

# Fase de declive en un modelo Población-Residuo de crecimiento bacteriano

Luis Claro

## Resumen

Se han desarrollado múltiples modelos que describen la forma en la que las bacterias se multiplican aprovechando los nutrientes disponibles en el medio de cultivo. Sin embargo, muchos menos son los análisis realizados a efectos de modelar la fase de declive o fase de muerte de dichas poblaciones. En este trabajo se propone un sistema dinámico como modelo de crecimiento para una población bacteriana, que incorpora el efecto deletéreo de un residuo metabólico generado por el mismo microorganismo. Este modelo da cuenta de la fase de declive observada en los cultivos celulares, posteriormente a la fase de crecimiento.

## 1. Introducción

Muchas de las capacidades metabólicas de las bacterias resultan de gran utilidad para el ser humano en diferentes ámbitos de la industria y la investigación científica. Por esta razón, es mucho el interés en conocer la dinámica de crecimiento de las poblaciones bacterianas. Para ello, se han desarrollado múltiples modelos matemáticos con el fin de describir adecuadamente la dinámica de estas, en diferentes circunstancias. En tal sentido, el modelo general de Monod [1], constituyó un punto de partida fundamental para desarrollos específicos posteriores. En él, Monod vincula el crecimiento de una población bacteriana a la presencia de un nutriente en el mismo medio donde se desarrollan los microorganismos, a la vez que asocia la tasa de cambio de la concentración del nutriente al consumo de este por parte de las bacterias.

Los modelos desarrollados intentan tener un buen ajuste a los datos experimentales obtenidos a partir de estudios realizados en general en cultivos celulares. Tales datos empíricos muestran distintas fases características en la dinámica de estas poblaciones. Entre ellas se pueden destacar: la fase de latencia, caracterizada por la ausencia de crecimiento en el número de células debido a que estas están en proceso de adaptación al medio; la fase de crecimiento, en la cual el número de individuos aumenta; la fase estacionaria, donde el número de células es aproximadamente constante en el tiempo luego de alcanzar un cierto valor; la fase de declive o muerte, en la que el número de células decrece. Otras fases menos importantes pueden ser agregadas a esta lista, como la fase de aceleración y la fase de retraso [1].

La mayoría de los modelos logran mostrar adecuadamente las fases de crecimiento y estacionaria como el modelo logístico y el modelo de Gompertz [2], ambos modelos generales que dan abordan la caída de la tasa de crecimiento por individuo observada empíricamente [3]. Abordajes enfocados en la utilización de sustratos nutricionales como el de Monod o el de Moser [4] (una versión más general del de Monod), también consiguen representar las fases iniciales de crecimiento poblacional en bacterias. Sin embargo, la fase de declive o muerte suele ser dejada de lado por la mayoría de los abordajes. Al respecto, el modelo de Haldane [5] introduce el efecto deletéreo que un nutriente puede tener sobre una población bacteriana en condiciones de exceso de dicho compuesto.

Dado que en la fase de declive las células continúan metabolizando y dividiéndose [6], los procesos involucrados en todas las fases serán los mismos, variando la intensidad de estos en cada caso.

El objeto de este trabajo es desarrollar un modelo capaz de presentar la fase de declive, sin perder las otras fases habitualmente observadas empíricamente, introduciendo el efecto deletéreo sobre la población bacteriana de un residuo metabólico producido y liberado por las mismas bacterias.

## 2. Modelo Población-Residuo

Consideraremos una población bacteriana que en ausencia de residuo (o en presencia de un buen sistema de reciclaje), mostraría un crecimiento logístico. En general, es una buena suposición considerar que las bacterias se reproducen a una tasa independiente de la generación (cantidad de eventos de división anteriores) [7]. Sin embargo, esta tasa de reproducción dependerá de las condiciones del medio y de la densidad poblacional. A la dinámica bacteriana densodependiente, se le adicionará la mortalidad debida a la interacción de la población bacteriana con el residuo responsable de la fase de declive.

Por otro lado, la cantidad de residuo libre en el medio depende del balance entre dos procesos: en primer lugar, su liberación, producto de la actividad metabólica de las bacterias; y en segundo lugar, su descomposición debida a las reacciones químicas espontáneas que lo lleven a su transformación en otras especies químicas inocuas.

Aunque los residuos metabólicos liberados por las bacterias al medio difieren en naturaleza y cantidad según la fase de crecimiento, la composición nutricional presente y las características de la comunidad de microorganismos [8], para este modelo consideraremos que el residuo involucrado tiene una tasa de producción proporcional al tamaño de la población bacteriana, esto es, cada bacteria libera dicho residuo a la misma tasa constante durante todo su ciclo de vida.

A su vez, el proceso de descomposición del residuo será un proceso de primer orden, esto es, después de un cierto tiempo promedio, las moléculas del residuo se descompondrán espontáneamente.

De esta forma, el sistema de ecuaciones resultantes será:

$$\frac{dN}{dt} = rN \left( \frac{K - N}{K} \right) - \alpha NR \quad (1)$$

$$\frac{dR}{dt} = \beta N - \gamma R \quad (2)$$

Donde:

$N$  es el número de individuos,

$R$  es la concentración de residuo,

$t$  es el tiempo,

$r$  es la tasa intrínseca de crecimiento de la población bacteriana

$K$  es la capacidad de carga del sistema

$\alpha$  es la tasa de mortalidad de las bacterias por interacción con el residuo, por individuo, por unidad de concentración de residuo,

$\beta$  es la tasa de liberación de residuo al medio por individuo,

$\gamma$  es el inverso de la vida media del residuo.

Obsérvese que, en ausencia del residuo, la población sigue un crecimiento logístico. Además, sin bacterias, la concentración de residuo tiende a cero. Dado que este sistema presenta cinco parámetros, será conveniente trabajar con la versión adimensionada del mismo.

Tomamos  $T = \frac{1}{r}$  y  $\tau = \frac{t}{T}$ .

Como  $\frac{d\tau}{dt} = \frac{1}{T}$ , entonces  $T d\tau = dt$ , por lo que tomamos:

$$\frac{1}{T} \frac{dN}{d\tau} = rN \left( \frac{K - N}{K} \right) - \alpha NR \quad (3)$$

$$\frac{1}{T} \frac{dR}{d\tau} = \beta N - \gamma R \quad (4)$$

Multiplicamos la primer ecuación por  $\frac{1}{rK}$  y reformulamos la expresión entre paréntesis, además, multiplicamos la segunda por  $\frac{\alpha}{r^2}$ , esto da:

$$\frac{1}{rK} r \frac{dN}{d\tau} = \frac{N}{K} \left(1 - \frac{N}{K}\right) - \frac{\alpha R}{r} \frac{N}{K} \quad (5)$$

$$\frac{\alpha}{r^2} r \frac{dR}{d\tau} = \frac{\alpha\beta K}{r^2} \frac{N}{K} - \frac{\gamma}{r} \frac{\alpha R}{r} \quad (6)$$

Tomando  $x = \frac{N}{K}$ ,  $y = \frac{\alpha R}{r}$ ,  $A = \frac{\alpha\beta K}{r^2}$ ,  $B = \frac{\gamma}{r}$ , el sistema queda:

$$\frac{dx}{d\tau} = x(1 - x) - xy \quad (7)$$

$$\frac{dy}{d\tau} = Ax - By \quad (8)$$

De esta forma, el número de parámetros del sistema se reduce a dos.

### 3. Análisis del modelo

Explorando las nulclinas del sistema, encontraremos que  $\frac{dx}{d\tau} = 0$  cuando  $x = 0$  o  $y = 1 - x$ . En la Figura 1 puede verse la representación de  $\frac{dx}{d\tau}$  en el plano de fase.

Por otro lado,  $\frac{dy}{d\tau} = 0$  cuando  $y = \frac{A}{B}x$ . En este caso, según los valores de  $A$  y  $B$ , esta recta tendrá pendiente positiva o negativa, y esto determinará los puntos fijos posibles. En la Figura 2 se representa  $\frac{dy}{d\tau} = 0$  para distintas combinaciones de signo de  $A$  y  $B$ . El sistema puede presentar uno,

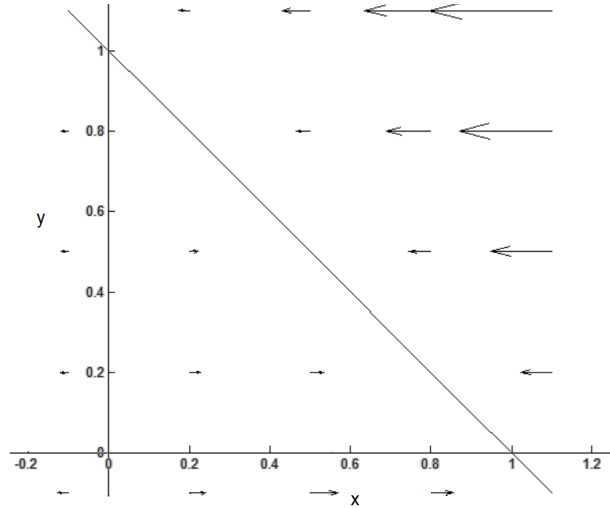


Figura 1: Representación de  $\frac{dx}{d\tau}$  en el plano de fase, y las nulclinas  $x = 0$  y  $y = 1 - x$

dos o infinitos puntos fijos.

Si  $\frac{A}{B} = -1$ , el sistema presenta un único punto fijo,  $X^* = (0, 0)$ .

Si  $\frac{A}{B} \neq -1$  y  $B \neq 0$ , el sistema presenta dos puntos fijos:  $X_1^* = (0, 0)$  y  $X_2^* = \left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$ .

Si  $B = 0$  y  $A \neq 0$ , todos los puntos de la recta  $x = 0$  son puntos fijos no aislados.

Si  $A = 0$  y  $B = 0$ , el sistema tiene dos puntos fijos:  $X_1^* = (0, 0)$  y un segundo punto fijo que depende del parámetro incluido en  $A$  que es nulo.

En la Figura 3, se condensa la información arriba presentada según el valor de los parámetros  $A$  y  $B$ . Consideremos la estabilidad de los puntos fijos. El Jacobiano del sistema tiene la forma:

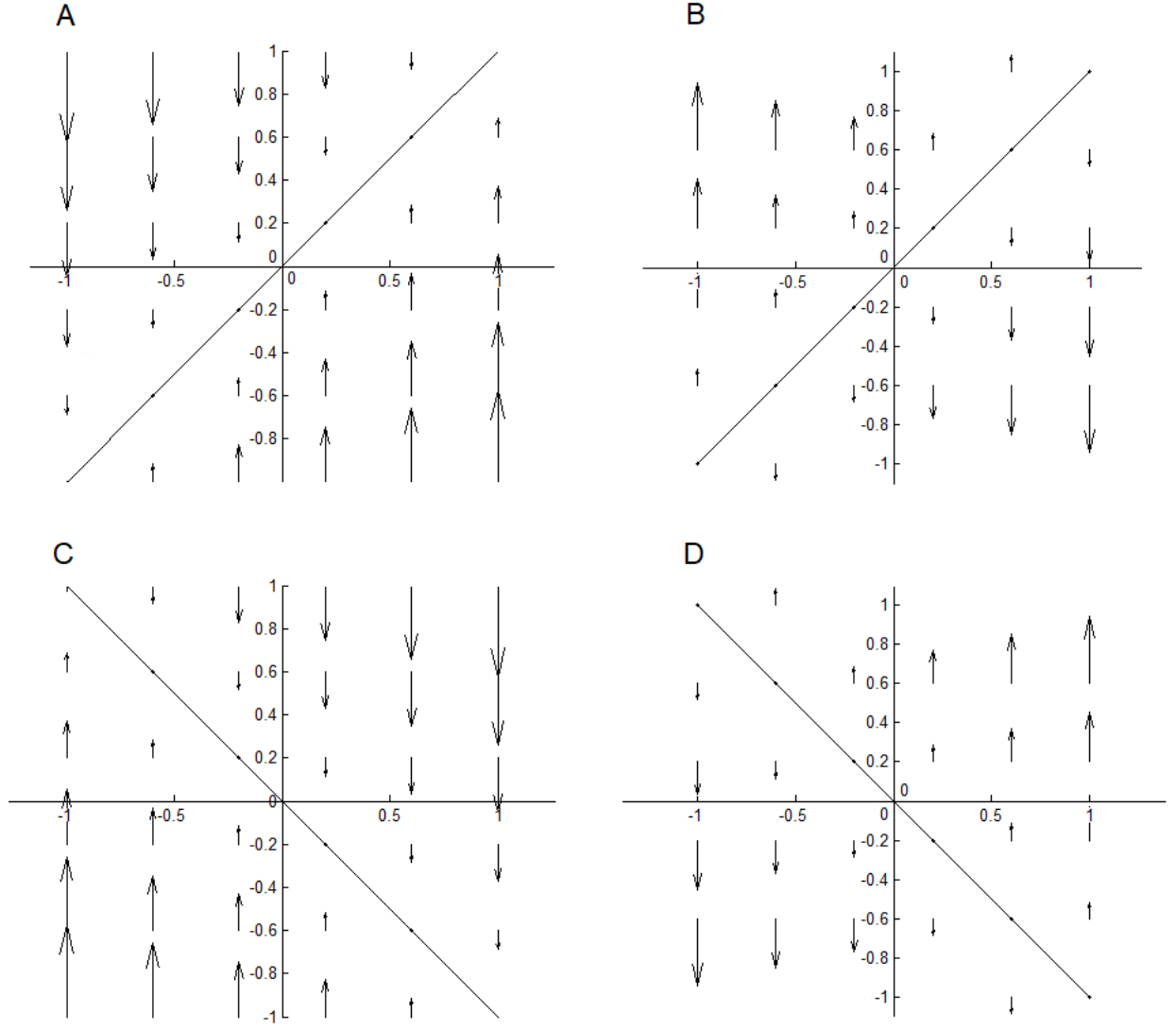


Figura 2: Representación de  $\frac{dy}{dx}$  en el plano de fase, y la nulclina  $y = \frac{A}{B}x$  para distintas combinaciones de signos de  $A$  y  $B$ : A)  $A > 0$ ,  $B > 0$ ; B)  $A < 0$ ,  $B < 0$ ; C)  $A < 0$ ,  $B > 0$ ; D)  $A > 0$ ,  $B < 0$ .

$$\mathbb{J} = \begin{pmatrix} 1 - 2x - y & -x \\ A & -B \end{pmatrix} \quad (9)$$

Estudiaremos inicialmente el punto fijo trivial  $X^* = (0, 0)$ . En este caso:

$$\mathbb{J}_{X^*} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ A & -B \end{pmatrix} \quad (10)$$

Así,  $\det(\mathbb{J}_{X^*}) = -B$ , y  $\text{tr}(\mathbb{J}_{X^*}) = -B + 1$ . En la situación realista en que  $B > 0$ ,  $(0, 0)$  será un punto silla: las trayectorias se acercarán al punto fijo paralelas a la recta  $x = 0$ , y se alejarán paralelas a la recta  $y = \frac{A}{B+1}x$ .

En el caso en que  $B = 0$ ,  $(0, 0)$  será un punto fijo no aislado, incluido en la recta  $x = 0$  (situación antes mencionada). Así mismo, los puntos fijos de la recta  $x = 0$ , serán inestables si  $y < 1$ , y estables cuando  $y > 1$ .

En el caso en que  $B < 0$ , la traza será positiva en cualquier caso. En esta situación, mientras  $B \neq -1$ , el punto fijo será un nodo inestable, y cuando  $B = -1$ , será un nodo degenerado inestable.

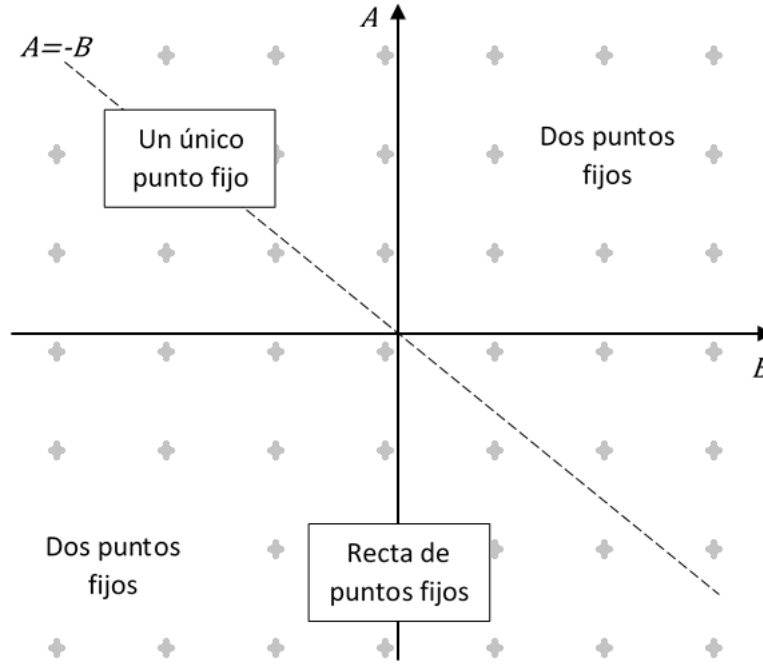


Figura 3: Cantidad de puntos fijos según el valor de los parámetros  $A$  y  $B$ .

El Jacobiano evaluado en el punto fijo  $X^* = \left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$ , tiene la forma:

$$\mathbb{J}_{X^*} = \begin{pmatrix} \frac{-B}{A+B} & \frac{-B}{A+B} \\ A & -B \end{pmatrix} \quad (11)$$

Con  $\det(\mathbb{J}_{X^*}) = \frac{B(A+B)}{A+B}$  y  $tr(\mathbb{J}_{X^*}) = \frac{-B(1+A+B)}{A+B}$ . Nótese que si  $A + B \neq 0$ ,  $\det(\mathbb{J}_{X^*}) = B$ , por lo que cuando  $B < 0$ , el punto fijo será un punto silla. En condiciones realistas de  $A > 0$  y  $B > 0$ , se cumple  $\det(\mathbb{J}_{X^*}) > 0$  y  $tr(\mathbb{J}_{X^*}) < 0$ , por lo que  $X^* = \left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$  será un punto fijo estable. La relación entre  $A$  y  $B$  decidirá el tipo de punto fijo. En la Figura 4 se esquematiza la naturaleza de este punto fijo según la relación entre  $A$  y  $B$ .

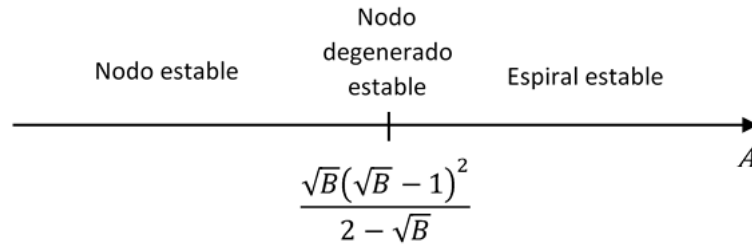


Figura 4: Características del punto fijo  $X^* = \left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$  según el valor de los parámetros  $A$  y  $B$ , cuando  $A > 0$  y  $B > 0$ .

En la situación en la que  $A = 0$  y  $B > 0$ ,  $\det(\mathbb{J}_{X^*}) > 0$ , y  $tr(\mathbb{J}_{X^*}) = -B + 1 < 0$ ,  $\left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$  será un nodo estable cuando  $B \neq 1$ , y será un nodo degenerado estable cuando  $B = 1$ , con vector propio  $\left(1, \frac{\sqrt{B}-1}{2-\sqrt{B}}\right)$ .

Cuando  $A < 0$  y  $B > 0$ , la naturaleza del punto fijo  $\left(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B}\right)$  estará determinada por el signo de  $tr(\mathbb{J}_{X^*})$ : si  $A > -B$  será un nodo estable; si  $A = -B$  el punto fijo no existirá, como ya se comentó; si  $-B > A > -B - 1$ , el punto fijo será una espiral inestable; cuando  $A = -B - 1$ , el punto fijo será un centro; y si  $A < -B - 1$ , el punto fijo será una espiral estable.

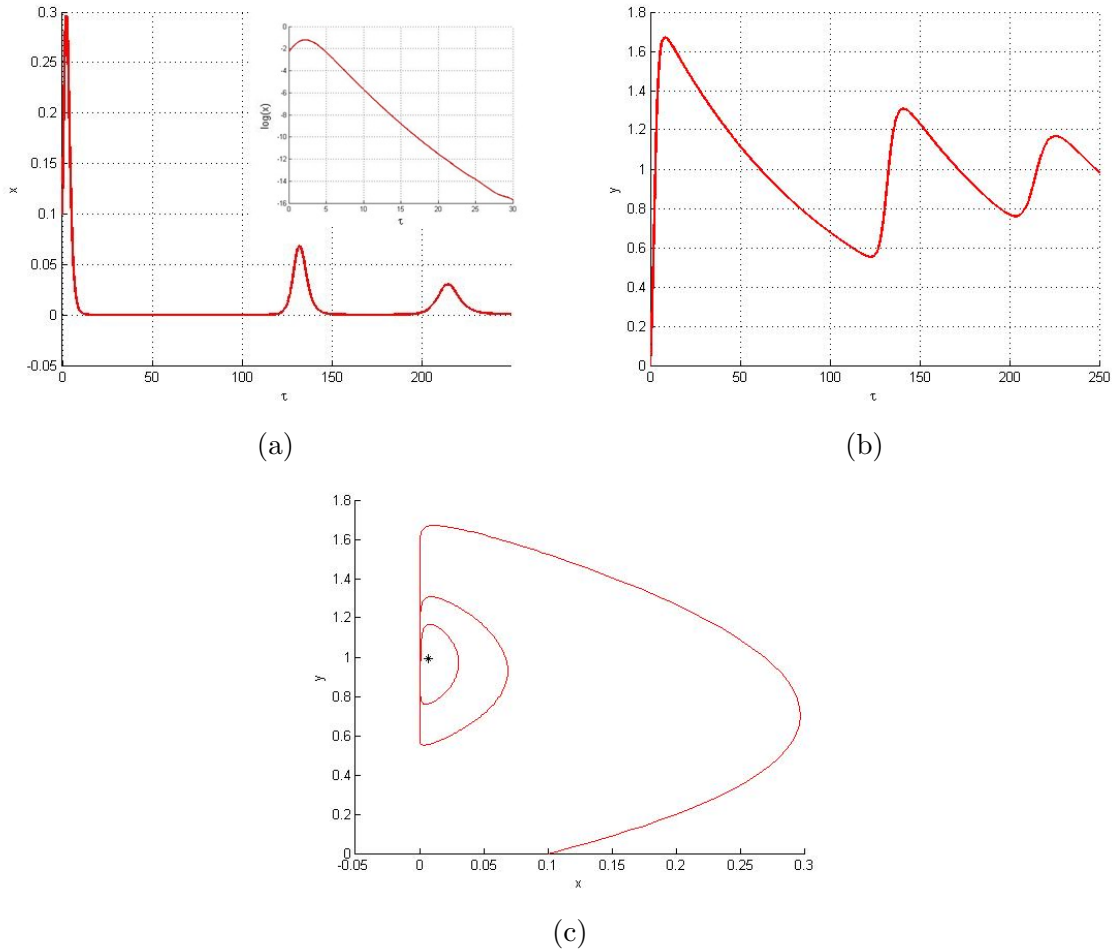


Figura 5: Curso temporal y trayectoria del modelo en el plano de fase para  $A = 1,5$ ,  $B = 0,01$ ,  $x(0) = 0,1$ ,  $y(0) = 0$ . a)  $x$  en función de  $\tau$ , en el inserto se muestra la rectificación  $\log(x)$  en función de  $\tau$ ; b)  $y$  en función de  $\tau$ ; c) Trayectoria del sistema en el plano de fase. \* muestra el punto fijo  $(\frac{B}{A+B}, \frac{A}{A+B})$ .

## 4. Discusión

### 4.1. Compatibilidad entre el modelo y el comportamiento observado

El objetivo de representar la fase de declive de las poblaciones bacterianas en cultivo requiere considerar qué valores de parámetros permiten al modelo reproducir ese comportamiento.

La fase de declive está siempre presente en cultivos bacterianos, más allá de que se pueda observar o no la fase estacionaria [6]. Dado que  $A > 0$  y  $B > 0$  para que el sistema sea realista, el punto fijo estable del sistema será no nulo, por lo que se esperaría que al final de la fase de declive permanezca un remanente de bacterias que sobreviven. Para que la población final de bacterias sea muy pequeña, es requerido que  $A \gg B$ . Frente a una relación de parámetros así, por lo descrito en la sección anterior, el punto fijo estable del sistema será una espiral estable, como se muestra en la Figura 5, lo que trae consigo oscilaciones amortiguadas temporales en el tamaño de la población de bacterias y la concentración de residuo. Tales oscilaciones no son la regla en los estudios de crecimiento bacteriano, por lo que esa es una incompatibilidad del modelo con las observaciones empíricas. Por otro lado, si se considera la evolución del sistema en un tiempo corto, es posible observar la fase de crecimiento y la fase de declive, pero no aparece la fase estacionaria. Aunque en muchos casos la fase estacionaria no se observa, que el modelo no sea capaz de mostrarla bajo ninguna condición, le quita versatilidad.

## 4.2. Conclusiones

Usualmente la fase de declive es exponencial, y muchas veces es una imagen especular de la fase de crecimiento [6]. Este modelo es capaz de devolver una fase de declive exponencial, como se puede ver en el inserto de la Figura 5a.

Sin embargo, es claro que las interacciones propuestas en el modelo, o las leyes que las gobiernan, no son suficientes para dar cuenta de todas las fases conocidas del crecimiento bacteriano. Tal diferencia puede deberse a la presencia de otros fenómenos involucrados como la muerte por predación, debida a protozoarios o virus bacteriófagos, que pueden provocar una disminución considerable en la población bacteriana [6][8].

Un modelo mejor podría incorporar una interacción que varíe su magnitud una vez alcanzado cierto estado del sistema, de forma tal que implique un cambio cualitativo en este. De esta manera, se permitiría que distintos procesos estén presentes en distintas fases del crecimiento de la población bacteriana, a diferencia de lo asumido en este trabajo.

Este tipo de abordajes resulta particularmente necesario para la comprensión de la vida en comunidad de las poblaciones bacterianas. La relación entre estas y los compuestos químicos presentes en su medio pueden ser la vía para un gran número de interacciones entre especies de organismos. En muchos casos, las especies compiten por los recursos nutricionales, mientras que en otros, los residuos metabólicos de una especie pueden afectar de manera positiva (nutriente) o negativa (residuo contaminante) a otra especie [9].

## Referencias

- [1] Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual review of microbiology*, 3(1), 371-394.
- [2] Gompertz, B. (1825). XXIV. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. In a letter to Francis Baily, Esq. FRS &c. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, (115), 513-583.
- [3] Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., & Van't Riet, K. J. A. E. M. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1875-1881.
- [4] Moser, H. (1958). The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. *The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat*.
- [5] Haldane, J. B. S. (1930, April). A mathematical theory of natural and artificial selection. (Part VI, Isolation.). In *Mathematical proceedings of the Cambridge philosophical society* (Vol. 26, No. 2, pp. 220-230). Cambridge University Press.
- [6] Maier, R. M., & Pepper, I. L. (2015). Bacterial growth. In *Environmental microbiology* (pp. 37-56). Academic Press.
- [7] Wang, P., Robert, L., Pelletier, J., Dang, W. L., Taddei, F., Wright, A., & Jun, S. (2010). Robust growth of *Escherichia coli*. *Current biology*, 20(12), 1099-1103.
- [8] Kawasaki, N., & Benner, R. (2006). Bacterial release of dissolved organic matter during cell growth and decline: molecular origin and composition. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 2170-2180.

- [9] Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature reviews microbiology*, 8(1), 15-25.