

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO AGENO

## La crescita batterica. III: La legge di crescita del singolo batterio

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 83 (1989), n.1, p. 335–341.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1989\\_8\\_83\\_1\\_335\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1989_8_83_1_335_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. III: La legge di crescita del singolo batterio* (\*).  
Nota (\*\*) del Corrisp. MARIO AGENO.

ABSTRACT. — *Bacterial growth. III: The law of growth of a single bacterial cell.* Examining how a bacterial cell provides oneself with glucose from the medium and how the components needed to extend the bacterial envelop are synthesized, one can write down two very simple simultaneous linear differential equations of the first order, whose solution gives the laws of growth of the biological mass and of the surface of the cell.

Both of the laws of growth are exponential only if the biological mass per unit surface initially assumes a given equilibrium value. Otherwise, a transient decreasing exponential term is also present, with half life equal to the doubling time of the increasing principal term. The possibility of an experimental check of such a provision of the theory is discussed.

KEY WORDS: Bacterial cultures; Bacterial growth; Laws of growth.

RIASSUNTO. — Semplici considerazioni sul come un batterio si rifornisce di glucosio dal mezzo di coltura e sul come vengono sintetizzati i precursori per l'estensione dell'involucro batterico, portano a scrivere due semplicissime equazioni differenziali del primo ordine, simultanee, che determinano le leggi con cui si accrescono col tempo la massa biologica e la superficie del batterio. Entrambe le leggi di crescita sono esponenziali, solo se la massa biologica per unità di superficie assume inizialmente un ben determinato valore di equilibrio. Altrimenti, alla crescita esponenziale risulta sovrapposto un transiente, rappresentato da un termine esponenziale decrescente, con periodo di dimezzamento uguale al periodo di duplicazione dell'esponenziale crescente. Viene discussa la possibilità di una verifica sperimentale, offerta da tale previsione della teoria.

Delle tre leggi di crescita che è necessario prendere in considerazione per porre le basi di una teoria della crescita batterica in terreno liquido [1-5] solo la prima, e precisamente la crescita della numerosità batterica, è stata finora da noi esaminata in precedenti lavori. Vogliamo ora passare ad occuparci del batterio singolo, con l'intento di dedurre poi, dalla relativa legge di crescita, la legge di crescita del materiale biologico in una coltura, procurandoci in tal modo la possibilità di mettere a confronto coi dati sperimentali i risultati della teoria.

Un aspetto particolarmente significativo dell'indagine svolta fin qui, è che abbiamo potuto portare avanti fino in fondo l'esame della crescita della numerosità batterica, senza fare alcun riferimento alla crescita del materiale biologico [6]. L'unica connessione esistente tra i due processi sembra essere costituito dalle fluttuazioni casuali di  $\tau$ , età a cui il batterio si divide in due, attorno al suo valore medio  $\tau_N$ , periodo di duplicazione della numerosità batterica della coltura, fluttuazioni casuali che determinano l'evoluzione della legge di crescita della numerosità batterica verso la forma esponenziale [7]. Ciò sembra indicare una quasi completa separazione, nel batterio, dei due livelli funzionali: il livello biochimico, a cui viene elaborato il materiale nutritivo e vengono sintetizzati i precursori e i prefabbricati per la crescita e la duplicazione della cellula; e il livello fisiologico, a cui si svolge e viene regolato il ciclo cellulare. Tutto ciò che

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

(\*\*) Presentata nella seduta dell'11 febbraio 1989.

abbiamo visto nei precedenti lavori, a proposito della legge di crescita della numerosità batterica, ha interessato esclusivamente questo secondo livello.

L'indipendenza della legge di crescita della numerosità batterica dalla legge di crescita del materiale biologico fornisce già da sola un suggerimento per ciò che riguarda la legge di crescita del singolo batterio. Tale indipendenza si può infatti interpretare nel senso che la massa biologica batterica continui a crescere secondo la stessa legge, sia che il batterio si accresca senza dividersi, sia che esso a un certo punto si divida in due.

Supponiamo infatti che la massa biologica di un batterio della coltura aumenti col tempo  $T$  secondo la legge:

$$(1) \quad m = m_0 f(T)$$

finché il batterio non si divide. Abbiamo qui indicato con  $f(T)$  una funzione da determinarsi, che soddisfa alla condizione:  $f(0) = 1$ , e con  $m_0$  la massa biologica di un batterio di età zero. Supponiamo inoltre che al tempo:  $T = t$ , il batterio si divida in due batteri di masse biologiche  $m_1$  ed  $m_2$  rispettivamente, batteri che si presentano dunque sulla scena entrambi al tempo  $T = t$ , come batteri di età zero. Sarà allora:

$$(2) \quad m_1(0) + m_2(0) = m_0 f(t)$$

e i due batteri figli cresceranno col tempo, a partire dall'istante  $T = t$ , ancora con la legge (1):

$$(3) \quad m_1 = m_1(0) f(T - t), \quad m_2 = m_2(0) f(T - t)$$

da cui, tenendo conto della (2):

$$(4) \quad m_1 + m_2 = [m_1(0) + m_2(0)] f(T - t) = m_0 f(t) \cdot f(T - t).$$

Ma, per l'ipotesi fatta, questa legge di crescita della massa biologica totale dei due batteri deve coincidere con la legge di crescita (1) del batterio singolo per  $T > t$ . Si deve dunque avere, per  $T > t$ :

$$(5) \quad f(T) = f(t) f(T - t)$$

che, posto:  $t = x$ ,  $T - t = y$ , e prendendo il logaritmo naturale dei due membri, si riduce all'equazione funzionale:

$$(6) \quad \ln f(x + y) = \ln f(x) + \ln f(y).$$

Ciò richiede che sia:

$$(7) \quad \ln f(x) = kx$$

con  $k$  costante, e quindi:

$$(8) \quad f(T) = \exp [kT].$$

Se ne conclude che la legge di crescita della massa biologica del batterio singolo deve essere una legge esponenziale. Vediamo ora fino a che punto e come questa previsione possa essere confermata mediante un esame approfondito della fisiologia del batterio.

In una coltura in terreno liquido minimo, un batterio sintetizza nuovo materiale biologico a partire dal glucosio e dai sali minerali che assorbe dal mezzo. Contemporaneamente utilizza l'ossigeno che viene fornito alla coltura, per ossidare parte del glucosio ricavandone energia. I prodotti dell'ossidazione vengono restituiti all'ambiente. Se il batterio si sviluppa in carenza di ossigeno, parte dei prodotti del catabolismo del glucosio viene ancora restituita all'ambiente, per lo più in forma di acidi organici. Non esiste quindi una semplice relazione tra l'aumento della massa biologica e il consumo di materiale nutritivo. Tuttavia, se supponiamo che i batteri della coltura siano tutti e si mantengano in un ben definito stato di crescita, è lecito supporre che nel corso della crescita si mantenga costante il rapporto tra la quantità di glucosio che viene ossidata per produrre energia e quella che viene invece utilizzata come sorgente di carbonio per alimentare i processi biosintetici. Si presenta quindi come un'approssimazione ammissibile l'ipotesi che l'aumento della massa biologica batterica sia proporzionale alla quantità di glucosio che il batterio ha assorbito dal mezzo nello stesso intervallo di tempo.

Il flusso nutritivo passa attraverso l'involucro cellulare e la sua entità deve in qualche modo dipendere dalla estensione dell'involucro stesso. Il glucosio entra, di regola, nel batterio con un meccanismo di trasferimento di gruppo, tramite gli esemplari del complesso enzimatico fosfotrasferasi [8]: ogni molecola di glucosio viene trasformata sull'enzima in una molecola di glucosio-6-fosfato, utilizzando il gruppo fosfato ceduto da una molecola di acido fosfoenolpiruvico, prodotta nella glicolisi. Il flusso del glucosio entrante dipende dal numero dei canali d'ingresso disponibili e dalla portata di ciascuno di essi. Può essere in linea di principio regolato, agendo sia sul numero dei canali, sia sulla loro portata.

Si suppone spesso, o si assume implicitamente, che tale flusso venga effettivamente regolato in continuazione, a seconda delle necessità della cellula. Sembra però più probabile che, di regola, sia piuttosto la crescita del batterio che si regola in base al flusso entrante del glucosio e che tale flusso si mantenga sempre ai suoi valori massimi, compatibilmente con le condizioni di crescita e le caratteristiche strutturali della cellula. Sembra infatti che si possa affermare, in linea generale, che la strategia fondamentale che ha consentito ai batteri di evitare fino ad oggi l'estinzione, sia stata quella di ridurre per quanto possibile il tempo di duplicazione, compensando la limitata variabilità genetica consentita dal modo di riproduzione agamico alle loro popolazioni, con una numerosità eccezionalmente elevata delle popolazioni stesse, assicurata da un tasso di riproduzione il più elevato possibile.

Ogni riduzione permanente del tempo di duplicazione  $\tau_N$  della numerosità batterica richiede una riduzione parallela del tempo di duplicazione della massa biologica e, in date condizioni di crescita, questa richiede a sua volta un aumento del flusso entrante del glucosio.

D'altra parte, il fatto stesso che  $\tau_m$  non dipenda entro larghissimi limiti dalla concentrazione del glucosio nel mezzo esterno [4], dimostra che esiste nel batterio un diaframma che impedisce ogni ulteriore aumento di tale flusso. E che tale diaframma non sia costituito dai processi interni è dimostrato dalla semplicissima considerazione che per aumentare la massa biologica prodotta per unità di tempo basta (qualunque sia lo stato del batterio) aumentare proporzionalmente il flusso del materiale nutritivo elaborato.

Ammetteremo quindi, contrariamente a quanto generalmente si ritiene, che le porte d'ingresso del glucoso nel batterio siano sempre al massimo loro consentito dalla struttura dell'involucro, come numero e come portata. Meccanismi di regolazione limitanti il flusso entrante è pensabile che entrino in gioco solo in risposta a variazioni occasionali improvvise delle condizioni di crescita, non però finché il batterio si mantiene in uno stato di crescita ben definito.

Che poi gli esemplari della fosfotrasferasi siano uniformemente distribuiti su tutta la superficie del batterio, è conforme al carattere fluido della membrana citoplasmatica, in cui sono inseriti.

Fissate le condizioni di crescita, il batterio si porterà dunque in uno stato di crescita in cui i periodi di duplicazione siano i più brevi possibili, regolando di conseguenza il rapporto tra la frazione di materiale entrante che viene utilizzata come materiale da costruzione e la restante frazione che produce l'energia necessaria per elaborare tutto il materiale entrante. Potremo quindi in definitiva assumere che l'aumento della massa biologica del batterio per unità di tempo sia proporzionale alla estensione della superficie batterica:

$$(9) \quad \frac{dm}{dt} = k_1 s$$

dove  $k_1$  è una costante. È questa una prima relazione tra la massa biologica  $m$  e la superficie  $s$  di un batterio, che si trovi in un ben definito stato di crescita da cui dipende il valore della costante.

Una seconda relazione si può facilmente ottenere, prendendo in considerazione il modo in cui si accresce col tempo la superficie batterica. Nel corso dell'accrescimento del batterio, mentre esso passa dall'età zero all'età  $\tau_N$ , tutti i processi metabolici aumentano progressivamente (di regola, almeno) i loro flussi: quando il batterio sta per dividersi in due, tali flussi sono approssimativamente doppi di quelli che si hanno in un batterio di età zero. La più semplice ipotesi che si può fare è allora che, man mano che la massa biologica del batterio aumenta, tutti i flussi biosintetici aumentino proporzionalmente. Ciò è probabilmente vero per i processi che si svolgono a livello biochimico: la sintesi del DNA e i processi ad essa collegati nel ciclo cellulare hanno tuttavia un andamento temporale loro proprio. Ciò non esclude che anche a questi processi vada una frazione costante del materiale da costruzione e dell'energia metabolica, le riserve cellulari dei precursori realizzando, con la loro variazione nel tempo, il raccordo tra i due ritmi temporali non necessariamente uguali. Tutto ciò suggerisce di assumere, in prima approssimazione, che anche la sintesi dei precursori per l'estensione dell'involucro batterico, e quindi l'aumento di superficie, per unità di tempo crescano proporzionalmente alla massa biologica del batterio. Si pone quindi:

$$(10) \quad \frac{ds}{dt} = k_2 m$$

essendo  $k_2$  una nuova costante.

Abbiamo con ciò, con la (9) e la (10), quanto è sufficiente per impostare una teoria della crescita del batterio singolo e del materiale biologico in una coltura in terreno liquido. Le due equazioni differenziali simultanee definiscono infatti la massa biologica  $m$  e la superficie  $s$  del batterio come funzioni del tempo. Indicando con  $m_0$  la massa

biologica e con  $s_0$  la superficie del batterio all'età zero, la soluzione del sistema si può scrivere nel modo seguente:

$$(11) \quad \begin{cases} m = \frac{1}{2} \left[ m_0 + \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} s_0 \right] \exp [\sqrt{k_1 k_2} t] + \frac{1}{2} \left[ m_0 - \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} s_0 \right] \exp [-\sqrt{k_1 k_2} t], \\ s = \frac{1}{2} \left[ s_0 + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0 \right] \exp [\sqrt{k_1 k_2} t] + \frac{1}{2} \left[ s_0 - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0 \right] \exp [-\sqrt{k_1 k_2} t], \end{cases}$$

Se si tiene poi conto che la forma di un batterio di *E. coli* è con ottima approssimazione quella di un cilindro, chiuso alle due estremità da due cupole emisferiche, indicandone con  $r$  il raggio costante e con  $l$  la lunghezza, crescente con l'età del batterio, misurata tra le sommità delle due cupole, si ha:

$$s = 2\pi l$$

e quindi:

$$(12) \quad l = \frac{1}{2} [l_0 + l_1] \exp [\sqrt{k_1 k_2} t] + \frac{1}{2} [l_0 - l_1] \exp [-\sqrt{k_1 k_2} t]$$

dove si è indicata con  $l_0$  la lunghezza del batterio all'età zero e si è posto:

$$l_1 = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \frac{m_0}{2\pi r}.$$

Scende dunque dalla impostazione teorica adottata che le leggi di crescita del singolo batterio non sarebbero di regola semplici esponenziali. Solo nel caso particolare in cui sia:

$$(13) \quad s_0 = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0$$

le tre leggi di crescita si riducono alla forma esponenziale pura:

$$(14) \quad \begin{cases} m = m_0 2^{t/\tau} \\ s = s_0 2^{t/\tau} \\ l = l_0 2^{t/\tau} \end{cases} \quad \text{con: } \tau = \frac{\ln 2}{\sqrt{k_1 k_2}}$$

che è quella che ci si aspettava, sulla base delle considerazioni semiintuitive fatte all'inizio di questo lavoro, a proposito della indipendenza osservata tra la legge di crescita della numerosità batterica e quella del materiale biologico in una coltura. In generale, se per un batterio di età zero ( $t = 0$ ) la (13) non è soddisfatta, al termine che nelle tre leggi di crescita (11) (12) rappresenta una crescita esponenziale si sovrappone un secondo termine che decade esponenzialmente con periodo di dimezzamento pari al periodo di duplicazione dell'esponenziale crescente.

Moltiplicando la prima delle (11) per  $\sqrt{k_2/k_1}$ , sommandola e sottraendola dalla

seconda, si ottiene:

$$(15) \quad \left[ s \pm \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m \right] = \left[ s_0 \pm \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0 \right] \exp [\pm \sqrt{k_1 k_2} t].$$

La teoria prevede dunque l'esistenza di un transiente che si sovrappone all'andamento esponenziale della curva di crescita. Se però si tiene conto che la vita del batterio è limitata a un intervallo di tempo  $\tau_N$ , in ogni caso poco diverso dal periodo di duplicazione del materiale biologico, si vede che tale transiente si annulla solo dopo un tempo molto più lungo di tale vita. La deviazione dall'esponenziale è perciò di regola dell'ordine di grandezza di:

$$s_0 - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0$$

e può quindi essere tutt'altro che trascurabile, se la massa biologica del batterio per unità di superficie è notevolmente diversa dal valore di equilibrio  $\sqrt{k_1/k_2}$ .

La comparsa inaspettata di questo transiente offre la possibilità di una verifica sperimentale della teoria. Siccome però non si dispone di tecniche che consentano di seguire nel tempo la crescita di un singolo batterio, mantenendolo contemporaneamente in condizioni che siano sicuramente costanti e controllate, dobbiamo rinunciare a una verifica diretta. Solo dopo che avremo calcolato come si ripercuote tale transiente sulla crescita di una coltura in terreno liquido, potremo tentare la verifica su una coltura del genere.

Si osservi poi che se la (13) è soddisfatta, il periodo di duplicazione della massa biologica del batterio, previsto dalla teoria:

$$\tau = \frac{\ln 2}{\sqrt{k_1 k_2}}$$

non risulta in alcun modo legato all'età  $\tau_N$  a cui il batterio in media si divide in due. Se sono valide le leggi differenziali (9) e (10), assunte come postulati della teoria, le leggi di crescita del singolo batterio (14) debbono ritenersi valide per:

$$0 \leq t \leq \tau_N$$

ma in generale si avrà:

$$2^{\tau_N/\tau} \neq 2.$$

Nulla cioè fa pensare che il batterio debba necessariamente dividersi in due, proprio quando la sua massa biologica, la sua superficie e la sua lunghezza si sono esattamente raddoppiate rispetto a quelle che erano all'età zero. Il che è in pieno accordo con quanto abbiamo osservato sperimentalmente [1].

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] AGENO M., SALVATORE A. M. e VALLERANI D., 1986. *Stati di crescita stazionari e transitori di una coltura batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 244.  
 [2] AGENO M., CLARO M. e DE BLASIO A., 1986. *Il raggiungimento della saturazione in una coltura batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 335.

- 
- [3] AGENO M., BENINI M. e MATRICCIANI M. A., 1986. *Fattori limitanti la crescita batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 447.
- [4] AGENO M., 1986. *Compartimenti funzionali nella cellula batterica. 1: Il catabolismo del glucosio*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 458.
- [5] AGENO M., 1988. *Compartimenti funzionali della cellula batterica. 2: Ripresa della crescita dopo rinfresco della coltura*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 82: 145.
- [6] AGENO M., 1988. *La crescita batterica. 1: La legge di crescita della numerosità batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 82: 371.
- [7] AGENO M., 1988. *La crescita batterica. 2: Il processo di desincronizzazione di una coltura*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 82, fasc. 4.
- [8] POSTMA P. W., 1987. *Phosphotransferase System for Glucose and Other Sugars*. In: NEIDHARDT F. C. (Ed. in Chief), *Escherichia coli and Salmonella Typhimurium*. Cellular and Molecular Biology, 2 voll., Am. Soc. for Microbiology, Washington D.C.: pp. 127-141.