

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI  
**RENDICONTI**

---

MARIO AGENO

**La crescita batterica. IV: La legge di crescita del  
materiale biologico in una coltura**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 83 (1989), n.1, p. 343–349.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1989\\_8\\_83\\_1\\_343\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1989_8_83_1_343_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. IV: La legge di crescita del materiale biologico in una coltura* (\*). Nota (\*\*) del Corrisp. MARIO AGENO.

ABSTRACT. — *Bacterial growth. IV: The law of growth of the biological mass in a culture.* The law of growth of a single bacterial cell, theoretically obtained in a previous paper, is now used to calculate the law of growth of the biological mass in a bacterial culture. The provision of the theory is that this last law of growth is exponential, only if the total biological mass per unit bacterial surface in the culture has a predetermined fixed value. In this case, the doubling time of the total biological mass  $\tau_m$  is equal to the doubling time  $\tau$  of the biological mass of the single cell, and as a rule it is different from that of the number of cells in the culture  $\tau_N$ . Otherwise, a transient term adds itself to the exponential growth term, and such a term cancels out exponentially with an half time  $\tau_m$ . When the equilibrium value of the biological mass per unit surface is reached, it tends to maintain itself also if the culture is refreshed many times. Demonstrating that the transient allowed for by the theory is real, appears as a necessary experimental check of the theory itself.

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

RIASSUNTO. — Prendendo le mosse dalla legge di crescita del singolo batterio, ottenuta in un precedente lavoro, viene ora calcolata la legge di crescita del materiale biologico in una coltura batterica. La teoria prevede una legge di crescita esponenziale, solo se il materiale biologico per unità di superficie batterica assume nella coltura un ben determinato valore di equilibrio. Quando tale condizione sia soddisfatta, il periodo di duplicazione del materiale biologico  $\tau_m$  coincide col periodo di duplicazione  $\tau$  della massa biologica del singolo batterio ed è, di regola, diverso da quello della numerosità batterica  $\tau_N$ . In caso contrario, alla crescita esponenziale del materiale biologico si sovrappone un transiente che si annulla esponenzialmente con periodo di dimezzamento pari a  $\tau_m$ . Una volta che la condizione di equilibrio tra massa biologica e superficie batterica si sia raggiunta, essa tende a mantenersi anche attraverso successivi rinfreschi della coltura. La dimostrazione dell'esistenza effettiva di un tale transiente previsto dalla teoria, si presenta come una verifica sperimentale necessaria per la validità della teoria stessa.

In un lavoro precedente [1], abbiamo visto come la crescita di un singolo batterio (di *Escherichia coli*) in un terreno liquido minimo si possa ritenere regolata dalle due equazioni differenziali simultanee:

$$(1) \quad \frac{dm}{dt} = k_1 s, \quad \frac{ds}{dt} = k_2 m$$

dove  $m$  ed  $s$  sono rispettivamente la massa biologica e la superficie della cellula, le cui leggi di crescita risultano allora date dalle due espressioni:

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

Il tempo  $t$  che qui compare è l'età della cellula, che può variare tra 0 e  $\tau_N$ , mentre  $m_0$ ,  $s_0$  sono massa e superficie del batterio all'età zero.

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

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

Vediamo ora di prendere in considerazione un caso un po' più generale, e precisamente quello in cui il batterio che si considera fa parte di una coltura in crescita avviata al tempo  $T=0$ , ed ha raggiunto al tempo generico  $T$  l'età  $t$ . La massa e la superficie di un batterio di età zero saranno di regola funzioni del tempo  $T$ , e quindi dovremo nelle (2) rimpiazzare  $m_0$  ed  $s_0$  rispettivamente con  $m_0(T-t)$  e  $m_0(T-t)$ . Pertanto le (1) si potranno scrivere nella forma:

$$(3) \quad \begin{cases} \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m(T, t) = \\ = \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{t/\tau} - \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{-t/\tau}, \\ s(T, t) = \\ = \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{t/\tau} + \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{-t/\tau}, \end{cases}$$

ove si è posto:

$$(4) \quad \tau = \frac{\ln 2}{\sqrt{k_1 k_2}}.$$

Siccome per  $t = \tau_N$  il batterio si divide in due, si ha poi:

$$(5) \quad m(T, \tau_N) = 2m(T, 0) = 2m_0(T), \quad s(T, \tau_N) = 2s(T, 0) = 2s_0(T).$$

Sommando e sottraendo alla seconda di queste la prima moltiplicata per  $\sqrt{k_2/k_1}$ , si ha:

$$(6) \quad \begin{cases} \left[ s_0(T) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \\ = \frac{1}{2} \left[ s(T, \tau_N) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m(T, \tau_N) \right] = \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{t/\tau}, \\ \left[ s_0(T) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \\ = \frac{1}{2} \left[ s(T, \tau_N) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m(T, \tau_N) \right] = \frac{1}{2} \left[ s_0(T-t) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{-t/\tau}, \end{cases}$$

dove per passare al terzo membro si è fatto uso delle (3). Si può dunque scrivere:

$$(7) \quad \begin{cases} \left[ s_0(T) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \left[ s_0(T - \tau_N) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T - \tau_N) \right] 2^{(1/\tau - 1/\tau_N)\tau_N}, \\ \left[ s_0(T) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \left[ s_0(T - \tau_N) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T - \tau_N) \right] 2^{-(1/\tau + 1/\tau_N)\tau_N}. \end{cases}$$

Queste due ultime equazioni sono della forma

$$(8) \quad F(T) = F(T - \tau_N) 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)\tau_N}.$$

Ponendo in questa  $(T - \tau_N)$  al posto di  $T$ , viene:

$$F(T - \tau_N) = F(T - 2\tau_N) 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)\tau_N}$$

e quindi:

$$F(T) = F(T - 2\tau_N) 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)2\tau_N}$$

e più in generale, iterando il procedimento:

$$F(T) = F(T - k\tau_N) 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)k\tau_N}.$$

In particolare, dunque, per ogni  $T$  tale che sia:

$$T = k\tau_N$$

risulta:

$$(9) \quad T(T) = F(0) 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)T}.$$

Se ora supponiamo che, com'è ragionevole,  $s_0(T)$  e  $m_0(T)$  siano funzioni regolari e monotone di  $T$ , quest'ultima relazione può essere ritenuta valida per ogni valore di  $T$  e la (7) diventano:

$$(10) \quad \begin{cases} \left[ s_0(T) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \left[ s_0(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] 2^{(1/\tau - 1/\tau_N)T}, \\ \left[ s_0(T) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T) \right] = \left[ s_0(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] 2^{-(1/\tau + 1/\tau_N)T}. \end{cases}$$

La seconda di queste equazioni mostra che anche nel caso in cui sia inizialmente:

$$s_0(0) \neq \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0)$$

man mano che, col passare del tempo  $T$ , la coltura si sviluppa, tende a realizzarsi sempre meglio, in ciascun batterio della coltura la condizione:

$$(11) \quad s_0(T) = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T)$$

alla quale la massa biologica del batterio per unità di superficie assume il valore di equilibrio e le leggi di crescita (2) assumono la forma esponenziale pura:

$$(12) \quad \begin{cases} m = m_0 \exp[\sqrt{k_1 k_2} t] = m_0 2^{t/\tau}, \\ s = s_0 \exp[\sqrt{k_1 k_2} t] = s_0 2^{t/\tau}, \end{cases}$$

col valore di  $\tau$  dato dalla (4). La prima delle (10) assume allora la forma:

$$(13') \quad s_0(T) = s_0(0) 2^{(1/\tau - 1/\tau_N)T}$$

oppure:

$$(13'') \quad m_0(T) = m_0(0) 2^{(1/\tau - 1/\tau_N)T}$$

con che si vede che nel corso dello sviluppo della coltura i batteri vanno cambiando le loro dimensioni medie, con periodo di duplicazione (se  $\tau < \tau_N$ ) o di dimezzamento (se  $\tau > \tau_N$ ) pari a:

$$\frac{\tau_N \tau}{\tau_N - \tau}$$

il che è conforme a quanto abbiamo trovato sperimentalmente [3].

Passiamo da qui a considerare come si comporta la coltura nel suo insieme. Sia  $M(T)$  la massa totale del materiale biologico nella coltura e  $S(T)$  la superficie batterica totale al tempo  $T$ . Supponiamo che la coltura abbia ormai raggiunto lo stato di crescita limite, in cui la curva di crescita della numerosità batterica è esponenziale, cioè indipendente dalle particolarità dell'inoculo, e la distribuzione delle età batteriche è stazionaria [2]. Abbiamo anche visto, in un lavoro precedente [2], che il numero dei batteri nella coltura che al tempo  $T$  hanno età compresa tra  $t$  e  $t + dt$  è allora dato da:

$$(14) \quad dn = \frac{2 \ln 2}{\tau_N} N(T) 2^{-t/\tau_N} dt$$

ove:

$$N(T) = N_0 2^{T/\tau_N}$$

è il numero totale dei batteri nella stessa coltura al tempo  $T$ . Risulta quindi:

$$(15) \quad \begin{cases} M(T) = \frac{2 \ln 2}{\tau_N} N(T) \int_0^{\tau_N} m(T, t) 2^{-t/\tau_N} dt, \\ S(T) = \frac{2 \ln 2}{\tau_N} N(T) \int_0^{\tau_N} s(T, t) 2^{-t/\tau_N} dt. \end{cases}$$

Sommando e sottraendo dalla seconda la prima di queste moltiplicata per  $\sqrt{k_2/k_1}$  e tenendo poi conto delle (3), si ottiene:

$$(16) \quad \begin{cases} S(T) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = \frac{2 \ln 2}{\tau_N} N(T) \int_0^{\tau_N} \left[ s_0(T-t) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{(1/\tau - 1/\tau_N)t} dt, \\ S(T) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = \frac{2 \ln 2}{\tau_N} N(T) \int_0^{\tau_N} \left[ s_0(T-t) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] 2^{-(1/\tau + 1/\tau_N)t} dt. \end{cases}$$

Se si sostituisce nelle (10)  $T$  con  $(T-t)$ , viene:

$$\left[ s_0(T-t) \pm \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(T-t) \right] = \left[ s_0(0) \pm \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] 2^{(\pm 1/\tau - 1/\tau_N)(T-t)}$$

per cui, sostituendo questa espressione nelle (16) sotto segno d'integrale ed eseguendo

l'integrazione, risulta:

$$\begin{cases} S(T) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = 2 \ln 2 \left[ s_0(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{T/\tau}, \\ S(T) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = 2 \ln 2 \left[ s_0(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{-T/\tau}, \end{cases}$$

e infine, per somma e sottrazione:

$$(17) \quad \begin{cases} S(T) = \ln 2 \left[ s_0(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{T/\tau} + \ln 2 \left[ s_0(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{-T/\tau}, \\ \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = \ln 2 \left[ s_0(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{T/\tau} - \\ - \ln 2 \left[ s_0(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} m_0(0) \right] N_0 2^{-T/\tau} \end{cases}$$

Conviene far comparire in queste equazioni, anziché la superficie e la massa iniziali (per  $T = 0$ ) del batterio di età zero, i valori di  $S(T)$  e  $M(T)$  per  $T = 0$ . Ponendo  $T = 0$  nelle (17), viene:

$$(18) \quad S(0) = 2 \ln 2 s_0(0) N_0, \quad M(0) = 2 \ln 2 m_0(0) N_0.$$

Per cui si hanno le leggi di crescita della superficie batterica totale  $S$  e della massa biologica totale  $M$  della coltura, nella forma:

$$(19) \quad \begin{cases} S(T) = \frac{1}{2} \left[ S(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(0) \right] 2^{T/\tau} + \frac{1}{2} \left[ S(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(0) \right] 2^{-T/\tau}, \\ \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(T) = \frac{1}{2} \left[ S(0) + \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(0) \right] 2^{T/\tau} - \frac{1}{2} \left[ S(0) - \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(0) \right] 2^{-T/\tau}. \end{cases}$$

Dalla prima di queste, tenendo conto che ovviamente è:

$$S(T) = 2\pi r L(T)$$

essendo  $L(T)$  la lunghezza batterica totale al tempo  $T$ , si ha anche la legge di crescita di quest'ultima grandezza:

$$(20) \quad L(T) = \frac{1}{2} [L(0) + L_1(0)] 2^{T/\tau} + \frac{1}{2} [L(0) - L_1(0)] 2^{-T/\tau}$$

dove si è posto:

$$L_1(0) = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} \frac{M(0)}{2\pi r}.$$

Si vede dunque come la teoria preveda che le leggi di crescita (19) e (20) non siano di regola delle semplici leggi esponenziali. Ciò avviene solo nel caso particolare in cui sia:

$$(21) \quad S(0) = \sqrt{\frac{k_2}{k_1}} M(0)$$

in modo analogo a quanto abbiamo ottenuto, nel lavoro precedente [1], per il singolo batterio. In questo caso risulta infatti:

$$(22) \quad \begin{cases} S(T) = S(0) 2^{T/\tau} \\ M(T) = M(0) 2^{T/\tau} \\ L(T) = L(0) 2^{T/\tau} \end{cases} \quad \tau = \frac{\ln 2}{\sqrt{k_1 k_2}}$$

È da osservare, prima di tutto, che il periodo di duplicazione della massa del batterio singolo risulta uguale al periodo di duplicazione del materiale biologico della coltura. Quest'ultimo coincide, com'è ben noto, col periodo di duplicazione  $\tau_m$  della densità ottica della coltura stessa.

È poi particolarmente interessante il caso in cui nelle condizioni iniziali della coltura la (21) non sia soddisfatta, il caso cioè in cui per i batteri dell'inoculo la massa biologica per unità di superficie  $M(0)/S(0)$  non assume il valore di equilibrio  $\sqrt{k_2/k_1}$ . In tal caso, le leggi di crescita (19) e (20) non sono delle semplici leggi esponenziali. Riferendosi in particolare alla crescita del materiale biologico della coltura, la seconda delle (19) si può scrivere:

$$(23) \quad M(T) = \frac{1}{2} \left[ M(0) + \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} S(0) \right] 2^{T/\tau_m} + \frac{1}{2} \left[ M(0) - \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} S(0) \right] 2^{-T/\tau_m}$$

Si vede dunque che alla crescita esponenziale di duplicazione  $\tau_m$ , rappresentata del primo termine a secondo membro, si sovrappone il contributo del secondo termine, che tuttavia va a zero esponenzialmente con periodo di dimezzamento uguale al periodo di duplicazione  $\tau_m$  del primo termine. Infatti, dalle (19) si ottiene, sottraendo la seconda dalla prima:

$$\left[ M(T) - \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} S(T) \right] = \left[ M(0) - \sqrt{\frac{k_1}{k_2}} S(0) \right] 2^{-T/\tau_m}$$

il che mostra che, se la condizione (21) inizialmente non è soddisfatta, tende asintoticamente ad esserlo sempre meglio, nel corso dello sviluppo della coltura. Si noti la differenza tra questa e la relazione formalmente analoga da noi ottenuta per la crescita del batterio singolo, (la (15) del precedente lavoro [1]). In quel caso, la variabile temporale  $t$  rappresentava l'età del batterio e il suo campo di variabilità era limitato all'intervallo  $(0, \tau_N)$ , mentre in questa relazione  $T$  è il tempo trascorso dall'avvio della coltura e può quindi estendersi anche per molti periodi di duplicazione, essendo limitato solo dall'esaurimento del materiale nutritivo nel mezzo liquido.

Nel caso in cui inizialmente non sia valida la (20), dunque, la deviazione dalla crescita esponenziale si presenta come un transiente che si annulla nel corso di alcuni periodi di duplicazione della densità ottica. È da attendersi che quando il materiale biologico per unità di superficie della coltura abbia raggiunto il valore asintotico di equilibrio, tale valore tenda a mantenersi anche attraverso successivi rinfreschi della coltura, se i batteri non sono sottoposti a condizioni di stress tali da alterare drasticamente il rapporto tra la loro massa biologica e la loro superficie. Ciò spiega come nel corso della nostra indagine sulla fenomenologia della crescita batterica [3-7] non abbiamo trovato traccia di un transiente del genere. E tuttavia, la ricerca di condizioni in cui tale transiente esista e la verifica del suo caratteristico andamento temporale si presentano come una possibile, e necessaria, verifica sperimentale della validità della teoria.

#### BIBLIOGRAFIA

- [1] AGENO M., 1989. *La crescita batterica. III: La legge di crescita del singolo batterio*. Rend. Acc. Naz. Lincei.
- [2] AGENO M., 1988. *La crescita batterica. I: La legge di crescita della numerosità batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 82: 371.
- [3] AGENO M. - SALVATORE A. M. - VALLERANI D., 1986. *Stati di crescita stazionari e transitori di una coltura batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 244.
- [4] AGENO M. - CLARO M. - DE BLASIO A., 1986. *Il raggiungimento della saturazione in una coltura batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 335.
- [5] AGENO M. - BENINI M. - MATRICCIANI M. A., 1986. *Fattori limitanti la crescita batterica*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 447.
- [6] AGENO M., 1986. *Compartimenti funzionali nella cellula batterica. I: Il catabolismo del glucosio*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 80: 458.
- [7] AGENO M., 1988. *Compartimenti funzionali nella cellula batterica. 2: Ripresa della crescita dopo rinfresco della coltura*. Rend. Acc. Naz. Lincei, 82: 145.