Cinética de la fase exponencial de la curva de crecimiento microbiano

La **curva del crecimiento microbiano** representa la evolución del número de número de células viables presente en un cultivo microbiano líquido a lo largo del tiempo de estudio. Se estudia el número de células viables por mililitro de un cultivo de volumen limitado y con una cantidad de nutrientes limitada, como por ejemplo un medio de cultivo líquido en un matraz que ha sido inoculado con una cantidad inicial de microorganismos o inóculo.

En la curva de crecimiento se diferencias cuatro fases, la fase de retraso (a veces llamada fase de latencia), la fase de crecimiento exponencial o logarítmico, la fase estacionaria y la fase de muerte celular.

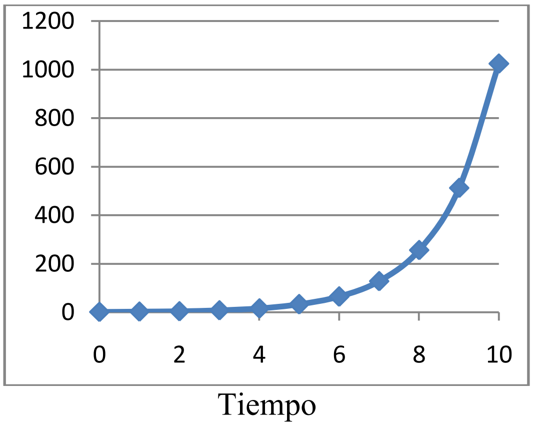
De las cuatro fases de la curva de crecimiento, habitualmente la fase de crecimiento exponencial o logarítmica es la que presenta mayor interés por ser la fase en la que el incremento del número de microorganismos es máximo. Durante esta fase el **tiempo de generación (g)** de los microorganismos (el tiempo que la población de microorganismo necesita para duplicar su número) se mantiene contante.

Este documento se centrará en estudiar la cinética de la fase de crecimiento exponencial, y se hará hincapié en algunos parámetros que son explicados de formas dispares en distintas fuentes.

El crecimiento exponencial: representación gráfica

Procederemos a realizar diversos cálculos a partir de un ejemplo muy sencillo: un cultivo bacteriano en fase de crecimiento exponencial (sin fase de retraso) en el que el número de células inicial del cultivo es de 1 bacteria viable por mililitro. Este cultivo duplicará el número de células cada hora durante un periodo de estudio de 10 horas. Por tanto, a lo largo del experimento tendríamos el número de células indicadas en la siguiente tabla y representada en la gráfica:

Tiempo (h)	Número de células
0	1
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
7	128
8	256
9	512
10	1024



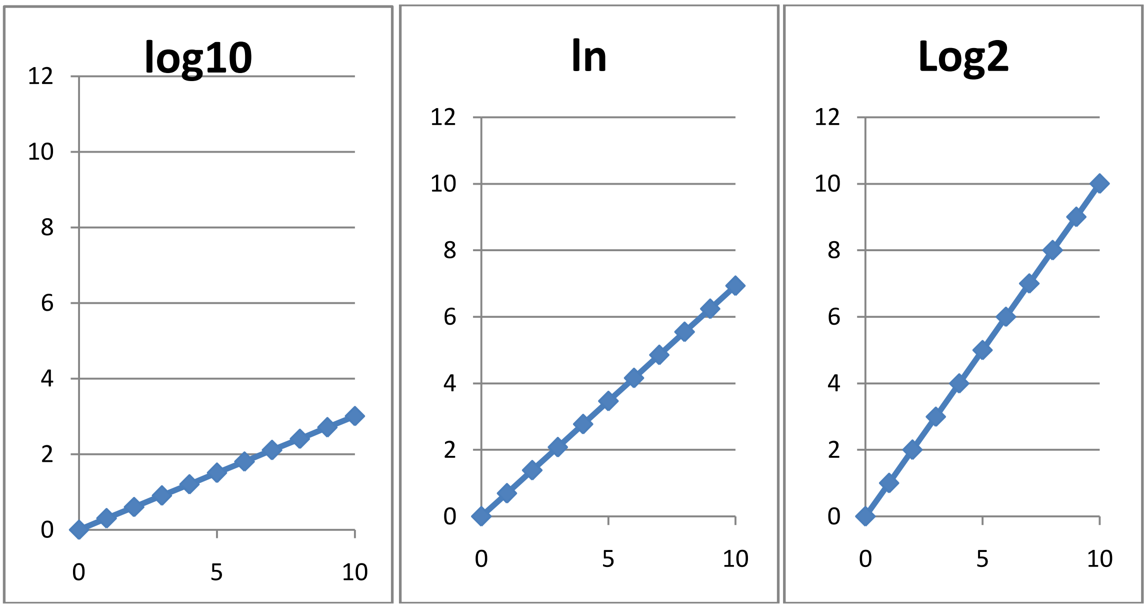
ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014

Estudiar la cinética del crecimiento en una gráfica como la mostrada más arriba es complicado porque la relación entre el tiempo y el número de células no es lineal. En estadística, las relaciones que no son lineales son a menudo modificadas mediante la aplicación de logaritmos a los valores de la abscisas (valores x) o a los valores de las ordenadas (valores y). En el caso de las curvas de crecimiento microbiano se suelen aplicar logaritmos a los valores de concentración de los microorganismos en el cultivo. Esto permite que en la fase de crecimiento exponencial la relación entre las abscisas y ordenadas sea lineal.

Para realizar la transformación indicada de la gráfica podríamos aplicar tres tipos de logaritmos:

- logaritmos de base 10,
- logaritmos naturales (de base e; e=2,718282)
- logaritmos de base 2.

A continuación mostramos las relaciones lineales entre el tiempo y el número de células cuando se ha aplicado los tres logaritmos indicados:



Tal y como se aprecia en las tres gráficas, la aplicación de los tres tipos de logaritmos permite que la relación entre las abscisas (tiempo) y las ordenadas (logaritmos del número de células) pase a ser lineal. Si bien los datos de partida son los mismos, la pendiente de las gráficas son diferentes: la pendiente es mayor cuanto menor es la base del logaritmo (base 10, base e, o base 2).

Las tres representaciones gráficas pueden ser utilizados para el cálculo de la cinética de la fase exponencial de crecimiento, pero usar uno u otro tiene importantes implicaciones sobre algunos parámetros relacionados con esta fase de la curva de crecimiento.

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea

DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
FACULTAD DE FARMACIA

IMMUNOLOGIA, MIKROBIOLOGIA ETA PARASITOLOGIA SAILA
FARMAZIA FAKULTATEA
.

El crecimiento exponencial: la pendiente de la gráfica

El siguiente parámetro que podemos calcular en una recta como las indicadas en el apartado anterior es su pendiente. La pendiente es el ratio entre el incremento de y el incremento de x de la curva. La pendiente nos permitirá relacionar el tiempo (t) con el número de microorganismos en la muestra.

$$Pendiente = \frac{\Delta y}{\Delta x}$$

Dado que tenemos tres gráficas diferentes, calcularemos tres valores de pendiente diferentes.

Pendiente de la gráfica logarítmica de base 10	Pendiente de la gráfica logarítmica natural	Pendiente de la gráfica logarítmica de base 2
$Pendiente = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \\ = \frac{\log10(1024) - \log10(1)}{10 - 0} = \\ = \frac{3.01 - 0}{10} = 0.301$	$Pendiente = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \\ = \frac{\ln(1024) - \ln(1)}{10 - 0} = \\ = \frac{6.93 - 0}{10} = 0.693$	$Pendiente = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \\ = \frac{\log2(1024) - \log2(1)}{10 - 0} = \\ = \frac{10 - 0}{10} = 1$
Pendiente = 0.301	Pendiente = 0.693	Pendiente = 1

Una vez hemos calculado la pendiente, podemos relacionar los valores de *x* e *y* a través de una ecuación lineal del tipo y = ax + b. En nuestro ejemplo concreto las variables de la ecuación lineal serán los siguientes:

y $\rightarrow$ $\log_{10}$, ln o $\log_2$ del número de células (en función de la gráfica).
a $\rightarrow$ es la pendiente (que a su vez depende de la gráfica).
x $\rightarrow$ es el tiempo (t).
b $\rightarrow$ es igual a cero en nuestros ejemplos, pues las tres gráficas pasan por el punto (0,0)

Consecuentemente obtendremos las siguientes relaciones lineales para nuestras gráficas:

Relación lineal para la gráfica logarítmica de base 10	Relación lineal para la gráfica logarítmica natural	Relación lineal para la gráfica logarítmica de base 2
$\log_{10}$(células) = pendiente.tiempo ↓ $\log_{10}$(células) = 0.301 . tiempo	ln(células) = pendiente.tiempo ↓ ln(células) = 0.693 . tiempo	$\log_2$(células) = pendiente.tiempo ↓ $\log_2$(células) = 1 . tiempo

ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA, MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
FACULTAD DE FARMACIA

IMMUNOLOGIA, MIKROBIOLOGIA ETA PARASITOLOGIA SAILA
FARMAZIA FAKULTATEA

El crecimiento exponencial: relación entre la pendiente y el tiempo de generación (g)

Como se ha indicado anteriormente, el tiempo de generación (g) de la fase exponencial de crecimiento es constante durante toda la fase, y también lo es la pendiente. Estos dos parámetros están estrechamente relacionados. El problema radica en que la pendiente depende de la gráfica que hayamos representado, mientras que el tiempo de generación (el tiempo que tarda la población en duplicarse) es un valor que no cambia con la representación gráfica.

Por tanto, la relación entre tiempo de generación y la pendiente de la curva dependerá de la representación gráfica que hayamos generado. En el siguiente cuadro y para cada una de las gráficas se han relacionado la pendiente y el valor g:

Relación entre tiempo de generación (g) y la pendiente de la gráfica		
Gráfica logarítmica de base 10	Gráfica logarítmica natural	Gráfica logarítmica de base 2
$\text{Pendiente} = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\log 10(2N) - \log 10(N)}{g} = \frac{\log 2}{g} = \frac{0.301}{g}$ $\downarrow$ $\text{Pendiente} = \frac{0.301}{g}$	$\text{Pendiente} = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\ln(2N) - \ln(N)}{g} = \frac{\ln 2}{g} = \frac{0.693}{g}$ $\downarrow$ $\text{Pendiente} = \frac{0.693}{g}$	$\text{Pendiente} = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\log 2(2N) - \log 2(N)}{g} = \frac{\log 2}{g} = \frac{1}{g}$ $\downarrow$ $\text{Pendiente} = \frac{1}{g}$
Δx ha sido substituido por el tiempo de generación (g); Durante el tiempo de generaciónel el número de células se incrementará de N a 2N		

Por tanto**, la pendiente de la gráfica y el tiempo de generación están estrechamente relacionados, pero la ecuación que relaciona ambos parámetros depende de la representación gráfica**.

ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014

¿Qué son las variables *k*, *v* y μ de la fase exponencial de crecimiento?

Las abreviaturas *k*, *v* y *μ* corresponden a variables de la fase exponencial de crecimiento que se relacionan a través de ecuaciones muy simples con el tiempo de generación (g). Tanto la denominación correspondiente a estas abreviaturas como sus relación con g varía de una referencia bibliográfica a otra. En la siguiente tabla se indican los nombres dados a *k*, *v* y *μ* y su relación con g en distintas fuentes.

Parámetros relacionados con el tiempo de generación (g) de la curva de crecimiento microbiano

Madigan et al. (2004) definen k como **constante de la velocidad de crecimiento** y lo relacionan con g del siguiente modo:

$$\mathrm{k} = \frac{\ln 2}{\mathrm{g}} = \frac{0.693}{\mathrm{g}}$$

Madigan et al. (2009, 2012) definen k como **constante de la velocidad específica de crecimiento** y lo relacionan con g del siguiente modo:

$$\mathrm{k} = \frac{\log 2}{\mathrm{g}} = \frac{0.301}{\mathrm{g}}$$

La misma referencia define un parámetro denominado **velocidad de división** (v) y lo relacionan con g del siguiente modo.

$$\mathrm{v} = \frac{1}{\mathrm{g}}$$

Prescott et al. (2008) definen k como **velocidad media de crecimiento** y lo relacionan con g del siguiente modo.

$$\mathrm{k} = \frac{1}{\mathrm{g}}$$

Prescott et al. (2010) modifican la abreviatura para la **velocidad media de crecimiento** y usan la abreviatura μ en lugar de la abreviatura anterior (k):

$$\mu = \frac{1}{\mathrm{g}}$$

Las unidades son las mismas para todas las variables anteriores (h^{-1}).

ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014

Si comparamos la relación entre los parámetros k, ν y μ y el tiempo de generación (g) con las ecuaciones del apartado anterior en el que relacionábamos la pendiente de la curva con g, podemos apreciar que ***k*, *ν* y *μ* corresponden a las pendientes de al menos una de las representaciones gráficas de la fase de crecimiento exponencial**: ν y μ son equivalentes a la pendiente de la gráfica logarítmica de base 2, y k puede ser asociada a cualquiera de las gráficas, dependiendo de la referencia bibliográfica.

Para describir la relación entre el tiempo y el número de células en la fase exponencial de crecimiento, ¿qué formulas y parámetros debemos usar?

A estas alturas es evidente que el número de células y el tiempo de generación (g) de la fase de crecimiento exponencial pueden ser fácilmente relacionados entre sí, y que la pendiente de la gráfica es esencial para definir la relación lineal existente entre ambos parámetros.

Por otra parte, es cuestionable la necesidad de definir los parámetros k, ν y μ (que equivalen a las pendientes de la representaciones gráficas que nos atañe) para describir la relación lineal entre g y número de células, en lugar de decir simplemente que son la pendiente de la fase exponencial. Pero es evidente que k, ν y μ son parámetros descritos en la literatura.

En la tabla de más abajo se indican las ecuaciones básicas que definen la cinética de la fase exponencial de crecimiento en cada tipo de representación. Se ha sustituido la pendiente de las ecuaciones anteriores por k, ν o μ.

<table>
<tr><th colspan="3">Ecuaciones básicas que definen la cinética de la fase exponencial de crecimiento</th></tr>
<tr><td>Gráfica logarítmica de base 10</td><td>Gráfica logarítmica natural</td><td>Gráfica logarítmica de base 2</td></tr>
<tr><td>$\mathrm{k} = \frac{\log 10(\mathrm{N}) - \log 10(\mathrm{No})}{\mathrm{t} - \mathrm{to}}$

$\mathrm{k} = \frac{0.301}{\mathrm{g}}$</td><td>$\mathrm{k} = \frac{\ln(\mathrm{N}) - \ln(\mathrm{No})}{\mathrm{t} - \mathrm{to}}$

$\mathrm{k} = \frac{0.693}{\mathrm{g}}$</td><td>$\mathrm{k} = \frac{\log 2(\mathrm{N}) - \log 2(\mathrm{No})}{\mathrm{t} - \mathrm{to}}$

$\mathrm{k} = \mathrm{v} = \mu = \frac{1}{\mathrm{g}}$</td></tr>
<tr><td colspan="3">to: tiempo inicial
t: tiempo final
No: Número de células en to
N: Número de células en t.</td></tr>
</table>

ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014

De los tres conjunto de ecuaciones, ¿cuál debo usar en mi caso concreto?

En principio la decisión es personal, pero podría ser matizada: **las ecuaciones y los parámetros estudiados** (*k*, *v* o *µ*) **deberán adecuarse a la representación gráfica utilizada.**

Por lógica, **si representamos la curva de crecimiento microbiano utilizando logaritmos de base 10 (lo más habitual) deberíamos utilizar ecuaciones en las que k corresponda a la pendiente de la fase de crecimiento exponencial de dicha representación gráfica.** De ese modo estaremos usando un parámetro que podemos "ver" en la gráfica, lo cual es deseable.

Por tanto, **cuando la representación gráfica es logarítmica de base 10**, usaremos la siguientes ecuaciones:

$$\mathrm{k} = \frac{\log 10(\mathrm{N}) - \log 10(\mathrm{No})}{\mathrm{t} - \mathrm{to}}$$

$$\mathrm{k} = \frac{0.301}{\mathrm{g}}$$

Donde k es la **constante de la velocidad específica de crecimiento** (Madigan et al., 2012).

Preparado por Joseba Bikandi
Febrero de 2014

BIBLIOGRAFIA

- Madigan MT, Martinko JM & Parker J. Brock. Biología de los Microorganismos. 9ª edición. Pearson Educación, 2004.
- Madigan MT, Martinko JM & Parker J. Brock. Biología de los Microorganismos. 10ª edición. Pearson Educación, 2009
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA & Clark DP. Brock. Biology of Microorganism. 13ª edición. Pearson, 2012
- Willey JM, Sherwood LM & Woolverton CJ. Microbiología de Prescott, Harley y Klein. 7ª edición. McGraw-Hill, 2008.
- Willey JM, Sherwood LM & Woolverton CJ. Prescott's Microbiology. 8ª edición. McGraw-Hill, 2010.

Ejercicios personalizados de crecimiento

Este documento ha sido creado como acompañamiento de los ejercicios de crecimiento que se generan de forma automática en la siguiente dirección:

http://www.testak.org/microbiologia/crecimiento/

ARABAKO CAMPUSA
CAMPUS DE ÁLAVA
Paseo de la Universidad,7
01006 Vitoria-Gasteiz
Álava
T: 945 013 000
F: 945 013 014