuevamente se ha considerado un dominio infinito a lo largo de la dirección  $x$ ,  $L_x \rightarrow \infty$ . Para simplificar, suponemos  $\lambda_{xz}$  debido a que se está considerando un fluido sin esfuerzos cortantes a lo largo de  $z$ . Ahora consideremos  $L_z$  finito y se tienen que considerar las condiciones a la frontera en  $z = \pm L_z/2$ , es decir, la ausencia de esfuerzos y de torcas cerca de las fronteras libres, lo cual se traduce como,

$$\frac{\partial^2 w}{\partial z^2} = \frac{\partial^3 w}{\partial z^3} = 0. \quad (5.27)$$

Regresando a la ecuación (5.26) y reescalando  $z$  como  $z = \frac{L_z}{2} z'$ , con  $-1 < z < 1$ , la posición adimensional, llegamos a la siguiente expresión,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} + \mu a z' \frac{\partial w}{\partial z'} = -\frac{\mu a}{2} (1 - z'^2) \frac{\partial^2 w}{\partial z'^2} - \frac{16\xi}{L_z^4} \frac{\partial^4 w}{\partial z'^4}. \quad (5.28)$$

Reescalando el tiempo como  $t = \frac{L_z^4 \mu}{16\xi} t'$  donde  $t'$  es adimensional, se obtiene,

$$\frac{\partial w}{\partial t'} = -a^* z' \frac{\partial w}{\partial z'} - \frac{a^*}{2} (1 - z'^2) \frac{\partial^2 w}{\partial z'^2} - \frac{\partial^4 w}{\partial z'^4} \quad (5.29)$$

donde,

$$a^* = \frac{a\mu L_z^4}{16\xi}. \quad (5.30)$$

Para simplificar retomamos  $z' \rightarrow z$  y  $t' \rightarrow t$ . Resolviendo usando el método de separación de variables, buscamos soluciones de la forma  $w(z, t) = e^{st} f(z)$ , llegamos a las dos ecuaciones siguientes,

$$sf = -a^* z f' - \frac{a^*}{2} (1 - z^2) f'' - f''', \quad (5.31a)$$

$$f''(\pm 1) = f'''(\pm 1) = 0, \quad (5.31b)$$

con las condiciones a la frontera dadas por las ecuaciones (5.27).

La ecuación (5.31a) fué resuelta usando métodos numéricos con una subrutina implementada en Python<sup>TM</sup>, que utiliza su librería ODEINT, la cual resuelve la ecuación diferencial usando a su vez la librería ODEPACK implementada en FORTRAN 77 por Alan Hindmarsh [79]. Al imponer las condiciones a la frontera, dadas por la ecuación (5.31b), el parámetro  $s$  adquiere valores discretos. La figura 5.4 muestra los primeros eigenvalores  $s$ , al variar  $a^*$ . Las curvas están pintadas de acuerdo al número de veces que la solución, figura 5.5(a-f), cruza el eje de las abscisas, donde  $n$  puede tomar el rango de valores  $0 \dots 8$ . En el límite cuando  $a^* \rightarrow 0$  todos los eigenvalores  $s_n$  son negativos, pero cuando  $a^*$  toma valores finitos, los eigenvalores pueden cruzar el eje de las abscisas, lo que implica la ocurrencia de la inestabilidad de doblamiento.

De acuerdo a las variables no reescaladas, véase la ecuación (5.30), para modos impares la bifurcación ocurre en  $\frac{a\mu L_z^4}{16\xi} \approx 63$  y para modos pares en  $\frac{a\mu L_z^4}{16\xi} \approx 62$ , *i.e.* cuando la razón de crecimiento  $a$ , el tamaño del sistema  $L$  o la fricción  $\mu$  son lo suficientemente grandes.

## 5.2. Parámetros del modelo continuo en las simulaciones

El siguiente estudio se hace para dar una conexión cuantitativa entre los parámetros de las simulaciones de elementos discretos y los del modelo continuo que se ha presentado en las secciones anteriores.

Dos parámetros que se relacionan directamente son el crecimiento del fluido celular y la razón de crecimiento, ambos denotados con la letra  $a$  tanto en el desarrollo teórico como en las simulaciones. De manera similar, el coeficiente de fricción  $\mu$  en el modelo

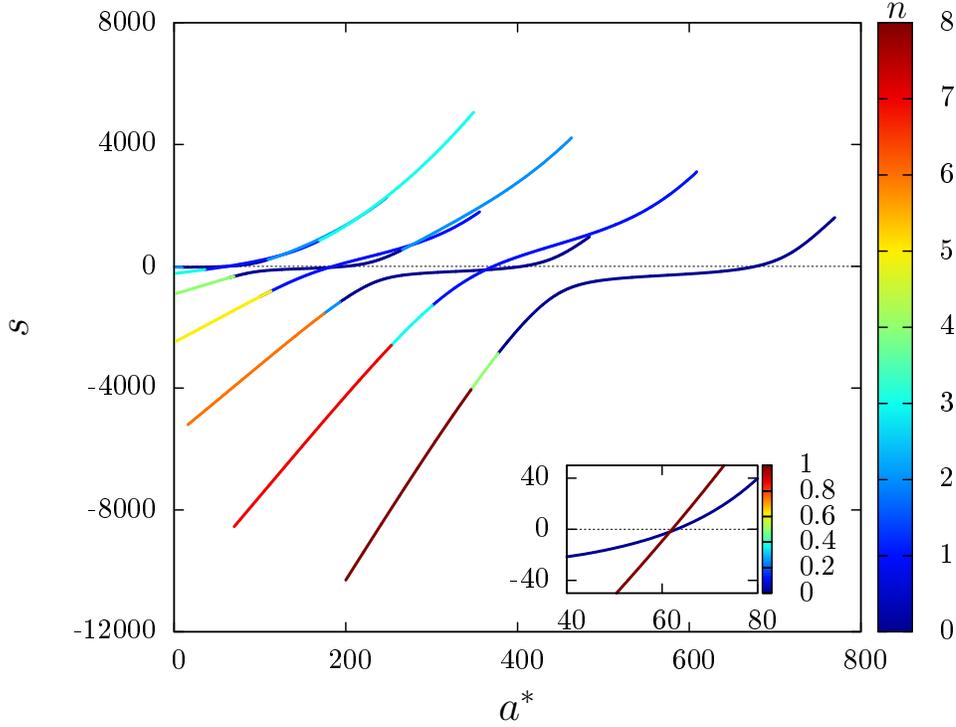


Figura 5.4: Soluciones a la ecuación (5.31), debido a la imposición de las condiciones a la frontera  $s$  está cuantizado. Las soluciones se muestran como función de  $a^*$ . El número de nodos  $n$ , que indica las veces que la curva solución cruza el eje de las abscisas esta indicado en la cinta a color mostrada en lado derecho (para más detalles véase la figura 5.5). La gráfica dentro del recuadro muestra las primeras curvas que cruzan el origen.

continuo es igual al coeficiente de fricción con el que las células interactúan con las tapas superior e inferior en las simulaciones.

En esta sección se expondrá el cálculo analítico efectuado en [9] para estimar las constantes elásticas  $\lambda_{xx}$ ,  $\lambda_{zz}$  y  $\xi$  en términos de parámetros de las simulaciones. Consideramos un conjunto de esferocilindros altamente empaquetados nemáticamente con una razón de aspecto media promedio  $\ell$  y diámetro  $d$ , como el mostrado en la figura 5.6.

Suponemos que un par de células en contacto interactúan a través de una fuerza tipo Hooke,

$$F_{ik} = -K_n \chi_{ik} \quad (5.32)$$

donde  $\chi_{ik}$  es el traslape en el punto de contacto (longitud  $\ell$  de la célula menos la distancia mínima entre los ejes de las células). Para calcular el módulo elástico normal  $\lambda_{zz}$  consideramos una caja rectangular de ancho  $L_x$  y altura  $L_z$  llena con partículas con longitud media  $\ell$  ordenadas nemáticamente a lo largo del eje vertical  $z$ , como se muestra en la figura 5.6. Inicialmente las partículas no se traslapan entre sí, sin embargo, después de efectuar un desplazamiento normal  $\Delta$  de la pared derecha hacia la izquierda a lo largo del eje  $z$ , el traslape medio por partícula es

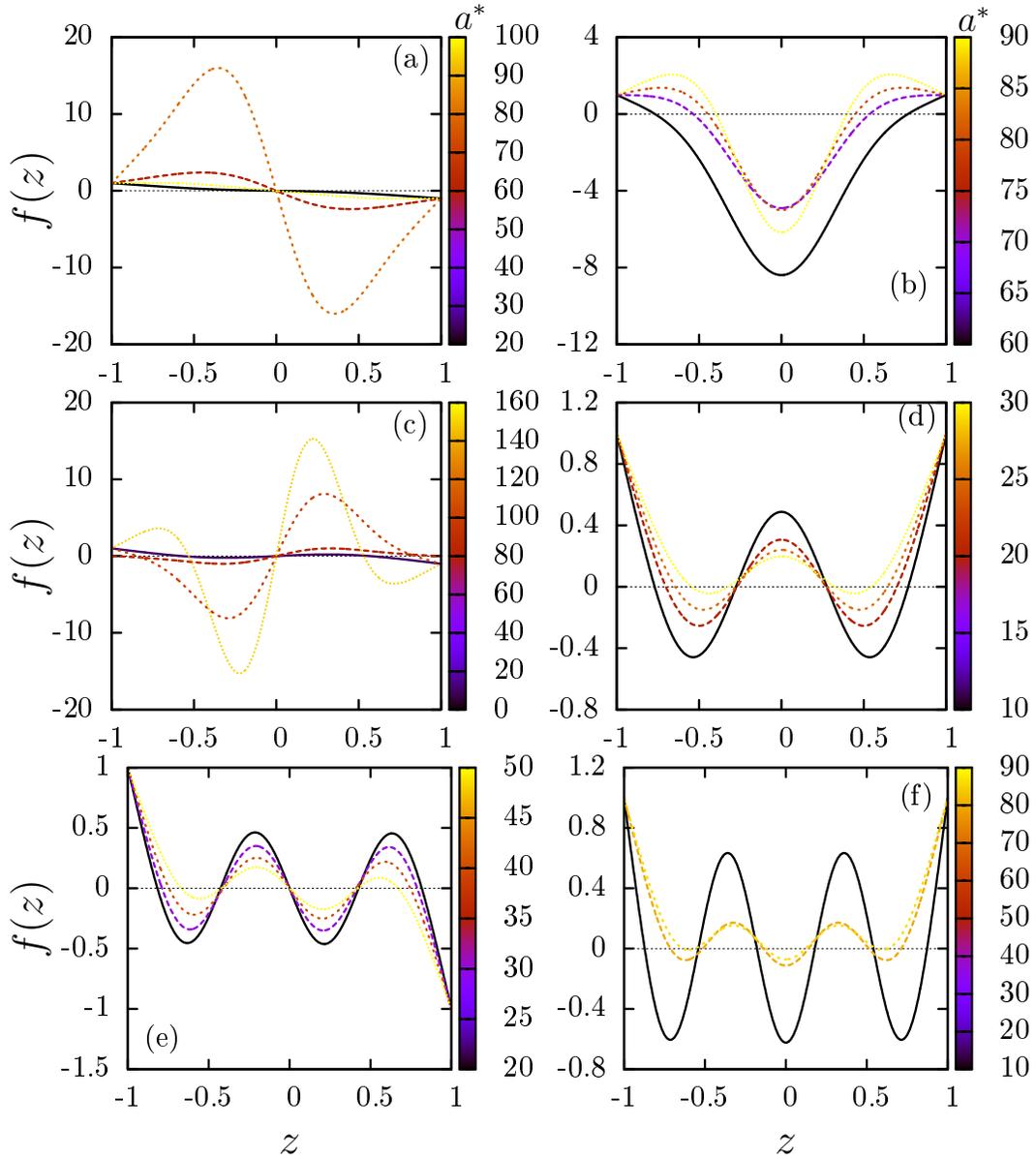


Figura 5.5: Soluciones a la ecuación 5.31. A), C) y E) Soluciones impares con  $n = 1$ ,  $n = 3$  y  $n = 5$  nodos. B), D) y F) Soluciones pares con  $n = 2$ ,  $n = 4$  y  $n = 6$  nodos. Se muestran curvas con diferentes valores de  $a^*$ .

$$\chi = \frac{\Delta}{N_z}, \quad (5.33)$$

donde  $N_z = L_z/\ell$  es el número medio de células por columna en una caja de altura  $L_z$ .

La fuerza por contacto es  $K_n\chi$ , y sustituyendo (5.33) llegamos a,

$$F_z = -K_n \frac{\Delta}{N_z} = -K_n \frac{\Delta \ell}{L_z}. \quad (5.34)$$

A partir de esta última expresión obtenemos el esfuerzo normal,

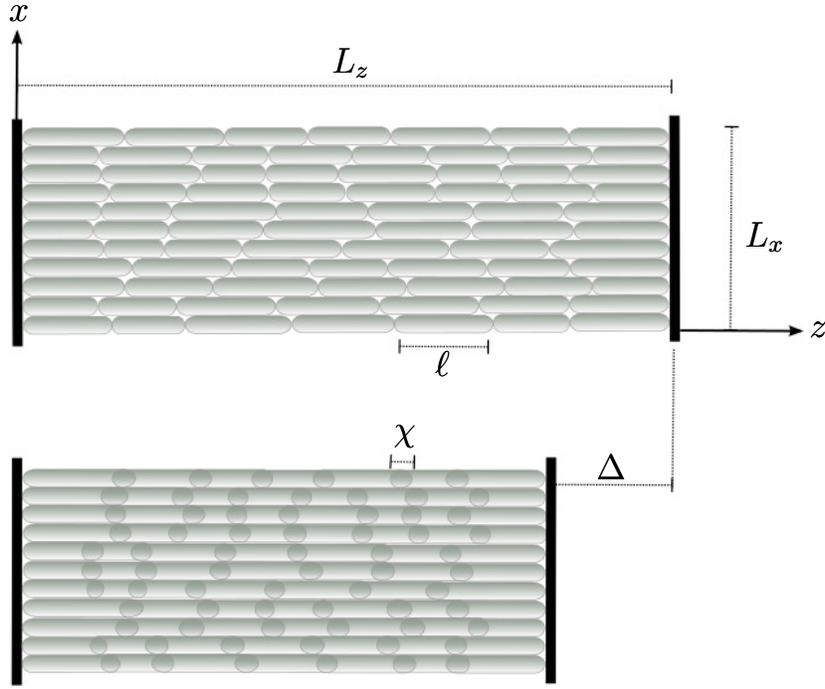


Figura 5.6: Esquema de una colonia de células utilizado para relacionar la constante  $\lambda_{zz}$  con los parámetros utilizados en las simulaciones de elementos discretos. Inicialmente el conjunto de células están únicamente en contacto (imagen superior). Se aplica una compresión (imagen inferior), desplazando una de las paredes hacia la izquierda una cantidad  $\Delta$ , dando como resultado un traslape entre los puntos de contacto, denotado con la letra  $\chi$ .

$$\sigma_{zz} = -\frac{F_n}{d} = \frac{K_n \ell \Delta}{d L_z} \quad (5.35)$$

La tasa de deformación  $u_{zz}$  es  $\frac{\Delta}{L_z}$  y dado que  $\sigma_{zz} = \lambda_{zz} u_{zz}$ , entonces,

$$\sigma_{zz} = \lambda_{zz} \frac{\Delta}{L_z}. \quad (5.36)$$

Igualando las ecuaciones (5.35) y (5.36) obtenemos la relación entre  $\lambda_{zz}$  y  $K_n$ , dada por,

$$\lambda_{zz} = \frac{K_n \ell}{d}. \quad (5.37)$$

Efectuando un procedimiento similar se llega a una expresión parecida para el módulo elástico transversal,

$$\lambda_{xx} = \frac{K_n d}{\ell}. \quad (5.38)$$

Si la fricción estática entre las células es cero, entonces  $\lambda_{xz} = \lambda_{zx} = 0$ .

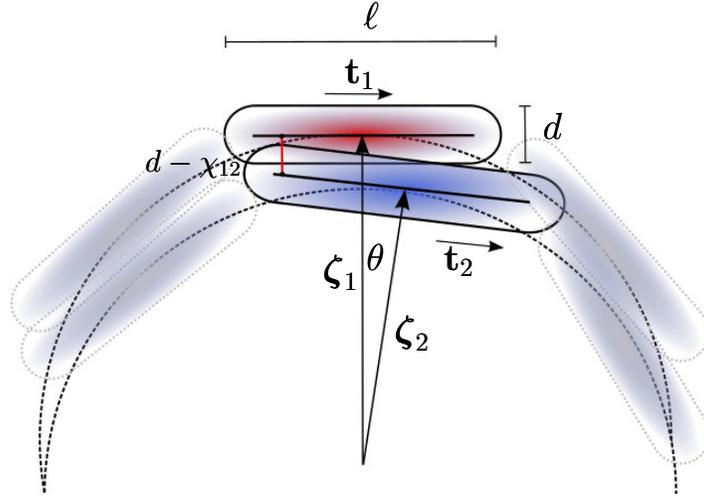


Figura 5.7: Representación esquemática de dos columnas de células doblándose siguiendo la circunferencia de dos círculos (cuyo centros están desplazados  $\Delta z$  a lo largo del eje  $z$ ) de radio  $R$ , utilizadas para el cálculo de la constante de doblamiento  $\chi$  en términos de los parámetros de la simulación.

La constante de doblamiento  $\xi$  puede calcularse considerando el incremento de energía que ocurre en un grupo paralelo de esferocilindros que son doblados siguiendo una geometría radial con un radio de curvatura  $R$ , como se muestra en la figura 5.7. Por simplicidad en el cálculo se supone que todas las células tienen un diámetro  $d$  y una longitud  $\ell$ . Como se observa en la figura, las posiciones de los centros de masa  $\zeta$  de las células pueden parametrizarse en términos de las coordenadas polares  $(r, \theta)$ . Una de las células se encuentra a una distancia  $\Delta z$  de la otra, por lo que tenemos en coordenadas cartesianas,

$$\zeta_1 = (R \sin \theta, R \cos \theta + \Delta z) = (0, R + \Delta z) \quad (5.39)$$

considerando que  $\theta$  es igual cero. Para la segunda célula,

$$\zeta_2 = (R \sin \theta, R \cos \theta), \quad (5.40)$$

aquí  $\theta$  es un ángulo pequeño de desalineamiento entre las células.

Los vectores unitarios tangenciales  $\mathbf{t} = (\cos \theta, -\sin \theta)$  están dirigidos a lo largo de los ejes de las células. En el caso de la célula 1 es perpendicular al eje  $z$ , por lo tanto considerando nuevamente  $\theta = 0$ , obtenemos  $\mathbf{t}_1 = (1, 0)$ , mientras que para la célula 2 vale  $\mathbf{t}_2 = (\cos \theta, -\sin \theta)$ .

La energía de dos esferocilindros traslapándose, como los mostrados en rojo y azul en la figura 5.7 es proporcional al cuadrado de la distancia de traslape  $\chi_{12}$ . Por lo tanto, es necesario obtener dicha cantidad en términos del radio  $R$  de los círculos, el diámetro  $d$  y la longitud  $\ell$  de las células. La figura 5.8 muestra más detalladamente el cálculo de  $\chi_{12}$  para dos células con centros en  $\zeta_1$  y  $\zeta_2$  y vectores tangenciales  $\mathbf{t}_1$  y  $\mathbf{t}_2$ . Los vectores

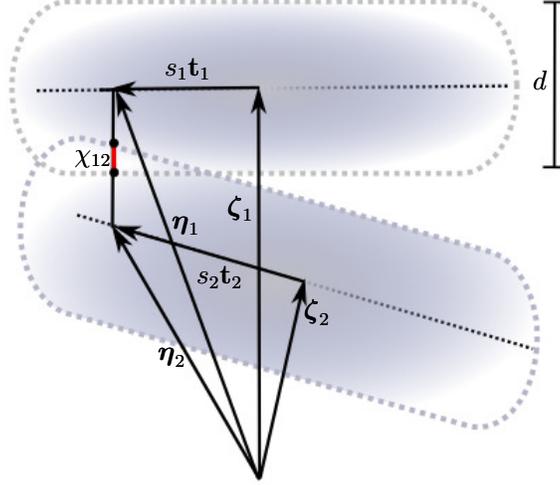


Figura 5.8: Esquema para calcular la longitud del traslape entre dos esferocilindros en contacto, los vectores  $s_1 \mathbf{t}_1$  y  $s_2 \mathbf{t}_2$  se definen desde el origen de cada célula hasta el punto (a lo largo del eje) de contacto. El traslape es  $\chi_{12} = d - |\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|$ .

del origen del sistema de coordenadas a los puntos localizados a lo largo del eje de las células, están dados por,

$$\boldsymbol{\eta}_1 = \boldsymbol{\zeta}_1 + s_1 \mathbf{t}_1 \quad y \quad \boldsymbol{\eta}_2 = \boldsymbol{\zeta}_2 + s_2 \mathbf{t}_2 \quad (5.41)$$

donde,

$$|s_1| \leq \frac{\ell - d}{2} \quad y \quad |s_2| \leq \frac{\ell - d}{2}. \quad (5.42)$$

Finalmente el máximo traslape que puede haber entre dos esferocilindros, en términos de las cantidades (5.41) y (5.42) es,

$$\chi_{12} = \max(d - |\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|). \quad (5.43)$$

Para obtener la energía promedio por célula se tiene calcular primero el traslape cuadrático medio  $\langle \chi_{12}^2 \rangle$  a partir de la ecuación (5.43), esto sobre todos los valores posibles del ángulo  $\theta_2$ , con  $\theta_1$  fijo, para los que el traslape sea distinto de cero. En la figura 5.7 se supone por simplicidad que  $\theta_1 = 0$  y  $\theta_2 = \theta$  y que una de las células esta localizada en  $\Delta z = 0$  y la otra en  $\Delta z = d$ . Usando técnicas estándares, (véase el Apéndice D), encontramos una expresión para el valor del traslape cuadrático medio entre una célula y sus células vecinas superior e inferior, cuando  $\ell/R$  es pequeño,

$$\langle \chi_{12}^2 \rangle_{\text{total}} \approx \frac{(\ell - d)^4}{60R^2}. \quad (5.44)$$

Si la energía de interacción entre las células es de tipo Hooke, se obtiene la energía de doblamiento por célula,

$$E_b = K_n \frac{\langle \chi_{12}^2 \rangle_{\text{total}}}{2}. \quad (5.45)$$

Después de dividir por el área de las células ( $\sim d\ell$ ), obtenemos la energía por unidad de área y se llega a la constante de doblamiento,

$$\xi = K_n \frac{(\ell - d)^4}{120d\ell}, \quad (5.46)$$

expresión que escala como  $\ell^3/d$  para  $\ell \gg d$ . Nótese que  $\xi = 0$  cuando  $\ell = d$ , cuando las células se convierten en esferas.

Estos cálculos muestran que la energía, dada por la expresión (5.20) tiene un origen microscópico en términos de las propiedades de las células.

### 5.3. Comparación del modelo continuo con simulaciones

En esta sección presentamos los resultados obtenidos con las simulaciones de elementos discretos para poner a prueba a la ecuación (5.30), reescrita de la siguiente manera,

$$a^* = \frac{a\mu L_z^4}{16\xi}.$$

Si existe un número  $a_c^*$  adimensional tal que si  $a^* > a_c^*$ , se presenta una inestabilidad, entonces deberíamos observar una disminución del parámetro de orden nemático para

$$\mu L_z^4 > a_c^* \frac{16\xi}{a}. \quad (5.47)$$

Graficando  $\langle Q \rangle$  en función de  $\mu L_z^4$  para varios valores de  $\mu$  y  $L_z$ , manteniendo fijos todos los otros parámetros, se debería observar una transición orden/desorden cuando  $\mu L_z^4$  cruza cierto valor. Para efectuar estas simulaciones, utilizamos dos tipos de fuerzas para modelar el contacto de las células, la primera es la fuerza tipo hooke, dada por la ecuación (5.32) y la segunda tipo Hertz, dada por la relación,

$$F_{ik} = -K_n \chi_{ik}^{3/2}. \quad (5.48)$$

Además consideramos canales con una dimensión transversal fija  $L_x = 40$  en los que variamos el tamaño de la pared longitudinal de acuerdo a  $L_z = 35, 40, 50$  y  $60$ . Variamos la fricción  $\mu$  definida en la ecuación (3.16) en el rango  $[0, 1]$  para cada uno de los canales mencionados previamente, midiendo el valor promedio del parametro de orden  $Q$ , una vez equilibrado el sistema, a través de la cantidad  $1 - \langle Q \rangle$ .

Siguiendo la predicción teórica obtenida en [9], dada en forma aproximada por la relación 5.47 reescalamos el eje de las abscisas siguiendo una ley de la forma  $\mu L_z^\zeta$ . Los resultados usando fuerzas tipo Hooke y con parámetros en las simulaciones  $a = 0.5$  y  $\ell = 3.5$  se muestran en la figura 5.9. El mejor ajuste a  $\mu L_z^\zeta$  con  $\zeta = 3$ .

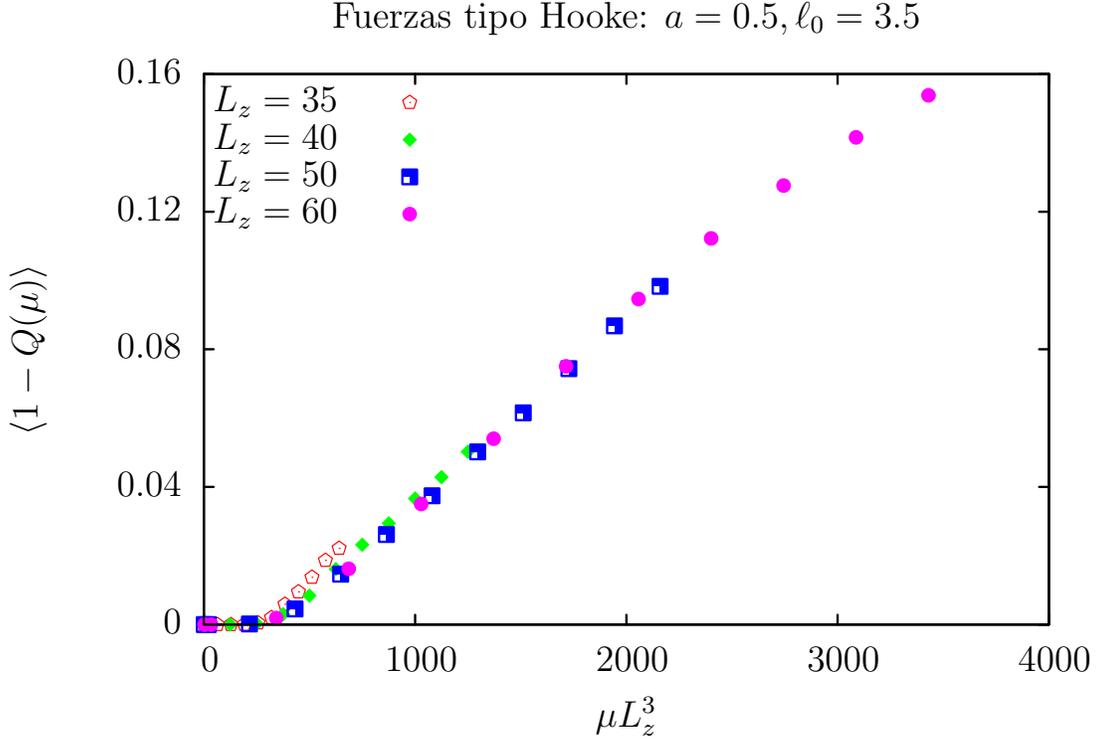


Figura 5.9: Parámetro de orden nemático  $1 - \langle Q \rangle$  obtenido para canales con un ancho  $L_x = 40$  y alturas de  $L_z = 35, 40, 50$  y  $60$ . La gráfica muestra el reescalamiento del eje las abscisas siguiendo la relación (5.47), dada por  $\mu L_z^\zeta$  con  $\zeta$  el exponente de ajuste. Se muestra el caso de células interactuando con fuerzas viscoelásticas tipo Hooke. Las curvas caen sobre sí mismas con  $\zeta = 3$ .

De manera similar, se sigue el mismo procedimiento para el caso de fuerzas tipo Hertz entre la interacción de las células, con los parámetros  $a = 0.5$  y  $\ell = 3.5$ . En este caso, el exponente de ajuste fué  $\zeta = 2$ , como se muestra en la figura 5.10.

Aunque el cálculo teórico presentado en la sección 5.2 se obtuvo suponiendo que las células interactúan siguiendo una ley de Hooke, el exponente numérico obtenido en la figura 5.9 no concuerda con el valor  $\zeta = 4$  predicho por la teoría. Para el caso de la fuerza de Hertz, el exponente obtenido fué aún más pequeño.

Concluimos, a partir de estos resultados que la teoría continua, a pesar de ayudar a entender la inestabilidad de doblamiento, no es enteramente satisfactoria, ya que los resultados obtenidos con las simulaciones indican que existen otros factores que influyen en la ocurrencia de esta inestabilidad.

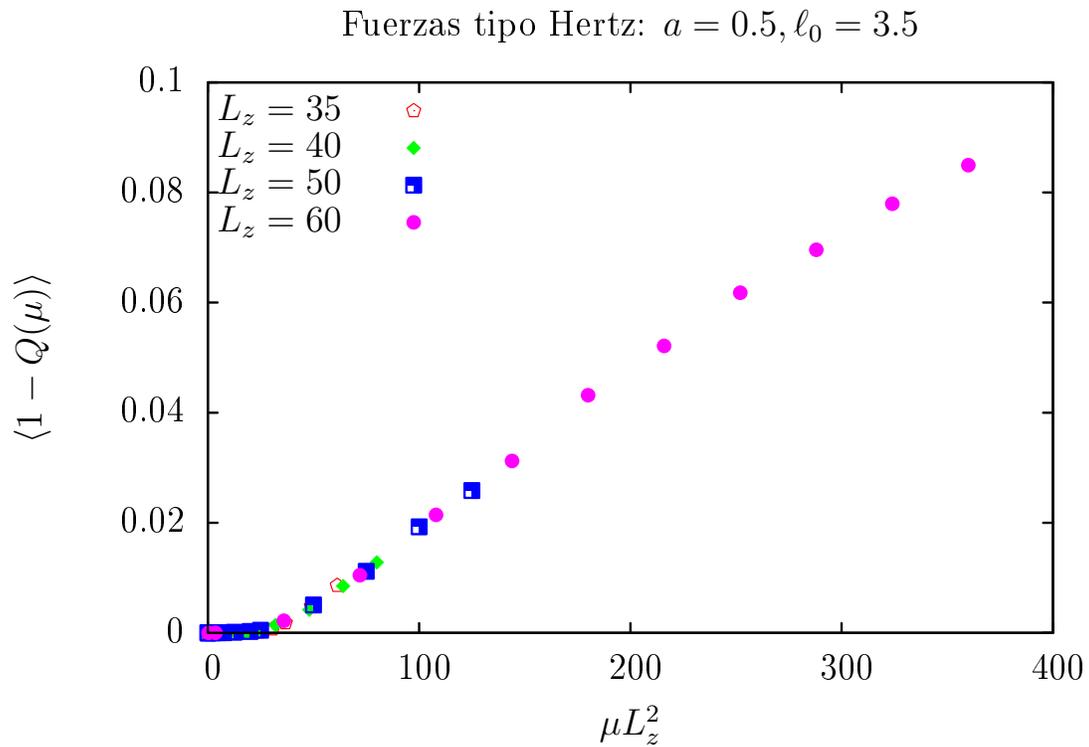


Figura 5.10: Parámetro de orden nemático  $1 - \langle Q \rangle$  obtenido para canales con un ancho  $L_x = 40$  y alturas de  $L_z = 35, 40, 50$  y  $60$ . La gráfica muestra el reescalamiento del eje las abscisas siguiendo la relación (5.47), dada por  $\mu L_z^\zeta$  con  $\zeta$  el exponente de ajuste. Se muestra el caso de células interactuando con fuerzas viscoelásticas tipo Hertz. Las curvas caen sobre sí mismas con  $\zeta = 2$ .

# Capítulo 6

## Robustez de colonias frente a células disfuncionales

En las simulaciones presentadas en capítulos previos supusimos que las células crecen a una razón de crecimiento  $a$  obtenida de una distribución normal con una varianza pequeña. Esta idealización en el sistema influye directamente en el proceso de ordenamiento en la colonia simulada. En su contraparte experimental se han observado que las células de *E. coli* bajo ciertas condiciones dejan de crecer y dividirse. Una célula de *E. coli* crece dependiendo de la eficiencia del medio para llevar nutrientes y desechar los desperdicios dentro del canal. En ocasiones el abarrotamiento en ciertas regiones (presiones altas) puede combinarse con la carencia de nutrientes y acumulación de toxinas y ocasionar que las células dejen de crecer. Un fenómeno similar también se ha observado en tejidos epiteliales embrionarios [80], los cuales muestran un proceso de división celular sincronizado durante las fases iniciales de crecimiento del tejido y posteriormente estas divisiones tienden a ser asincronizadas. En un instante dado del tiempo sólo una fracción pequeña de la población se divide, sobre todo en la parte más periférica, y esto influye en el desarrollo del tejido.

En este capítulo estudiamos el efecto de algunas perturbaciones al momento de la división, sobre algunas propiedades físicas de la colonia. En particular, suponemos que existe cierta probabilidad  $p_{n_0}$  de que cada célula hija de una célula cualquiera tenga una razón de crecimiento nula, es decir, la nueva célula tenga la misma longitud durante su estancia dentro del canal. Estudiamos la influencia de estas células enfermas sobre el parámetro de orden global  $Q$  y las componentes transversal y longitudinal del tensor de esfuerzos.

### 6.1. Efectos sobre el orden nemático global

En capítulos previos obtuvimos que para canales cuyas células tengan una razón de aspecto promedio  $\ell_0 > 3$ , razón de crecimiento  $a = 1$  y fricciones bajas entre las células, el sistema se ordena nemáticamente cuando las dimensiones de los individuos son relativamente pequeñas. Sin embargo la generación de células con razón de crecimiento nulo dentro del canal cambia radicalmente la dinámica observada previamente en el parámetro de orden.

Las figuras 6.1(a-b) y 6.1(c-d) muestran colonias con tamaños  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$  y  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$  respectivamente, con células de longitud  $\ell_0 = 4$  y razón de crecimiento  $a = 1$ . Se observa en las mismas un ordenamiento nemático a lo largo de los ejes del canal. Introducimos perturbaciones a este sistema, haciendo que las nuevas generaciones de células tengan un 30 % de probabilidad de nacer enfermas, *i. e.*, células que no crecen,  $a = 0$  y no se dividen para generar células hijas. El resultado se muestra en las figuras 6.1(b) y 6.1(d) en donde se han pintado en color blanco a las células con  $a = 0$  y se ha mantenido a las células sanas coloreadas de acuerdo a su orientación en el canal de acuerdo a la paleta mostrada en la figura 3.2. Gran parte del ordenamiento nemático global se ha perdido y en cambio, el sistema muestra un ordenamiento local de las células y en algunas regiones, la acumulación de los individuos de acuerdo a su razón de crecimiento  $a$ . Las células que no crecen, tienden a permanecer más tiempo en el interior del canal, comparadas con sus contrapartes sanas. Consecuentemente la fracción de células enfermas es mayor que  $p_{n_0}$  en promedio. Denotamos con  $\vartheta$  la razón de las células enfermas ( $n_0$ ) con respecto al número total de células ( $n_{\text{tot}}$ ), y usamos  $\vartheta$  como parámetro que caracteriza la magnitud de la perturbación de crecimiento de las células. En las figuras 6.1(b) y 6.1(d) el valor numérico es  $\vartheta$  es 0.37 y 0.38 respectivamente.

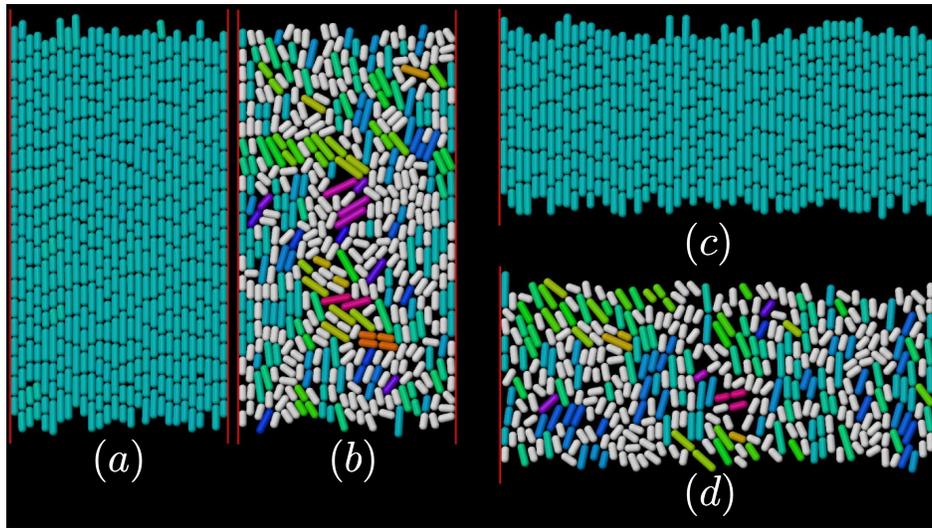


Figura 6.1: Simulaciones en un canal con dimensiones (a)-(b):  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$  y (c)-(d):  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , con células de longitud promedio  $\ell_0 = 4$ . Cuando todas las células tienen una razón de crecimiento  $a = 1$ , como en (a) y (c) el orden nemático se alcanza rápidamente en el interior del canal con todas las células alineadas en dirección paralela a las paredes. Cuando una célula hija nace con  $a = 0$  (células blancas) con una probabilidad  $p_{n_0} = 0.3$ , el orden nemático se pierde en gran parte, veáanse las figuras (b) y (d). La colonia muestra dominios con un ordenamiento local y en algunas partes del sistema el atrapamiento de grupos de células enfermas. Las células sanas están pintadas de acuerdo a su orientación con los ejes del canal, siguiendo la figura 3.2. La razón de células enfermas  $\vartheta$  en estos canales es de 0.37 y 0.38 respectivamente.

Para colonias dos y tres veces más grandes los resultados son similares. Las figuras 6.2(a) y 6.2(c) muestran colonias con dimensiones  $L_x = L_z = 40$  y  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$

respectivamente, las cuales adquieren un ordenamiento nemático tan pronto el canal se llena, cuando  $\vartheta = 0$ . Las figuras 6.2(b) y 6.2(d) muestran las mismas colonias con  $\vartheta = 0.36$  y  $\vartheta = 0.35$ , respectivamente. Se observa un ordenamiento local y en algunas regiones el agrupamiento de individuos con  $a = 0$ .

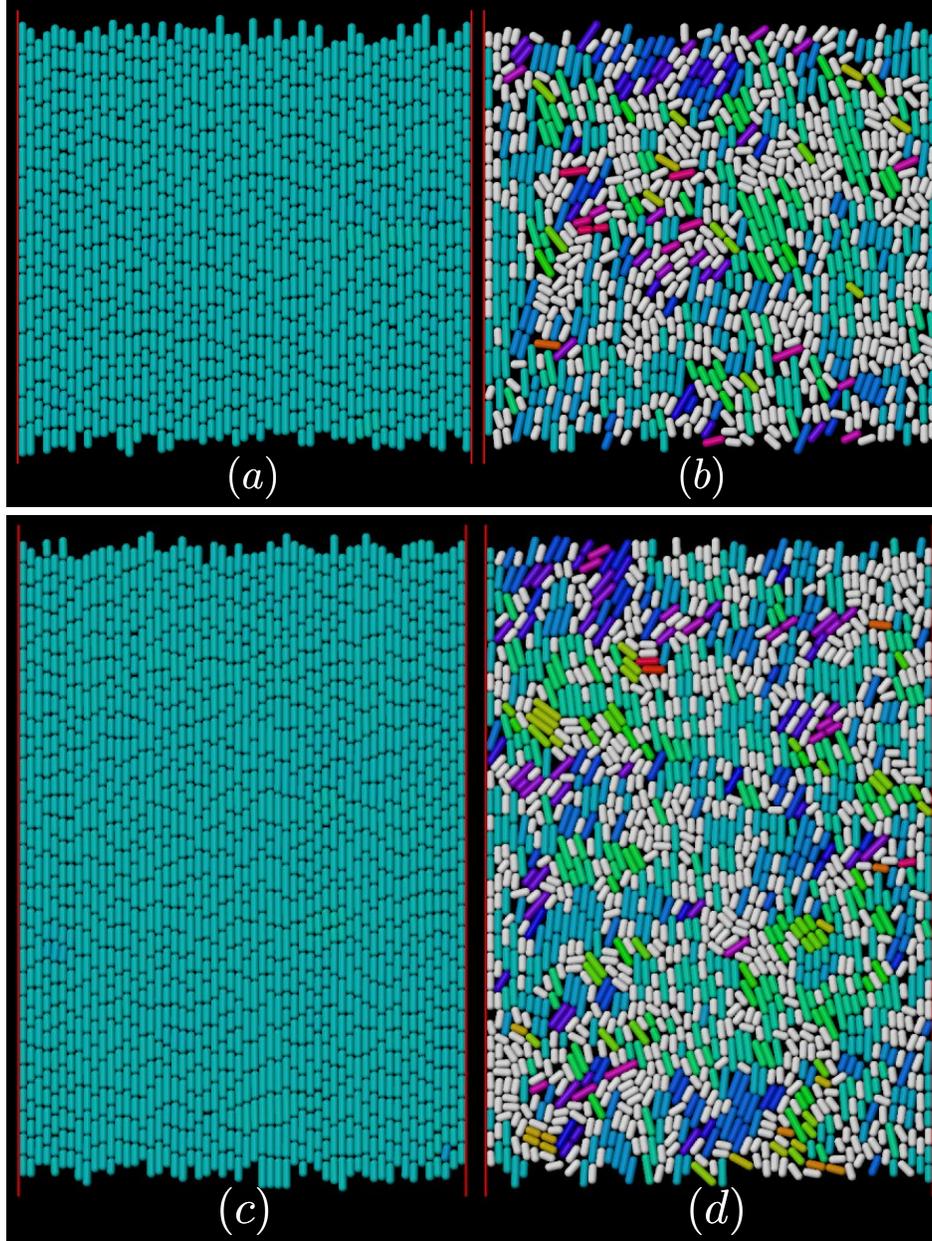


Figura 6.2: Simulaciones en canales más grandes con dimensiones (a)-(b):  $L_x = L_z = 40$  y (c)-(d):  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$ . En (a) y (c) se muestran células con  $\ell_0 = 4$  y  $a = 1$  con  $\vartheta = 0$ . La colonia se ordena nemáticamente. En (b) y (d) se introduce una probabilidad  $p_{n_0} = 0.3$  de que una célula hija tenga un  $a = 0$ . Después de que el canal se llena completamente y alcanza un estado estacionario, se observa un ordenamiento local junto con el atrapamiento de las células enfermas con respecto a las células sanas. En estas colonias simuladas tenemos un  $\vartheta$  de 0.36 y 0.35 respectivamente.

### 6.1.1. Parámetro de orden global

La figura 6.3 muestra el valor medido del parámetro de orden global  $\langle Q \rangle$  en función de la fracción de células enfermas  $\vartheta$  medida en la colonia. Se muestran las curvas para los sistemas de las figuras 6.1 y 6.2, que se componen de células con diferentes razones de aspecto  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ . Resulta evidente que  $\langle Q \rangle$  disminuye cuando  $\vartheta$  aumenta para cualquier  $\ell_0$ . Para sistemas compuestos por células más largas, en particular  $\ell_0 = 4$ , cuando  $\vartheta < 0.2$  el sistema permanece con  $\langle Q \rangle \sim 1$ , es decir, el sistema es mucho más robusto a las perturbaciones creadas por las células con  $a = 0$ . Este resultado complementa los obtenidos en la sección 4.1: las colonias con células más largas producen un ordenamiento nemático casi perfecto y además son sistemas más robustos a perturbaciones.

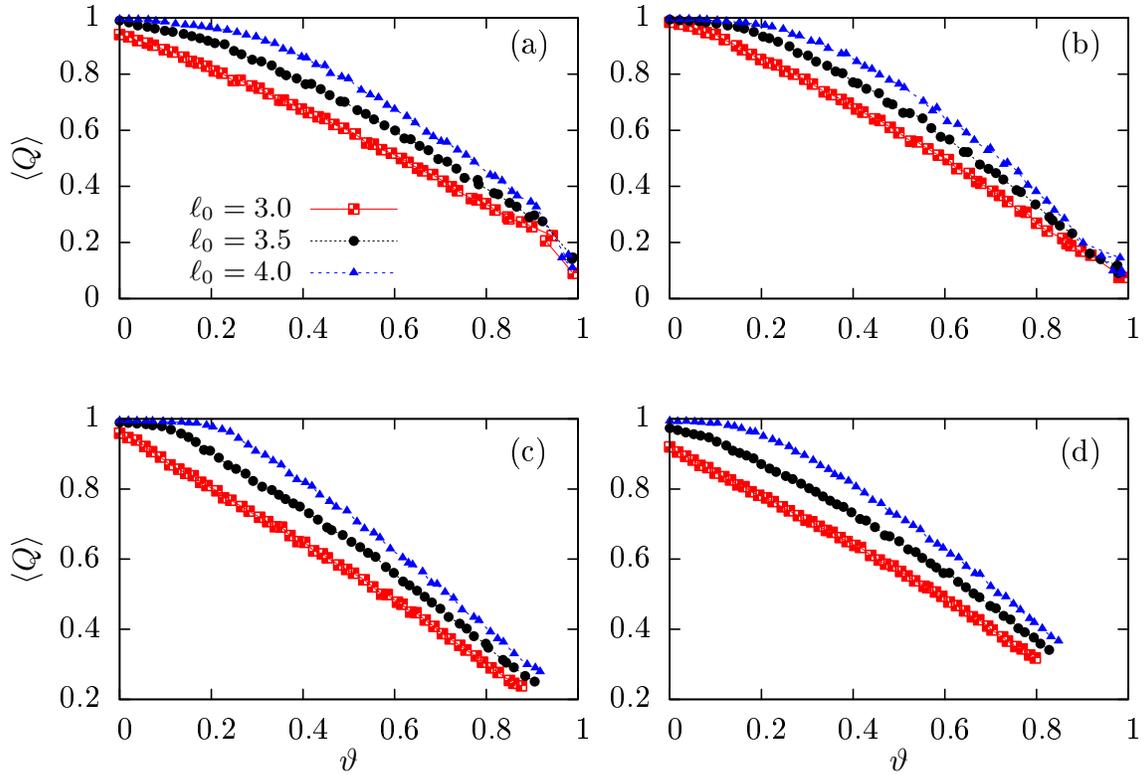


Figura 6.3: Gráfica del parámetro de orden global  $\langle Q \rangle$  como función de la razón de individuos enfermos  $\vartheta$  dentro del canal. Los resultados fueron obtenidos para colonias con dimensiones (a)  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , (b)  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , (c)  $L_x = L_z = 40$  y (d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$  y células con longitudes promedio  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ . Los sistemas con células más cortas pierden más rápidamente el orden nemático (línea roja con  $\square$ ), mientras que las colonias con células más largas son más robustas a la perturbación para  $\vartheta < 0.2$  (línea azul con  $\blacktriangle$ ). Es decir, las colonias compuestas con células largas además de generar un orden nemático más alto, son muy robustas a las perturbaciones.

### 6.1.2. Influencia en la presión

La presión transversal  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  muestra un comportamiento interesante al variar  $\vartheta$ , el cual depende fuertemente de las dimensiones del canal y del tamaño de las células. En la figura 6.4 se muestran los resultados para (a)  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , (b)  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , (c)  $L_x = L_z = 40$  y (d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$  con tamaños de células  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ . En la figura 6.4(a) se observa que cuando las perturbaciones son nulas y las células largas el sistema es más compacto a lo largo del eje  $x$ . Al aumentar  $\vartheta$  la presión transversal  $|\langle \sigma_{xx} \rangle|$  decae rápidamente, disminuyendo su valor inicial en cuatro veces cuando hay 20% de células enfermas ( $\vartheta = 0.2$ ) en el canal. Posteriormente, para  $\vartheta > 0.2$  el relajamiento es más lento hasta alcanzar  $\langle \sigma_{xx} \rangle = 0$ , cuando ninguna célula activa queda en el canal. El caso en la figura 6.4(b) muestra resultados similares al anterior, aunque inicialmente tenemos un sistema menos comprimido cuando  $\vartheta = 0$ , esto debido a la geometría del canal ya que es un canal más corto a lo largo de  $L_z$ . En la figura 6.5 mostramos el comportamiento del tensor de esfuerzos transversal  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  en función del parámetro de orden  $\langle Q \rangle$ , donde cada punto representa un valor de  $\vartheta$  y están pintados de acuerdo a la caja mostrado en la extrema derecha. Se observa en las figuras 6.5(a-b) que  $|\langle \sigma_{xx} \rangle|$  disminuye mucho mientras  $\langle Q \rangle \sim 1$  sigue constante cuando  $\vartheta$  es pequeño. Esto quiere decir que pocas células enfermas “de-estresan” el sistema considerablemente sin afectar el orden nemático.

El sistema con dimensiones  $L_x = L_z = 40$ , más ancho y más largo que los dos anteriores, respectivamente, se visualiza en la figura 6.4(c). Este sistema muestra un comportamiento diferente a los anteriores. Para colonias con células de longitudes  $\ell_0 = 3.5$  y  $4$  y  $0 \leq \vartheta \leq 0.25$ , el sistema se estresa cuando las perturbaciones son pocas (los esfuerzos aumentan). Para  $\ell_0 = 4$ , el esfuerzos transversal cambia de un valor  $\langle \sigma_{xx} \rangle = -80$  a otro más negativo y monótono de  $\langle \sigma_{xx} \rangle = -120$ , esto quiere decir que las células que no crecen influyen en el sistema de tal forma que generan una presión más grande a lo largo de esa dirección. En la figura 6.5(c) se refleja este comportamiento en la extrema derecha, se observa un aumento rápido en  $|\langle \sigma_{xx} \rangle|$  mientras  $\langle Q \rangle \sim 1$  se mantiene constante. Es decir, las perturbaciones introducidas por las células enfermas no desordenan el sistema, pero si producen presiones más fuertes.

Finalmente, el canal más grande, mostrado en la figura 6.4(d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$  muestra algo similar a lo observado para  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , el sistema se va relajando a aumentar  $\vartheta$ , aunque los resultados mostrados en la figura 6.5(d) indican que el sistema tiene una relajación más lenta.

Concluimos que una pequeña cantidad de células enfermas pueden estresar o “de-estresar” las colonias y cuando esto último sucede el de-estresamiento es más abrupto y apenas afecta el orden nemático. Podemos resumir que la forma del canal (longitud/ancho) también afecta fuertemente el efecto que pocas células enfermas van a tener sobre el sistema. En un sistema con paredes más cortas la presión transversal decae más rápidamente que los sistemas con paredes más largas. Sin embargo, en los otros casos presentados este comportamiento es no monótono ya que el sistema alcanza presiones máximas a un valor  $\vartheta \neq 0$ .

Biológicamente una presión transversal grande  $|\langle \sigma_{xx} \rangle|$  es mala para el crecimiento de colonias. Por lo tanto, puede haber una ventaja evolutiva en tener células largas  $\ell_0 = 4$  con cierta cantidad de células disfuncionales en dominios estrechos.

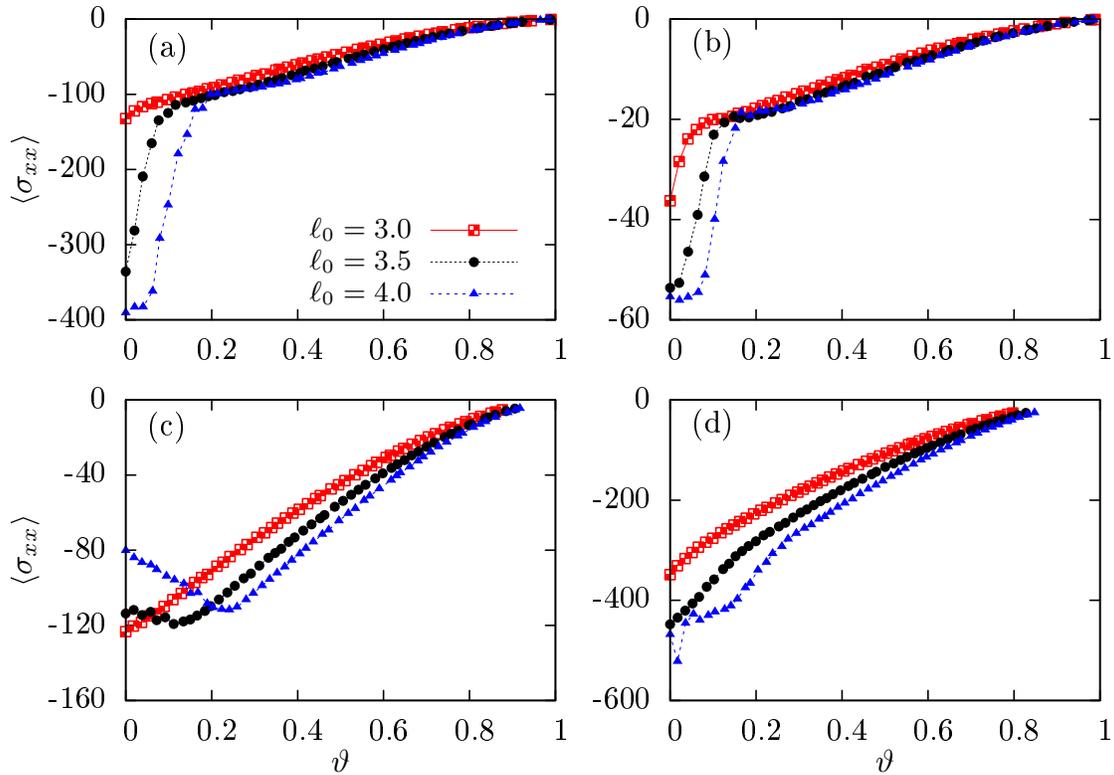


Figura 6.4: Gráfica de la componente transversal  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  del tensor de esfuerzos en función de  $\vartheta$ . Los resultados corresponden a canales con tamaños (a)  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , (b)  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , (c)  $L_x = L_z = 40$  y (d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$  con células con longitudes promedio  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ . Inicialmente la presión transversal tiene valores muy negativos (sistema más compacto) cuando  $\vartheta$  es pequeño. Posteriormente cuando  $\vartheta$  aumenta,  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  se relaja. Es importante notar en la figura (c), para  $\ell_0 = 3$  y  $4$  que inicialmente el sistema se estresa más al introducir algunas células enfermas y alcanza un valor más negativo en  $\vartheta = 0.25$ .

Por completez, en la figura 6.6 se muestran los resultados de la componente longitudinal del tensor de esfuerzos  $\langle \sigma_{zz} \rangle$ . Los resultados para todas las simulaciones realizadas son muy parecidos entre sí. El sistema se descomprime en la dirección paralela a las paredes del canal al incrementar  $\vartheta$ . Las variaciones de la presión son menos abruptas que las mostradas por  $\langle \sigma_{xx} \rangle$ . Esto implica también que el flujo de células saliendo de canal se vuelve más débil cada vez que aumentamos las “perturbaciones”, como lo veremos en detalle más adelante.

Hasta ahora sólo tenemos resultados cuantitativos sobre el comportamiento promedio de variables como el parámetro de orden  $\langle Q \rangle$ , las componentes del tensor de esfuerzos  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  y  $\langle \sigma_{zz} \rangle$ . Sin embargo ninguna de estas cantidades captura la dinámica individual de las células y como células enfermas quedan atrapadas en algunas regiones del canal, rodeadas por las células sanas. Debido a esto en la siguiente sección concentraremos nuestra atención en la velocidad angular de las células individuales e intentaremos relacionarla con las componentes del campo de velocidad en el cual está inmersa. Propondremos una teoría de campo medio y contrastaremos los resultados obtenidos con

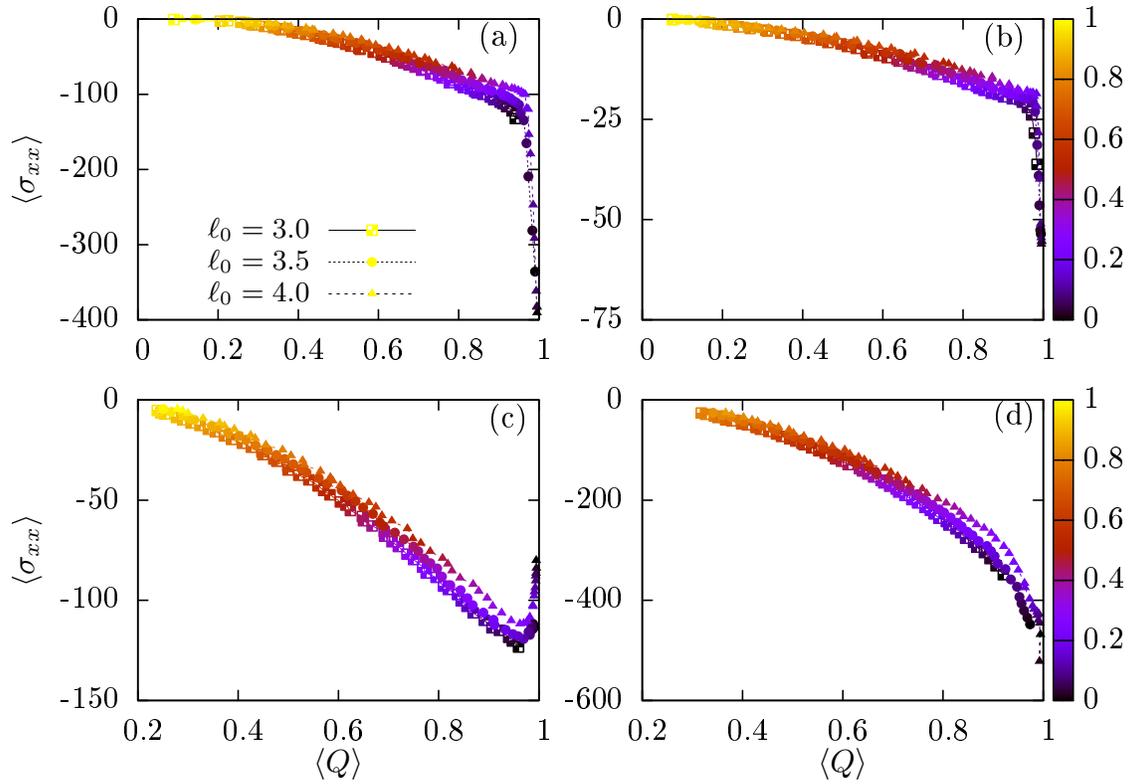


Figura 6.5: Gráfica paramétrica de la componente transversal de la presión  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  en función del parámetro de orden  $\langle Q \rangle$ . Se muestran los resultados para (a)  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , (b)  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , (c)  $L_x = L_z = 40$  y (d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$  y células con longitudes promedio  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ . El valor numérico del  $\vartheta$  asociado está pintado de acuerdo a la cinta mostrada en el lado derecho.

los resultados de la velocidad angular medida en las simulaciones.

## 6.2. Teoría de campo medio para la velocidad angular de una célula

Una manera de representar la biopelícula densa de *E. coli* es sustituir el conjunto de células interactuando en el interior del canal por un fluido celular [7], en donde se describe el movimiento a través de campos continuos. Una vez hecha esta aproximación, la manera más típica de describir el movimiento del fluido es en términos de su campo de velocidades  $v(\mathbf{r}, t)$ , es decir, a través de un campo vectorial que da en cada punto del espacio y tiempo la velocidad del fluido en dicho punto. Inmerso en este flujo dado podemos considerar un bastón en alguna posición  $\mathbf{r}$ . La interacción entre el flujo y el bastón genera una rotación en el bastón caracterizada por una velocidad angular  $\omega(\mathbf{r}, t)$ .

Nuestro objetivo es escribir una ecuación diferencial ordinaria para  $\omega(t)$ . Para esto eliminamos la dependencia en  $\mathbf{r}$  haciendo promedios espaciales (campo medio).

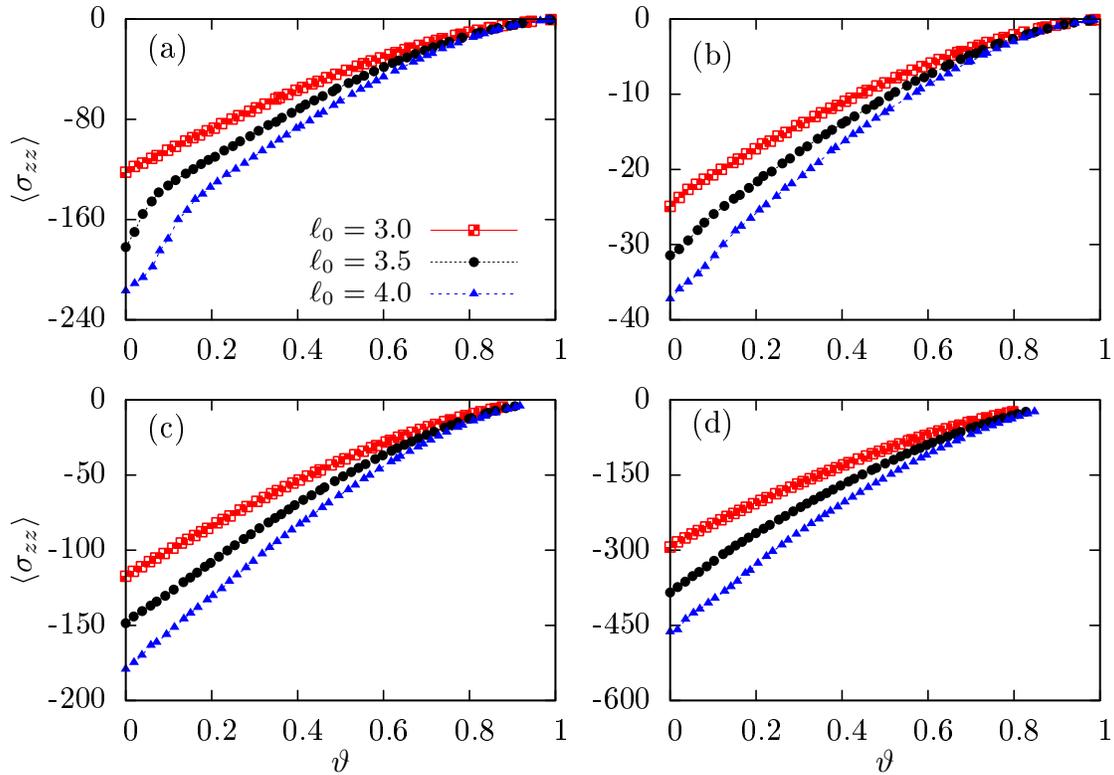


Figura 6.6: Gráfica de la componente longitudinal  $\langle \sigma_{zz} \rangle$  del tensor de esfuerzos medida como función de la fracción de células enfermas  $\vartheta$  dentro del canal. Se muestran resultados para células con longitudes promedio  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ , así como diferentes dimensiones del canal: (a)  $L_x = 20$  y  $L_z = 40$ , (b)  $L_x = 40$  y  $L_z = 20$ , (c)  $L_x = L_z = 40$  y (d)  $L_x = 40$  y  $L_z = 60$ . El flujo de células saliendo por las aberturas del canal disminuye al incrementar la fracción de células enfermas dentro del mismo.

### 6.2.1. Dinámica de un bastón en el fluido celular

Consideremos la siguiente aproximación para el conjunto de células dentro del canal bidimensional: Nos enfocamos en una partícula elongada e indeformable y estudiamos las fuerzas que experimenta, sustituyendo el conjunto de células que la rodean como un fluido celular que se mueve con cierto gradiente de velocidad  $\boldsymbol{\kappa}$ , que a su vez ocasiona que la célula experimente una velocidad angular  $\boldsymbol{\omega}$ . Un ejemplo muy sencillo se muestra en la figura 6.7, en donde se muestra un bastón inmerso en un flujo de corte a lo largo de  $z$  que ocasiona que cambie su ángulo  $\phi$ , en términos del cual obtendremos la velocidad angular. Seguimos la derivación presentada en [50] para bastones rígidos, donde se resuelve el caso en el límite de partículas muy delgadas. A continuación definimos  $\boldsymbol{\kappa}$ .

El gradiente de la velocidad del fluido es un tensor de segundo orden, compuesto de nueve elementos en tres dimensiones (las combinaciones espaciales de las tres componentes del gradiente de velocidad y las tres componentes de la velocidad del fluido). Este se define de acuerdo a la expresión,

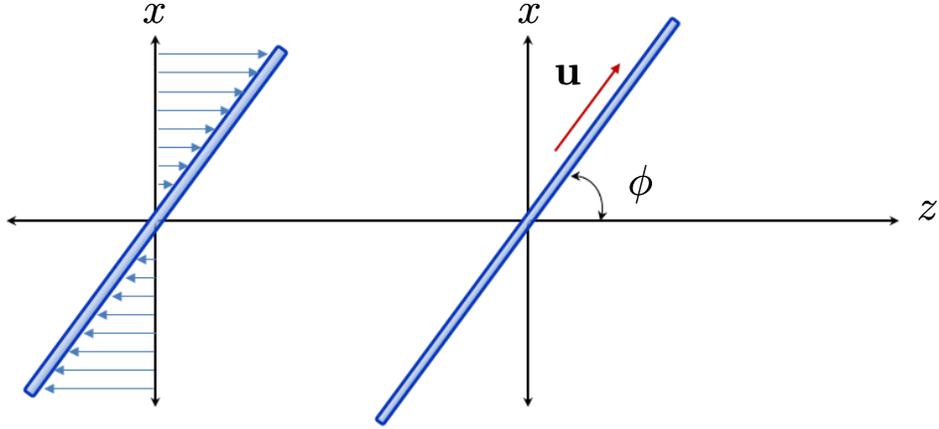


Figura 6.7: Orientación de una célula delgada determinada por el ángulo  $\phi$  entre su eje y las paredes del canal. Se muestra un flujo de corte a lo largo de  $z$  que interactúa con ella y hace que rote. Mediremos la velocidad angular en términos de este ángulo  $\phi$ .

$$\kappa_{ij} = \frac{\partial v_i(\mathbf{r}, t)}{\partial x_j}. \quad (6.1)$$

El tensor gradiente de velocidad está compuesto generalmente de dos contribuciones, una deformación y una rotación dados en términos de la parte simétrica y antisimétrica de la siguiente manera,

$$\boldsymbol{\kappa} = \boldsymbol{\kappa}^s + \boldsymbol{\kappa}^a \quad (6.2)$$

donde  $\boldsymbol{\kappa}^s$  y  $\boldsymbol{\kappa}^a$  están definidas de acuerdo a,

$$\boldsymbol{\kappa}^s = \frac{1}{2}(\boldsymbol{\kappa} + \boldsymbol{\kappa}^T) \quad \text{y} \quad \boldsymbol{\kappa}^a = \frac{1}{2}(\boldsymbol{\kappa} - \boldsymbol{\kappa}^T) \quad (6.3)$$

donde el superíndice T denota la traspuesta de la matriz. En notación tensorial, las ecuaciones (6.3) son,

$$\kappa_{ij}^s = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial v_i(\mathbf{r}, t)}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j(\mathbf{r}, t)}{\partial x_i} \right) \quad \text{y} \quad \kappa_{ij}^a = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial v_i(\mathbf{r}, t)}{\partial x_j} - \frac{\partial v_j(\mathbf{r}, t)}{\partial x_i} \right), \quad (6.4)$$

donde se cumple  $\kappa_{ij}^s = \kappa_{ji}^s$  y  $\kappa_{ij}^a = -\kappa_{ji}^a$ . Físicamente se interpreta a la parte simétrica como el tensor razón de deformación (*rate-of-strain tensor*) y a la parte antisimétrica  $\boldsymbol{\kappa}^a \equiv \boldsymbol{\Omega}$  como el tensor de vorticidad [81, 82].

Cuando un bastón rígido delgado se encuentra inmerso en un medio que fluye con un gradiente de velocidad  $\boldsymbol{\kappa}$  que vamos a considerar estacionario [ $\boldsymbol{\kappa} = \boldsymbol{\kappa}(\mathbf{r})$ ], sus extremidades, que siguen el campo de velocidad (con la restricción de que el bastón no se puede deformar) se van a desplazar con velocidades diferentes lo cual implica un cambio en la velocidad angular  $\omega$ . El vector de orientación  $\mathbf{u}(t)$ , localizado a lo largo del eje

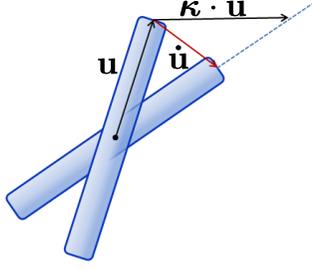


Figura 6.8: Significado geométrico de la ecuación (6.11). La velocidad angular es  $\boldsymbol{\omega} = \mathbf{u} \times \dot{\mathbf{u}} = \mathbf{u} \times (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u})$ .

principal del bastón, cambiará su dirección después de un pequeño intervalo de tiempo  $\Delta t$  según la expresión,

$$\mathbf{u}(t + \Delta t) \equiv \mathbf{u}(t) + \boldsymbol{\kappa} \Delta t \cdot \mathbf{u}(t), \quad (6.5)$$

donde hemos omitido la dependencia de  $\boldsymbol{\kappa}$  en  $\mathbf{r}$  para simplificar la notación. Como  $\mathbf{u}(t)$  es un vector unitario para todos los tiempos, al tiempo  $t + \Delta t$  está dado por,

$$\mathbf{u}(t + \Delta t) = \frac{(\mathbb{I} + \boldsymbol{\kappa} \Delta t) \cdot \mathbf{u}(t)}{|(\mathbb{I} + \boldsymbol{\kappa} \Delta t) \cdot \mathbf{u}(t)|} \quad (6.6)$$

con  $\mathbb{I}$  el tensor identidad. Usando la notación tensorial, el denominador se puede reescribir de la siguiente manera,

$$\begin{aligned} |(\mathbb{I} + \boldsymbol{\kappa} \Delta t) \cdot \mathbf{u}(t)| &= [(u_i + \kappa_{ij} u_j \Delta t)^2]^{1/2} \\ &= [(u_i u_j + 2u_i \kappa_{ij} u_j \Delta t) + (\kappa_{ij} u_j \Delta t)^2]^{1/2} \\ &= [1 + 2\mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \Delta t + (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u})^2 (\Delta t)^2]^{1/2} \\ &\approx [1 + 2\mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \Delta t]^{1/2}. \end{aligned} \quad (6.7)$$

Sustituyendo la ecuación (6.7) en la ecuación (6.6) obtenemos

$$\begin{aligned} \mathbf{u}(t + \Delta t) &= \frac{[(\mathbb{I} + \boldsymbol{\kappa} \Delta t) \cdot \mathbf{u}]}{[1 + 2\mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \Delta t]^{1/2}} \\ &\approx [(\mathbb{I} + \boldsymbol{\kappa} \Delta t) \cdot \mathbf{u}] [1 - \mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \Delta t] \\ &\approx \mathbf{u} + (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \Delta t - [\mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u})] \mathbf{u} \Delta t, \end{aligned} \quad (6.8)$$

que resulta en la siguiente expresión,

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\mathbf{u}(t + \Delta t) - \mathbf{u}(t)}{\Delta t} = \dot{\mathbf{u}} = \boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u} - \mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \mathbf{u}, \quad (6.9)$$

al considerar el límite de un intervalo de tiempo  $\Delta t$  pequeño. Es decir:

$$\dot{\mathbf{u}} = \boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u} - \mathbf{u} \cdot (\boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}) \mathbf{u}. \quad (6.10)$$

Esta ecuación nos dice que, en la referencia del centro de masa, las extremidades de la célula están siguiendo la componente de la velocidad  $\mathbf{v}$  perpendicular a su eje. Este proceso se muestra esquemáticamente en la figura 6.8.

El vector de velocidad angular  $\omega$  de la célula se obtiene si sustituimos la ecuación (6.10) en la relación general  $\omega = \mathbf{u} \times \dot{\mathbf{u}}$ , y está dada por la expresión,

$$\omega = \mathbf{u} \times \boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u}. \quad (6.11)$$

### 6.2.2. Evolución de la velocidad angular en un fluido bidimensional

En la ecuación 6.11, utilizamos el ángulo de orientación de las células  $\phi$  subtendido por  $\mathbf{u}$  y la dirección de los ejes del canal, como se muestra esquemáticamente en la figura (6.7). Sustituyendo las expresiones para  $\mathbf{u}$  y  $\boldsymbol{\kappa}$  para una célula inmersa en un fluido que suponemos estacionario, por el momento, contenido dentro de un canal bidimensional,

$$\mathbf{u} = (u_x, u_z) = (\text{sen } \phi, \text{cos } \phi)$$

y

$$\boldsymbol{\kappa} = \begin{pmatrix} \kappa_{xx} & \kappa_{xz} \\ \kappa_{zx} & \kappa_{zz} \end{pmatrix}, \quad (6.12)$$

obtenemos la siguiente expresión para la velocidad angular,

$$\omega \equiv \dot{\phi} = \frac{1}{2} (\kappa_{xz} - \kappa_{zx}) \cos 2\phi + \frac{1}{2} (\kappa_{xx} - \kappa_{zz}) \text{sen } 2\phi + \frac{1}{2} (\kappa_{xz} + \kappa_{zx}). \quad (6.13)$$

Podemos reescribir la ecuación (6.13) de la siguiente manera,

$$\dot{\phi} = s \cos 2\phi + d \text{sen } 2\phi + r \quad (6.14)$$

la cual describe el ordenamiento de células no interactuantes en términos del flujo que las rodea. Hemos renombrado los términos que involucran a las componentes del gradiente de velocidad de acuerdo a las nuevas variables,

$$r \equiv \frac{\kappa_{zx} - \kappa_{xz}}{2} \quad (6.15a)$$

$$s \equiv \frac{\kappa_{xz} + \kappa_{zx}}{2} \quad (6.15b)$$

$$d \equiv \frac{\kappa_{zz} - \kappa_{xx}}{2} \quad (6.15c)$$

El término  $r$  representa la vorticidad del campo de velocidad bidimensional ( $\nabla \times \mathbf{v}$ ),  $d$  el término expansivo, el cual es una cantidad negativa para un fluido en expansión y por lo tanto estabilizante, es decir, contribuye a alinear ( $\phi \rightarrow 0$ ) y  $s$  un término desestabilizante. Si  $s = d = 0$ , la célula está girando a una velocidad angular constante  $\omega$  (flujo vortical puro).

El caso estacionario con vorticidad nula ( $r = 0$ ), involucra dos soluciones, una estable y otra inestable que satisfacen  $\tan 2\phi_0 = -\frac{s}{d}$ , más generalmente. Si  $s = r = 0$  y además  $d < 0$  tenemos  $\phi_0 = 0$ , la cual es una solución estable en donde el sistema tiene un orden perfecto  $Q = 1$ . La ecuación (6.14) no puede resolverse analíticamente, en general, sin embargo, es relativamente sencillo calcular numéricamente sus puntos fijos si  $s$ ,  $d$  y  $r$  son constantes conocidas.

### 6.2.3. Fluctuaciones del ángulo promedio de las células

El fluido celular real es no estacionario y no homogéneo, es decir, es muy diferente al descrito por la ecuación (6.14). Sin embargo, podemos considerar de manera aproximada que localmente la célula adopta el ángulo de equilibrio estable dado por la ecuación (6.14),  $\dot{\phi} = 0$  (para alguna  $\phi_0$ ).

En las simulaciones almacenamos el valor absoluto del ángulo de cada bastón  $|\phi|$  a cada paso de tiempo, con lo cual nos es posible extraer una imagen del comportamiento promedio en el espacio y el tiempo de esta variable. Estudiando un sistema con dimensiones  $L_x = L_z = 40$  y células con razones de aspecto  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ , calculamos el promedio y la desviación estándar de  $|\phi|$  en toda la simulación. Interpretamos estas cantidades,  $\langle |\phi| \rangle$  ó  $\sqrt{\langle \phi^2 \rangle}$  como el ángulo típico  $|\phi_0|$ , solución de la ecuación (6.14). Es obvio que la cantidad  $\langle \phi \rangle$  es nula.

En la figura 6.9(a-b) mostramos el comportamiento de las variables  $\langle |\phi| \rangle$  y  $\sqrt{\langle \phi^2 \rangle}$  en función de  $\vartheta$ , respectivamente. La primera,  $\langle |\phi| \rangle$  representa las fluctuaciones del ángulo, mientras que la segunda,  $\sqrt{\langle \phi^2 \rangle}$  la desviación estándar. Resulta evidente que cuando las células son cortas el sistema se desordena más rápidamente al aumentar  $\vartheta$ , lo cual concuerda con los resultados obtenidos para el parámetro de orden mostrados en la figura 6.3(c) (línea roja con  $\square$ ). Para las células con tamaño intermedio y más largas (línea negra con  $\bullet$ ), el sistema es inicialmente más robusto a las perturbaciones introducidas. Particularmente para  $\ell_0 = 4$ ,  $\langle |\phi| \rangle$  y  $\sqrt{\langle \phi^2 \rangle}$  toman valores cercanos a cero en el rango  $0 \leq \vartheta \leq 0.2$ , (línea azul con  $\blacktriangle$ ) posteriormente su valor aumenta y tiene un comportamiento similar que la curva de  $\ell_0 = 3$ .

Para efectuar este cálculo utilizamos la velocidad del centro de masas de las células y reconstruimos el gradiente de velocidades  $\kappa$  de las simulaciones. El siguiente paso es calcular numericamente (a partir de las simulaciones) los  $r$ ,  $s$  y  $d$  típicos del flujo de bacterias.

### 6.2.4. Cálculo numérico de $r$ , $s$ y $d$

Para estimar los valores numéricos de la cantidades mostradas en la ecuación (6.15) calculamos en las simulaciones el gradiente de velocidad  $\kappa$  a partir de la velocidad del centro de masas de las células. Debido a que el conjunto de datos esta distribuido irregularmente en el espacio, implementamos un código en Python<sup>TM</sup> con el cual efectuamos el cálculo siguiendo un procedimiento similar al efectuado en [83], en donde se subdivide el canal en celdas pequeñas cuyas áreas se traslapan un 75% con celdas vecinas. En cada celda se obtiene un promedio de la velocidad del centro de masas de las células contenidas en ella y una vez efectuado el cálculo sobre todas las celdas se obtiene el

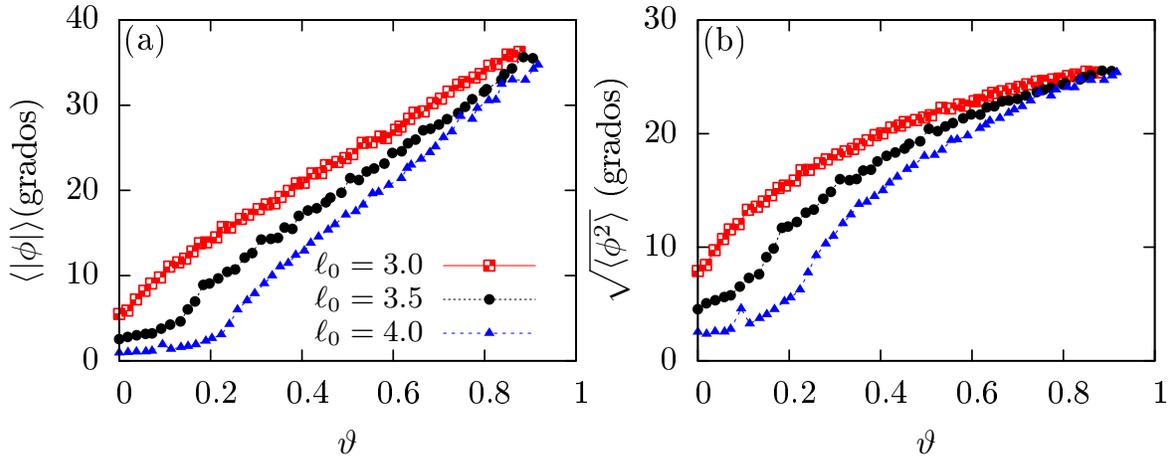


Figura 6.9: (a) Fluctuaciones  $\langle |\phi| \rangle$  y (b) desviación estándar  $\sqrt{\langle \phi^2 \rangle}$  del ángulo promedio de las células como función de  $\vartheta$ . Se muestran los resultados para  $L_x = L_z = 40$  y células con longitudes promedio  $\ell_0 = 3, 3.5$  y  $4$ .

gradiente de velocidades.

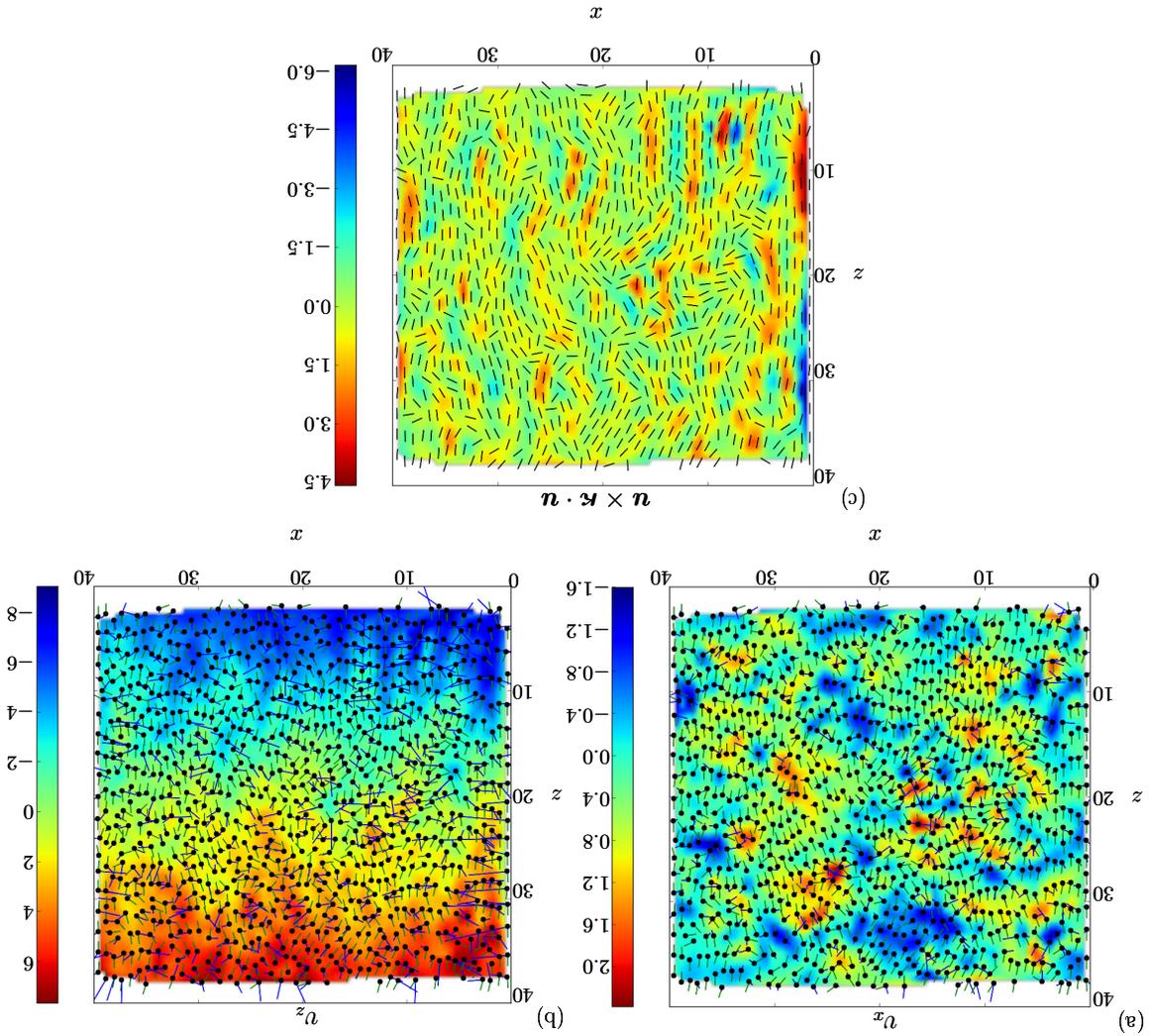
Las componentes de la velocidad del centro de masas, arrojados por las simulaciones para cada célula en un canal con dimensiones  $L_x = 40$  y  $L_z = 40$  ( $\vartheta = 0.36$ ), se muestran en la figura 6.10. La figura 6.10(a) corresponde a  $v_x$  y los colores azul y rojo representan partes del fluido celular moviéndose en direcciones opuestas (izquierda y derecha). Se observa que hay grupos de células (denotadas con un  $\bullet$ ), distribuidas en dominios espaciales, que se mueven siguiendo una misma dirección. La figura 6.10(b) es el resultado para  $v_z$  y como era de esperarse, muestra que las células están abandonando el canal en los extremos abiertos (colores rojo y azul en la parte inferior y superior de la figura). La velocidad angular de cada célula, medida en las simulaciones se muestra en la figura 6.10(c), donde se ha dibujado una línea negra sobre los ejes principales de los bastones para mayor claridad. En este caso los colores azul y rojo representan puntos del fluido rotando en direcciones opuestas. Se puede apreciar que algunas regiones en la colonia cerca de la pared izquierda que muestra dos remolinos girando en direcciones opuestas, pero en general la velocidad angular  $\omega$  vale cero en gran parte del canal, tal como suponemos para resolver la ecuación (6.14).

Una vez calculadas las componentes de  $\kappa$  a partir de los datos de las simulaciones, obtenemos las cantidades mostradas en la ecuación (6.15) y los promediamos. Los resultados se muestran en la figura 6.11. El término asociado al flujo vortical  $\langle |r| \rangle$  aumenta al incrementar  $\vartheta$  y alcanza un valor máximo cuando dentro del canal hay más o menos el mismo número de células sanas y enfermas ( $\vartheta \approx 0.5$ ). El término  $\langle |s| \rangle$  tiene un comportamiento similar a la vorticidad  $\langle |r| \rangle$ . Finalmente el parámetro expansivo  $\langle d \rangle$  es siempre negativo y se hace más pequeño al aumentar  $\vartheta$ , lo que implica que los términos desestabilizantes  $\langle |s| \rangle$  y  $\langle |r| \rangle$  son mayores y contribuyen más en la ecuación (6.14) aumentando el ángulo  $\phi_0$ .

Usando los valores numéricos para  $\langle |r| \rangle$ ,  $\langle |s| \rangle$  y  $\langle d \rangle$  mostrados en la figura 6.11 y sustituyéndolos en la ecuación (6.14) obtenemos una aproximación semi-empírica para el valor de la velocidad angular en el interior del canal al variar  $\vartheta$ . Para cada terna

( $r, s, d$ ), asociada a un valor del  $\vartheta$ , obtenemos  $\phi_0$  de la ecuación  $\phi = 0$  [ecuación (6.14)]. Graficamos en la figura 6.12(a)  $\phi$  como función de  $\phi$  con el ángulo en el rango  $[0, \pi]$ . Se muestran únicamente cuatro curvas, que corresponden a  $\vartheta = 0, 0.15, 0.33$  y  $0.5$ , coloreadas desde el azul al verde. Usando una subrutina implementada en Python<sup>TM</sup>, que utiliza el método de Newton, calculamos para cada curva el valor de equilibrio  $\phi_0$

Figura 6.10: Simulación numérica que muestra el campo de velocidades escalar del centro de masas de las células ( $\bullet$ ), mostrado en términos de sus componentes (a):  $v_x$  y (b):  $v_z$ . Los datos corresponden a una colonia con dimensiones  $L_x = 40$  y  $L_z = 40$  con un  $\vartheta = 0.36$ , véase la visualización correspondiente en la figura 6.2(b). Los colores azul y rojo representan el movimiento de las células en direcciones opuestas. En ambas figuras se han dibujado líneas verdes para representar a cada célula y líneas azules para indicar la componente correspondiente de  $\mathbf{n}$ . En la figura (c) se grafica el resultado de las velocidades angulares usando las componentes del vector gradiente de velocidad medidas a partir de  $v_x$  y  $v_z$ , siguiendo la ecuación (6.11). El color azul y rojo representan al fluido celular girando en direcciones opuestas y se ha dibujado una línea negra sobre los ejes principales de las células.



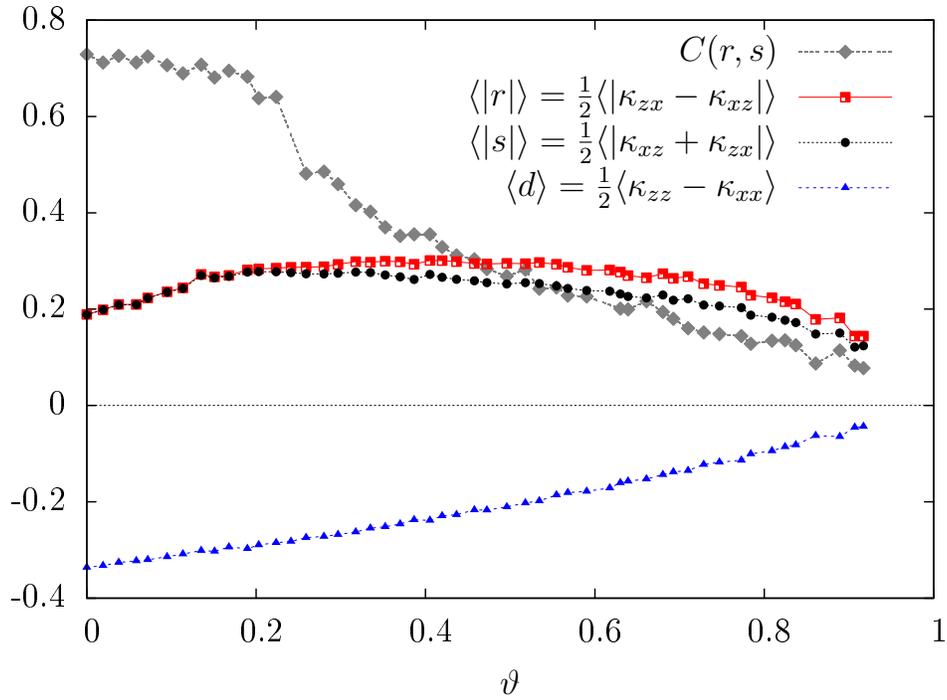


Figura 6.11: Resultados numéricos obtenidos para  $r$ ,  $s$  y  $d$  en función de  $\vartheta$ , para un canal con  $L_x = 40$  y  $L_z = 40$  con células de longitud  $\ell_0 = 4$ . Tanto  $r$  y  $s$  aumentan con  $\vartheta$  y tienen un máximo cuando el número de células enfermas y sanas dentro del canal es aproximadamente el mismo ( $\vartheta = 0.5$ ). Por otro lado, el parámetro expansivo  $d$  es siempre negativo y tiendo a cero cuando se incrementan las perturbaciones. También se muestran las correlaciones  $C(r, s)$  entre el término vortical  $r$  y  $s$ , la cual indica que ambas variables están muy correlacionadas para  $\vartheta < 0.2$ .

en el que cruza el eje  $y = 0$ , mostrados con  $\bullet$ .

Posteriormente, hemos sustituido  $r$  por  $\langle |r| \rangle$  y  $s$  por  $\langle |s| \rangle$  en la ecuación (6.14). Lo cual es bastante razonable ya que, en general,  $r$  y  $s$  no son del mismo signo, la correlación  $C(r, s) = \langle \text{sign}(r) \cdot \text{sign}(s) \rangle$  se muestra en la figura 6.11 y nos indica una cantidad positiva en general. Entonces, como  $r$  y  $s$  pueden ser de signo opuesto, recalculamos  $\phi_0$  sustituyendo  $s$  por  $-\langle |s| \rangle$  en la ecuación (6.14), de tal manera que obtenemos la cota inferior para  $\phi_0$  (o sus fluctuaciones). Los resultados se muestran en la figura 6.12(b) y de igual manera se han dibujado con un  $\bullet$  los valores  $\phi_0$  que generan la cota inferior.

Usando los valores críticos  $\phi_0$  obtenidos de este cálculo semi-empírico calculamos la cota superior e inferior. Los resultados se muestran en la figura 6.13, donde se ha graficado también  $\langle \phi \rangle = 0$  en función de  $\vartheta$  para un canal con dimensiones  $L_x = L_z = 40$ , con células de longitud  $\ell_0 = 4$ . La región coloreada en gris claro corresponde a la zona en la que las soluciones para la ecuación (6.14) pertenecen al plano complejo.

Los resultados obtenidos en este capítulo indican que la introducción en el sistema de una pequeña cantidad de células enfermas puede contribuir al de-estresamiento del sistema sin afectar el orden nemático. Biológicamente no es conveniente tener esfuerzos altos en el interior de la colonia debido a que las células dejan de crecer y reproducirse y estos resultados indican una posible ventaja en introducir en los sistemas biológicos

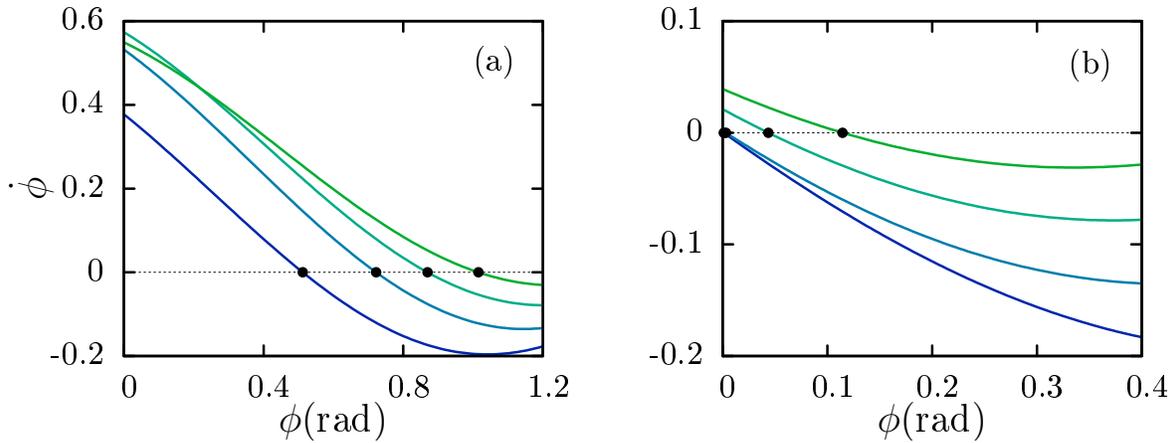


Figura 6.12: Gráficas de la ecuación (6.14) utilizando los resultados numéricos obtenidos en la simulación para (a):  $\langle |r| \rangle$ ,  $\langle |s| \rangle$  y  $\langle d \rangle$  y (b):  $\langle |r| \rangle$ ,  $-\langle |s| \rangle$  y  $\langle d \rangle$ . Se considera un sistema con dimensiones  $L_x = L_z = 40$  y  $\ell_0 = 4$ . Véase también la figura 6.11. Se muestran las curvas para  $\vartheta = 0, 0.15, 0.33$  y  $0.5$ , coloreadas desde el azul al verde. El punto en que cada curva cruza el eje  $\phi = 0$  se ha denotado con  $\bullet$ , dando la solución  $\phi_0$ .

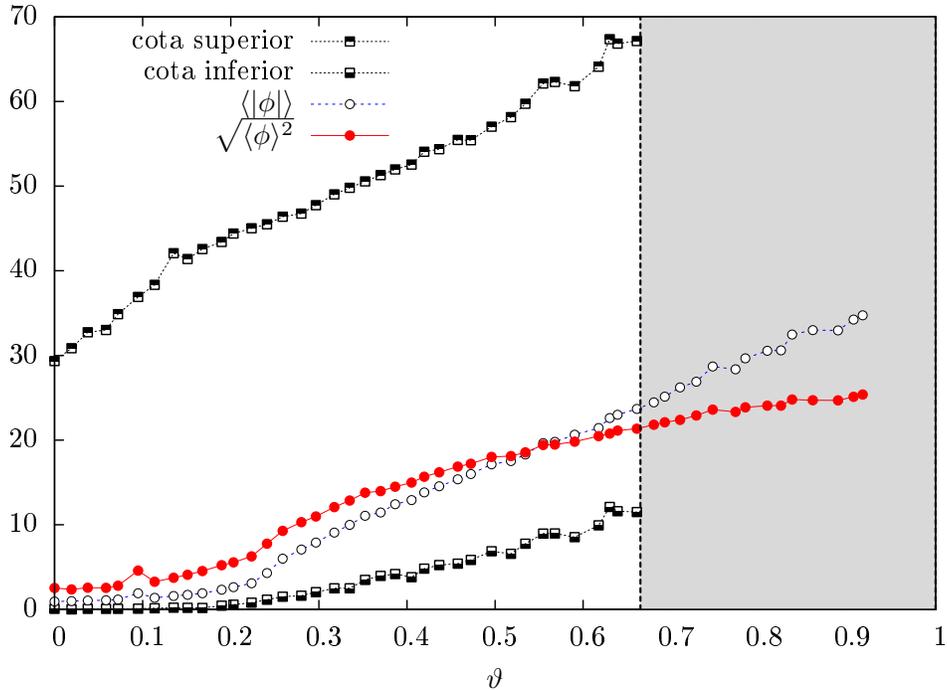


Figura 6.13: Soluciones a la ecuación (6.14) obtenidas numéricamente siguiendo el procedimiento ejemplificado en la figura 6.12. La curva azul con  $\blacktriangle$  corresponde a los valores promedios del ángulo de las células  $\langle |\phi| \rangle$  medidos en la simulación. Se observa que estos resultados yacen entre las curvas denotadas con cota superior e inferior. La región coloreada en gris es la zona con ausencia de solución  $\phi = \phi_0$ .

compuestos de células largas cierta proporción (pequeña) de células disfuncionales en

canales estrechos.

La teoría semi-empírica describe aproximadamente el comportamiento de un bastón moviéndose en un fluido cuyas componentes del gradiente de velocidad son medidos de las simulaciones. En la figura 6.13, las tres curvas localizadas en la parte inferior indican que cuando aumentamos  $\vartheta$ , el ángulo aumenta. Esto quiere decir que un modelo sencillo, dado por la ecuación (6.14) está caracterizando, a grandes rasgos, el comportamiento de un sistema más complejo. Los resultados de este modelo serán de utilidad en futuros trabajos, en relación a posibles modificaciones a la ecuación (6.14) para obtener una expresión teórica más certera.



# Conclusiones

El estudio de sistemas de partículas elongadas activas es relevante para entender la formación de tejidos y biopelículas ordenadas, ya que se pueden auto-organizar en patrones fuera de equilibrio. En este trabajo hemos estudiado con simulaciones de dinámica molecular el ordenamiento de sistemas de partículas elongadas activas confinadas en el interior de un canal. En la literatura el problema que involucra a partículas móviles ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo, los sistemas que se componen de partículas no móviles y activas ha recibido poca atención, a pesar de ser igualmente relevantes que los anteriores para el crecimiento de poblaciones de bacterias, tejidos biológicos o tumores.

Encontramos que el parámetro de orden nemático depende fuertemente de la razón de aspecto  $\ell_0$  de la célula, un parámetro que resulta complicado introducir en modelos continuos. Los resultados presentados en el capítulo 4 para un sistema de células proliferando en un canal bidimensional, indican que razones de aspecto cortas  $\ell_0 < 3$  resultan en una colonia que no se ordena paralelamente a las paredes del canal, aún cuando la fricción de arrastre es casi nula. Cabe mencionar que estudios en sistemas de esferas duras que crecen con cierta razón de crecimiento han identificado que el ordenamiento del sistema depende de esta razón de crecimiento en tres dimensiones, mientras que esto no ocurre cuando el sistema se compone de discos duros (caso bidimensional) [84, 85]. Es posible que el ordenamiento en colonias tridimensionales dependa fuertemente de la razón a la que las células crecen, sin embargo, debido a que este sistema tendrá una dinámica más compleja existirán además otros factores que podrían afectar este ordenamiento.

Con valores más grandes de la razón de aspecto  $\ell_0 > 3$  y con una fricción de arrastre finita, encontramos que surgen ráfagas de desorden intermitentes que duran intervalos de tiempo que siguen una distribución tipo ley de potencias inversa. Estos fenómenos intermitentes han sido observados previamente, para el parámetro de orden global, en sistemas activos de partículas auto-propulsadas moviéndose siguiendo las reglas del modelo de Vicsek [69].

Obtuvimos que el tensor de esfuerzos es muy anisotrópico dentro de las colonias y que el campo de presiones tiene propiedades muy diferentes en la dirección transversal  $\hat{x}$  y longitudinal  $\hat{z}$  al eje del canal.  $P_x$  está distribuido bastante homogéneamente en el espacio, pero su promedio espacial puede variar muy rápidamente en el tiempo, debido a variaciones abruptas en la densidad a lo largo de la dirección lateral. Esta densidad puede permanecer constante durante largos períodos de tiempo cuando la fricción es baja, lo cual resulta en efectos de histéresis [73]. Las variaciones rápidas del promedio espacial  $\langle P_x \rangle(t)$  a fricciones intermedias no parecen estar correlacionadas a la dinámica

intermitente del parámetro de orden nemático. Por otro lado, el promedio espacial  $\langle P_z \rangle(t)$  tiene un comportamiento más suave en el tiempo y no muestra histéresis, pero está correlacionado con el parámetro de orden nemático global. Esto se puede inferir a partir de argumentos teóricos que predicen que los esfuerzos longitudinales deben liberarse en sistemas de bastones no alineados [9, 10]. A diferencia de  $P_x$ , la presión longitudinal  $P_z$  está distribuida muy heterogéneamente en el espacio, de tal manera que la mayoría de las células están sujetas a esfuerzos pequeños mientras que los esfuerzos más grandes están apoyados sobre unas cuantas células. Esta tendencia es opuesta a las predicciones de una teoría continua simple, que ignora la granularidad, que resulta en que las células no tan estresadas deben ser pocas comparadas con el número de células que están más estresadas. La distribución de  $P_z$  se ajusta a una distribución tipo ley de potencias truncada, a fricciones bajas, y por dos distribuciones tipo ley de potencias a fricciones más grandes. Por comparación, la función distribución de probabilidad de las fuerzas de contacto en empaquetamientos atascados de granos no activos es exponencial, *i.e.* comparativamente mucho más homogéneo [74]. Las fuerzas de contacto también permanecen exponencialmente distribuidas en sistemas de partículas elongadas no activas sujetas a flujos cortantes [75].

Estudios previos han mostrados que colonias densas de bacterias creciendo son capaces de auto-organizarse y formar multitudes que escapan eficientemente de dominios confinados [48]. Los resultados obtenidos en el capítulo 4 sugieren además que los sistemas activos sujetos a perturbaciones externas (tales como un incremento en la presión promedio) pueden tener la habilidad de auto-organizarse de tal manera que sólo unas pocas partículas pueden verse afectadas por la perturbación. Estos resultados pueden tener implicaciones para entender el crecimiento de tejidos reales y biopelículas donde se sabe que las células individuales sujetas a esfuerzos grandes crecen a una razón reducida o dejan de crecer completamente [7, 86]. Las colonias de bacterias u otro tipo de células pueden ser capaces de seguir creciendo en condiciones adversas y el estudio de tal robustez debe motivar futuros estudios. Una aproximación más realista del modelo es incorporar una tasa de crecimiento celular que decrece con el esfuerzo aplicado sobre la célula.

El modelo teórico continuo presentado en el capítulo 5 describe la inestabilidad de doblamiento observada en los experimentos con *E. coli*, el cual causa la pérdida momentánea del orden orientacional en colonias suficientemente grandes de células proliferando. El modelo predice que el mecanismo de la inestabilidad está relacionado con la anisotropía del tensor de esfuerzos, el cual se acumula dentro de una colonia ordenada. Cuando la anisotropía es lo suficientemente grande, las variaciones del parámetro de orden orientacional (o del ángulo de orientación) comienzan a crecer. Cuando la constante de elasticidad de doblamiento de las columnas de bastones es muy pequeña, la razón de crecimiento de la inestabilidad aumenta con el número de onda, lo cual produce el doblamiento en la escala de longitud más pequeña considerada en el problema, que corresponde al tamaño de las células. Esta inestabilidad de doblamiento es un análogo bidimensional de la inestabilidad clásica de Euler de un bastón flexible unidimensional bajo una compresión [56].

Ya que la inestabilidad de doblamiento afecta fuertemente a las poblaciones de bacterias, estos resultados pueden tener aplicaciones en los sistemas biológicos que involucren células en medios confinados donde pueden surgir esfuerzos internos significativos debi-

do a la proliferación de las mismas. Este fenómeno también puede afectar el crecimiento de los tejidos y ciertas estructuras en organismos multicelulares [87, 88]. Después de la ocurrencia de la inestabilidad de doblamiento se establece un orden esméctico en la colonia, fenómeno que merece un estudio más detallado.

Conviene también caracterizar las correlaciones espaciales del parámetro de orden nemático. Estas correlaciones juegan un papel primordial en la teoría de las transiciones de fase y de los fenómenos críticos de equilibrio, y en la actualidad no están entendidas completamente para el caso de sistemas de partículas activas.

La introducción de células enfermas en las simulaciones resultan en un comportamiento no monótono y no homogéneo de la componente transversal del tensor de esfuerzos. Nuestros resultados sugieren que la presencia de las células enfermas podría ser benéfica para la colonia, porque contribuyen al de-estresamiento del sistema manteniendo un orden nemático alto, es decir,  $Q = 1$ . Esto sugiere que puede resultar más ventajoso, desde un punto de vista mecánico, introducir células disfuncionales en canales más estrechos.

Durante el estudio del ordenamiento nemático de las colonias simuladas, hemos identificado además un arreglo esméctico de los bastones en el interior del canal. No hemos dedicado mucha atención a esta propiedad debido principalmente a que en las colonias reales de *E. coli* no se observa un fenómeno similar, como puede observarse claramente en las figuras 1.12 y 2.1(a). Sin embargo, caracterizar las simulaciones en términos de un parámetro de orden esméctico puede ser útil, tanto en el contexto del estudio del fenómeno de intermitencia presentado en el capítulo 4, así como cuando introducimos células disfuncionales en el sistema, capítulo 6. Por otro lado, calcular la distribución de los esfuerzos en el interior de la colonia, en términos de diagramas de cadenas de fuerzas (*force chain scheme*), ampliamente utilizado en materia granular, podría ser útil para identificar las partículas de la colonia que sufren más carga y la dirección de las mismas. Estos métodos han sido muy útiles en materia granular, en particular en sistemas compuestos de medios granulares bi-dispersos, ya que han mostrado que existe un decaimiento exponencial en la distribución de las magnitudes de las fuerzas cuando se agregan partículas pequeñas [89].

Finalmente, un tema que ha adquirido auge en los últimos años es la separación de fase en sistemas compuestos en materia granular y en sistemas de partículas activas [90, 91]. Hemos observado en las simulaciones presentadas en el capítulo 6 un fenómeno muy parecido cuando las células enfermas tienen una razón de aspecto muy cercana a la unidad y su fracción  $\vartheta$  en el interior del canal es muy alta. Éstas últimas son segregadas de las células sanas y tienden a acumularse en regiones cercanas a las paredes. Estos resultados preliminares nos indican otra línea de investigación futura.



# Apéndice A

## El tensor de deformación

Un cuerpo sólido sufre una deformación bajo la acción de fuerzas aplicadas externas, que pueden cambiar su forma y volumen. Sea  $\mathbf{r} = (x, y)$  la posición de cualquier punto dentro del sólido antes de la deformación y  $\mathbf{r}' = (x', y')$  la nueva posición después de la aplicación de las fuerzas externas, se define el vector de desplazamientos  $\mathbf{u}$  de acuerdo a la siguiente ecuación,

$$u_i = x'_i - x_i. \quad (\text{A.1})$$

Considerando dos puntos localizados en el sólido,

$$dl'^2 = (dx_i'^2 + du_i'^2)^2 \quad (\text{A.2})$$

sustituyendo,  $du_i = \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k}\right) dx_k$ , en la expresión para el elemento de longitud, obtenemos,

$$dl'^2 = \left[ dx_i + \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k}\right) dx_k \right]^2 = dx_i^2 + 2 \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k}\right) dx_i dx_k + \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k}\right) \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_l}\right) dx_k dx_l. \quad (\text{A.3})$$

El segundo término en el lado derecho involucra una suma sobre ambos índices  $i$  y  $k$ , es decir, son índices libres y se pueden intercambiar. De manera similar, en el tercer término podemos intercambiar índices  $i \rightarrow l$ , para obtener la expresión,

$$dl'^2 = dl^2 + \left(\frac{\partial u_k}{\partial x_i} + \frac{\partial u_i}{\partial x_k}\right) dx_i dx_k + \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \frac{\partial u_l}{\partial x_k} dx_i dx_k \quad (\text{A.4})$$

o bien,

$$dl'^2 = dl^2 + 2u_{ik} dx_i dx_k \quad (\text{A.5})$$

donde se define el tensor de deformación Euleriano en términos de las dos últimas cantidades de lado derecho,

$$u_{ik} = \frac{1}{2} \left[ \frac{\partial u_k}{\partial x_i} + \frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_l}{\partial x_i} \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \right]. \quad (\text{A.6})$$

En algunos casos las magnitudes de  $u_i$  y sus derivadas son pequeñas para deformaciones pequeñas y se puede despreciar el último término en la ecuación (A.6), sin embargo, para el problema de las columnas de células estudiado en el capítulo 5 este término debe mantenerse ya que se están considerando desplazamientos grandes comparados con el diámetro de las células.

# Apéndice B

## Ecuaciones de Euler-Lagrange

Este apéndice contiene la derivación detallada de la ecuación (5.15) del capítulo 5, utilizando dos métodos, el primero involucra el cálculo de la derivada funcional del lagrangiano en las ecuaciones de Euler-Lagrange para llegar a las ecuaciones de movimiento. Y el segundo la obtención de dichas ecuaciones de movimiento considerando que el lagrangiano es una función de derivadas de orden superior en  $w$  y, usando el principio variacional, llegar a las mismas ecuaciones de movimiento.

### Derivada funcional

En esta sección evaluamos detalladamente la derivada funcional de los términos que involucran a  $w$  en la ecuación (5.11), los cuales son a)  $[w'(z, t)]^2$ , b)  $[w''(z, t)]^2$  y c)  $[\dot{w}(z, t)]^2$ . Partiendo de la definición de derivada funcional, dada por la expresión,

$$\delta G[w][h] = \frac{d}{d\epsilon} G[w + \epsilon h]|_{\epsilon=0} = \frac{d}{d\epsilon} \int_{-\infty}^{\infty} dz [w'(z) + \epsilon h'(z)]^2|_{\epsilon=0}, \quad (\text{B.1})$$

o bien, usando la notación más compacta,

$$\frac{\delta G[f]}{\delta f(z')} = \delta G[f][\delta(z - z')], \quad (\text{B.2})$$

donde se ha sustituido a la función  $h(z) = \delta(z - z')$  [92], podemos resolver para cada uno de los términos que aparecen en el lagrangiano dado por la ecuación (5.11).

(a) Aplicando la definición anterior a la expresión  $w'(z)^2$  tenemos,

$$\begin{aligned} \delta[w'(z)]^2 &= \frac{d}{d\epsilon} \int_{-\infty}^{\infty} dz [w'(z) + \epsilon h'(z)]^2|_{\epsilon=0} = \int_{-\infty}^{\infty} dz 2[w'(z) + \epsilon h'(z)]h'(z)|_{\epsilon=0} \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} dz 2w'(z)h'(z) + \int_{-\infty}^{\infty} dz \epsilon[h'(z)]^2|_{\epsilon=0} = 2 \int_{-\infty}^{\infty} dz w'(z)h'(z) \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

Evalúando esta última integral por partes, obtenemos,

$$\int_{-\infty}^{\infty} dz w'(z)h'(z) = w'(z)h(z)|_{-\infty}^{\infty} - \int_{-\infty}^{\infty} dz w''(z)h(z) \quad (\text{B.4})$$

donde el primer término del lado derecho se anula por los límites de integración. Sustituyendo en la expresión (B.3) llegamos a,

$$\delta[w'(z)]^2 = -2 \int_{-\infty}^{\infty} dz w''(z)h(z) = -2 \int_{-\infty}^{\infty} dz \delta(z - z')w''(z) = -2w''(z'). \quad (\text{B.5})$$

(b) De la misma forma efectuamos el cálculo para la expresión  $w''(z)^2$ ,

$$\begin{aligned} \delta[w''(z)]^2 &= \frac{d}{d\epsilon} \int_{-\infty}^{\infty} dz [w''(z) + \epsilon h''(z)]^2|_{\epsilon=0} = \int_{-\infty}^{\infty} dz 2[w''(z) + \epsilon h''(z)]h''(z)|_{\epsilon=0} \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} dz 2w''(z)h''(z) + \int_{-\infty}^{\infty} dz 2\epsilon[h''(z)]^2|_{\epsilon=0} \\ &= 2 \int_{-\infty}^{\infty} dz w''(z)h''(z). \end{aligned} \quad (\text{B.6})$$

Nuevamente integrado por partes esta última expresión obtenemos,

$$\begin{aligned} \int_{-\infty}^{\infty} dz w''(z)h''(z) &= w''(z)h'(z)|_{-\infty}^{\infty} - \int_{-\infty}^{\infty} dz w'''(z)h'(z) \\ &= - \left[ w'''(z)h(z)|_{\epsilon=0} - \int_{-\infty}^{\infty} dz w^{IV}(z)h(z) \right] \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} dz w^{IV}(z)h(z). \end{aligned} \quad (\text{B.7})$$

Sustituyendo este último resultado en la expresión (B.6) obtenemos,

$$\delta[w''(z)]^2 = 2 \int_{-\infty}^{\infty} dz w^{IV}(z)h(z) = 2 \int_{-\infty}^{\infty} dz w^{IV}(z)\delta(z - z') = 2w^{IV}(z'). \quad (\text{B.8})$$

(c) El cálculo de la derivada funcional para  $[\dot{w}(z, t)]^2$  es más sencillo,

$$\frac{\delta[\dot{w}(t)]^2}{\delta\dot{w}} = 2\dot{w}\delta(t - t') = 2\dot{w}(t'). \quad (\text{B.9})$$

Escribiendo nuevamente las ecuaciones de Euler-Lagrange,

$$\frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\delta L}{\delta \dot{w}} \right) - \frac{\delta L}{\delta w} = -\frac{\delta F_d}{\delta \dot{w}} \quad (\text{B.10})$$

y sustituyendo las expresiones calculadas anteriormente,

$$\frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\partial w}{\partial t} \right) + p_z \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \frac{\lambda_{xz}}{4} \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} + \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} = -\mu \frac{\partial w}{\partial t}. \quad (\text{B.11})$$

Reorganizando términos llegamos y considerando únicamente la contribución inercial, llegamos a,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} = \left( \frac{\lambda_{xz}}{4} - p_z \right) \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \xi \frac{\partial^4 w}{\partial z^4}, \quad (\text{B.12})$$

que es la ecuación (5.15).

Para obtener la ecuación de movimiento, evaluamos, cada término en función de la densidad lagrangiana dada,

$$\mathcal{L} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial w}{\partial t} \right)^2 - \frac{1}{2} \frac{p_z^2}{\lambda_{xz}} + \frac{1}{2} \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 - \frac{1}{8} \lambda_{xz} \left( \frac{\partial w}{\partial z} \right)^2 - \frac{1}{2} \xi \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right)^2 \quad (\text{B.13})$$

llegamos a la siguiente expresión,

$$-\frac{\partial^2 w}{\partial t^2} - p_z \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right) + \frac{1}{4} \lambda_{xz} \left( \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right) - \xi \left( \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} \right) = \mu \frac{\partial w}{\partial t}, \quad (\text{B.14})$$

donde se ha considerado el término correspondiente a la función de disipación en el lado derecho,  $F_d = \frac{\mu}{2} (\partial_t w)^2$ . Considerando el límite sobre amortiguado y despreciando el término cinético, obtenemos la expresión (5.15) del capítulo 5,

$$\mu \frac{\partial w}{\partial t} = \left( \frac{\lambda_{xz}}{4} - p_z \right) \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} - \xi \left( \frac{\partial^4 w}{\partial z^4} \right). \quad (\text{B.15})$$



# Apéndice C

## Ecuación para el parámetro de orden

En este apéndice describiremos cómo se obtienen las ecuaciones para el parámetro de orden al considerar el movimiento de sistema de células elongadas en suspensión dentro de un fluido. La descripción que presentamos en este apéndice es una simplificación de los resultados obtenidos en la referencia [50], en donde, se describe el problema en el contexto de soluciones diluidas de polímeros con forma de bastón.

### C.1. Soluciones diluidas de células elongadas

Consideremos el caso de una suspensión ideal, que consiste de un número grande de células elongadas que son idénticas en tamaño y forma y además distribuidas homogéneamente. Para describir el movimiento de este sistema de partículas conviene utilizar una función de distribución  $\psi(\mathbf{u}, t)$ , escrita en términos del vector unitario  $\mathbf{u}$  que denota la dirección a lo largo del eje principal. Esta función de distribución esta normalizada de tal forma que,

$$\int \psi(\mathbf{u}, t) d\mathbf{u} = 1$$

donde  $\psi(\mathbf{u}, t)$  es una función simétrica, i.e.,  $\psi(\mathbf{u}) = \psi(-\mathbf{u})$ , ya que debido a la simetría de las células, una cuya orientación sea  $\mathbf{u}$  es indistinguible de otra cuya orientación sea  $-\mathbf{u}$ .

El estudio de la fase nemática de una solución de células rígidas en dos dimensiones, se efectúa en términos de la orientación de cada de ellas, dada por el ángulo  $\phi$  entre su eje principal y la dirección  $z$ . La función de distribución  $\psi(\mathbf{u}, t)$  debe describir la evolución de la orientación de las células bajo condiciones dinámicas, es decir, en términos de la ecuación de continuidad.

## C.2. Ecuación de Smoluchowski

La función densidad de probabilidad  $\Psi(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)$  de que una célula localizada en  $\mathbf{r}$  tenga una orientación  $\mathbf{u}$  en el tiempo  $t$  satisface, como ya habíamos dicho, la ecuación de continuidad. Para una suspensión de células no interactuantes sujetas a un campo de flujo externo (despreciando el movimiento Browniano) esta dada por la expresión,

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial \mathbf{u}} \cdot (\dot{\mathbf{u}}\Psi) \quad (\text{C.1})$$

la cual es válida para cualquier  $\mathbf{u}$ . Para una velocidad angular  $\boldsymbol{\omega}$  dada, el vector unitario  $\mathbf{u}$  mostrado en la figura 6.8 cambia de acuerdo a la expresión  $\dot{\mathbf{u}} = \boldsymbol{\omega} \times \mathbf{u}$ , sustituyendo en la ecuación C.1 obtenemos,

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial \mathbf{u}} \cdot (\boldsymbol{\omega} \times \mathbf{u}\Psi). \quad (\text{C.2})$$

Las ecuaciones C.1 y C.2 describen la relajación orientacional del sistema cuando existe una fuerza externa, debida al movimiento del fluido, aplicada a una célula. Usando las identidades vectorial, podemos reescribir la ecuación anterior como,

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = -\left(\mathbf{u} \times \frac{\partial}{\partial \mathbf{u}}\right) \cdot \boldsymbol{\omega}\Psi \quad (\text{C.3})$$

con  $\boldsymbol{\omega}$  dada por la ecuación 6.11. Identificando a  $\mathbf{R} = \mathbf{u} \times \frac{\partial}{\partial \mathbf{u}}$  con el operador rotacional [equivalente al operador gradiente  $\frac{\partial}{\partial \mathbf{R}}$  en el caso traslacional], obtenemos finalmente la ecuación de Smoluchowski<sup>1</sup> [50],

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = -\mathbf{R} \cdot (\boldsymbol{\omega}\Psi). \quad (\text{C.4})$$

El tensor de estrés en la aproximación de un gradiente de velocidad débil se obtiene a partir de la ecuación C.3 al multiplicar por  $u_\alpha u_\beta - \frac{\delta_{\alpha\beta}}{2}$  y posteriormente integrando sobre  $\mathbf{u}$ . Integrando por partes,

$$\frac{\partial Q_{\alpha\beta}}{\partial t} = \int d\mathbf{u} \Psi[\mathbf{R}(u_\alpha u_\beta - \frac{1}{2}\delta_{\alpha\beta}) \cdot (\mathbf{u} \times \boldsymbol{\kappa} \cdot \mathbf{u})] \quad (\text{C.5})$$

donde al desarrollar tensorialmente y simplificar, los términos en los paréntesis cuadrados, la expresión C.5 resulta en,

$$\frac{\partial Q_{\alpha\beta}}{\partial t} = \frac{1}{2}(\kappa_{\alpha\beta} + \kappa_{\beta\alpha}) + \kappa_{\alpha\mu} Q_{\beta\mu} + \kappa_{\beta\mu} Q_{\alpha\mu} - 2\kappa_{\mu\nu} \langle u_\alpha u_\beta u_\mu u_\nu \rangle. \quad (\text{C.6})$$

De acuerdo a la referencia [50], cuando la perturbación debido al campo externo sea muy pequeña, se puede reemplazar  $\langle u_\alpha u_\beta u_\mu u_\nu \rangle$  por su valor de equilibrio,

$$\langle u_\alpha u_\beta u_\mu u_\nu \rangle \kappa_{\mu\nu} = \langle u_\alpha u_\beta \rangle \langle u_\mu u_\nu \rangle \kappa_{\mu\nu},$$

---

<sup>1</sup>En [50] usan una ecuación de Fokker-Planck modificada y en la literatura usualmente se refieren a ella como ecuación de Smoluchowski.

y finalmente, la ecuación (C.6) queda como,

$$\frac{\partial Q_{\alpha\beta}}{\partial t} = \frac{1}{2}(\kappa_{\alpha\beta} + \kappa_{\beta\alpha}) + \kappa_{\alpha\mu}Q_{\beta\mu} + \kappa_{\beta\mu}Q_{\alpha\mu} - 2\kappa_{\mu\nu}\langle u_\alpha u_\beta \rangle \langle u_\mu u_\nu \rangle, \quad (\text{C.7})$$

la cual es una ecuación general para el parámetro de orden. Para esta aproximación la ecuación (C.7) puede se reescrita como,

$$\frac{\partial Q_{\alpha\beta}}{\partial t} = \frac{1}{2}(\kappa_{\alpha\beta} + \kappa_{\beta\alpha}) + \kappa_{\alpha\mu}Q_{\beta\mu} + \kappa_{\beta\mu}Q_{\alpha\mu} - 2Q_{\mu\nu}\kappa_{\mu\nu} \left( Q_{\alpha\beta} + \frac{1}{2}\delta_{\alpha\beta} \right). \quad (\text{C.8})$$

Para un sistema bidimensional  $(x, z)$ , la expresión (C.7) queda de la siguiente manera,

$$\frac{\partial Q_{xx}}{\partial t} = \frac{1}{2}(\kappa_{xx} - \kappa_{zz}) + (\kappa_{xz} - \kappa_{zx})Q_{xz} - 2Q_{xx}Q_{xz}(\kappa_{xz} + \kappa_{zx}) - 2Q_{xx}^2(\kappa_{xx} - \kappa_{zz}), \quad (\text{C.9a})$$

$$\frac{\partial Q_{xz}}{\partial t} = \frac{1}{2}(\kappa_{xz} + \kappa_{zx}) + (\kappa_{zx} - \kappa_{xz})Q_{xx} - 2Q_{xz}^2(\kappa_{zx} + \kappa_{xz}) - 2Q_{xx}Q_{xz}(\kappa_{xx} - \kappa_{zz}). \quad (\text{C.9b})$$

Considerando el caso unidimensional, obtenemos de la ecuación (C.9a),

$$\frac{\partial Q_{xx}}{\partial t} = \frac{\partial v}{\partial x} \left( \frac{1}{2} - 2Q_{xx}^2 \right) \quad (\text{C.10})$$

y usando la ecuación (2.7) llegamos a,

$$\frac{\partial Q}{\partial t} + v \frac{\partial Q}{\partial x} = \frac{\partial v}{\partial x} (1 - Q^2), \quad (\text{C.11})$$

la cual es la ecuación (2.9c). Hemos agregado el término de advección en el lado izquierdo, el cual había sido omitido durante el cálculo.



# Apéndice D

## Traslape cuadrático medio

En este apéndice se obtiene la expresión para el traslape cuadrático medio, ecuación (5.43), presentada en el capítulo 5.

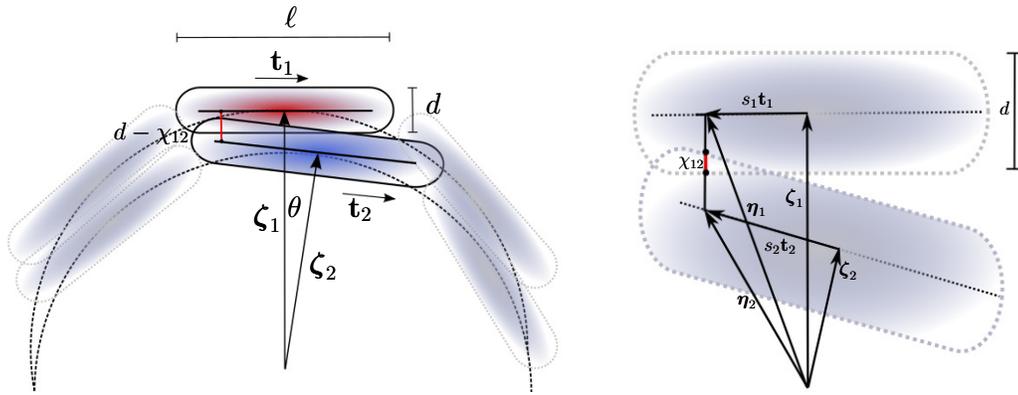


Figura D.1: Representación de dos columnas de células doblándose siguiendo la circunferencia de dos círculos (cuyo centros están desplazados  $\Delta z$  a lo largo del eje  $z$ ) de radio  $R$ , utilizadas para el cálculo de la constante de doblamiento  $\chi$  en términos de los parámetros de la simulación.

Considerando que las células pertenecen a dos círculos con centros desplazados una distancia de  $\Delta z$  a lo largo del eje  $z$ , obtenemos, con respecto al centro del círculo en la célula 2,

$$\zeta_1 = (0, R + \Delta z) \quad \text{y} \quad \zeta_2 = (R \sin \theta, R \cos \theta).$$

Donde los vectores unitarios valen,

$$\mathbf{t}_1 = (1, 0) \quad \text{y} \quad \mathbf{t}_2 = (\cos \theta, -\sin \theta).$$

Sustituyendo las expresiones anteriores en la ecuación (5.41),

$$\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2 = \zeta_1 - \zeta_2 + s_1 \mathbf{t}_1 - s_2 \mathbf{t}_2 \tag{D.1}$$

llegamos a,

$$\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2 = [s(1 - \cos \theta) - R \sin \theta] \hat{x} + [s \sin \theta + R(1 - \cos \theta) + d] \hat{z}. \quad (\text{D.2})$$

La norma elevada al cuadrado del vector anterior es,

$$|\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|^2 = 2(R^2 + s^2)(1 - \cos \theta) + 2d[R(1 - \cos \theta) + s \sin \theta] + d^2. \quad (\text{D.3})$$

Como  $\theta$  es un ángulo pequeño, podemos considerar la aproximación  $\sin \theta \approx \theta$  y  $\cos \theta \approx 1 - \frac{\theta^2}{2}$ , con lo que obtenemos,

$$|\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|^2 = (R^2 + s^2)\theta^2 + d(R\theta^2 + 2s\theta) + d^2, \quad (\text{D.4})$$

en donde por simplicidad podemos sustituir el valor máximo de  $s_1 = s_2 \equiv s = \frac{(\ell-d)}{2}$ ,

$$|\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|^2 = \left( R^2 + \frac{(\ell-d)^2}{4} + dR \right) \theta^2 + d(\ell-d)\theta + d^2. \quad (\text{D.5})$$

Factorizando  $R^2$ , llegamos a,

$$|\boldsymbol{\eta}_1 - \boldsymbol{\eta}_2|^2 = R^2 \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{\ell-d}{2R} \right)^2 + \frac{d}{R} \right] \theta^2 + \frac{d(\ell-d)}{R^2} \theta + \frac{d^2}{R^2} \right\}. \quad (\text{D.6})$$

Finalmente sustituyendo la ecuación (D.6) en la ecuación (5.43) llegamos a la expresión,

$$\chi_{12} = d - R \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{\ell-d}{2R} \right)^2 + \frac{d}{R} \right] \theta^2 + \frac{d(\ell-d)}{R^2} \theta + \frac{d^2}{R^2} \right\}^{1/2}. \quad (\text{D.7})$$

Conviene renombrar algunas de los términos de la ecuación (D.7) como sigue,

$$\alpha \equiv 1 + \left( \frac{\ell-d}{2R} \right)^2 + \frac{d}{R} \quad (\text{D.8a})$$

$$\beta \equiv \frac{d(\ell-d)}{R^2} \quad (\text{D.8b})$$

$$\gamma \equiv \frac{d^2}{R^2}. \quad (\text{D.8c})$$

Con esto obtenemos la expresión,

$$\chi_{12} = d - R [\alpha\theta^2 + \beta\theta + \gamma]^{1/2}, \quad (\text{D.9})$$

la cual elevada al cuadrado resulta en,

$$\chi_{12}^2 = d^2 - 2Rd [\alpha\theta^2 + \beta\theta + \gamma]^{1/2} + R^2 [\alpha\theta^2 + \beta\theta + \gamma]. \quad (\text{D.10})$$

Para obtener el traslape cuadrático medio, tenemos que integrar la ecuación (D.10) para todos los valores posibles del ángulo  $\theta$  considerando los límites de integración  $\pm \frac{(\ell-d)}{2R}$  con  $\ell/R$  pequeño,

$$\langle \chi_{12}^2 \rangle = \int_{-\frac{(\ell-d)}{2R}}^{\frac{(\ell-d)}{2R}} \chi_{12}^2 d\theta. \quad (\text{D.11})$$

Utilizando Mathematica Versión 9.0, obtenemos la expresión (5.44),

$$\langle \chi_{12}^2 \rangle_{\text{total}} \approx \frac{(\ell-d)^4}{R^2}. \quad (\text{D.12})$$

# Buckling instability in ordered bacterial colonies

Denis Boyer<sup>1,2,6</sup>, William Mather<sup>3,6</sup>, Octavio Mondragón-Palomino<sup>3</sup>,  
Sirio Orozco-Fuentes<sup>2</sup>, Tal Danino<sup>3</sup>, Jeff Hasty<sup>3,4,5</sup> and Lev S Tsimring<sup>5,7</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Physique Théorique, IRSAMC, CNRS UMR 5152, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse, France

<sup>2</sup> Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, DF 04510, Mexico

<sup>3</sup> Department of Bioengineering, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093-0412, USA

<sup>4</sup> Molecular Biology Section, Division of Biology, UCSD, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093-0368, USA

<sup>5</sup> Biocircuits Institute and San Diego Center for Systems Biology, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093-0328, USA

E-mail: [tsimring@ucsd.edu](mailto:tsimring@ucsd.edu)

Received 1 May 2010

Accepted for publication 26 January 2011

Published 1 March 2011

Online at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008)

## Abstract

Bacterial colonies often exhibit complex spatio-temporal organization. This collective behavior is affected by a multitude of factors ranging from the properties of individual cells (shape, motility, membrane structure) to chemotaxis and other means of cell–cell communication. One of the important but often overlooked mechanisms of spatio-temporal organization is direct mechanical contact among cells in dense colonies such as biofilms. While in natural habitats all these different mechanisms and factors act in concert, one can use laboratory cell cultures to study certain mechanisms in isolation. Recent work demonstrated that growth and ensuing expansion flow of rod-like bacteria *Escherichia coli* in confined environments leads to orientation of cells along the flow direction and thus to ordering of cells. However, the cell orientational ordering remained imperfect. In this paper we study one mechanism responsible for the persistence of disorder in growing cell populations. We demonstrate experimentally that a growing colony of nematically ordered cells is prone to the *buckling instability*. Our theoretical analysis and discrete-element simulations suggest that the nature of this instability is related to the anisotropy of the stress tensor in the ordered cell colony.

 Online supplementary data available from [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)

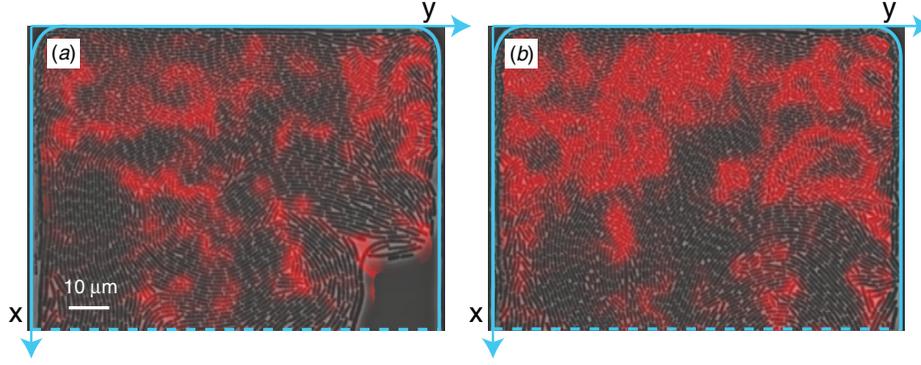
## 1. Introduction

Bacteria and other microorganisms often aggregate in dense communities, either on surfaces (biofilms), or in narrow cavities or crevices [1]. In these cases, long-range signaling may play a secondary role in controlling colony organization, whereas direct biomechanical interaction may become the dominant factor [2–4]. Moreover, the lack of free space impedes the flagellae-mediated motility of bacteria in dense

colonies such as biofilms, and as a result, the flagellum expression itself is dramatically downregulated [5]. In our recent work [6, 7] we explored the role of biomechanical cell–cell interaction in colony organization using a non-motile strain of bacteria *Escherichia coli* in an open microfluidic chamber (see also [8]). We showed that an expansion flow generated by the cell growth leads to ordering of cells in the direction of the flow. The mechanism of this alignment is different from the alignment of self-propelled particles studied in a number of recent publications (see, for example, [9, 10]) since bacteria were not self-propelled and could only move and change direction under direct mechanical contacts with the

<sup>6</sup> These authors contributed equally to this work.

<sup>7</sup> Author to whom any correspondence should be addressed.



**Figure 1.** Two snapshots with superimposed local order parameter from the experimental run in a  $100 \times 90 \mu\text{m}^2$  side trap in which buckling instability was observed: (a)  $t = 0$  min, (b)  $t = 25$  min. Solid blue lines show the solid walls of the trap and the dashed blue lines show the open side. Red indicates low values of the local order parameter.

neighboring cells. We found however that in large colonies the perfect nematic order is never reached; multiple domains with different orientations are constantly regenerated in the bulk of the colony. In this paper we focus on the physical mechanism that causes this persistent disorder. We demonstrate that destruction of perfect nematic order occurs due to the *buckling instability* of oriented rod-like cells that is triggered by the expansion flow which creates anisotropic stress tensor in the bulk of the cell colony. We begin with the experimental demonstration of the buckling instability in a quasi-two-dimensional microfluidic trap filled with rod-like *E. coli* cells. We show that the buckling instability occurs in the back of the trap where the density of cells and the pressure are greatest. Then we propose a continuum theoretical description of the buckling instability based on the equations of elasticity theory [11, 12] suitably modified to account for the cell growth. This theory yields buckling instability of a nematicly ordered ‘cell fluid’ at sufficiently high anisotropic pressure compressing the cells along their nematic axis. Because of the expanding flow of cells, the unstable eigenmodes are localized in the interior of the domain where the pressure is sufficiently large. Finally, we present the results of discrete-element simulations (DES) of growing and dividing granular rods which also demonstrate the buckling instability in two-dimensional cell colonies in agreement with the theory and experiments.

## 2. Experiment

We used a K-12 strain of non-motile bacteria *E. coli* that possess a rod-like structure with a diameter of approximately  $1 \mu\text{m}$  and a length that varies between 2 and  $5 \mu\text{m}$ . The experimental setup used in this work is similar to the one described in [7]. The cells were loaded into custom-designed microfluidic cavities containing shallow (height  $1 \mu\text{m}$ ) rectangular ‘traps’ with (one or more) open sides allowing cells to escape into a deep (height  $6 \mu\text{m}$ ) open channel once the trap is densely packed. The latter also served for the delivery of nutrients to cells and for removal of waste. The evolution of the bacterial colony was recorded using optical time-lapse microscopy with 1 min temporal resolution. Several representative movies illustrating colony development are

available online (see the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)).

We analyzed the bright-field data using the image analysis software ImageJ [13] and code written in MATLAB (MathWorks, Inc.). Cell identification was achieved by background-subtraction and subsequent thresholding of the phase contrast images, with connected regions in the binary mask identified as cell ‘particles’. From these regions, we produce a set of centroid positions  $\langle \vec{x} \rangle_k$  and angles  $\theta_k$  for each particle  $k$ .

We define the angle  $\theta$  of a cell particle as the angle of the two-dimensional orthogonal transformation  $O_{ij}(\theta)$  that diagonalizes the particle covariance matrix  $M_{ij} = \langle x_i x_j \rangle_k - \langle x_i \rangle_k \langle x_j \rangle_k$  (with averages over pixels which belong to the particle with index  $k$ ) to have the largest eigenvalue in the first component. That is,

$$O_{ij}(\theta) = \cos(\theta + (i - j)\pi/2) \quad (1)$$

such that

$$\sum_{m=1}^2 \sum_{n=1}^2 O_{im}^{-1} M_{mn} O_{nj} = \sigma_i^2 \delta_{ij} \quad (2)$$

with  $\delta_{ij}$  the Kronecker delta, and  $\sigma_1^2 \geq \sigma_2^2$ . Thus,  $\theta = 0$  for an ellipse with its major axis along the  $x_1$  direction.

The local scalar order parameter  $\eta$  at coordinate  $\vec{x}$  and time  $t$  was computed in the following manner. Each particle  $k$  was assigned an unnormalized Gaussian density

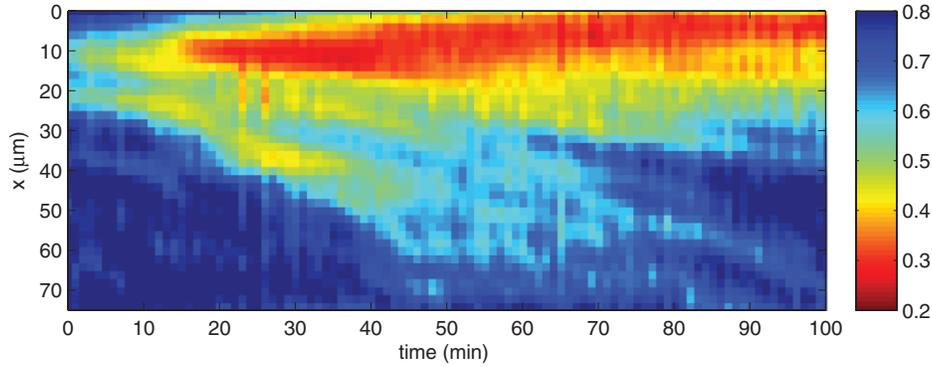
$$\rho_k(\vec{x}) = \exp\left(-\frac{(\vec{x} - \langle \vec{x} \rangle_k)^2}{2\zeta^2}\right) \quad (3)$$

with  $\zeta = 1.5 \mu\text{m}$ . Using this density, we define the local order parameter

$$\eta(\vec{x}) = \left(\frac{\sum_k \cos(2\theta_k) \rho_k(\vec{x})}{\sum_k \rho_k(\vec{x})}\right)^2 + \left(\frac{\sum_k \sin(2\theta_k) \rho_k(\vec{x})}{\sum_k \rho_k(\vec{x})}\right)^2. \quad (4)$$

Note that  $0 \leq \eta \leq 1$ , where  $\eta \approx 0$  in the disordered state (randomly oriented cells) and  $\eta \approx 1$  in the ordered state (perfectly aligned cells).

Figure 1 shows a series of snapshots of the cell colony inside a rectangular  $100 \times 90 \mu\text{m}^2$  trap with one (bottom) side



**Figure 2.** Spacetime diagram of the local order parameter  $\eta$  averaged over the width of the trap for the run illustrated by figure 1.

open. The images are superimposed with the grayscale (color online) distribution of the local orientational order parameter  $\eta(\vec{x})$ . As seen from this sequence, soon after the colony completely fills the trap, the local order parameter tends to be lower in the back of the trap. This is clearly confirmed by the spacetime plot in figure 2 in which the local order parameter has been averaged over the width of the trap. Interestingly, this plot shows convective propagation of the order parameter with the cell flow from the interior toward the open boundary. We performed a similar analysis for other runs in different trap geometries, and in all of them we observed the reduction of nematic order in the interior of the growing cell colony. Comparison of the bright-field images near the open trap boundary and the interior reveals a strikingly different structure of the colony: while near the open boundary the cells continue to be locally aligned, the nematic order is destroyed in the back of the trap. In the following sections we argue that this phenomenon may be interpreted as a result of the *buckling instability* of nematic population of cells under anisotropic loading which is generated by the cell growth.

### 3. Continuum modeling

#### 3.1. Preliminaries

In this section we neglect the granularity of the cell population and characterize the cell ‘fluid’ by the continuum field variables, density  $\rho(\mathbf{r}, t)$  and velocity  $\mathbf{v}(\mathbf{r}, t)$ . Here we consider a rectangular trap of length  $L_x$  and width  $L_y$ , with two open sides at  $x = \pm L_x/2$  and two lateral walls at  $y = \pm L_y/2$ . The boundary condition  $\sigma = 0$  is applied at the open trap sides ( $x = \pm L$ ), where  $\sigma$  is the stress tensor [11]. The particles experience a friction force,  $-\mu\mathbf{v}$ , where  $\mu$  is the friction coefficient due to bottom and top walls. For simplicity, we neglect friction with the side walls of the trap and intracellular friction.

We also assume that when cells are densely packed, the ‘cellular fluid’ is incompressible with unit areal density, so the continuity with the volumetric exponential growth at the rate  $a$  yields

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = a. \quad (5)$$

Since we are interested in the dynamics of initially highly ordered cell population, we regard the system as a packed assembly of elastic columns of rods initially oriented along the  $x$  coordinate. Local perturbations can be described by the displacement field  $\mathbf{u}$  whose components  $u_x, u_y$  are functions of  $x, y$  and time  $t$ .

#### 3.2. Non-growing compressed rods

Before proceeding to the analysis of the system of growing rods, let us first consider a simpler auxiliary problem of buckling of perfectly ordered *non-growing* rods ( $a = 0$ ) which are compressed along the  $x$  coordinate with constant compression  $p_x$ . A highly ordered static cell population can be considered a two-dimensional uniaxial solid which can bend in the  $y$  direction. The corresponding elastic free energy has the form

$$F_{\text{el}} = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} [\lambda_{xx} u_{xx}^2 + \lambda_{yy} u_{yy}^2 + \lambda_{xy} u_{xy}^2 + \lambda_1 u_{xx} u_{yy} + \xi (\partial_x^2 u_y)^2], \quad (6)$$

where

$$u_{ij} = \frac{1}{2} (\partial_j u_i + \partial_i u_j + \partial_i u_k \partial_j u_k) \quad (7)$$

is the Eulerian strain tensor (see [11, 12]) and the last term describes bending elasticity (with the bending constant  $\xi$ ) of the cell ‘columns’ (see the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia) for the calculation of  $\xi$  for spherocylindrical ‘cells’). The nonlinear term in equation (7) must be retained for large displacements compared to the rod diameter. The components of the stress tensor can be computed by differentiating the elastic free energy with respect to the strain tensor components,  $\sigma_{ij} = \delta F / \delta u_{ij}$ . In the following we assume that cells have zero Poisson ratio and drop the term proportional to  $\lambda_1$ .

In the unperturbed nematically ordered system there is only one nonzero component of the strain tensor,  $u_{xx} = \sigma_{xx} / \lambda_{xx} = -p_x / \lambda_{xx}$  which corresponds to the uniform compression along the  $x$  coordinate, respectively. Now we add a small additional non-uniform lateral displacement,  $\tilde{u}_y(x)$ , assuming that  $\partial_x \tilde{u}_y \ll 1$ . We first consider the system unbounded in the  $y$  direction, and the perturbation  $\tilde{u}_y$

independent of  $y$ . In this case the free energy can be simplified as

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int \mathbf{dr} [\lambda_{xx} u_{xx}^2 + \lambda_{xy} u_{xy}^2 + \xi (\partial_x^2 \tilde{u}_y)^2], \quad (8)$$

with the strain tensor

$$u_{xx} = -p_x/\lambda_{xx} + \frac{1}{2}(\partial_x \tilde{u}_y)^2, \quad u_{xy} = \frac{1}{2}(\partial_x \tilde{u}_y + \partial_y u_x). \quad (9)$$

Substituting (9) into the free energy (8), we obtain

$$F_{el} = \frac{1}{2} \int \mathbf{dr} \left[ p_x^2/\lambda_{xx} - p_x (\partial_x w)^2 + \frac{1}{4} \lambda_{xy} (\partial_x w)^2 + \xi (\partial_x^2 w)^2 \right] \quad (10)$$

(here we introduced the notation  $w = \tilde{u}_y$ ). Thus, while shear and bending elasticity (third and fourth terms in the integrand) increase elastic energy for lateral cell displacements, the second term reduces it due to the release of the longitudinal compression energy. For sufficiently large compression  $p_x$ , the reduction is greater than the gain of energy, and buckling instability occurs. This is analogous to the classical Euler buckling instability [11].

In order to describe the dynamics of buckling we form the Lagrangian

$$L = \frac{1}{2} \int \mathbf{dr} \dot{w}^2 - F_{el} \quad (11)$$

and write down the Euler–Lagrange equation taking into account the dissipation due to the bottom friction

$$\frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\delta L}{\delta \dot{w}} \right) - \frac{\delta L}{\delta w} = - \frac{\delta F_d}{\delta \dot{w}} \quad (12)$$

where  $F_d = \mu \int \mathbf{dr} (\dot{w})^2/2$  is the dissipation function [14]. In the overdamped limit, we can neglect the kinetic energy in the Lagrangian and arrive at the equation for  $w$

$$\mu \partial_t w = (\lambda_{xy}/4 - p_x) \partial_x^2 w - \xi \partial_x^4 w. \quad (13)$$

It is easy to see that for sufficiently strong compression ( $p > \lambda_{xy}/4$ ) the system of rods becomes unstable with respect to sufficiently long-wave perturbations. Indeed, substituting  $w(x, t) = w_0 \exp[st + ikx]$  in equation (13), we obtain the dispersion relation

$$s = \mu^{-1} [(p_x - \lambda_{xy}/4)k^2 - \xi k^4] \quad (14)$$

which yields the critical wavenumber for the buckling instability  $k_c = [(p_x - \lambda_{xy}/4)/\xi]^{1/2}$ . Thus, the instability can only occur in sufficiently long traps with length  $L_x > 2\pi/k_c$ .

For a finite-width trap limited by solid side walls at  $y = \pm L_y$  one has to impose the boundary condition  $w = 0$  at  $y = \pm L_y/2$  and take into account the dependence of  $w$  on  $y$ . A straightforward generalization of the above derivation leads to the following equation for the local deflection angle:

$$\mu \partial_t w = (\lambda_{xy}/4 - p) \partial_x^2 w - \xi \partial_x^4 w + \lambda_{yy} \partial_y^2 w. \quad (15)$$

The growth rate  $s$  for the lowest  $y$ -mode,  $w(x, t) = w_0 \exp[st + ikx] \cos(\pi y/L_y)$  is given by

$$s = \mu^{-1} [(p - \lambda_{xy}/4)k^2 - \xi k^4 - \pi^2 \lambda_{yy}/L_y^2]. \quad (16)$$

The growth rate is lowered by the constant  $\pi^2 \lambda_{yy}/L_y^2$ , and thus the buckling instability is suppressed in narrow traps, as can be expected.

### 3.3. Growing rods

Here we return to the case where the cells are aligned along the  $x$  axis in a rectangular domain  $L_x \times L_y$  and they are growing with the rate  $a$  and dividing when their size doubles. In the continuum limit, the cell ‘medium’ is expanding along  $x$  with the rate  $a$ , which due to mass conservation, equation (5), corresponds to the  $x$ -component of velocity  $v_x = ax$ . In the first approximation the effect of this expansion flow can be captured by adding the convective term  $v_x \partial_x w$  to the left-hand side of equation (13). Furthermore, the compression  $\sigma_{xx}$  now is not externally imposed but is internally generated by the cell growth. Since in the overdamped limit  $v_x = -\mu^{-1} \partial_x p_x$ , one deduces  $p_x = \frac{1}{2} \mu a (x^2 - L_x^2/4)$ , where the condition  $p_x(\pm L_x/2) = 0$  has been used. Substituting this pressure, we obtain

$$\partial_t w + ax \partial_x w = - \left[ \frac{a}{2} (L_x^2/4 - x^2) - \lambda_{xy}/4\mu \right] \partial_x^2 w - \frac{\xi}{\mu} \partial_x^4 w \quad (17)$$

(here we again consider an infinite domain in the  $y$  direction,  $L_y \rightarrow \infty$ ).

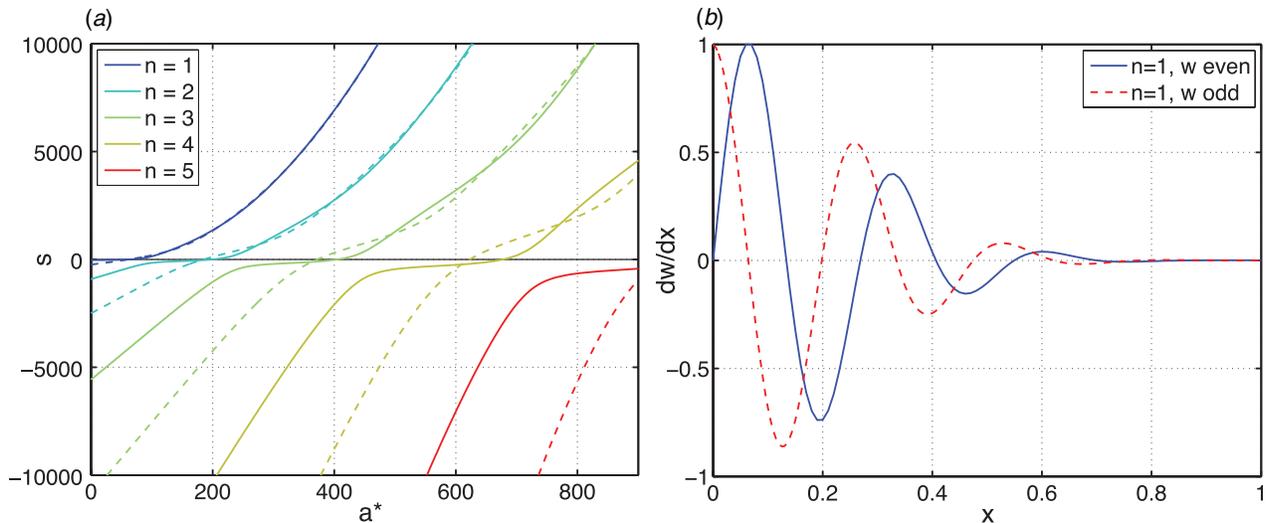
This equation has to be augmented by the boundary conditions at  $x = \pm L_x/2$ . In analogy to the beam equations, the absence of stress and torque near the free boundaries leads to the boundary conditions  $\partial_{xx} w = 0$ ,  $\partial_x^3 w = 0$ . Now we can look for exponentially growing solutions in the form  $w = \exp(st) f(x)$ . Using rescaled variables  $16t\xi/\mu L_x^4 \rightarrow t$  and  $2x/L_x \rightarrow x$ , we obtain the eigenvalue problem

$$s w = -a_* x w' - \frac{a_*}{2} (1 - x^2) w'' - w'''' , \quad (18)$$

$$w''(\pm 1) = w'''(\pm 1) = 0$$

with one non-dimensional parameter  $a_* = a\mu L_x^4/16\xi$ . It is easy to show that in the limit  $a_* \rightarrow 0$ , all eigenvalues  $s_n$  are negative. However, for a finite  $a_*$  eigenvalues can cross zero, which would signify the onset of buckling instability. It is straightforward to compute eigenmodes and eigenvalues numerically by continuation from  $a_* = 0$  to finite  $a_*$  using Maple continuation routine (Waterloo Maple, Inc.). Figure 3 shows the first five eigenvalues  $s_1, \dots, s_5$  of odd ( $w_n^o(x) = -w_n^o(-x)$ ) and even ( $w_n^e(x) = w_n^e(-x)$ ) modes as a function of  $a_*$  and an example of lowest unstable eigenmodes  $w_1^{e,o}(x)$  for  $a_* = 2500$ . In the original non-rescaled variables, for odd modes the buckling bifurcation occurs at  $a\mu L_x^4/16\xi \approx 63$  and for even modes at  $a\mu L_x^4/16\xi \approx 62$ , i.e. for sufficiently large growth rate  $a$  or system size  $L$ , or friction  $\mu$ . As seen in figure 3(b), the eigenmodes are large in the middle of the trap and become very small near the open ends, which indicates that unstable perturbations are mostly confined to the interior of the trap, where growth-generated pressure is sufficiently high. This agrees well with our experimental findings as well as with discrete-element simulation described in the next section.

Similarly to the case of non-growing rods above, the finite transversal width of the trap reduces the eigenvalues by the fixed value  $\pi^2 \lambda_{yy}/4L_y^2$ , see equation (16), whereby increasing the threshold growth rate (or longitudinal system size) necessary for the onset of the buckling instability.



**Figure 3.** (a) First five eigenvalues corresponding to odd (dashed) and even (solid) modes of equation (17) as functions of  $a_*$ . (b) Two fastest growing eigenmodes (even  $w_0^e(x)$  and odd  $w_0^o(x)$ ) for  $a_* = 2500$  corresponding to almost identical positive (unstable) eigenvalues  $s_0 = 3.4737 \dots \times 10^5$ .

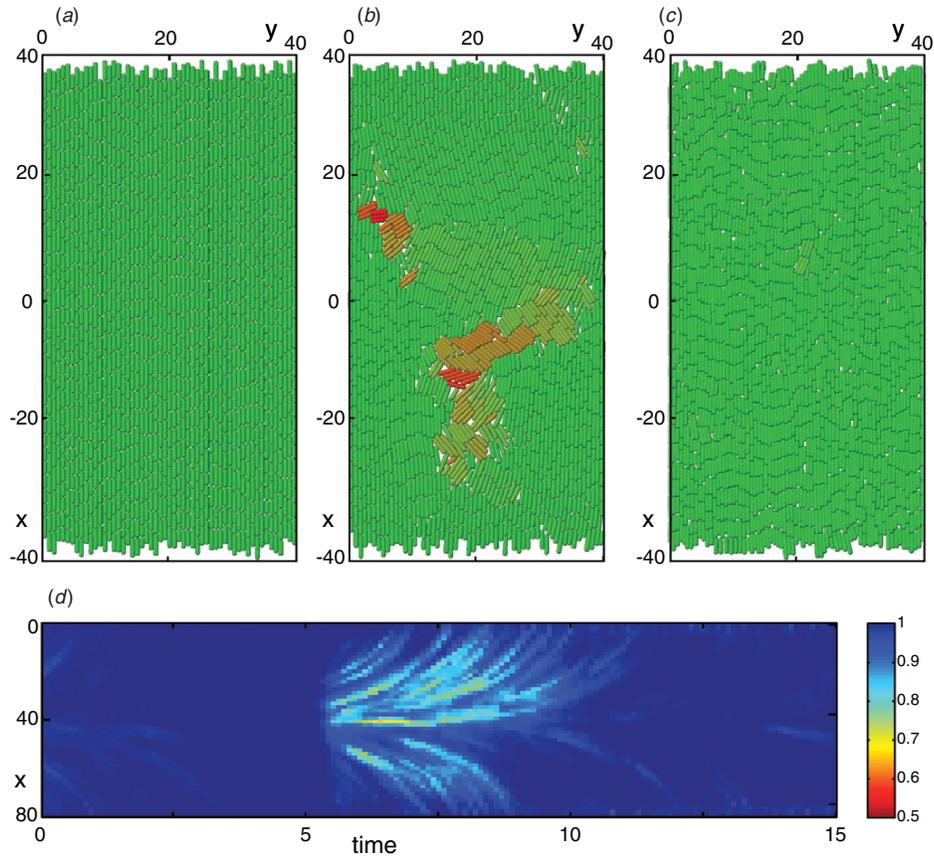
#### 4. Discrete-element simulations

To further investigate the nature of the buckling instability and gain insight in the asymptotic regime which emerges after the buckling instability develops, we performed discrete-element soft-particle simulations of a quasi-two-dimensional monolayer of growing and dividing cells. The numerical algorithm for these simulations has been described previously [6, 7]. Each cell is represented by a spherocylinder with fixed diameter  $d$  and variable length  $l$  that grows exponentially until it reaches a certain critical length  $l_{\text{div}}$  at which the cell is replaced by two collinear cells of equal length  $l_{\text{div}}/2$ . The critical length  $l_{\text{div}}$  is chosen randomly at the birth of the cell from a distribution centered at a certain  $l_0$  to avoid spurious synchronization of cell divisions across population. It is possible to establish a connection between microscopic parameters of the spherocylinders and the rheological parameters used in continuum description of the previous section (see the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)); however, certain details of the simulations related to the granularity of the medium evidently cannot be adequately captured by the continuum theory. The normal and tangential (frictional) forces moving the cells are computed based on the overlap of virtual soft spheres centered at the nearest points on the axes of interacting spherocylinders. These contact forces and ‘bottom friction’ force between cells and the substrate are then used to compute the motion of cells by integrating Newton’s equations. As soon as the cell center of mass crosses one of the open boundaries, the cell is removed from the pool. The microscopic parameters characterizing the elastic and dissipative properties of the cells coincide (unless indicated) with the ones used in [6, 7].

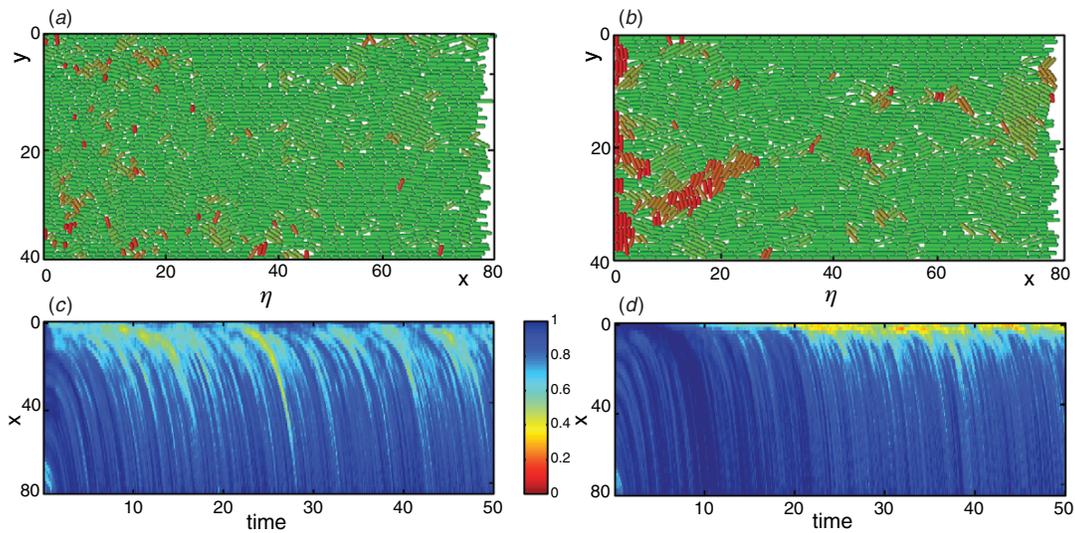
We performed simulations for two types of geometries: ‘open traps’ with two solid side walls at  $y = 0, L_y$  and two open boundaries at  $x = 0, L_x$  and ‘side traps’ with three solid

walls at  $y = 0, L_y$  and  $x = L_x$  and only one open boundary at  $x = L_x$ , similar to the experimental realization shown in figure 1. We carried out simulations with different cell aspect ratios  $A = l_0/d$  and system sizes  $L_x, L_y$ .

A typical ‘open trap’ simulation for rods with the mean aspect ratio at division  $A = 6$  is illustrated by figure 4 (see also movie 3 in the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)). Panel (a) shows the state of the colony at  $t = 19.5$  (just before the friction is switched on at  $t = 20$ ) when the colony shows a long-range nematic order. Panel (b) illustrates the disordered state after the bottom friction has been turned on ( $t = 20.5$ ), and finally, panel (c) shows the partial re-establishment of order later at  $t = 30$ . Interestingly, in the nematic disordered regime, within the clusters cells are highly correlated in their position, so there is a certain evidence of a smectic order which is absent in the orientationally ordered quasi-nematic regime of figure 4(a). We can characterize the degree of orientational ordering along the  $x$ -axis by the scalar order parameter  $\eta = [(\langle \sin 2\phi \rangle)^2 + (\langle \cos 2\phi \rangle)^2]^{1/2}$ . The spacetime dependence of  $\eta$  in this run is shown in figure 4(d). As seen from this figure, as soon as the friction constant is turned on, the order parameter rapidly decreases in the middle of the trap, but then it gradually increases again. The origin of this re-ordering can be understood in the following way. Buckling instability evidently leads to more dense lateral packing of the cells (instead of 53 cellular columns across the domain before buckling, the system stabilizes at 70 columns after buckling). Thus, the lateral elastic modulus  $\lambda_{yy}$ , which is proportional to the number of cell per unit length along  $y$ , increases and that, as we have seen in the previous section, leads to the increase of the threshold for buckling instability. Even stronger buckling behavior is observed for smaller aspect ratios of the rods (see the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia) where similar results for  $A = 4$  are presented).



**Figure 4.** (a–c) Three still frames from a simulation of a growing colony in a  $40 \times 80$  open trap at times (a)  $t = 19.5$ , (b)  $t = 20.5$ , (c)  $t = 30$ . The growth rate  $a = 0.71$ , maximum aspect ratio of cells  $A = 6$  and the bottom friction  $\mu = 10$  were turned on at  $t = 20$ . Coloring of the rods indicates rod's angle with respect to the  $x$ -axis: green  $\phi = 0$ , red  $\phi = \pm\pi/2$ . (d) Spacetime diagram of the magnitude of the order parameter averaged over the  $y$  dimension for the simulation exemplified in figure 4.



**Figure 5.** Still frames at time  $t = 50$  (a, b) and spacetime diagrams (c, d) of the order parameter  $\eta$  (averaged over the transversal  $y$  coordinate) from simulations of a growing colony in a  $40 \times 80$  side trap: (a, c)  $x$ -dependent mean cell size ( $c = 0.5$ ); (b, d)  $x$ -independent mean cell size ( $c = 0$ ).

In order to make a more direct connection with experiments, we also carried out simulations in a side-trap geometry, in which we also took into account the effect of nutrient depletion away from the open side of the trap. As observed experimentally, this depletion leads to slowing the cell growth and the reduction of the average cell size. We modeled this effect by the linear dependence of  $l_0$  and the growth rate  $a$  on  $x$ :  $\{l_0, a\} = \{l_0^0, a^0\}(1 - cx/L_x)$ . We typically used  $c = 0.5$  which indicates 50% reduction of cell growth near the back wall. We started simulations with a prepared nematic state in which all cells are densely packed and parallel to the  $x$ -axis. We also used a constant time-independent bottom friction coefficient  $\mu = 13.5$ . We observe that soon after the start of the run, buckling in the back of the trap occurs and, unlike the open-trap case, it appears to be persistent (see figures 5(a) and (c), and movie 5 in the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)). In agreement with the experiment, the buckling instability originates near the back wall; however, the patches of disordered rods are then carried to the open boundary by the flow. As the cells move toward the open boundary, the disorder gradually decays, and the order parameter increases, as seen in figure 5(c). The size reduction in the back of the trap strongly contributes to the tendency of cells to buckle. To see this, we ran simulations with the same parameters except for  $c = 0$ , which corresponds to the uniform mean cell size. The effect of the cell size gradient can be clearly seen from comparing figures 5(a) and (b) and 5(c) and (d) (see also movie 6 in the supplementary information available at [stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia](http://stacks.iop.org/PhysBio/8/026008/mmedia)). In the latter case, a near-perfect nematic order is maintained for a long time and is only eventually broken by a rare fluctuation. The buckling is noticeably weaker; however, once it sets in, it also appears to be persistent. Unlike the variable size case, it mostly originates right at the back of the trap, where some rods eventually become parallel to the back wall and are forced to buckle because of the finite width of the trap. Since the  $x$ -component of the mean velocity near the back wall is zero, these rods linger near the back wall and serve as persistent sources of disorder which then propagates downstream toward the open boundary.

## 5. Concluding remarks

Bacteria in natural habitats typically move by rotating their flagellae and have developed complex biochemical mechanisms regulating their motion and collective behavior. However, in close proximity, such as in biofilms, bacteria usually lose their flagellae and become non-motile. Nevertheless, there are certain other physical mechanisms by which they interact and form multi-cellular structures. As we have shown earlier, the rod-like shape of many bacteria may lead to the establishment of local orientational order in bacterial colonies which is mediated by their growth and division. In this paper we described the buckling instability

which limits the orientational order in sufficiently large bacterial colonies. We observed this effect in experiments with growing non-motile bacteria *E. coli* in large microfluidic traps and confirmed it in corresponding DES simulations. We also developed a continuum theory of the buckling instability based on the nematodynamic equations. The mechanism of the instability is related to the anisotropy of the stress tensor which builds up within the ordered growing colony. For a sufficiently strong anisotropy, the variations of the orientational order parameter (or simply orientation angle) begin to grow. In the limit of very small bending elasticity of the columns of rods, the growth rate of the instability increases with the wavenumber, and the instability leads to buckling at the smallest length scale which corresponds to the cell size. This buckling instability is a two-dimensional analog of the classical Euler instability of one-dimensional flexible rods under compression. We expect that the buckling instability may strongly affect the structure of bacterial populations in confined environments (such as surface-bound biofilms), if significant internal stresses develop there due to the cell growth. It may also affect the tissue growth and structure in multicellular organisms [3, 15].

## Acknowledgments

This work was supported by the NIH (GM069811 and P50-GM085764) and UC-MEXUS. We are grateful to Dmitri Volfson for developing the original DES code and many useful discussions. DB and SOF thank UC San Diego for hospitality during part of this work. LT thanks UNAM for hospitality during his visits when some of this work was performed.

## References

- [1] Donlan R M 2002 *Emerg. Infect. Dis.* **8** 881–90
- [2] Tolker-Nielsen T, Brinch U C, Ragas P C, Andersen J B, Jacobsen C S and Molin S 2000 *J. Bacteriol.* **182** 6482–9
- [3] Drasdo D 2000 *Phys. Rev. Lett.* **84** 4244–7
- [4] Goriely A and Ben Amar M 2005 *Phys. Rev. Lett.* **94** 198103
- [5] Hall-Stoodley L and Stoodley P 2002 *Curr. Opin. Biotechnol.* **13** 228–33
- [6] Volfson D, Cookson S, Hasty J and Tsimring L S 2008 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105** 15346–51
- [7] Mather W, Mondragón-Palomino O, Danino T, Hasty J and Tsimring L S 2010 *Phys. Rev. Lett.* **104** 208101
- [8] Cho H J, Jönsson H, Campbell K, Melke P, Williams J W, Jedynek B, Stevens A M, Groisman A and Levchenko A 2008 *PLoS Biol.* **5** 2614–23
- [9] Simha R A and Ramaswamy S 2002 *Phys. Rev. Lett.* **89** 58101
- [10] Peruani F and Morelli L 2007 *Phys. Rev. Lett.* **99** 10602
- [11] Landau L D and Lifshitz E M 1986 *Theory of Elasticity* 3rd edn (Oxford: Pergamon)
- [12] Chaikin P M and Lubensky T C 2000 *Principles of Condensed Matter Physics* (Cambridge: Cambridge University Press)
- [13] Abramoff M D, Magelhaes P J and Ram S J 2004 *Biophotonics Int.* **11** 36–42
- [14] Landau L D and Lifshitz E M 1976 *Mechanics* 3rd edn (Oxford: Pergamon)
- [15] Shraiman B I 2005 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **102** 3318–23

**Order, intermittency, and pressure fluctuations in a system of proliferating rods**Sirio Orozco-Fuentes<sup>1,\*</sup> and Denis Boyer<sup>1,2,†</sup><sup>1</sup>*Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal 04510, México*<sup>2</sup>*Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal 04510, México*

(Received 28 March 2013; revised manuscript received 11 June 2013; published 15 July 2013)

Nonmotile elongated bacteria confined in two-dimensional open microchannels can exhibit collective motion and form dense monolayers with nematic order if the cells proliferate, i.e., grow and divide. Using soft molecular dynamics simulations of a system of rods interacting through short range mechanical forces, we study the effects of the cell growth rate, the cell aspect ratio, and the sliding friction on nematic ordering and on pressure fluctuations in confined environments. Our results indicate that rods with aspect ratios  $>3.0$  reach quasiperfect nematic states at low sliding friction. At higher frictions, the global nematic order parameter shows intermittent fluctuations due to sudden losses of order and the time intervals between these bursts are power-law distributed. The pressure transverse to the channel axis can vary abruptly in time and shows hysteresis due to lateral crowding effects. The longitudinal pressure field is on average correlated to nematic order, but it is locally very heterogeneous and its distribution follows an inverse power law, in sharp contrast with nonactive granular systems. We discuss some implications of these findings for tissue growth.

DOI: [10.1103/PhysRevE.88.012715](https://doi.org/10.1103/PhysRevE.88.012715)

PACS number(s): 87.18.Fx, 47.57.-s, 45.70.Mg

**I. INTRODUCTION**

Active suspensions of bacteria or other motile particles commonly exhibit collective motion and rich nonequilibrium structures at the hydrodynamic scale, such as swarming [1–3], instabilities [4], turbulent vortical flows [5–7], jamming [8], or aggregation in clusters with giant number fluctuations [9,10]. Systems of self-propelled rods that interact through short range mechanical forces may provide minimal models for describing colonies of active elongated particles [11–14]. Despite the fact that such models ignore chemotaxis and other biological signaling processes that may occur in real cell colonies, they are thought to be relevant at high cell densities and have actually been able to account quantitatively for many experimental observations. For instance, rich dynamical features can emerge in active rod models with varying only the density and the particle aspect ratio [5,6,15].

Whereas most research on active matter has considered motile particles, the effects of cell proliferation on collective motion are less understood. Here we investigate the dynamics of colonies of nonmotile but growing and dividing rods. Such systems are relevant to the formation or renewal of biofilms and tissues, and their study may help us to understand the role played by physical constraints during collective cell processes such as the growth of a column of hydra [16], tissue growth and repair [17,18], or tumor growth [19]. Even in the absence of self-propulsion of individual cells, cell proliferation generates motion due to excluded volume effects, which, in combination with cell anisotropy, can lead to nematic ordering and coherent flow patterns [20–22]. An important difference with the self-propelled case is that density is no longer a control parameter since the system typically self-organizes into dense states, starting from a small number of initial cells. In addition, as expansive flows are often generated during growth, pressure

gradients can be high and may trigger secondary instabilities particular to these systems [21].

In this paper, inspired by experiments performed with a nonmotile strain of *Escherichia coli* bacteria (division time,  $\sim 20$  min) in microfluidic devices [20], we perform molecular dynamics simulations of a system of growing and dividing rods with repulsive interactions. This system is confined by the lateral walls of a two-dimensional channel of finite length and open at both ends, where the particles can exit the channel. In the microfluidic experiments, the channel is limited in the third dimension by two walls whose separation distance is barely larger than the diameter of one bacteria. Therefore, although the rods are three-dimensional objects in the model, they form a single layer and their motion is assumed to be two-dimensional.

As shown by continuum theories of self-propelled particles [11,23], the effect of boundaries and confinement have a strong impact on the ordering of active flows, where, for instance, the presence of the walls can induce a nonzero polarization. Similarly here, nonmotile elongated particles push each other while they grow and tend to align parallel to the walls of the channel. In the long time regime, the rods that flow out of the channel are constantly replaced by new rods which form a dense model tissue inside the channel, with relatively small local density fluctuations [20]. In Ref. [21], it was shown with the use of a phenomenological continuum theory and discrete element simulations that the perfectly ordered active nematic state was unstable with respect to small perturbations when a friction parameter exceeded a threshold value. This instability is analogous to a buckling instability and provokes the growth of the angles between the rods and the channel axis, allowing the release of the high compressive stresses generated by fully ordered configurations.

The aim of the present study is to investigate numerically the partially disordered states formed by these confined proliferating systems in the long time regime, when the statistical properties of the flow do not depend on time. We first quantify the effects on nematic ordering of the rod aspect ratio and of the friction that opposes the rod motion. We then

\*sirioanel@fisica.unam.mx

†boyer@fisica.unam.mx

show that the nematic order parameter exhibits intermittent dynamics at intermediate frictions. We next focus on how the diagonal stress components fluctuate in time and space. We find that configurations subjected to larger longitudinal stresses are more ordered on average, whereas, locally, the distribution of contact forces is very heterogeneous and follows a power-law distribution in most cases.

## II. MODEL DESCRIPTION

In our approach, thermal noise is neglected and rod dynamics is essentially deterministic. The discrete element soft-particle model used in this paper was described in previous works (see, e.g., Refs. [20] and [21]). Briefly, each cell is represented as a rigid rod consisting of a cylinder of fixed diameter set to unity for convenience and of two hemispherical caps at its ends. The length  $l(t)$  of a given rod grows exponentially at a certain rate,  $a_g$ , and the rod divides into two collinear rods of equal lengths when  $l(t)$  reaches an assigned maximal length, denoted as  $\ell_m$ . To avoid spurious synchronization of cell divisions across the population, the division length  $\ell_m$  is chosen randomly at the birth of each cell from a narrow normal distribution centered at a certain value,  $2\ell_0$ , and with standard deviation  $0.2 \times 2\ell_0$ . Similarly,  $a_g$  is chosen from a distribution centered at a value,  $a$ , and with standard deviation  $0.1a$ . Therefore,  $a$  represents the mean growth rate of the rods in the system and  $\ell_0$  the mean rod length at birth.

The rods are confined in a channel composed of two parallel walls separated by the distance  $L_x$  (the transversal unit vector is denoted as  $\hat{x}$ ) and length  $L_z \equiv 2L$  (the longitudinal unit vector is denoted as  $\hat{z}$ ). We set  $L_x = L_z = 55$  in the following. The rods cannot form more than one layer in the  $\hat{y}$  direction; therefore motion is bidimensional. The channel boundaries at  $z = \pm L$  are open: when the center of mass of a rod crosses one of the boundaries, the rod is removed from the system.

The normal contact forces between rods are obtained with the Hertzian model applied to the overlap of virtual spheres centered at the nearest points on the axes of interacting spherocylinders; similarly, the tangential (frictional) forces are given by the dynamic Coulomb friction ( $v_{cc}$  is the coefficient of friction between cells) [24]. The microscopic parameters characterizing the elastic and dissipative properties of the cells coincide (unless indicated) with the ones used in Refs. [20,21]. In the experiments of Ref. [20], each cell is also subjected to forces due to the surrounding fluid and to the horizontal walls of the microfluidic chamber. These forces are modeled here by a Stokian drag force:

$$\mathbf{F}_f^{(i)} = -\mu m^{(i)} \mathbf{v}^{(i)}, \quad (1)$$

with  $\mathbf{v}^{(i)}$  and  $m^{(i)}$  being the velocity and mass of rod  $i$ , respectively, and  $\mu$  a drag friction constant. The contact and friction forces above are then used to compute the motion of each rod by integrating Newton's equations.

For systems of rods that are perfectly oriented along the  $z$  direction, simple continuum arguments predict that the flow is expansive and the pressure parabolic along the channel [20]: Assuming that the system reaches a steady state with constant rod density (while new rods are created, others exit the channel), the continuity equation reads  $\nabla \cdot \mathbf{v} = a$

and can be integrated as  $v_z^{(0)}(z) = az$  and  $v_x^{(0)} = 0$ . In the overdamped limit, the momentum conservation equation reads  $\nabla \cdot \sigma - \mu \mathbf{v} = 0$ , where  $\sigma$  is the stress tensor. Imposing the boundary condition  $\sigma = 0$  at  $z = \pm L$ , one deduces that

$$\sigma_{zz}^{(0)}(z) = \frac{1}{2} \mu a (z^2 - L^2). \quad (2)$$

Hence, in response to the necessary growth of the rods the pressure adopts a parabolic profile and is maximal at the center of the channel ( $z = 0$ ), where  $v_z$  vanishes. As illustrated by Eq. (2), varying the parameter  $\mu$  allows one to vary the magnitude of the average compressive load in the system.

## III. BEHAVIOR OF THE NEMATIC ORDER PARAMETER

We simulated growing colonies starting from a few randomly oriented rods distributed in the channel. At large times, the density is roughly constant over time and the channel is filled with approximately 1000 rods in the examples of Fig. 1. To measure the degree of alignment of the rods we calculated the scalar nematic order parameter:

$$Q = \overline{[\langle \cos 2\phi \rangle^2 + \langle \sin 2\phi \rangle^2]^{1/2}}, \quad (3)$$

where  $\phi$  is the angle between the rod axis and some reference axis (the channel axis  $\hat{z}$ ). The brackets above denote averages over all rods (spatial averaging) and the overbar denotes temporal averaging. In other words,  $Q/2$  is the time average of the largest eigenvalue of the tensor order parameter in two dimensions,  $\langle u_\alpha u_\beta - \frac{1}{2} \delta_{\alpha\beta} \rangle$ , where the  $u_\alpha$ 's are the components of the orientational unit vector of a rod [25]. When the colony is in the disordered state  $Q$  is close to zero, while perfect nematic order corresponds to  $Q = 1$ .

### A. Effects of rod shape and of friction

We first consider systems with vanishing frictions ( $\mu = 0$ ,  $v_{cc} = 0$ ) and varying  $\ell_0$  [Figs. 1(a)–1(c)]. Even in this case where stresses are very small, the system may not be able to order perfectly. Figure 2(a) shows the nematic order parameter as a function of  $\ell_0$ . It is observed that for  $\ell_0 > 3$  perfect nematic order is reached, whereas it decays rapidly if  $\ell_0 < 3$ . In systems of short rods [e.g.,  $\ell_0 = 2$ , Fig. 1(a)] many disoriented regions are present and persist over time (see animation in Ref. [26]). It is worth noting that many bacteria such as *E. coli* have aspect ratios larger than 3 [6] and may therefore be prone to form dense ordered colonies in the presence of boundaries. The growth rate, on the other hand, has little impact on  $Q$  in the asymptotic regime, as the three curves with  $a = 0.1, 0.5$ , and 1.0 collapse onto each other in Fig. 2(a).

When the friction  $\mu$  is finite, the nematic order can be significantly lower than in the case of  $\mu = 0$ , even for colonies of long rods ( $\ell_0 \geq 3$ ). As shown by Fig. 1, the ordered states are roughly composed of flowing columns of rods parallel to each other. A larger friction should increase the pressure  $-\sigma_{zz}$  exerted along the channel axis and thus increase the repulsive interaction forces between neighboring rods of the same column. According to the continuum analysis presented in [21] this compressive energy can be released if the columns of rods bend (or buckle), producing less ordered configurations ( $Q < 1$ ). As expected from this scenario, we observe that  $Q$  decays with  $\mu$  [Fig. 2(b)]. For a fixed  $\mu$ , systems with larger

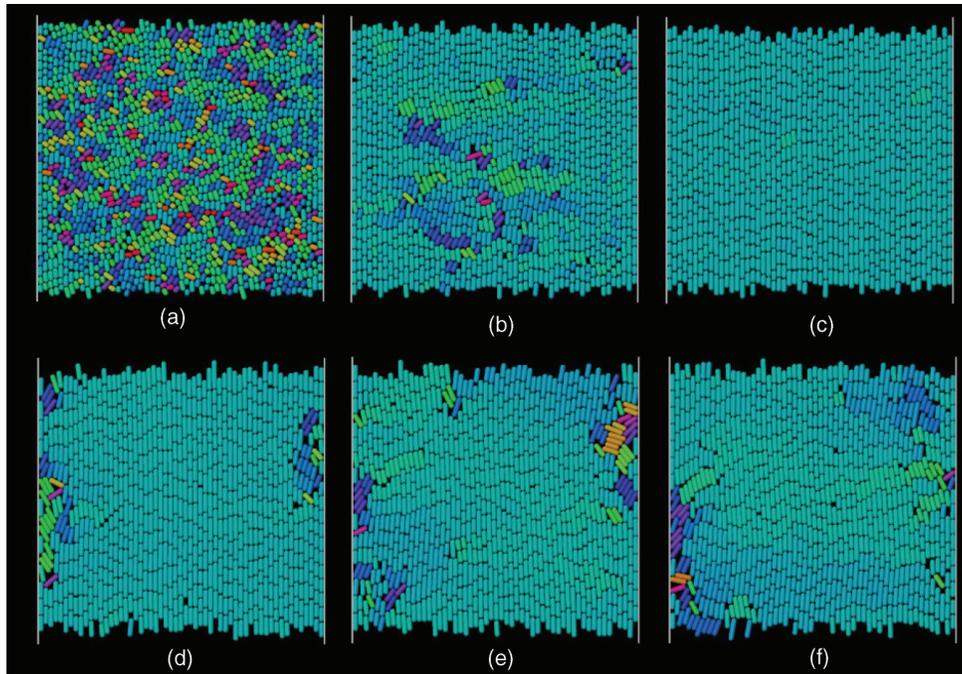


FIG. 1. (Color online) Typical configurations of simulated bacterial colonies filling the channel, with the rods colored according to their orientation. (a)–(c) Systems of low drag friction ( $\mu = 10^{-6}$ ) and different rod aspect ratios:  $\ell_0 = 2.0$  (a),  $\ell_0 = 3.0$  (b), and  $\ell_0 = 4.0$  (c). The growth rate is  $a = 1.0$ . Systems of longer rods have higher nematic order. (d)–(f) Systems with  $\ell_0 = 4.0$  and of varying drag friction:  $\mu = 0.45$  (d),  $\mu = 0.50$  (e), and  $\mu = 0.55$  (f), where disordered regions appear intermittently.

$\ell_0$  are more ordered. This is also in qualitative agreement with the prediction of Ref. [21], where the bending constant  $\xi$  in the elastic free energy of the system was estimated from the overlap of a rod with the rods of the neighboring columns, leading to  $\xi \propto \ell_0^3$ .

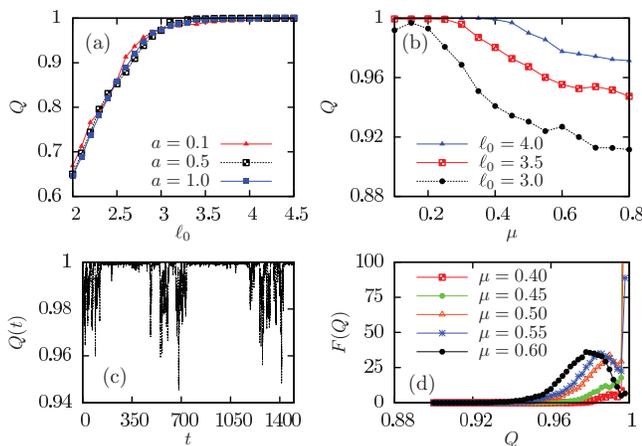


FIG. 2. (Color online) (a) Mean order parameter  $Q$  as a function of the mean length of the rods at division ( $\mu = 0$ ,  $v_{cc} = 0$ ). The growth rate  $a$  has a little impact on  $Q$ , as shown by the three overlapping curves. (b) Mean order parameter  $Q$  as a function of  $\mu$  for different mean rod lengths ( $v_{cc} = 0$ ). (c) A time series  $Q(t)$  showing intermittent behavior at  $\mu = 0.45$  and  $\ell_0 = 4$ . (d) Probability distribution function of the global order parameter  $Q(t)$  for different friction coefficients  $\mu$ . As  $\mu$  increases, the most probable  $Q(t)$  takes lower values.

In all the following, we fix  $\ell_0 = 4$ . Figure 2(c) shows a typical time evolution of the order parameter  $Q(t)$ , obtained by taking the space average only, at relatively high friction ( $\mu = 0.45$ ). The colony can exhibit long periods of high nematic order, interrupted once in a while by bursts of disorder or “turbulence” (see animation in Ref. [26]). This intermittent behavior of  $Q(t)$  is observed in a relatively narrow range of frictions,  $\mu = 0.40$ – $0.50$ .

## B. Intermittent dynamics

Following a method similar to that proposed in Ref. [27] to characterize the intermittent dynamics of an ordered active system, we extract from the corresponding time series the probability distribution function of  $Q(t)$ , for different values of the friction drag. As shown by Fig. 2(d), with  $\mu = 0.4$  (or lower) the distribution of  $Q(t)$  is very peaked near unity, whereas with  $\mu = 0.6$  (or larger) completely ordered configurations are never reached during a typical simulation time. In the latter high friction range, the distribution has a most probable value  $< 1$  and a larger variance. There is an intermediate regime, roughly in the range  $\mu \in [0.4, 0.6]$ , where the distribution is peaked at  $Q = 1$  and also has a second local maximum at some value  $Q_{\max} < 1$ . We thus consider in this regime that, at any given time, the system can be either in an “ordered” phase or in a “disordered” phase, depending whether  $Q(t) > Q^*$  or  $Q(t) < Q^*$ , respectively, where  $Q^*$  is a crossover value. Here we choose  $Q^*$  as given by the secondary maximum  $Q_{\max}$  of the distribution. The results are not very sensitive to other choices of  $Q^*$ .

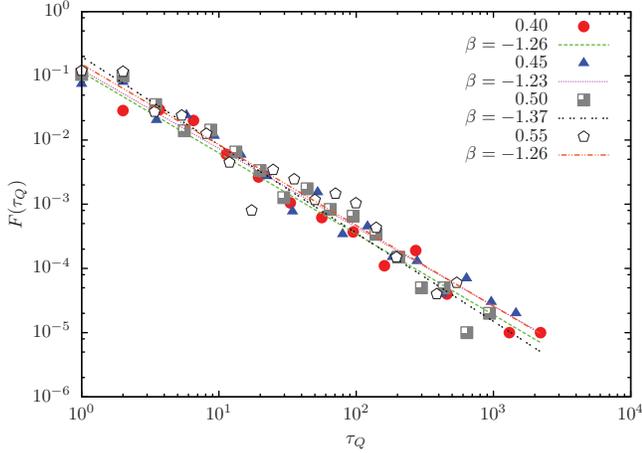


FIG. 3. (Color online) Probability distribution functions for the duration  $\tau_Q$  of the laminar periods, with  $\mu = 0.45$ – $0.55$ . All curves show an inverse power-law behavior. The lines are best fits to the data, with their respective exponent estimates.

In this intermediate friction range, we can thus define an ordered (or “laminar”) time interval [28] as the duration  $\tau_Q$  separating two consecutive disordered episodes. To measure these durations, we record the time periods during which  $Q(t)$  remains larger than  $Q^*$  without interruption. The probability distribution function of  $\tau_Q$  is shown in Fig. 3 and exhibits a clear inverse power-law behavior over 3 decades,  $F(\tau_Q) \sim \tau_Q^{-\beta}$ . The typical value of  $\beta$  is 1.2 and depends little on  $\mu$ .

#### IV. PRESSURE FLUCTUATIONS

We next monitor the virial stress tensor caused by pairwise interactions between rods and defined as

$$\sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{2V} \sum_{c,i} \mathbf{r}_{\alpha}^{ic} F_{\beta}^{ic}, \quad (4)$$

where  $\mathbf{r}^{ic}$  is a vector from the center of mass of the rod  $i$  to a point of contact with another rod, the index  $i$  runs over all rods in a small mesoscopic volume  $V$  around the position  $\mathbf{r}$ , and the index  $c$  runs over all points of contacts.

##### A. Global fluctuations

To study the temporal fluctuations of the stresses in the system as a whole, we consider the spatially averaged stress:

$$\langle \sigma_{\alpha\beta} \rangle(t) = \langle \sigma_{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) \rangle. \quad (5)$$

Typical time series of  $\langle \sigma_{xx} \rangle = -\langle P_x \rangle$  and  $\langle \sigma_{zz} \rangle = -\langle P_z \rangle$  for different values of  $\mu$  are shown in Fig. 4. In order to investigate possible hysteresis effects, we varied  $\mu$  cyclically in the same simulation. In the left panel of Fig. 4, a system is prepared with  $\mu = 0.1$  and evolves during 1500 time units. The friction is then increased by 0.05 and kept constant for another 1500 time units. The procedure is repeated up to  $\mu = 0.80$  (“ $\uparrow$ ” branch). From there, the friction is decreased in a similar way with decrements of 0.05 down to 0.1 again (“ $\downarrow$ ” branch, right panel of Fig. 4).

The spatially averaged pressure in the longitudinal direction,  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$ , fluctuates little in time and does not show

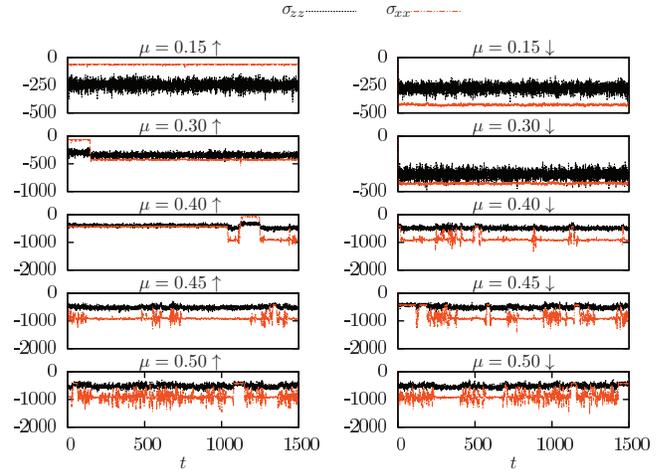


FIG. 4. (Color online) Time evolution of the spatially averaged stress tensor components  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  [continuous orange (gray) line] and  $\langle \sigma_{zz} \rangle(t)$  [dotted black line] for different values of  $\mu$  during a cycle. Left panel: System with increasing friction ( $\uparrow$  branch). Right panel: System with decreasing friction ( $\downarrow$  branch).

clear signs of hysteresis (see also the lower panel of Fig. 6). However, the pressure in the direction transverse to the channel axis,  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$ , exhibits much larger temporal variations [orange (gray) curves of Fig. 4]. In Fig. 4, for  $\mu = 0.30$  and  $0.40$  in the  $\uparrow$  branch, for instance, one observes steplike variations or abrupt jumps occurring at random times between different stationary values. The average pressure in the  $\hat{x}$  direction can vary in time by a factor of  $\sim 7$  in the same dynamics.

As shown by Fig. 5, these practically discrete jumps in the transversal pressure are due to the rapid formation (or elimination) of one or more columns of rods, which are oriented along the  $\hat{z}$  direction. The number of rod columns exhibits a similar steplike dynamics. As a new rod column appears, the system becomes more crowded in the  $\hat{x}$  direction, resulting in a sharp increase in  $|\langle \sigma_{xx} \rangle|$ . On the contrary, when a column disappears, the pressure is relaxed.

Higher frictions cause an increase in both  $P_x$  and  $P_z$  on average (see Fig. 6). The increase of  $P_z$  with  $\mu$  is due to the higher friction forces exerted on the particles, as qualitatively predicted by Eq. (2). The increase in  $P_x$  is due to the fact that at higher frictions the system tends to form more columns and thus denser populations along the  $\hat{x}$  direction. This densification was already noticed right after the buckling instability in Ref. [21]. If the friction is further decreased, the

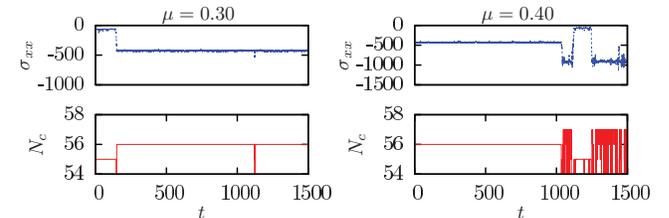


FIG. 5. (Color online) The spatially averaged stress tensor component  $\langle \sigma_{xx} \rangle(t)$  (upper panels) at a given time is closely related to the number  $N_c$  of rod columns that fill the channel at the same time in the transverse direction (lower panels).

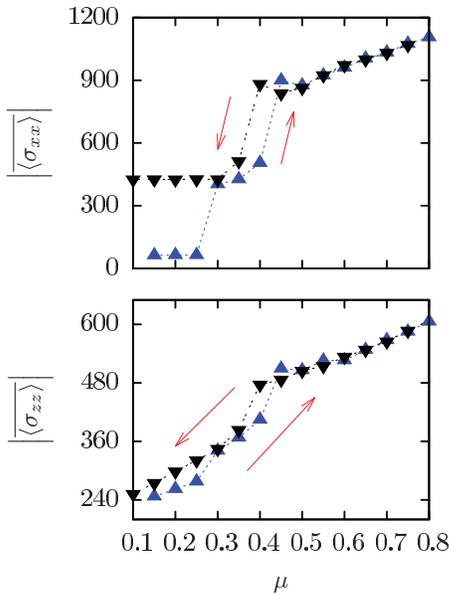


FIG. 6. (Color online) Time averages  $\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}$  and  $\overline{\langle \sigma_{zz} \rangle}$  of the spatially averaged stress tensor components. The  $\uparrow$  and  $\downarrow$  branches of the cycle are labeled with blue up-triangles and black down-triangles, respectively.

high transverse densities may persist. For this reason, at the end of the hysteresis loop ( $\mu = 0.15 \downarrow$ , Fig. 4) the transverse pressure can be much higher than what it was at the beginning ( $\mu = 0.15 \uparrow$ ). The upper panel of Figure 6 illustrates the hysteretic behavior of the time averaged pressure  $|\overline{\langle \sigma_{xx} \rangle}|$ . Note that at the beginning of the loop the time intervals between jumps can be large and thus the time averages may vary from one simulation to another due to the limited observation time.

### B. Distribution of local stresses

To examine how the local pressure fluctuates in space and time, we display in Fig. 7 the probability distribution functions of the local stresses  $P_x$  and  $P_z$ , given by Eq. (4). These probability distribution functions are obtained by aggregating all positions and times of a given simulation.

The hysteresis effects observed above on  $\langle \sigma_{xx} \rangle$  are noticeable in the full distribution, which has a characteristic scale given by its most probable value. In the  $\uparrow$  branch, the most probable values of  $-\sigma_{xx}$  for  $\mu \leq 0.25$  are much lower than the most probable values for  $\mu \geq 0.60$ . When low friction values ( $\mu \leq 0.25$ ) are reached again in the  $\downarrow$  branch, the most probable  $-\sigma_{xx}$  returns to a value larger than its initial value (middle curves of Fig. 7, upper panel).

The distribution of  $P_z$ , shown in Fig. 7, lower panel, does not exhibit such hysteresis and has a markedly different shape: it is monotonic decreasing and independent of  $\mu$  at small  $P_z$ . In this regime, the distribution is approximately scalefree, i.e., well described by a power law with exponent  $\approx -0.7$ . Hence, the gradual increase of the average longitudinal stress produced by increasing  $\mu$  (see Fig. 6) does not modify much how stresses are distributed locally among the rods: it only produces a broadening of the tail of the distribution. Many regions carry

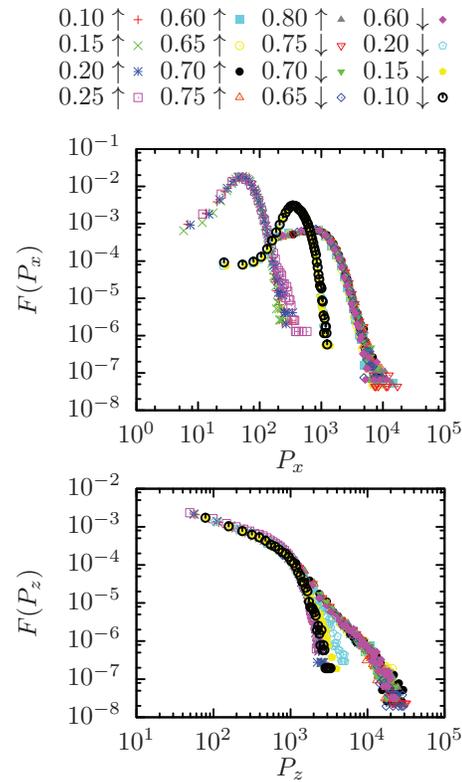


FIG. 7. (Color online) Probability distribution function of the local pressure for different values of  $\mu$ , which is varied cyclically:  $\mu = 0.1 \rightarrow 0.8 \rightarrow 0.1$ . For clarity, only the cases  $\mu \leq 0.25$  and  $\mu \geq 0.60$  are shown. Upper panel: Distributions of  $P_x$ , where the curves for  $\mu \leq 0.25$  ( $\uparrow$ ),  $\mu \geq 0.60$  ( $\uparrow$  and  $\downarrow$ ), and  $\mu \leq 0.25$  ( $\downarrow$ ) are located on the left part, the right part, and the middle part of the graph, respectively. Lower panel: Distributions of  $P_z$ , where the curves with broader tails correspond to  $\mu \geq 0.60$ .

small stresses and contribute little to the average pressure, even at high  $\mu$ , whereas a few rare places have stresses much higher than average. Therefore, the longitudinal pressure field is very heterogeneous in space and time. For  $\mu \leq 0.25$ , a fit shows that the distribution decays exponentially at very large  $P_z$ . However, for  $\mu \geq 0.60$ , the tail of the distribution is better described by a second power-law, with a steeper exponent  $\approx -2$ .

For comparison, it is instructive to calculate the probability distribution function  $F^{(0)}(P_z)$  predicted by the continuum theory where the rods are assumed to be perfectly aligned and where  $P_z(\mathbf{r}, t)$  is stationary and only depends on  $z$ . From the parabolic profile given by Eq. (2) and from the general property  $|F^{(0)}(P)dP| = |g(z)dz|$ , where  $g(z)$  is the distribution of  $z$  ( $g(z) = cst$  along the channel), one obtains

$$F^{(0)}(P_z) \propto \frac{1}{(1 - P_z/P_0)^{1/2}}. \quad (6)$$

According to this result, elementary regions of space where the pressure is larger (close to the maximum  $P_0$ , at the center of the channel) should be *more frequent* than regions with lower pressures. Such behavior is opposite to that of the distributions of Fig. 7 (lower panel). This result illustrates that local disorder profoundly reorganizes the system by a

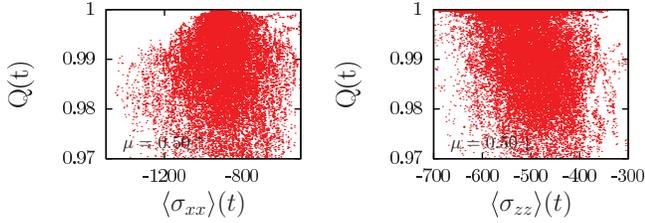


FIG. 8. (Color online) Parametric plots  $Q(t)$  vs  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  and  $Q(t)$  vs  $\langle\sigma_{zz}\rangle(t)$  at  $\mu = 0.50$ .

redistribution of stresses. This situation is reminiscent of the heterogeneous distributions of contact forces in static granular systems. Nevertheless, contact force distributions are exponential in static systems and thus have a typical scale [29].

### C. Correlations with $Q$

To investigate the interplay between nematic order and pressure at a given time, we calculated the Pearson correlation coefficients between  $Q(t)$  and  $\langle\sigma_{xx(zz)}\rangle(t)$ . Given two arbitrary discrete time series  $a_i$  and  $b_i$  of means  $\bar{a}$  and  $\bar{b}$ , respectively, this coefficient is defined as

$$\rho_{ab} = \frac{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})(b_i - \bar{b})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (b_i - \bar{b})^2}}. \quad (7)$$

The cases  $\rho_{ab} = 1$ ,  $-1$ , and  $0$  correspond to perfectly correlated, anticorrelated, and not correlated variables, respectively. In Fig. 8, each dot represents a particular time step of a dynamics.

Table I shows that  $Q(t)$  tends to be significantly anticorrelated to  $\langle\sigma_{zz}\rangle(t)$ , independently of  $\mu$ . This property indicates that, at a given time, a more ordered configuration is likely to be subjected to larger longitudinal stresses. This finding is consistent with the fact that gradients in the rod orientations (misalignments) actually release the compressive longitudinal energy [21].

To check whether there exists a relationship between the steplike variations of  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  at intermediate frictions (see Fig. 4) and the intermittent dynamics of  $Q(t)$  observed in about the same friction range, we calculated the Pearson coefficient between (i)  $Q(t)$  and  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$ , (ii)  $Q(t)$  and  $|d\langle\sigma_{xx}\rangle(t)/dt|$ , and (iii)  $|dQ(t)/dt|$  and  $|d\langle\sigma_{xx}\rangle(t)/dt|$ . As shown by Table I, very weak correlations are found in almost all cases. Therefore, there seems to be no systematic correlations between the fast variations in  $\langle\sigma_{xx}\rangle(t)$  and the intermittent bursts of nematic disorder, except maybe for lower frictions (see  $\mu = 0.4$  and

TABLE I. Numerical values for the Pearson correlation coefficient from the time series where  $Q(t)$  has an intermittent behavior. These values correspond to the  $\downarrow$  part of the cycle (similar values are found for the  $\uparrow$  part).

$\mu$	$Q$ & $\sigma_{zz}$	$Q$ & $\sigma_{xx}$	$Q$ & $ \dot{\sigma}_{xx} $	$\dot{Q}$ & $ \dot{\sigma}_{xx} $
0.40	-0.27	-0.17	-0.03	$\sim 0$
0.45	-0.38	-0.20	0.03	$\sim 0$
0.50	-0.34	0.04	-0.01	$\sim 0$
0.55	-0.34	0.04	-0.00	$\sim 0$

0.45 in Table I). This suggests that the mechanisms by which the system modulates its transversal pressure under confinement (through the formation or elimination of columns of growing rods) are not directly related to the ordering dynamics itself. The misalignment of some rods does not preferentially leads to a lower transverse pressure, contrary to what happens in the longitudinal direction.

## V. CONCLUSIONS

We have studied with molecular dynamics simulations the ordering of systems of growing elongated particles confined in a channel. We find that the average nematic order parameter depends crucially on the rod aspect ratio, a parameter which is difficult to incorporate in continuum theories. Colonies fail to order parallel to the side walls if  $\ell_0 < 3$ , even when the drag friction is vanishing. For  $\ell_0 > 3$  and at finite friction, intermittent bursts of disorder can take place and the periods during which the system remains well ordered are power-law distributed. In another context, intermittent dynamics for the global order parameter have already been observed in active systems of self-propelled particles governed by the Vicsek model rules [27].

Our results also show that the stress tensor is very anisotropic and that the pressure field has markedly different properties in the directions transverse and longitudinal to the channel axis ( $\hat{x}$  and  $\hat{z}$ , respectively). Whereas  $P_x$  is relatively homogeneously distributed in space, its spatial average can vary very rapidly in time due to stochastic and abrupt density variations in the lateral direction. This density can remain constant for long periods of time at low friction, which leads to hysteresis effects [30]. The fast variations of the spatial average  $\langle P_x \rangle(t)$  at intermediate frictions do not seem to be correlated to the intermittent dynamics of the nematic order parameter. Comparatively, the spatially averaged  $\langle P_z \rangle(t)$  has a much smoother behavior in time and does not present hysteresis, but it is correlated to the global nematic order parameter. This is to be expected from theoretical arguments that predict that longitudinal stresses should be released in systems of misaligned rods [21].

We emphasize that, unlike  $P_x$ , the longitudinal pressure  $P_z$  is very heterogeneously distributed in space, in such a way that most of the rods are subjected to small stresses while very large stresses are supported by a few rods. This trend is opposite to the prediction of a simple continuum theory (which ignores granularity), which is that not-so-stressed rods should be less numerous than highly stressed rods. The distribution of  $P_z$  is well fitted by a truncated power law at low friction and by two power-laws at large friction. For comparison, the probability distribution function of the contact forces in jammed packings of nonactive grains is generically exponential, i.e., comparatively much more homogeneous [29]. Contact forces also remain exponentially distributed in sheared packings of elongated particles [31].

In the proliferating systems studied here, a global state of compressive stress thus emerges from individual cell growth and division. This parallels the case of advancing sheets of epithelial cells in a channel, where global states of tensile stress have been observed in experiments [32]. In those experiments, traction did not result from leader cells at the edge of the

sheet dragging those behind, but from the cells located deep inside the tissue. It was observed that the traction force also followed a profile approximately parabolic and exhibited, at a fixed location, large temporal fluctuations. These fluctuations were exponentially distributed, though, as in static granular materials [32].

Previous studies have shown that dense colonies of growing bacteria are able to self-organize and form crowds that efficiently escape from confining domains [22]. Our results further suggest that active systems subjected to external perturbations (such as an average pressure increase) could have the ability to self-organize in such a way that only a few particles would actually be affected by the perturbation. Our

findings could have implications for understanding the growth of real tissues and biofilms, where individual cells subjected to large stresses are known to grow at a reduced rate or not to grow at all [19,20]. Colonies of bacteria or other cell types may be able to keep growing in adverse conditions and the study of such robustness should motivate further studies.

#### ACKNOWLEDGMENTS

S.O.F. acknowledges financial support from CONACYT, Scholarship Grant No. 174695. We thank W. Mather, V. Romero, E. Ruíz-Gutiérrez, L. S. Tsimring, and R. Zenit for valuable discussions.

- 
- [1] X.-L. Wu and A. Libchaber, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 3017 (2000).
- [2] T. S. Deisboeck and I. D. Couzin, *BioEssays* **31**, 190 (2009).
- [3] A. Kudrolli, G. Lumay, D. Volfson, and L. S. Tsimring, *Phys. Rev. Lett.* **100**, 058001 (2008).
- [4] M. C. Marchetti, J. F. Joanny, S. Ramaswamy, T. B. Liverpool, J. Prost, Madan Rao, and R. Aditi Simha, arXiv:1207.2929.
- [5] H. H. Wensink and H. Löwen, *J. Phys.: Condens. Matter* **24**, 464130 (2012).
- [6] H. H. Wensink, J. Dunkel, S. Heidenreich, K. Drescher, R. E. Goldstein, and J. M. Yeomans, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 14308 (2012).
- [7] J. Dunkel, S. Heidenreich, K. Drescher, H. H. Wensink, M. Bar, and R. E. Goldstein, *Phys. Rev. Lett.* **110**, 228102 (2013).
- [8] S. Henkes, Y. Fily, and M. C. Marchetti, *Phys. Rev. E* **84**, 040301(R) (2011).
- [9] H. P. Zhang, A. Be'er, E.-L. Florin, and H. L. Swinney, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 13626 (2010).
- [10] F. Peruani, J. Starruß, V. Jakovljevic, L. Søgaaard-Andersen, A. Deutsch, and Markus Bar, *Phys. Rev. Lett.* **108**, 098102 (2012).
- [11] A. Baskaran and M. C. Marchetti, *Phys. Rev. Lett.* **101**, 268101 (2008).
- [12] A. Baskaran and M. C. Marchetti, *Phys. Rev. E* **77**, 011920 (2008).
- [13] F. Ginelli, F. Peruani, M. Bar, and H. Chate, *Phys. Rev. Lett.* **104**, 184502 (2010).
- [14] A. Peshkov, I. S. Aranson, E. Bertin, H. Chaté, and F. Ginelli, *Phys. Rev. Lett.* **109**, 268701 (2012).
- [15] Y. Yang, V. Marceau, and G. Gompper, *Phys. Rev. E* **82**, 031904 (2010).
- [16] R. D. Campbell, *J. Morphol.* **121**, 19 (1967).
- [17] G. Cheng, B. B. Youssef, P. Markenscoff, and K. Zygourakis, *Biophys. J.* **90**, 713 (2006).
- [18] M. Poujade, E. Grasland-Mongrain, A. Hertzog, J. Jouanneau, P. Chavier, B. Ladoux, A. Buguin, and P. Silberzan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 15988 (2007).
- [19] A. R. Kansal, S. Torquato, G. R. Harsh, E. A. Chiocca, and T. S. Deisboeck, *J. Theor. Biol.* **203**, 367 (2000).
- [20] D. Volfson, S. Cookson, J. Hasty, and L. S. Tsimring, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 15346 (2008).
- [21] D. Boyer, W. Mather, O. Mondragón-Palomino, S. Orozco-Fuentes, T. Danino, J. Hasty, and L. S. Tsimring, *Phys. Biol.* **8**, 026008 (2011).
- [22] H. Cho, H. Jönsson, K. Campbell, P. Melke, J. W. Williams, B. Jedynek, A. M. Stevens, A. Groisman, and A. Levchenko, *PLoS Biol.* **5**, e302 (2007).
- [23] T. Brotto, J.-B. Caussin, E. Lauga, and D. Bartolo, *Phys. Rev. Lett.* **110**, 038101 (2013).
- [24] D. Volfson, A. Kudrolli, and L. S. Tsimring, *Phys. Rev. E* **70**, 051312 (2004).
- [25] M. Doi and S. F. Edwards, *The Theory of Polymer Dynamics* (Oxford University Press, Oxford, 1986).
- [26] See Supplemental Material at <http://link.aps.org/supplemental/10.1103/PhysRevE.88.012715> for simulations of systems of growing rods.
- [27] C. Huepe and M. Aldana, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 168701 (2004).
- [28] P. Berge, Y. Pomeau, and C. Vidal, *Order within Chaos: Towards a Deterministic Approach to Turbulence* (Wiley & Sons, New York, 1987).
- [29] C.-h. Liu, S. R. Nagel, D. A. Schecter, S. N. Coppersmith, S. Majumdar, O. Narayan, and T. A. Witten, *Science* **269**, 513 (1995).
- [30] Hysteresis behavior is also found in (nonconfined) systems of deformable self-propelled particles with repulsive interactions, see Y. Itino, T. Ohkuma, and T. Ohta, *J. Phys. Soc. Jpn.* **80**, 033001 (2011).
- [31] E. Azéma and F. Radjaï, *Phys. Rev. E* **85**, 031303 (2012).
- [32] X. Trepast, M. R. Wasserman, T. E. Angelini, E. Millet, D. A. Weitz, J. P. Butler, and J. J. Fredberg, *Nat. Phys.* **5**, 426 (2010).



# Bibliografía

- [1] Eric Lauga and Thomas R. Powers. The hydrodynamics of swimming microorganisms. *Reports on Progress in Physics*, 72:096601, 2009.
- [2] J. Gachelin, A. Rousselet, A. Linder, and E. Clement. Collective motion in an active suspension of *escherichia coli* bacteria. *New Journal of Physics*, 16:025003, 2014.
- [3] Barath Ezhilath, Michael J. Shelley, and David Saintillan. Instabilities and nonlinear dynamics of concentrated active suspensions. *Physics of Fluids*, 25:070607, 2013.
- [4] Michael Eisenbach. *Chemotaxis*. Imperial College Press, 2004.
- [5] Nikhil Mittal, Elena O. Budrene, Michael P. Brenner, and Alexander van Oudenaarden. Motility of *escherichia coli* cells in clusters formed by chemotactic aggregation. *PNAS*, 100(23), 2003.
- [6] Lev Tsimring and Herbert Levine. Aggregation patterns in stressed bacteria. *Physical Review Letters*, 75(9), 1995.
- [7] Dmitri Volfson, Scott Cookson, Jeff Hasty, and Lev Tsimring. Biomechanical ordering of dense cell populations. *PNAS*, 105(40), 2008.
- [8] Dmitri Volfson, A. Kudrolli, and Lev S. Tsimring. Anisotropy-driven dynamics in vibrated granular rods. *Physical Review E*, 70:051312, 2004.
- [9] Denis Boyer, William Mather, Octavio Mondragón-Palomino, Sirio Orozco-Fuentes, Tal Danino, Jeff Hasty, and Lev S. Tsimring. Buckling instability in ordered bacterial colonies. *Physical Biology*, 8:026008, 2011.
- [10] Sirio Orozco-Fuentes and Denis Boyer. Order, intermittency, and pressure fluctuations in a system of proliferating rods. *Physical Review E*, 88:012715, 2013.
- [11] Tarig Butt, Tabish Mufti, Ahmad Humayun, Peter B. Rosenthal, Sohaib Khan, and Justin E. Molloy. Myosin motors drive long range alignment of actin filaments. *Journal of Biological Chemistry*, 285(7):4964–4974, 2010.
- [12] Volker Schaller, Christoph Weber, Christine Semmrich, Erwin Frey, and Andreas R. Bausch. Polar patterns of driven filaments. *Nature*, 467:73–77, 2010.

- [13] András Czirók, Albert-László Barabási, and Tamás Vicsek. Collective motion of self-propelled particle: Kinetic phase transition in one dimension. *Physical Review Letters*, 82(1), 1999.
- [14] Tamás Vicsek and Anna Zafiris. Collective motion. *arXiv:1010.5017v1*, cond-mat.stat-mech, 2010.
- [15] Wouter-Jan Rappel, Alastair Nicol, Armand Sarkissian, and Herbert Levine. Self-organized vortex state in two-dimensional *dictyostelium* dynamics. *Physical Review Letters*, 83(6):1247–1250, 1999.
- [16] Seido Nagano. Modelling the model organism *dictyostelium discoideum*. *Develop. Growth Differ.*, 42:541–550, 2000.
- [17] David A. Kessler and Herbert Levine. Pattern formation in *dictyostelium* via the dynamics of cooperative biological entities. *Physical Review E*, 48(6):4801–4804, 1993.
- [18] Michael Kreig Yohanna Arboleda-Estudillo, Jan Stühmer, Nicholas A. Licata, Daniel J. Muller, and Carl-Philipp Heisenberg. Movement directionality in collective migration of germ layer progenitors. *Current Biology*, 20:161–169, 2010.
- [19] Peter Friedl and Darren Gilmour. Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer. *Molecular Cell Biology*, 10:445–457, 2009.
- [20] B. Szabó, G.J. Szöllösi, B. Gönci, Zs. Jurányi, D. Selmeczi, and Tamás Vicsek. Phase transition in the collective migration of tissue cells: experimental and model. *Physical Review E*, 74(061908), 2006.
- [21] Julio M. Belmonte, Gilberto L. Thomas, Leonardo G. Brunett, Rita M. C. de Almeida, and Hugues Chaté. Self-propelled particle model for cell-sorting phenomena. *Physical Review Letters*, 100:248702, 2008.
- [22] Thomas S. Deisboeck and Iain D. Couzin. Collective behavior in cancer cell populations. *BioEssays*, 31:190–197, 2009.
- [23] Iain D. Couzin, Jens Krause, Nigel R. Franks, and Simon A. Levin. Effective leadership and decision making in animal groups on the move. *Nature*, 433:513–516, 2005.
- [24] J. Buhl, D. J. T. Sumpter, I. D. Couzin, J. J. Hale, E. Despland, E.R. Miller, and S.J. Simpson. From disorder to order in marching locusts. *Science*, 312:1402–1406, 2006.
- [25] Ch. Becco, N. Vandewalle, J. Delcourt, and P. Poncin. Experimental evidences of a structural and dynamical transition in fish school. *Physica A*, 367:487–493, 2006.
- [26] Charlotte K. Hemelrijk and Hanspeter Kunz. Density distribution and size sorting in fish schools: an individual-based model. *Behavioral Ecology*, 16(1):178–187, 2004.

- [27] Ashley J. W. Ward, James E. Herbert-Read, David J. T. Sumpter, and Jens Krause. Fast and accurate decisions through collective vigilance in fish shoals. *PNAS*, 18(8):2312–2315, 2010.
- [28] Iztok Lebar Bajec and Frank H. Heppner. Organized flights in birds. *Animal Behaviour*, 78:777–789, 2009.
- [29] Y. Hayakawa. Spatiotemporal dynamics of skeins of wild geese. *Europhysics Letters*, 89:48004, 2010.
- [30] H. Hildenbrandt, C. Carere, and C. K. Hemelrijk. Self-organized aerial displays of thousands of starlings: a model. *Behavioral Ecology*, 21(6):1349–1359, 2010.
- [31] Andrew J. King, Caitlin M. S. Douglas, Elise Huchard, Nick J. B. Isaac, and Guy Cowlshaw. Fast and accurate decisions through collective vigilance in fish shoals. *Current Biology*, 18(23):1833–1838, 2008.
- [32] Ilya R. Fischhoff, Siva R. Sundaresan, Justine Cordingley, Heather M. Larkin, Marie-Jeanne Sellier, and Daniel I. Rubenstein. Social relationships and reproductive state influence leadership roles in movements of plains zebra, *equus burchellii*. *Animal Behaviour*, 73:825–834, 2007.
- [33] Jolyon J. Faria, John R. G. Dyer, Colin R. Tosh, and Jens Krause. Leadership and social information use in human crowds. *Animal Behaviour*, 79:895–901, 2010.
- [34] Vijay Narayan, Sriram Ramaswamy, and Narayanan Menon. Long-lived giant number fluctuations in a swarming granular nematic. *Science*, 317:105–108, 2007.
- [35] Arshad Kudrolli. Concentration dependent diffusion of self-propelled rods. *Physical Review Letters*, 104:088001, 2010.
- [36] Michael Ibele, Thomas E. Mallouk, and Ayusman Sen. Schooling behavior of light-powered autonomous micromotors in water. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48:3308–3312, 2009.
- [37] Eric Heisler, Nobuhiko J. Suematsu, Akinori Awazu, and Hiraku Nishimori. Swarming of self-propelled camphor boats. *Physical Review E*, 85:055201, 2012.
- [38] M. I. Rabinovich, A. B. Ezersky, and P. D. Weidman. *The Dynamics of Patterns*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2000.
- [39] Daniel L. Blair, T. Neicu, and A. Kudrolli. Vortices in vibrated granular rods. *Physical Review E*, 67:031303, 2003.
- [40] Sumpter David J. T. *Collective Animal Behavior*. Princenton University Press, 2010.
- [41] Henri Weimerskirch, Julien Martin, Yannick Clerquin, Peggy Alexandre, and Sarika Jiraskova. Energy saving in flight formation. *Nature: Brief Communications*, 413(4):697–698, 2001.

- [42] M. Ballerini, N. Cabibbo, R. Candelier, A. Cavagna, E. Cisbani, I. Giardina, V. Lecomte, A. Orlandi, G. Parisi, A. Procaccini, M. Viale, and V. Zdravkovic. Interaction ruling animal collective behavior depends on topological rather than metric distance: Evidence from a field study. *PNAS*, 105(4):1232–1237, 2008.
- [43] Alexandre J. Kabla. Collective cell migration: Leadership, invasion and segregation. *arXiv:1108.4286v1*, [q-bio.CB], 2011.
- [44] T. Vicsek, A. Czirók, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and O. Shochet. Novel type of phase transition in a system of self-driven particles. *Physical Review Letters*, 75:1226–1229, 1995.
- [45] Tony Romeo. *Current topics in microbiology and immunology: Bacterial Biofilms*. Springer-Verlag, 2008.
- [46] Eshel Ben-Jacob, Inon Cohen, and Herbert Levine. Cooperative self-organization of microorganisms. *Advances in Physics*, 49(4):395–554, 2000.
- [47] Elena O. Budrene and Howard C. Berg. Complex patterns formed by motile cells of *escherichea coli*. *Nature*, 349, 1991.
- [48] HoJung Cho, Henrik Jonsson, Kyle Campbell, Pontus Melke, Joshua W. Williams, Bruno Jedynak, Ann M. Stevens, Alex Groisman, and Andre Levchenko. Self-organization in high-density bacterial colonies: Efficient crowd control. *PLoS Biology*, 5(11), 2007.
- [49] Howard Berg. *E. coli in Motion*. Springer, 2003.
- [50] M. Doi and S. F. Edwards. *The Theory of Polymer Dynamics*. Oxford University Press, 1988.
- [51] Masao Doi. *Soft Matter Physics*. Oxford University Press, 2013.
- [52] Maurice Kleman and Oleg D. Lavrentovich. *Soft Matter Physics: An Introduction*. Springer, 2003.
- [53] Feng Duan and Jin Guojun. *Introduction to Condensed Matter Physics: Volume 1*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2005.
- [54] David H. Eberly. Geometric tools. <http://www.geometrictools.com>, 2014.
- [55] B. Koren and C. Vuik. *Advanced Computational Methods in Science and Engineering, Lecture Notes in Computational Science and Engineering 71*. Springer-Verlag, 2010.
- [56] L. D. Landau and E. M. Lifshitz. *Elasticity Theory*. Pergamon Press, 1975.
- [57] K. L. Johnson. *Contact Mechanics*. Cambridge University Press, 1987.
- [58] J. Schäffer, S. Dippel, and D. E. Wolf. Force schemes in simulations of granular materials. *J. Phys. I France*, 6(1):5–20, 1996.

- [59] P. A. Cundall and O. D. L. Strack. A discrete numerical model for granular assemblies. *Géotechnique*, 29(1):47–65, 1979.
- [60] Stefan Luding. *Molecular Dynamics Simulations of Granular Materials, in The Physics of Granular Media (eds H. Hinrichsen and D. E. Wolf)*. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, FRG, 2005.
- [61] Henricus H. Wensink, Jörn Dunkel, Sebastian Heidenreich, Knut Drescher, Raymond E. Goldstein, Hartmut Löwen, and Julia M. Yeomans. Meso-scale turbulence in living fluids. *PNAS (36)*, 109:14308–14313, 2012.
- [62] Pierre Bergé, Yves Pomeau, and Christian Vidal. *Order within chaos: Towards a deterministic approach to turbulence*. John Wiley and Sons, 1984.
- [63] H. G. Schuster and W. Just. *Deterministic Chaos: An Introduction*. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 2005.
- [64] Juan L. Cabrera and John G. Milton. On-off intermittency in a human balancing task. *Physical Review Letters*, 89(15):158702, 2002.
- [65] Paul Manneville and Yves Pomeau. Intermittency and the lorenz model. *Physical Letters A*, 75(1-2), 1979.
- [66] A S Pikovsky. A new type of intermittent transition to chaos. *J. Phys. A: Math Gen.*, 16:L109–L112, 1983.
- [67] Won-Ho Kye and Chil-Min Kim. Characteristic relations of type-i intermittency in the presence of noise. *Physical Review E*, 62:6304–6307, 2000.
- [68] Alexander E. Hramov, Alexey A. Koronovskii, Maria K. Kurovskaya, Alexey A. Ovchinnikov, and Stefano Boccaletti. Length distribution of laminar phases for type-i intermittency in the presence of noise. *Physical Review E*, 76:026206, 2007.
- [69] Cristián Huepe and Maximino Aldana. Intermittency and clustering in a system of self-driven particles. *Physical Review Letters*, 92:168701, 2004.
- [70] Arun K. Subramaniyan and C.T. Sun. Continuum interpretation of virial stress in molecular simulations. *International Journal of Solids and Structures*, 45:4340–4346, 2008.
- [71] Steven W. Cranford and Markus J. Buehler. *Biomateriomics*. Springer Series in Materials Science, 2012.
- [72] Sherri L. Jackson. *Research Methods and Statistics*. Wadsworth Cengage Learning, 2012.
- [73] Yu Itino, Takahiro Ohkuma, and Takao Ohta. Collective dynamics of deformable self-propelled particles with repulsive interaction. *Journal of the Physical Society of Japan*, 80:033001, 2011.

- [74] C. h Liu, S. R. Nagel, D. A. Schecter, S. N. Coppersmith, S. Majumdar, O. Narayan, and T. A. Witten. Force fluctuations in beads packs. *Science*, 269(5223):513–515, 1995.
- [75] Emilien Azéma and Farhang Radjaï. Force chains and contact network topology in packings of elongated particles. *arXiv:1108.3164v1*, [physics.class-ph], 2011.
- [76] Paul M. Chaikin and T. C. Lubensky. *Principles of condensed matter physics*. Cambridge University Press, 2000.
- [77] Herbert Goldstein, Charles Poole, and John Safko. *Classical Mechanics*. Addison-Wesley, 2000.
- [78] L. D. Landau and E. M. Lifshitz. *Mechanics*. Pergamon Press, 1976.
- [79] William H. Press and Saul A. Teukolsky. *Numerical Recipes in FORTRAN 77: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, 1992.
- [80] Sebastian Sandersius, Manlo Chuai, Cornelis J. Weijer, and Timothy J. Newman. Correlating cell behavior with tissue topology in embryonic epithelia. *PLoS ONE*, 6(4):e18081, 2011.
- [81] Chang Dae Han. *Rheology and Processing of Polymeric Materials: Volume I Polymer Rheology*. Oxford University Press, 2007.
- [82] Toshihiro Kawakatsu. *Statistical Physics of Polymers: An Introduction*. Springer-Verlag, 2004.
- [83] H. H. Wensink and H. Löwen. Emergent states in dense systems of active rods: from swarming to turbulence. *J. Phys.: Condens. Matter*, 24:464130, 2012.
- [84] S. Torquato, T. M. Truskett, and P. G. Debenedetti. Is random close packing of spheres well defined? *Physical Review Letters*, 84(10), 2000.
- [85] Boris D. Lubachevsky, Frank H. Stillinger, and Elliot N. Pinson. Disks vs. spheres: Contrasting properties of random packings. *Journal of Statistical Physics*, 64(3-4), 1991.
- [86] A. R. Kansal, S. Torquato, G. R. Harsh IV, E. A. Chiocca, and T. S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *J. Theor. Biol.*, 203(4):367–382, 2009.
- [87] Dirk Drasdo. Buckling instabilities of one-layered growing tissues. *Physical Review Letters*, 84(18):4244–4247, 2000.
- [88] Boris I. Shraiman. Mechanical feedback as a possible regulator of tissue growth. *PNAS*, 102(9):3318–3323, 2005.
- [89] F. M. Sánchez, H. Tapia-McClung, G. Pulos, and R. Zenit. Reduction of compaction force in a confined bidisperse granular media. *Physical Review E*, 87:052210, 2013.

- [90] X. Yang, M. L. Manning, and M. C. Marchetti. Aggregation and segregation of confined active particles. *arXiv:1403.0697v1*, cond-mat.soft, 2014.
- [91] Enys Mones, Czirók András, and Tamás Vicsek. Anomalous segregation dynamics of self-propelled particles. *arXiv:1401.0951v1*, cond-mat.soft, 2014.
- [92] Kevin Cahill. *Physical Mathematics*. Cambridge University Press, 2013.