
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MARIO AGENO

**La crescita batterica. II: Il processo di
desincronizzazione di una coltura**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 82 (1988), n.3, p. 595–602.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1988_8_82_3_595_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biofisica. — La crescita batterica. II: Il processo di desincronizzazione di una coltura (*). Nota (**) del Corrisp. MARIO AGENO.

ABSTRACT. — *Bacterial growth. II: Desynchronization entropy of a bacterial culture.* The initial phase of growth of a bacterial culture in liquid medium is examined, in relation to the transition from the initial conditions, in which any distribution of the bacterial ages can be pre-arranged by the experimentalist, to the ordinary phase of exponential growth, in which the distribution of the bacterial ages is stationary.

We realize that a synchronized culture is more ordered than a desynchronized one, and the natural tendency of any culture to desynchronize itself follows as a consequence of the second principle of thermodynamics. The fundamental nature of the causes of this trend is discussed and the effects of the consequent fluctuations in the bacterial duplication time, τ_N , are considered.

From all that, a simple method to evaluate the entropy of desynchronization of a bacterial culture is devised and the calculation effected. The result is:

$$\Delta S_{\text{des}} = k_B N \ln \left[\frac{e}{2 \ln 2} \right] = 0,673366 k_B N$$

nearly $(2/3)k_B$ per bacterium.

KEY WORDS: Bacterial culture; Bacterial growth; Desynchronization entropy.

RIASSUNTO. — L'andamento della curva di crescita della numerosità di una coltura batterica dipende, nella sua fase iniziale, dalla ripartizione della età tra i batteri dell'inoculo. Ben presto, tuttavia, ogni ricordo delle condizioni iniziali va perduto e la curva di crescita diventa una esponenziale, in cui la legge di ripartizione delle età tra i batteri della coltura è stazionaria. Questo processo di desincronizzazione spontanea di ogni coltura batterica viene messo in relazione col secondo principio della termodinamica e viene calcolata, facendo ricorso ad un semplice artificio, l'entropia di desincronizzazione, che risulta pari a:

$$\Delta S_{\text{des}} = k_B N \ln \left[\frac{e}{2 \ln 2} \right] = 0,673366 k_B N$$

cioè, circa $(2/3)k_B$ per batterio.

In un precedente lavoro [1], è stato posto in rilievo come una coltura batterica in terreno liquido tenda sempre a portarsi in uno stato di crescita, in cui ogni memoria delle condizioni iniziali è andata perduta. La legge limite di crescita del numero

(*) Questa ricerca è stata in parte finanziata dal Consiglio Nazionale delle Ricerche, Comitato per la Fisica.

(**) Presentata nella seduta del 13 febbraio 1988.

dei batteri, - l'ordinaria legge di crescita esponenziale, - è caratterizzata dal fatto che la legge di ripartizione delle età batteriche tra tutti i batteri della coltura è diventata stazionaria. Essa è anzi l'unica legge di crescita che goda di questa proprietà.

Vogliamo ora esaminare un po' meglio questo passaggio di una coltura allo stato di crescita esponenziale, a partire da condizioni iniziali che, per ciò che riguarda la ripartizione delle età batteriche, si possono assegnare ad arbitrio.

Supponiamo per semplicità che la coltura si sviluppi da un unico batterio capostipite, inoculato al tempo $T = 0$ in un conveniente terreno liquido, all'età $t = 0$. Vediamo prima di tutto di elencare le principali caratteristiche del sistema.

La crescita del numero dei batteri ha luogo senza che ci siano apprezzabili interazioni tra batterio e batterio [5]. Ogni batterio ha però una durata di vita τ , al termine della quale viene sostituito nella coltura da due batteri di età zero: questa sostituzione può anche essere considerata un tipo molto particolare di interazione tra batteri ed è essa che, finché lo stato di crescita esponenziale non è raggiunto, determina un progressivo cambiamento della legge di ripartizione delle età batteriche.

La durata della vita, come già sappiamo [1], varia da batterio a batterio. La probabilità che un batterio ha di dividersi ad una età compresa tra τ e $\tau + d\tau$, si può supporre data da un'espressione del tipo:

$$(1) \quad p(\tau)d\tau = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_0} e^{-\frac{(\tau-\tau_N)^2}{2\sigma_0^2}} d\tau$$

una distribuzione di probabilità gaussiana, centrata sul valor medio τ_N e con scarto quadrato medio σ_0 , che si suppone molto minore di τ_N :

$$(2) \quad \sigma_0 \ll \tau_N$$

La (1) rappresenta anche la distribuzione dei valori di τ tra i batteri della coltura. Ne segue che questi ultimi risultano all'inizio sincronizzati. Se si riporta in un grafico il logaritmo del numero N dei batteri in funzione del tempo T di sviluppo della coltura, la curva di crescita è all'inizio una linea a gradini, che tuttavia col passare del tempo si vanno sempre più smussando fino a sparire del tutto, mentre il grafico si riduce a una retta: una crescita esponenziale con periodo di duplicazione τ_N .

Si dimostra subito che la distribuzione dei tempi a cui muoiono i batteri della g^{esima} generazione (il capostipite rappresentando la 1° generazione) è data da:

$$(3) \quad P_g(T)dT = \frac{1}{\sqrt{2\pi g}\sigma_0} e^{-\frac{(T-g\tau_N)^2}{2g\sigma_0^2}} dT$$

Quando g sia ormai tale che:

$$(4) \quad \sqrt{g}\sigma_0 \geq \tau_N$$

sono presenti contemporaneamente nella coltura batteri di diverse generazioni, la fra-

zione di batteri che si divide per unità di tempo risulta ormai sempre costante e la curva di crescita è diventata un'esponenziale.

Quando la coltura è completamente desincronizzata, un batterio non ha soltanto probabilità di morte per unità di tempo costante: anche la probabilità che esso venga trovato con età compresa tra t e $t + dt$ è dt/τ_N , cioè costante, indipendente da t . Infatti, (astruendo dalle fluttuazioni di τ), quel batterio esiste nella coltura solo per un intervallo di tempo tra un certo istante T_0 e $T_0 + \tau_N$, e in quell'intervallo assume tutte le età da 0 a τ_N coll'avanzare del tempo. Per cui la probabilità che, osservandolo a caso, lo si trovi in un intervallo di età di ampiezza dt è appunto dt/τ_N .

Presi poi a caso due batteri della coltura, le loro età risultano più o meno strettamente correlate, a seconda del numero di generazioni trascorse a partire dall'ultimo antenato comune. Se questo era della g' esima generazione e i due batteri sono entrambi della g esima generazione, la differenza tra i tempi di morte della coppia di batteri considerata ha una distribuzione di probabilità gaussiana, con scarto quadratico medio pari a $\sqrt{2(g - g')} \sigma_0$. I batteri così correlati col primo estratto sono $2^{g-g'-1}$ per cui la relativa probabilità è $2^{-g'}$.

D'altra parte, la distribuzione dei tempi a cui muore un batterio della g esima generazione è data dalla (3). Per cui la probabilità che la correlazione tra le morti di due batteri estratti a caso sia rappresentata da una gaussiana più stretta della (3) è dell'ordine di $2^{-g/2}$, e diventa quindi ben presto trascurabile al crescere di g . Per g sufficientemente elevato, dunque, si possono trascurare le correlazioni tra i tempi di morte di batteri estratti a caso dalla coltura. Parimenti, si possono considerare indipendenti le probabilità che due batteri scelti a caso abbiano età comprese tra t_1 e $t_1 + dt_1$ e t_2 e $t_2 + dt_2$ rispettivamente, come se i due batteri appartenessero a linee filetiche completamente separate.

Osserviamo infine che, dal momento in cui la coltura si è ormai completamente desincronizzata, la crescita esponenziale non continua indefinitamente, ma si arresta nel momento in cui il glucosio utilizzabile del mezzo di coltura si esaurisce. È la quantità di glucosio inizialmente disciolta nel mezzo che determina il numero N_s di batteri che saranno presenti nella coltura in saturazione, mentre il tempo T_s , a cui la coltura passa alla saturazione è soggetto a fluttuazioni dipendenti dalle fluttuazioni del periodo di duplicazione dei batteri, date dalla (1).

Possiamo concludere da quanto detto sopra, che ogni batterio ha probabilità di essere colto dalla saturazione ad un'età compresa tra t e $t + dt$ pari a dt/τ_N , indipendente da t , se la coltura è completamente desincronizzata, e che questi eventi, relativi a batteri diversi, si possono considerare indipendenti.

Queste dunque le principali caratteristiche del sistema costituito dalla coltura batterica in libera crescita. Vediamo ora che cosa si può dire, sulla base di esse, a proposito del processo di desincronizzazione.

Si è portati ad ammettere, intuitivamente, che una coltura in crescita rigorosamente sincronizzata è "più ordinata" di una coltura in cui le divisioni cellulari siano invece sfasate a caso nel tempo, in modo che ogni batterio abbia una probabilità di dividersi per unità di tempo sempre costante. Da questo punto di vista, la tendenza

di qualsiasi coltura batterica a realizzare una distribuzione delle età batteriche stazionaria si giustifica come un aspetto particolare del secondo principio della termodinamica. Non è però evidente a prima vista il modo in cui il processo spontaneo di desincronizzazione, che ha luogo in qualunque coltura "isolata", sia collegato con un aumento dell'entropia del sistema.

Per capirlo, confrontiamo tra loro gli stati finali di due colture partenti dallo stesso iniziale, – un singolo batterio di età zero, immerso nella stessa quantità dello stesso liquido nutritivo, nelle stesse condizioni di crescita, – nell'ipotesi che una di esse (ideale) si mantenga sempre sincronizzata, mentre l'altra, come qualunque coltura reale, in un certo numero di periodi di duplicazione si porti nel solito stato di crescita esponenziale, completamente desincronizzata.

In ambedue le colture, la crescita del materiale biologico si arresta, quando la concentrazione del glucoso nel mezzo liquido scende al di sotto di una certa soglia c_1 [3]. I batteri continuano però a dividersi regolarmente e quindi il loro numero continua ad aumentare, per una frazione del periodo di duplicazione, finché la concentrazione residua del glucoso non scende al di sotto di una seconda soglia c_2 . A questo punto, anche la duplicazione del DNA e le divisioni cellulari si arrestano in modo sincrono in tutte le cellule: ciascuna cellula resta bloccata a quel punto del processo di crescita che aveva raggiunto all'istante del superamento della seconda soglia [4].

Lo stato di saturazione che ne consegue è dunque assai diverso nelle due colture. Nella coltura rimasta sincronizzata, ad esempio, tutte le cellule nello stato di saturazione hanno le forchette replicative del DNA ferme negli stessi punti del cromosoma. Nella coltura desincronizzata, invece, le forchette replicative nelle diverse cellule sono distribuite lungo tutto il cromosoma, secondo una legge che corrisponde alla legge di distribuzione delle età batteriche stazionaria, caratteristica della crescita esponenziale della coltura. È evidente che questo secondo stato di saturazione si può realizzare in un numero di modi molto maggiore di quello in cui si può realizzare il primo, il che significa che nello stato di saturazione finale l'entropia della coltura desincronizzata è maggiore di quella della coltura sincronizzata.

Queste considerazioni qualitative suggeriscono un semplice metodo per il calcolo della *entropia di desincronizzazione* di una coltura. A questo scopo, per descrivere lo stato di una coltura in saturazione, viene l'idea di introdurre un parametro di avanzamento, il cui valore per ogni cellula coincida con l'età che la cellula stessa aveva nel momento in cui la concentrazione del glucoso nel mezzo di coltura è scesa al di sotto della seconda soglia. Per evitare le difficoltà derivanti dal fatto che il parametro così introdotto varierebbe entro limiti indefiniti, a causa delle fluttuazioni del periodo di duplicazione dei batteri, conviene tuttavia che introduciamo per esso un valore medio ξ nel modo seguente. Per ogni cellula della coltura in saturazione, prendiamo in considerazione la posizione lungo il cromosoma delle forchette replicative e lo stato di avanzamento del processo di divisione. Attribuiamo alla cellula il valore di ξ uguale all'età media delle cellule che, nel corso della crescita esponenziale, si trovano nello stesso stato di avanzamento dei due processi. ξ varia allora tra 0 e τ_N .

Tutto ciò equivale a trascurare le fluttuazioni di τ di fronte a τ_N , il che è lecito nei limiti della (2).

Dividiamo l'intervallo $(0, \tau_N)$ in k intervallini tutti uguali tra loro, l' a^{esimo} intervallino essendo quello per cui:

$$(5) \quad \frac{a}{k} \tau_N \leq \xi \leq \frac{a+1}{k} \tau_N .$$

Consideriamo la coltura sincronizzata. Siccome il raggiungimento della soglia di concentrazione del glucosio c_2 può avvenire in qualsiasi momento, il valore di ξ comune a tutte le cellule della coltura in saturazione può cadere con uguale probabilità in uno qualsiasi degli intervallini in questione. Si hanno quindi nello stato finale k alternative possibili, ciascuna delle quali può realizzarsi con probabilità k^{-1} . Il numero dei microstati possibili per la coltura è quindi $k^{-1}k = 1$, e alla coltura sincronizzata si deve attribuire l'entropia:

$$(6) \quad S_{\text{sinc}} = k_B \ln 1 = 0$$

essendo k_B la costante di Boltzmann.

Passiamo ora a considerare la coltura completamente desincronizzata e supponiamo che alla saturazione essa contenga N batteri. Indichiamo con Δ_a il numero dei batteri i cui valori di ξ cadono nell' a^{esimo} intervallino. La distribuzione stazionaria delle età batteriche in una coltura in crescita esponenziale è, come sappiamo [1]:

$$(7) \quad N f(t) dt = N \frac{2 \ln 2}{\tau_N} 2^{-\frac{t}{\tau_N}} dt$$

e quindi la legge di distribuzione dei valori di ξ tra i batteri della coltura in saturazione sarà:

$$(7') \quad N f(\xi) d\xi = N \frac{2 \ln 2}{\tau_N} 2^{-\frac{\xi}{\tau_N}} d\xi .$$

Con una semplice integrazione si trova:

$$(8) \quad \Delta_a = N \left(2 - 2^{-\frac{k-1}{k}} \right) 2^{-\frac{a}{k}}$$

e risulta, come deve:

$$(9) \quad \sum_{a=0}^{k-1} \Delta_a = N .$$

Se la distribuzione delle età batteriche nella coltura non fosse quella stazionaria (7), che si realizza nel corso della crescita esponenziale, i numeri Δ_a avrebbero dei valori diversi da quelli dati dalla (8). A causa delle fluttuazioni nei tempi di duplicazione

dei batteri, avverrà che ogni distribuzione si possa realizzare in un certo numero di modi diversi. Vogliamo dimostrare che la distribuzione (8) è quella che si può realizzare nel numero di modi il maggiore possibile.

Prendendo in considerazione una distribuzione generica, osserviamo prima di tutto che ogni batterio ha una uguale probabilità k^{-1} di finire alla saturazione in uno qualunque degli intervallini (5). D'altra parte, per realizzare la distribuzione considerata dovremo incominciare col scegliere tra gli N batteri disponibili Δ_0 batteri da mettere nel primo intervallino e ciò si può fare in $\binom{N}{\Delta_0}$ modi diversi. Ma tra questi sono accettabili solo quei modi che corrispondono a microstati in cui questi batteri finiscono tutti nel primo intervallino al passaggio alla saturazione e la probabilità che ciò accada è $(k^{-1})^{\Delta_0}$. Così, i modi diversi in cui si può riempire il primo intervallino per realizzare la distribuzione desiderata saranno solo:

$$\left(\frac{1}{k}\right)^{\Delta_0} \binom{N}{\Delta_0}.$$

Per il secondo intervallino si trova in modo analogo un numero di modi diversi di riempirlo dato da:

$$\left(\frac{1}{k}\right)^{\Delta_1} \binom{N - \Delta_0}{\Delta_1}$$

ed espressioni analoghe si trovano per gli altri intervallini. Il numero totale dei microstati accessibili risulta in definitiva:

$$(10) \quad \Omega = \left(\frac{1}{k}\right)^N \frac{N!}{\Delta_0! \Delta_1! \dots \Delta_{k-1}!}$$

dove si è fatto uso della (9). Prendendo il logaritmo naturale dei due membri e approssimando i fattoriali con la formula ridotta di Stirling, si ha di qui:

$$(11) \quad \ln \Omega = N \ln \left(\frac{N}{k}\right) - \sum_0^{k-1} \Delta_a \ln \Delta_a.$$

Dobbiamo ora trovare quali sono i numeri Δ_a che rendono massimo $\ln \Omega$, sotto la condizione (9). Osserviamo a questo scopo che se, aumentando convenientemente la concentrazione iniziale del glucoso, avessimo ritardato di un tempo τ_N/k il raggiungimento della saturazione, i Δ_a batteri che si trovano nell'intervallino a^{esimo} sarebbero finiti invece nell'intervallino $(a+1)^{\text{esimo}}$ seguente, mentre i batteri dell'ultimo intervallino, il k^{esimo} , si sarebbero duplicati e i loro figli sarebbero finiti nel primo intervallino. Il numero totale dei batteri sarebbe così passato da N a $(N + \Delta_{k-1})$.

D'altra parte, il $\ln \Omega$, anche fuori del massimo, è proporzionale al numero N dei batteri. Se al tempo T_s del raggiungimento della saturazione ci fossero stati nella coltura $2N$ batteri, anziché N , avremo avuto:

$$\frac{1}{2N} \ln \Omega(2N) = \ln \left(\frac{2N}{k}\right) - \sum_0^{k-1} \frac{2\Delta_a}{2N} \ln(2\Delta_a) =$$

$$= \ln \left[\frac{N}{k} \right] + \ln 2 - \sum_0^{k-1} a \frac{\Delta_a}{N} \ln \Delta_a - \frac{1}{N} \sum_0^{k-1} a \Delta_a \cdot \ln 2 = \frac{1}{N} \ln \Omega(N) .$$

Ne segue che se T_s è il tempo a cui la coltura ha raggiunto la saturazione e se a questo tempo per ogni N il $\ln \Omega$ è al massimo del suo valore, aumentando convenientemente la quantità iniziale del glucoso, si deve ancora avere:

$$(12) \quad \frac{1}{N} \ln \Omega(T_s) = \frac{1}{N + \Delta_{k-1}} \ln \Omega(T_s + \tau_N/k) .$$

Analogamente, se ritardassimo la saturazione fino al tempo $(T_s + a\tau_N/k)$, avremmo nelle stesse condizioni:

$$(12') \quad \frac{1}{N} \ln \Omega(T_s) = \frac{1}{N + \Delta_{k-1} + \dots + \Delta_{k-a}} \ln \Omega(T_s + a\tau_N/k) .$$

Secondo la (12) si ha dunque

$$\begin{aligned} & \ln \left(\frac{N}{k} \right) - \left[\frac{\Delta_0}{N} \ln \Delta_0 + \frac{\Delta_1}{N} \ln \Delta_1 + \dots + \frac{\Delta_{k-1}}{N} \ln \Delta_{k-1} \right] = \\ & = \ln \left(\frac{N + \Delta_{k-1}}{k} \right) - \left[\frac{2\Delta_{k-1}}{N + \Delta_{k-1}} \ln (2\Delta_{k-1}) + \frac{\Delta_0}{N + \Delta_{k-1}} \ln \Delta_0 + \dots + \frac{\Delta_{k-2}}{N + \Delta_{k-1}} \ln \Delta_{k-2} \right] \end{aligned}$$

e analoghe espressioni si ricavano dalla (12') per i vari valori a . Ciò richiede che sia

$$\frac{2\Delta_{k-1}}{\Delta_0} = \frac{\Delta_0}{\Delta_1} = \frac{\Delta_1}{\Delta_2} = \dots = \frac{\Delta_{k-2}}{\Delta_{k-1}} = \frac{N + \Delta_{k-1}}{N} = \gamma$$

essendo γ una costante opportuna. Viene allora:

$$2\Delta_{k-1} = \gamma\Delta_0 = \gamma^k \Delta_{k-1} \quad \gamma = 2^{\frac{1}{k}}$$

e quindi:

$$\Delta_a = \left(2 - 2^{\frac{k-1}{k}} \right) 2^{-\frac{a}{k}} \cdot N$$

che è ciò che abbiamo ottenuto, integrando tra $a(\tau_N/k)$ e $(a+1)(\tau_N/k)$ la distribuzione stazionaria (7').

Con questi valori dei numeri Δ_a , che sono dunque quelli che rendono massimo $\ln \Omega$, la sommatoria a secondo membro della (11) si calcola subito, tenendo conto delle identità:

$$(13) \quad \sum_0^{k-1} a 2^{-\frac{a}{k}} = \frac{1}{2 - 2^{-\frac{k-1}{k}}} , \quad \sum_0^{k-1} a \Delta_a 2^{\frac{a}{k}} = \frac{2^{\frac{k-1}{k}}}{(2 - 2^{\frac{k-1}{k}})^2} .$$

Risulta:

$$(14) \quad \sum_0^{k-1} a \Delta_a \ln \Delta_a = N \ln [N(2 - 2^{\frac{k-1}{k}})] - N \frac{2^{\frac{k-1}{k}} \cdot \ln 2}{k(2 - 2^{\frac{k-1}{k}})} .$$

Sostituendo nella (11) viene:

$$(15) \quad \ln \Omega = N \frac{2^{\frac{k-1}{k}} \cdot \ln 2}{k(2 - 2^{\frac{k-1}{k}})} - N \ln[k(2 - 2^{\frac{k-1}{k}})] .$$

Si osservi ora che N è di regola un numero molto grande. Per 100 ml di coltura in saturazione, N è dell'ordine di $10^{11} + 10^{12}$. Di conseguenza, anche se prendiamo k dell'ordine di 10^8 , avremo ancora più di 10^3 batteri per intervallino. Questi numeri non solo sono tali da giustificare ampiamente l'uso della formula di Stirling ridotta per la valutazione dei fattoriali, ma anche consentono di confondere il secondo membro della (15) col suo limite per k tendente a infinito. Ora, è:

$$(16) \quad \lim_{k \rightarrow \infty} k(2 - 2^{\frac{k-1}{k}}) = 2 \ln 2 .$$

Per cui:

$$(17) \quad \ln \Omega = N - N \ln[2 \ln 2]$$

e infine:

$$(18) \quad \Delta S_{\text{sin}} = k_B N \ln \left[\frac{e}{2 \ln 2} \right] = 0,673366 k_B N \approx \frac{2}{3} k_B N .$$

È questa l'espressione cercata della *entropia di desincronizzazione* di una coltura batterica. Tale entropia vale circa $(2/3)k_B$ per batterio e continua a crescere al crescere del numero dei batteri, anche quando la coltura, completamente desincronizzata, è in crescita esponenziale. Ciò si giustifica, osservando che, quando un batterio si divide, i due batteri di età zero che ne prendono il posto sono all'inizio sincronizzati: essi danno inizio ad un clone, indipendente da tutti gli altri batteri della coltura, che a sua volta, col susseguirsi delle generazioni, va progressivamente desincronizzandosi.

Un'idea dell'ordine di grandezza dell'entropia di desincronizzazione si ha osservando che un'ordinaria coltura batterica di laboratorio può contenere in un litro circa 10^{12} batteri. Risulta in tal caso:

$$\Delta S_{\text{des}} = 0,673 \times 1,381 \cdot 10^{-23} \times 10^{12} = 0,93 \cdot 10^{-11} \text{ J/}^\circ\text{K}.$$

È poi ovvio che la (18) vale anche per una coltura il cui inoculo, anziché da un batterio singolo, sia costituito da un qualunque numero di batteri sincronizzati.

BIBLIOGRAFIA

- [1] AGENO M. *La crescita batterica. I: la legge di crescita della numerosità batterica*, Rend. Acc. Naz. Lincei, vol. 81 (1987).
- [2] Si veda tuttavia: AGENO M. and MATRICCIANI M.A. *Interazioni tra batteri in coltura liquida*, Rend. Acc. Naz. Lincei, 77, 205 (1984).
- [3] AGENO M., SALVATORE A.M. and VALLERANI D. *Stati di crescita stazionari e transitori di una coltura batterica*, Rend. Acc. Naz. Lincei, 80, 244 (1986).
- [4] AGENO M., BENINI M. and MATRICCIANI M.A., *Fattori limitanti la crescita batterica*, Rend. Acc. Naz. Lincei, 80, 447 (1986).