Universidad Complutense de Madrid

# Crecimiento de biopelículas de células

Trabajo de Fin de Máster

Pablo Cañones Martín

# Índice general

# Introducción

Las estructuras biológicas, ya sean comunidades de bacterias más o menos similares o complejos tejidos multicelulares, son formaciones celulares tridimensionales que surgen como fruto de fuerzas mecánicas con el medio y procesos celulares en la propia colonia. La relación entre estas dos clases de mecanismos y el resultado que producen aún esta poco estudiado y las investigaciones se centran en casos particulares, como es el caso que aquí se plantea. Las biopelículas de bacterias, aparentemente menos complejas que los organismos multicelulares, ofrecen un modelo más sencillo para analizar la interacción entre las propiedades celulares y las físicas durante el crecimiento de las colonias.

El caso en el que nos centramos en este trabajo son las biopelículas de bacterias, comunidades de células organizadas que viven asociadas a las superficies en las que se encuentran de las que obtienen agua y alimentos. Científicamente ofrecen un buen ejemplo para la biología ya que el comportamiento de toda la comunidad puede ser observado y estudiado sin que haga falta tener en cuenta demasiados parámetros. El elemento fundamental de la formación de biopelículas es la secreción de una matriz polimérica rica en azúcares y proteínas en el espacio extracelular que mantiene unida a la colonia. En el caso del *Bactillus subtilis*, la secreción de la componente exopolisacárida de la matriz extracelular está genéticamente ligada a la inhibición de los flagelos de cada bacteria. Esto da lugar a una lenta expansión de la biopelícula en un sustrato conforme las ceélulas se dividen y se empujan entre ellas. En este caso se propone que la secreción de la componente exopoliscárida conduce a un movimiento de la superficie de la colonia al generar gradientes de presión osmótica en el espacio extracelular.

El efecto que nos interesa analizar en este trabajo es la transición entre el crecimiento vertical y la expansión horizontal de la colonia de células. Cuando la biopelícula es joven y está compuesta por relativamente pocas células, el crecimiento de la colonia es principalmente vertical hasta que, en cierto momento, empiezan a expandirse hacia los lados, intuitivamente para obtener un mejor acceso a los recursos en el agar. Nuestro interés es, por tanto, obtener una ecuación que relacione la altura y el radio de la colonia y prediga cuando se produce esta transición.

En este trabajo estudiamos el artículo publicado por Agnese Seminara et al. en el que proponen una ecuación que rige la altura de la colonia a partir del efecto de la presión osmótica. Nuestro objetivo ha sido familiarizarnos con el manejo y simplificación de las ecuaciones, la adimensionalización de los elementos para facilitar su tratamiento y la utilización de expansiones asintóticas para resolver las ecuaciones diferenciales planteadas.

El trabajo se estructura de la siguiente forma: partiendo de la hipótesis de la secreción plantearemos unas ecuaciones que reflejen este modelo, eliminaremos algunos elementos para conseguir unas fórmulas con las que sea relativamente fácil trabajar. A continuación buscaremos elementos pequeños con los que hacer expansiones asintóticas que nos permitan obtener una fórmula de la velocidad de la biopelícula. A partir de ella obtendremos una ecuación para la altura de la colonia que trataremos de resolver con una ecuación autosimilar.

# 1 El modelo

## 1.1 Motivación

Las biopelículas de bacterias son poblaciones heterogéneas de células diferenciadas que viven en asociación con la superficie en que se encuentran y muestran un alto nivel de organización espacial y temporal con respecto al medio. La formación de una biopelícula madura sucede a lo largo de distintos estados, empezando con la adhesión de una sola célula a un sustrato sólido. Cuando esto sucede, se genera una matriz extracelular polimérica rica en proteinas y azúcares que mantiene a la colonia unida. Se han atribuído diferentes funciones a la matriz extracelular, como la protección, integridad mecánica o reserva de nutrientes. Al mismo tiempo los flagelos de las bacterias quedan controlados y muchas de las células pierden su movilidad individual una vez que entran a formar parte de la biopelícula. Esto da lugar a un movimiento lento de la colonia sobre la superficie que permite a la biopelícula expandirse sobre el sustrato.

Nuestro objetivo es estudiar cómo la secreción de la matriz extracelular provoca la expansión de la biopelícula. La hipótesis de la que partimos es que la concentración del exopolisacárido en la matriz da lugar a un incremento de la presión osmótica entre ésta y la colonia de células. La biopelicula entonces toma agua del agar para equilibrar la presión dando lugar a un crecimiento en volumen de la colonia.

Para comprobar esta hipótesis vamos a desarrolar un modelo matemático que prediga cómo cambia la forma de la biopelícula en respuesta a la variación de la presión osmótica provocada por la secreción del exopolisacárido en la matriz extracelular.

En primer lugar vamos a definir la fracción de volumen de la biopelícula que corresponde exclusivamente a biomasa, siendo el complementario la fracción de volumen de agua. Con estos dos valores plantearemos una ecuación que rija la variación de fracción de volumen, tanto de biomasa como de agua.

Por otro lado tenemos que obtener unas ecuaciones que rijan la velocidad de ambos elementos, biomasa y agua, que derivamos a partir del cambio de energía libre sumado a la disipación. Añadiremos también las condiciones de contorno y ecuaciones constitutivas para el coeficiente de fricción del agua con la biomasa y la presión osmótica. De esta manera obtendremos las cuatro ecuaciones que conforman el modelo propuesto.

## 1.2 Formulación matemática

El modelo considera la biopelícula como una combinación de biomasa y agua, con una proporción de volumen de biomasa de $\phi$ y una proporción $1-\phi$ de agua. La fracción de volumen de la biomasa es la suma de las células y la matriz extracelular, $\phi = \phi_c + \phi_m$. La fracción de volumen cambiará cuando entre o salga agua en la biopelícula desde el agar siguiendo los cambios en la presión osmótica.

Cuando la biopelícula está en equilibrio con el agar no hay flujo de agua en ninguna dirección. Entonces la fracción de volumen de la biopelícula es una constante $\phi_\infty$ de tal manera que la presión osmótica dentro de la malla es igual a la del medio. Las fuerzas que dan lugar a la expansión de la colonia se generan en la biopelícula conforme las células consumen agua y nutrientes para producir biomasa, provocando variaciones en la presión osmótica entre la colonia y la matriz extracelular.

El modelo más sencillo para trabajar con el crecimiento de la biopelícula es el que utiliza $g = \frac{1}{T}\frac{1}{c+c^*}$ donde $c$ es la concentración de un nutriente limitante, $c^*$ es el umbral de la concentración que produce hambruna y $T$ es el tiempo mínimo de duplicación. Extendemos el modelo añadiendo la producción de la matriz extracelular $a_m$ a la componente correspondiente.

La variación de la fracción de volumen de las células es:

$$\partial_t \phi_c + \nabla \cdot (\phi_c \mathbf{v}_b) = \frac{1}{T}\frac{1}{c+c^*}\phi_c,$$

mientras que la de la matriz extracelular, incluyendo el término de producción $a_m$:

$$\partial_t \phi_m + \nabla \cdot (\phi_m \mathbf{v}_b) = \frac{a_m}{T}\frac{1}{c+c^*}\phi_c,$$

donde $\mathbf{v}_b$ es la velocidad de la biomasa.

En primer lugar sumamos ambas ecuaciones y expresamos $\phi = \phi_c + \phi_m$. De esta manera las dos ecuaciones anteriores se suman en:

$$\partial_t \phi + \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) = \frac{(1+a_m)}{T} \frac{1}{c + c^*} \phi_c.$$

Experimentalmente se observa que las células están muy juntas dentro de la malla, lo que se traduce a que la fracción de volumen de éstas es muy superior a la de la matriz, esto es, suponemos que $\phi_m \ll \phi_c$. De este modo sólo necesitamos una ecuación para la fracción de volumen $\phi$ y que se aproxima por:

$$\boxed{\partial_t \phi + \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) = g\phi,} \tag{1.1}$$

con $g = \frac{1+a_m}{T} \frac{1}{c+c^*}$. La concentración inicial de nutrientes es alta de manera que para los estados iniciales tomamos $g = 1/T$.

De manera similar obtenemos una ecuación para la proporción de volumen del agua:

$$\boxed{\partial_t (1-\phi) + \nabla \cdot ((1-\phi) \mathbf{v}_a) = -g\phi,} \tag{1.2}$$

con $\mathbf{v}_a$ la velocidad del agua. Sumando ambas obtenemos una ecuación que garantiza la conservación del volumen:

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0,$$

donde $\mathbf{v} = \phi \mathbf{v}_b + (1-\phi)\mathbf{v}_a$.

En ausencia de producción de biomasa, la biopelícula alcanza un equilibrio con el medio. Nos interesa estudiar pequeñas variaciones del equilibrio causadas por producción lenta de biomasa. Las ecuaciones de movimiento en presencia de disipación se pueden obtener minimizando el cambio de energía libre junto con la disipación con respecto a $\mathbf{v}_b$ y $\mathbf{v}_a$:

$$\begin{aligned} R = \int d^3 r \Bigg[ & \frac{\zeta}{2} |\mathbf{v}_b - \mathbf{v}_a|^2 + \underline{\underline{\sigma}}_a \cdot \nabla \mathbf{v}_a + \underline{\underline{\sigma}}_b \cdot \nabla \mathbf{v}_b \\ & - \frac{\partial f}{\partial \phi} \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b - g\phi) - p \left( \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b + (1-\phi)\mathbf{v}_a) \right) \Bigg], \end{aligned}$$

donde $\zeta \sim \mu_a/\xi^2$ es el coeficiente de fricción del agua con la biomasa, $\xi$ es el tamaño de la malla y $\mu_a$ es la viscosidad del agua. Por otro lado $\underline{\underline{\sigma}}_a$ y $\underline{\underline{\sigma}}_b$ son los tensores de esfuerzos del agua y la biomasa, $f(\phi)$ es la energía libre y $p$ (la presión) es un multiplicador de Lagrange que garantiza la conservación de volumen, ya que se aplica al gradinte de la velocidad total $\mathbf{v}$. Las ecuaciones de movimiento obtenidas son:

$$
\begin{aligned}
0 = \frac{\partial R}{\partial \mathbf{v}_b} &= \zeta(\mathbf{v}_b - \mathbf{v}_a) + \nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}}_b - \phi \nabla \frac{\partial f}{\partial \phi} - \phi \nabla p, \\
0 = \frac{\partial R}{\partial \mathbf{v}_a} &= -\zeta(\mathbf{v}_b - \mathbf{v}_a) + \nabla \cdot \underline{\underline{\sigma}}_a - (1-\phi)\nabla p,
\end{aligned}
$$

donde expresamos $\phi \nabla \frac{\partial f}{\partial \phi} = \nabla \pi$ por la definición de presión osmótica $\pi = \phi \partial f / \partial \phi - f$. Eliminando la fricción del agua con ella misma, $\underline{\underline{\sigma}}_a$, que suele ser mucho más pequeña que la fricción del agua con la malla tenemos:

$$
\begin{aligned}
\zeta(\mathbf{v}_b - \mathbf{v}_a) + \mu_b \nabla^2 \mathbf{v}_b - \nabla \pi - \phi \nabla p = 0, \\
-\zeta(\mathbf{v}_b - \mathbf{v}_a) - (1-\phi)\nabla p = 0,
\end{aligned}
$$

y sumando ambas y manteniendo la segunda conseguimos dos ecuaciones para las velocidades:

$$
\mu_b \nabla^2 \mathbf{v}_b = \nabla \left( p + \pi \right), \tag{1.3}
$$

$$
\zeta(\mathbf{v}_a - \mathbf{v}_b) + (1-\phi)\nabla p = 0, \tag{1.4}
$$

que añadimos a las dos que ya teníamos antes:

$$
\begin{aligned}
\partial_t \phi + \nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) = g\phi, \\
\partial_t (1-\phi) + \nabla \cdot ((1-\phi)\mathbf{v}_a) = -g\phi.
\end{aligned}
$$

Despejemos $\mathbf{v}_a$ de la ecuación (1.4):

$$
\mathbf{v}_a = \mathbf{v}_b - \frac{1-\phi}{\zeta} \nabla p,
$$

e introduzcámosla en la ecuación (1.2)

$$
\begin{aligned}
\partial_t (1-\phi) + \nabla \cdot ((1-\phi)\mathbf{v}_a) &= -g\phi, \\
\partial_t (1-\phi) + \nabla \cdot \left( (1-\phi) \left( \mathbf{v}_b - \frac{(1-\phi)}{\zeta} \nabla p \right) \right) &= -g\phi, \\
\partial_t (1-\phi) + \nabla \cdot ((1-\phi)\mathbf{v}_b) - \nabla \left( \frac{(1-\phi)^2}{\zeta} \nabla p \right) &= -g\phi, \\
\cancelto{0}{\partial_t 1} - \partial_t \phi + \nabla \cdot ((1-\phi)\mathbf{v}_b) - \nabla \left( \frac{(1-\phi)^2}{\zeta} \nabla p \right) &= -g\phi, \\
-\partial_t \phi - \nabla \cdot \phi \mathbf{v}_b + \nabla \cdot \mathbf{v}_b - \nabla \left( \frac{(1-\phi)^2}{\zeta} \nabla p \right) &= -g\phi.
\end{aligned}
$$

Utilizando la ecuación (1.1) vemos que los dos primeros sumandos son $-g\phi$. Entonces la expresión queda:

$$\underbrace{-\partial_t\phi - \nabla \cdot \phi \mathbf{v}_b}_{-g\phi} + \nabla \cdot \mathbf{v}_b - \nabla\left(\frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla p\right) = -g\phi,$$

$$\nabla \cdot \mathbf{v}_b - \nabla\left(\frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla p\right) = 0,$$

De esta manera hemos conseguim separar la velocidad del agua, $\mathbf{v}_a$, del resto de variables $\phi, \mathbf{v}_b, p$. Utilizando también que $\partial_t\phi \ll g\phi$ convertimos la ecuación (1.1) en:

$$\nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) = g\phi.$$

Finalmente llegamos a las ecuaciones:

$$\begin{aligned}
\mathbf{v}_a &= \mathbf{v}_b - \frac{1-\phi}{\zeta}\nabla p, \\
\nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) &= g\phi, \\
\nabla \cdot \mathbf{v}_b &= \nabla\left(\frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla p\right), \\
\mu_b \nabla^2 \mathbf{v}_b &= \nabla\left(p + \pi\right).
\end{aligned}$$

Queda establecer unas condiciones de contorno. Para ello definimos $h$ como la altura y $R$ el radio de la colonia.

Consideramos condiciones de adherencia en la interacción entre la biopelícula y el medio:

$$(u, v)|_{z=0} = 0,$$

y sin esfuerzos entre la biopelícula y el aire.

$$\begin{aligned}
\mu_b u_z|_{z=h} &= 0, \\
(-p + 2\mu_b v_z)|_{z=h} &= -p_{\text{ext}},
\end{aligned}$$

siendo $u$ y $v$ las componentes horizontal y vertical de la velocidad $\mathbf{v}_b$ respectivamente. Además utilizamos unas ecuaciones constitutivas para $\pi = \pi(\phi)$, $\zeta = \mu_a/\xi^2$ y $\xi = \xi(\phi)$. Para simplificar el modelo vamos a suponer que $\xi$ es una constante establecida en el equilibrio, $\xi = \xi_\infty$.

# 2 Resolución

Vamos a partir de las cuatro ecuaciones obtenidas antes:

$$\mathbf{v}_a = \mathbf{v}_b - \frac{1-\phi}{\zeta}\nabla p, \tag{2.1}$$

$$\nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b) = g\phi, \tag{2.2}$$

$$\nabla \cdot \mathbf{v}_b = \nabla \left( \frac{(1-\phi)^2}{\zeta} \nabla p \right), \tag{2.3}$$

$$\mu_b \nabla^2 \mathbf{v}_b = \nabla (p + \pi) \,. \tag{2.4}$$

En primer lugar vamos a adimensionalizarlas y después vamos a buscar elementos potencialmente pequeños para tratar de facilitar la resolución utilizando expansiones. Una vez que tengamos expresiones para la fracción de volumen, la presión y la velocidad de la biomateria trataremos de obtener una ecuación sobre la altura de la colonia.

## 2.1 Adimensionalización y expansiones

Adimensionalizamos las ecucaciones mediante $u = Uu'$, $v = Vv'$, $p = Pp'$, $z = hz'$, $x = R_0 x'$, $R = R_0 R'$. Tenemos que $h/R_0 \ll 1$ siendo $R_0$ el radio inicial. Escribimos también $\pi = \Pi\phi$ con $\Pi$ el valor de $\partial\pi/\partial\phi$ en el equilibrio, no necesitamos un modelo más elaborado para la presión osmótica porque estudiaremos las ecuaciones cerca del equilibrio $\phi_\infty$. Asumimos también que $u \lesssim v$. Tomamos $\varepsilon = h/R$ y realizamos una expansión con esa variable $f = f^{(0)} + O(\varepsilon)$ para

$f = \mathbf{v}, \phi, p$. La ecuación (2.2) con esta expansión queda:

$$\nabla \cdot (\phi \mathbf{v}_b + O(\varepsilon)) = g\phi + O(\varepsilon).$$

Eliminamos los términos de orden superior y evaluamos la divergencia:

$$\phi_z v + \phi v_z = g\phi,$$

y tras adimensionalizar llegamos a:

$$\boxed{\frac{V}{gh}\left(\phi_z v' + \phi v_z'\right) = \phi.}$$

Dado que de aquí en adelante vamos a trabajar con las ecuaciones adimensionales, para simplificar la notación expresamos las variables adimensionales sin el indicador prima ($'$).

Por otro lado la ecuación (2.3) se convierte en:

$$\begin{aligned}
&\nabla \cdot (\mathbf{v}_b + O(\varepsilon)) = \nabla\left(\frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla p + O(\varepsilon)\right),\\
&\nabla v = \frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla^2 p + \nabla\frac{(1-\phi)^2}{\zeta}\nabla p,\\
&v_z = p_{zz}\frac{(1-\phi)^2}{\zeta} - 2\phi_z p_z\frac{(1-\phi)^2}{\zeta},\\
&\frac{V}{h}v_z = \frac{P}{h^2\zeta}\left(p_{zz}(1-\phi)^2 + 2p_z\phi_z(1-\phi)\right),\\
&\boxed{v_z = \frac{P}{Vh\zeta}\left(p_{zz}(1-\phi)^2 + 2p_z\phi_z(1-\phi)\right).}
\end{aligned}$$

Finalmente la ecuación (2.4) se descompone en dos:

$$\begin{aligned}
&\mu_b \nabla^2 \mathbf{v}_b = \nabla\left(p + \pi\right),\\
&\begin{cases} \mu_b u_{zz} = p_x + \Pi\phi_x, \\ \mu_b v_{zz} = p_z + \Pi\phi_z, \end{cases}\\
&\boxed{\frac{\mu_b U R_0}{Ph^2}u_{zz} = p_x + \frac{\Pi}{P}\phi_x,}\\
&\boxed{\frac{\mu_b V}{Ph}v_{zz} = p_z + \frac{\Pi}{P}\phi_z,}
\end{aligned}$$

Adimensionalizamos también las condiciones de frontera:

$$(u,v)|_{z=0} = 0 \rightsquigarrow (u,v)|_{z=0} = 0,$$
$$\mu_b u_z|_{z=h} = 0 \rightsquigarrow u_z|_{z=1} = 0,$$
$$(-p + 2\mu_b v_z)|_{z=h} = -p_{\text{ext}} \rightsquigarrow (-Pp + 2\mu_b V v_z)|_{z=1} = -Pp_{ext}.$$

Supongamos también que $V = U = gh$ y $P = gh^2\zeta$ de manera que las ecuaciones se convierten en:

$$\phi_z v + \phi v_z = \phi, \tag{2.5}$$
$$v_z = p_{zz}(1-\phi)^2 + 2p_z\phi_z(1-\phi), \tag{2.6}$$
$$K_3 u_{zz} = p_x + \varepsilon_p^{-1}\phi_x, \tag{2.7}$$
$$K_2 v_{zz} = p_z + \varepsilon_p^{-1}\phi_z, \tag{2.8}$$

más la tercera condición de contorno:

$$(-p + 2K_2 v_z)|_{z=1} = -p_{ext},$$

con $K_3 = \frac{\mu_b}{\mu_a}\frac{\xi_\infty^2 R_0}{h^3}$, $K_2 = \frac{\mu_b}{\mu_a}\left(\frac{\xi_\infty}{h}\right)^2$ y $\varepsilon_p = P/\Pi$.

Hemos obtenido estas ecuaciones tras suponer que $h/R_0 \ll 1$ y realizar una expansión. Ahora supongamos también que $\varepsilon_p \ll 1$ y hagámos una expansión $f = f^0 + \varepsilon_p f^{(1)} + O(\varepsilon_p^2)$ donde $f$ son las variables $u, v, p, \phi$.

Supongamos también que $K_2, K_3 \lesssim 1$. Entonces, para que las ecuaciones (2.7) y (2.8) tengan sentido necesitamos que $\phi_x^{(0)} = \phi_z^{(0)} = 0$ para que así el término con $\varepsilon_p^{-1}$ se cancele. De este modo $\phi^{(0)}$ es una constante $\phi^{(0)} = \phi_\infty$ y entonces tenemos:

$$\phi = \phi_\infty + \varepsilon_p\phi^{(1)} + O(\varepsilon_p^2).$$

Introducimos lo que ya sabemos en las ecuaciones multiplicadas por $\varepsilon_p^0$. En primer lugar la ecuación (2.5):

$$\underbrace{\phi_z^{(0)}}_{=0} v^{(0)} + \phi_\infty v_z^{(0)} = \phi_\infty \;\Rightarrow\; v_z^{(0)} = 1. \tag{2.9}$$

Por otro lado la ecuación (2.6):

$$v_z^{(0)} = p_{zz}^{(0)}(1-\phi_\infty)^2 + 2p_z^{(0)}\underbrace{\phi_z^{(0)}}_{=0}(1-\phi_\infty) \;\Rightarrow\; 1 = p_{zz}^{(0)}(1-\phi_\infty)^2. \tag{2.10}$$

Dado que las ecuaciones (2.7) y (2.8) tienen un término multiplicado por $\varepsilon_p^{-1}$ incluyen también un elemento de la expansión de orden 1:

$$K_3 u_{zz} = p_x^{(0)} + \phi_x^{(1)}, \tag{2.11}$$
$$K_2 v_{zz} = p_z^{(0)} + \phi_z^{(1)}. \tag{2.12}$$

Las codiciones de frontera para estas ecuaciones son:

$$(u^{(0)}, v^{(0)})|_{z=0} = 0, \tag{2.13}$$

$$u_z^{(0)}|_{z=1} = 0, \tag{2.14}$$

$$(-p^{(0)} + 2K_2 \underbrace{v_z^{(0)}}_{1})|_{z=1} = -p_{ext} \;\Rightarrow\; p^{(0)}|_{z=1} = p_{ext} + 2K_2. \tag{2.15}$$

De la ecuación (2.9) obtenemos que $v = z$. Introduciendo este término en la ecuación (2.12) obtenemos que

$$p_z^{(0)} = -\phi_z^{(1)}, \tag{2.16}$$

y utilizando esto en la ecuación (2.10) llegamos a:

$$\begin{aligned} 1 &= -(1-\phi_\infty)^2 \phi_{zz}^{(1)}. \\ \phi_{zz}^{(1)} &= \frac{-1}{(1-\phi_\infty)^2}. \\ \phi_z^{(1)} &= \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}(-z + A). \\ \phi^{(1)} &= \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(-\frac{z^2}{2} + Az + B\right). \end{aligned} \tag{2.17}$$

Podemos obtener la expresión completa de $\phi^{(1)}$ añadiendo condiciones de frontera en la interacción de la biopelícula con el agar y con el aire. Los experimentos se realizaron en condiciones de 100 % de humedad de manera que apenas hay evaporación de la biopelícula al aire, esto da lugar a que no haya flujo de fracción de volumen $\phi$ para $z = 1$. En la interacción de la biopelícula con el agar, el agua se disemina debido a la presión osmótica y por tanto diluye la concentración de polímero y creando un gradiente en $\phi$. Esto da lugar a las siguientes condiciones de frontera:

$$\phi_z^{(1)}(1) = 0,$$

$$\phi_z^{(1)}(0) = \frac{\phi^{(1)}(0)}{l/h},$$

donde $l$ es la longitud escalada a través de la cual aparece el gradiente debido a la entrada de agua en la biopelícula. La variable $l$ es aproximadamente el radio $R$ de la biopelícula. Apliquemos la primera concidión a la solución para de la ecuación (2.17):

$$0 = \phi_z^{(1)}(1) = \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}(-1 + A), \;\Rightarrow\; A = 1,$$

y ahora la segunda:

$$
\begin{aligned}
\phi_z^{(1)}(0) &= \phi^{(1)}(0)\frac{1}{l/h}, \\
\frac{1}{(1-\phi_\infty)^2} &= \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}B\frac{1}{l/h}, \\
B &= \frac{l}{h} \approx \frac{R}{h}.
\end{aligned}
$$

La fórmula de $\phi^{(1)}$ queda entonces:

$$
\boxed{\phi^{(1)} = \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(z - \frac{z^2}{2} + \frac{R}{h}\right).}
$$

Nótese que $\phi^{(1)} \sim \varepsilon^{-1} = R/h$ ha ganado un factor $1/\varepsilon$ debido a las condiciones de frontera. Para que la expansión de $\phi$ tenga sentido los parámetros deben cumplir $\varepsilon_p/\varepsilon \ll 1$.

Introduciendo $\phi^{(1)}$ en la ecuación (2.16) y utilizando la condición de frontera (2.15) llegamos a:

$$
p_z^{(0)} = -\phi_z^{(1)}, \tag{2.18}
$$

$$
\begin{aligned}
p^{(0)} &= p^{(0)}|_{z=1} + \phi^{(1)}|_{z=1} - \phi^{(1)} \\
&= p_{\text{ext}} + 2K_2 + \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(\frac{1}{2} + \cancel{\frac{R}{h}} - \left(z - \frac{z^2}{2} + \cancel{\frac{R}{h}}\right)\right) \\
&= \boxed{p_{\text{ext}} + 2K_2 + \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(\frac{z^2}{2} + \frac{1}{2} - z\right).}
\end{aligned} \tag{2.19}
$$

Tanto $p$ como $\phi^{(1)}$ dependen de $x$ dado que la altura $h$ varía en el espacio y en el tiempo. Para analizar esto vamos a devolver sus expresiones a la forma con variables dimensionales. Empezamos por la presión, recordando que hemos supuesto que $P = g\mu_a h^2/\xi_\infty^2$:

$$
\begin{aligned}
\frac{p}{P} &= p_{\text{ext}} + 2K_2 + \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(\frac{\left(\frac{z}{h}\right)^2}{2} + \frac{1}{2} - \frac{z}{h}\right) \\
p &= Pp_{\text{ext}} + P2K_2 + \frac{g\mu_a\cancel{h^2}}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2\cancel{h^2}}\left(\frac{z^2+h^2}{2} - zh\right),
\end{aligned}
$$

y la fracción de volumen queda:

$$P\phi^{(1)} = \frac{1}{(1-\phi_\infty)^2}\left(\frac{z}{h} - \frac{(z/h)^2}{2} + \frac{R}{h}\right)$$

$$\phi^{(1)} = \frac{g\mu_a \cancel{h^2}}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2\cancel{h^2}}\left(zh - \frac{z^2}{2} + Rh\right).$$

Juntamos ambas en la ecuación (2.11):

$$K_3\frac{h^2}{U}u_{zz}^{(0)} = R_0\frac{p_x}{P} + R_0\phi_x^{(1)}$$

$$PK_3\frac{h^2}{U}u_{zz}^{(0)} = R_0\left(p_x + P\phi_x^{(1)}\right) = \frac{g\mu_a R_0}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}\left((hh_x - \cancel{zh_x}) + (\cancel{zh_x} + Rh_x)\right)$$

$$\underbrace{gh^2\frac{\mu_a}{\xi_\infty^2}}_{P}\underbrace{\frac{\mu_b}{\mu_a}\frac{\xi_\infty^2 R_0}{h^3}}_{K_3}\frac{h^2}{gh}u_{zz}^{(0)} = \frac{g\mu_a R_0}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}\left(hh_x + Rh_x\right)$$

$$u_{zz}^{(0)} = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}hh_x\left(1 + \frac{R}{h}\right),$$

Resolvamos esta ecuación:

$$u_{zz} = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}hh_x\left(1 + \frac{R}{h}\right),$$

$$u_{z} = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}hh_x\left(z + \frac{R}{h}z + A\right),$$

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}hh_x\left(\frac{z^2}{2} + \frac{R}{h}\frac{z^2}{2} + Az + B\right).$$

Añadimos ahora las condiciones de frontera. Por un lado $u|_{z=0}$ obliga a $B = 0$. Por otro lado $u_z|_{z=h}$ fuerza $A = -h - R$. La función queda:

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}hh_x\left(\frac{z^2}{2} + \frac{R}{h}\frac{z^2}{2} - zh - zR\right).$$

Recoloquemos los elementos:

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}h_x\left(\frac{z^2}{2}h + R\frac{z^2}{2} - zh^2 - zRh\right),$$

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{z^2}{2}\frac{h}{R} + \frac{z^2}{z} - z\frac{h^2}{R} - zh\right),$$

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{h}{R}\left(\frac{z^2}{2} - zh\right) + \frac{z^2}{2} - zh\right),$$

y despreciamos los dos primeros sumandos al estar multiplicados por $\varepsilon = h/R$. La expresión final queda:

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} R h_x \left( \frac{z^2}{2} - zh \right).$$

## 2.2 Ecuación de la altura

Gracias a las dos expansiones asintóticas hemos conseguido unas expresiones para la fracción de volumen, la presión y la velocidad de la biomateria. A continuación vamos a usar estos tres elementos para obtener una ecuación diferencial de la altura.

Para obtener la ecuación de la altura de la biopelícula $h(x,t)$ integramos la ecuación de continuidad $\nabla \mathbf{v} = 0$ en la dirección vertical. Siendo la velocidad media del volumen:

$$\mathbf{v} = \phi \mathbf{v}_b + (1-\phi)\mathbf{v}_a = \mathbf{v}_b - \frac{(1-\phi)^2}{\zeta} \nabla p,$$

denotamos $\hat{x}$ y $\hat{z}$ como los vectores directores de las dos componentes. Tenemos entonces la integral de la ecuación de continuidad:

$$\int_0^h (\mathbf{v}\cdot\hat{x})_x \, dz + \int_0^h (\mathbf{v}\cdot\hat{z})_z \, dz = 0,$$

$$\int_0^h (\mathbf{v}\cdot\hat{x})_x \, dz + \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_h - \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0 = 0,$$

$$\int_0^h (\mathbf{v}\cdot\hat{x})_x \, dz + \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_h = \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0.$$

Utilizamos la regla de Leibniz[1] para reexpresar el primer sumando:

$$\left( \frac{\partial}{\partial x} \left( \int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x} dz \right) - \mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x \right) + \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_h = \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0.$$

$$\mathbf{v}\cdot\hat{z}|_h - \mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x + \frac{\partial}{\partial x} \left( \int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x} dz \right) = \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0 \tag{2.20}$$

Para el primer sumando aplicamos directamente la definición de la velocidad:

$$\mathbf{v}\cdot\hat{z} = \frac{dz}{dt} \;\Rightarrow\; \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_h = \left(h(t,x(t))\right)_t,$$

$$\left(h(t,x(t))\right)_t = h_t + h_x \cdot x_t = h_t + \mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x.$$

[1] Regla de Leibniz: $\frac{\partial}{\partial x} \left( \int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x} dz \right) = \mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x + \int_0^h (\mathbf{v}\cdot\hat{x})_x \, dz$.

Introduciéndolo en la ecuación (2.20) llegamos a:

$$h_t + \cancel{\mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x} - \cancel{\mathbf{v}\cdot\hat{x}|_h h_x} + \frac{\partial}{\partial x}\left(\int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x}dz\right) = \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0, \tag{2.21}$$

$$h_t + \frac{\partial}{\partial x}\left(\int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x}dz\right) = \mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0. \tag{2.22}$$

Calculemos los elementos necesarios

$$\begin{aligned}
\mathbf{v}\cdot\hat{x} &= u - \frac{(1-\phi)^2}{\zeta}p_x \\
&= \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{z^2}{2}-zh\right) - \frac{(1-\phi_\infty)^2\xi_\infty^2}{\mu_a}\frac{g\mu_a}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}\left(hh_x - zh_x\right) \\
&= \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{z^2}{2}-zh\right) - g\left(hh_x - zh_x\right).
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\mathbf{v}\cdot\hat{z}|_0 &= v|_{z=0} - \frac{(1-\phi)^2}{\zeta}p_z|_{z=0} \\
&= -\frac{(1-\phi_\infty)^2\xi_\infty^2}{\mu_a}\frac{g\mu_a}{\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}(z-h)|_{z=0} \\
&= gh.
\end{aligned}$$

Entonces el flujo queda:

$$\begin{aligned}
\int_0^h \mathbf{v}\cdot\hat{x}dz &= \int_0^h \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{z^2}{2}-zh\right) - g\left(hh_x - zh_x\right)dz \\
&= \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{z^3}{3}-\frac{z^2h}{2}\right)_0^h - gh_x\left(zh-\frac{z^2}{2}\right)_0^h \\
&= \frac{g\mu_a}{\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_x\left(\frac{h^3}{3}-\frac{h^3}{2}\right) - gh_x\left(h^2-\frac{h^2}{2}\right) \\
&= -\frac{g\mu_a}{3\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}Rh_xh^3 - \frac{1}{2}gh_xh^2.
\end{aligned}$$

Con todos los elementos obtenemos la ecuación para $h(x,t)$:

$$h_t - \frac{g\mu_a}{3\mu_b\xi_\infty^2(1-\phi_\infty)^2}R\left(h_xh^3\right)_x - \frac{1}{2}g\left(h_xh^2\right)_x = gh,$$

y pasándola de nuevo a forma adimensional:

$$h_0 h'_t - \frac{g\mu_a}{3\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} \frac{R_0 R'}{R_0^2} h_0^4 \left(h'^3 h'_{x'}\right)_{x'} - \frac{1}{2} g \frac{h_0^3}{R_0^2} \left(h'^2 h'_{x'}\right)_{x'} = g h_0 h',$$

$$h'_t - \frac{g\mu_a}{3\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} \frac{h_0^3}{R_0} R' \left(h'^3 h'_{x'}\right)_{x'} - \frac{1}{2} g \frac{h_0^2}{R_0^2} \left(h'^2 h'_{x'}\right)_{x'} = g h',$$

$$h_t - \underbrace{\frac{\mu_a}{3\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} \frac{h_0^3}{R_0}}_{K} R \left(h^3 g h_x\right)_x - \frac{1}{2} g \varepsilon^2 \left(h^2 h_x\right)_x = g h,$$

$$h_t - KR \left(h^3 g h_x\right)_x - \frac{1}{2} g \varepsilon^2 \left(h^2 h_x\right)_x = g h.$$

En los experimentos realizados tenemos que $K \approx 10^{-5}$ en el instante inicial y cuando la biopelícula se expande la altura crece con un factor de 30, es decir $K \sim 30^3 K|_{t=0} \approx 0{,}3$ mientras que $\varepsilon^2 \approx 0{,}01$. Entonces podemos despreciar el segundo término de la ecuación y quedarnos con la expresión:

$$\boxed{h_t - KR \left(h^3 g h_x\right)_x = g h.}$$

En coordenadas polares todo el desarrollo anterior es igual tomando $r \equiv x$ y efectuando el cambio $\partial_x \to (r\partial_r)/r$. La ecuación queda entonces:

$$h_t - K\frac{R}{r} \left(r h^3 g h_r\right)_r = g h.$$

Esta ecuación muestra que los cambios de forma en la biopelícula se deben a la influencia de dos factores. Por un lado el crecimiento vertical expresado por $gh$ y por otro la expansión horizontal dada por el segundo sumando de la parte izquierda de la igualdad.

Veamos el efecto que estos dos términos tienen en la biopelícula. Supongamos que la altura inicial de la colonia es $h_0$ y su radio inicial $R_0$; si $h_0$ es pequeño el parámetro

$$K = \frac{\mu_a}{3\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} \frac{h_0^3}{R_0},$$

hace que la componente vertical sea mucho más grande en comparación con la horizontal.

Sin embargo, dado que $h$ crece de manera exponencial y el radio máximo $R$ tiene un valor más o menos constante podemos suponer que $K$ crecerá hasta que la componente horizontal de la ecuación sobrepase a la otra, marcando la transición entre el crecimiento vertical y la expansión horizontal. Cuando resolvamos esta ecuación veremos que, en efecto, el radio máximo de la colonia es al principio constante pero que, conforme pasa el tiempo, gana fuerza.

# 3 Fórmula de la altura

Ya hemos obtenido una ecuación diferencial que rige la altura de la biopelícula. Para resolverla vamos a utilizar una ecuación autosimilar que distinga entre parte temporal y espacial. Partimos de la ecuación

$$h_t - K\frac{R}{r}\left(rh^3gh_r\right)_r = gh,$$

donde $h$ está reescalado con la altura inicial; $x, R$ con el radio inicial y tomamos los estados iniciales de crecimiento en los que $g \approx 1$.

Para estudiar la solución de la ecuación primero sustituímos $h = e^tH$ y obtenemos:

$$\begin{aligned}
h_t - K\frac{R}{r}\left(rh^3h_r\right)_r &= h, \\
\left(e^tH\right)_t - K\frac{R}{r}\left(re^{3t}H^3e^tH_r\right)_r &= e^tH, \\
e^tH + e^tH_t - e^{4t}K\frac{R}{r}\left(rH^3H_r\right)_r &= e^tH, \\
e^tH_t &= e^{4t}K\frac{R}{r}\left(rH^3H_r\right)_r, \\
H_t &= e^{3t}K\frac{R}{r}\left(rH^3H_r\right)_r.
\end{aligned}$$

Reescalando el tiempo con $\partial\tau/\partial t = e^{3t}KR$ da lugar a:

$$H_\tau = \frac{1}{r}(rH^3H_r)_r.$$

Busquemos ahora una solución autosimilar de la forma $H = F(\eta)/\big(R(\tau)\big)^2$ con $\eta = r/(R(\tau))$:

$$\begin{aligned}
\left(\frac{F}{R^2}\right)_\tau &= \frac{1}{r}\left(r\left(\frac{F}{R^2}\right)^3\left(\frac{F}{R^2}\right)_r\right)_r \\
\frac{R^2F_\tau - F(R^2)_\tau}{R^4} &= \frac{1}{r}\frac{(rF^3F_r)_r}{R^8} \\
\frac{-R^2F_\eta r/R^2R_\tau - 2FRR_\tau}{R^4} &= \frac{1}{r}\frac{(rF^3F_\eta/R)_r}{R^8} \\
-\frac{(F_\eta r/R + 2F)RR_\tau}{R^4} &= \frac{1}{r}\frac{(rF^3F_\eta)_r/R}{R^8} \\
-\frac{(F_\eta\eta + 2F)R_\tau}{R^3} &= \frac{1}{r}\frac{(rF^3F_\eta)_r}{R^9}
\end{aligned}$$

Calculemos a parte $(rF^3F_\eta)_r$:

$$\begin{aligned}
(rF^3F_\eta)_r &= F^3F_\eta + r3F^2F_rF_\eta + rF^3F_{\eta r} \\
&= F^3F_\eta + 3F^2F_\eta^2\frac{r}{R} + F^3F_{\eta\eta}\frac{r}{R} \\
&= F^3F_\eta + 3F^2F_\eta^2\eta + F^3F_{\eta\eta}\eta \\
&= (\eta F^3F_\eta)_\eta,
\end{aligned}$$

Entonces la ecuación se convierte en:

$$-\frac{(F_\eta\eta + 2F)R_\tau}{R^3} = \frac{1}{r}\frac{(\eta F^3F_\eta)_\eta}{R^9},$$

y reexpresando $r = \eta R$:

$$\begin{aligned}
-\frac{(F_\eta\eta + 2F)R_\tau}{R^3} &= \frac{1}{\eta R}\frac{(\eta F^3F_\eta)_\eta}{R^9} \\
-\frac{(F_\eta\eta^2 + 2F\eta)R_\tau}{R^3} &= \frac{(\eta F^3F_\eta)_\eta}{R^{10}} \\
-(F\eta^2)_\eta R_\tau &= \frac{(\eta F^3F_\eta)_\eta}{R^7}
\end{aligned}$$

Encaremos en primer lugar la componente temporal, $R_\tau = 1/R^7$. Recordando el cambio de variable anterior $\partial\tau/\partial t = e^{3t}KR$ obtenemos:

$$R_t = \frac{\partial R}{\partial t} = \frac{\partial R}{\partial \tau}\frac{\partial \tau}{\partial t} = R_\tau K e^{3t} R = \frac{Ke^{3t}R}{R^7} = \frac{Ke^{3t}}{R^6},$$

y entonces:

$$\frac{\partial R}{\partial t} = \frac{Ke^{3t}}{R^6} \Rightarrow \frac{R^7}{7} = e^{3t}\frac{K}{3} + a \Rightarrow R = \left(7e^{3t}\frac{K}{3} + a\right)^{1/7}.$$

Dado que para valores iniciales del tiempo $K \approx 10^{-5}$ y $R$ está reescalado con $R_0$ tenemos que $a = 1$ y la función queda:

$$\boxed{R = \left(7e^{3t}K/3 + 1\right)^{1/7}.}$$

Como habíamos predicho en el capítulo anterior al observar la ecuación, para valores iniciales de tiempo $R \approx 1$ mientras que cuando $t \to \infty$ la parte exponencial se impone y $R \approx e^{3t/7}$.

Estudiemos ahora la parte espacial $-(F\eta^2)_\eta = (\eta F^3 F_\eta)_\eta$. Integrándola una vez obtenemos:

$$-F\eta^2 = \eta F^3 F_\eta + b,$$

con $b = 0$ ya que $F \to 0$ cuando $\eta \to 0$. Esto da lugar a la ecuación de variables separadas:

$$-F\eta = F^3\frac{dF}{d\eta} \Rightarrow -\eta d\eta = F^2 dF \Rightarrow -\frac{\eta^2}{2} + c = \frac{F^3}{3}$$
$$\Rightarrow \boxed{F = (c - 3\eta^2/2)^{1/3}.}$$

Con las dos partes de la solución autosimilar obtenemos la fórmula de la altura:

$$h = e^t H = e^t\frac{F}{R^2} = \frac{e^t}{R^2}(c - 3\eta^2/2)^{1/3} = \boxed{\frac{e^t}{R^2}\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r}{R}\right)^2\right)^{1/3},}$$

donde $c$ viene dado por la condición inicial.

Nótese que cuando $r \to r^* = \sqrt{2c/3}R$ tenemos que $h \to 0$ y

$$\lim_{r\to r^*} h_r = \lim_{r\to r^*} \frac{e^t}{R^2}\frac{1}{3}\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r}{R}\right)^2\right)^{-2/3}\left(-3\frac{r}{R^2}\right) = -\infty.$$

Entonces vamos a regularizar la solución asumiendo que ésta tiende asintóticamente a un valor $h_\infty$. Calculemos el valor $r^*$ para el que la altura alcanza ese valor crítico:

$$
\begin{aligned}
h(r^*) = h_\infty \;\Rightarrow\; \frac{e^t}{R^2}\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r^*}{R}\right)^2\right)^{1/3} &= h_\infty, \\
c - \frac{3}{2}\left(\frac{r^*}{R}\right)^2 &= \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3, \\
(r^*)^2 &= R^2\frac{2}{3}\left(c - \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3\right), \\
r^* &= R\sqrt{\frac{2}{3}}\sqrt{c - \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3}.
\end{aligned}
$$

Entonces el valor de la pendiente regularizada es:

$$
\begin{aligned}
h_r(r^*) &= \frac{e^t}{R^2}\frac{1}{3}\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r^*}{R}\right)^2\right)^{-2/3}\left(-3\frac{r^*}{R^2}\right) = -\frac{e^t}{R^4}r^*\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r^*}{R}\right)^2\right)^{-2/3} \\
&= -\frac{e^t}{R^4}R\sqrt{\frac{2}{3}}\sqrt{c - \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3}\left(\cancel{c} - \cancel{c} + \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3\right)^{-2/3} \\
&= -\frac{e^t}{R^3}\sqrt{\frac{2}{3}}\sqrt{c - \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3}\left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^{-2} \\
&= -\sqrt{\frac{2c}{3}}\frac{e^{3t}}{R^7 h_\infty^2},
\end{aligned}
$$

tras despreciar $(h_\infty R^2/e^t)^3 \ll c$.

De esta manera, la ecuación final de la altura tiene dos partes:

$$
h(r,t) = \begin{cases} \frac{e^t}{R^2}\left(c - \frac{3}{2}\left(\frac{r}{R}\right)^2\right)^{1/3} & \text{si } r < r^*, \\ h_\infty & \text{si } r \geq r^*, \end{cases}
$$

con

$$
r^* = R\sqrt{\frac{2}{3}}\sqrt{c - \left(\frac{h_\infty R^2}{e^t}\right)^3}.
$$

# 4 Hipótesis para la resolución

A lo largo del proceso hemos asumido varios valores de los valores de los parámetros y funciones para facilitar la resolución de las ecuaciones hasta llegar a la fórmula final de la altura. A continuación procedemos a dar argumentos para explicar por qué estas hipótesis reflejan el comportamiento real de la colonia de bacterias.

1. Necesitamos que $\varepsilon_p \phi^{(1)} \ll \phi_\infty$ dado que en la resolución de $\phi$ se da la situación en que $\phi^{(1)} \sim 1/\varepsilon$. Para $R \approx 1$ mm, $g^{-1} = 2{,}3$ h, $\xi_\infty \sim 50$ nm la condición

$$\frac{\varepsilon_p}{\varepsilon} = \frac{Rg\mu_a h}{\xi_\infty^2 \Pi} \ll 1,$$

   se verifica si $\Pi \gg 8$Pa.

2. Se debe dar $\phi_t \ll g\phi$. De la expansión $\phi = \phi_\infty + \varepsilon_p \phi^{(1)}$ es claro que se verifica esta relación siempre y cuando $\varepsilon_p \phi^{(1)} \ll 1$ que equivale a $\varepsilon_p \phi^{(1)} \ll \phi_\infty$ que ya ha sido tratado en el punto anterior.

3. Las velocidades verifican $u \lesssim v$. De la expresión de la componente horizontal

$$u = \frac{g\mu_a}{\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} Rh_x \left( \frac{z^2}{2} - zh \right),$$

y de la relación $v \sim gh$ vemos que:

$$\begin{aligned}\frac{u}{v} &\sim \frac{1}{gh} \cdot \frac{g\mu_a}{\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} R h_x \left(\frac{z^2}{2} - zh\right)\\ &= \frac{R}{h} \cdot \frac{\mu_a}{\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} h_x \left(\frac{z^2}{2} - zh\right)\\ &\sim \frac{R}{h} K = \frac{K}{\varepsilon},\end{aligned}$$

con $K = \frac{\mu_a}{3\mu_b \xi_\infty^2 (1-\phi_\infty)^2} \frac{h_0^3}{R_0}$ y $\varepsilon = h/R$. Dado que $K$ varía entre valores de $10^{-5}$ en instantes iniciales hasta aproximadamente 0,3 y $\varepsilon \approx 0{,}1$ tenemos que

$$\frac{u}{v} \sim \frac{K}{\varepsilon} \lesssim 1, \Rightarrow u \lesssim v.$$

4. Para la segunda expansión hemos necesitado $\varepsilon_p \ll 1$. Esta condición siempre se cumple si $\varepsilon_p \varepsilon \ll 1$ que hemos comprobado en el primer punto.

5. Por último, la ecuación 2.12 necesita que $K_2 \lesssim 1$ para cancelar el término multiplicado por $\varepsilon_p^{-1}$. Siendo

$$K_2 = \frac{\mu_b}{\mu_a} \left(\frac{\xi_\infty}{h}\right)^2,$$

con los valores de los parámetros tenemos que $K_2 \approx 0{,}002$.

# Bibliografía

[1] A. Seminara, T. E. Angelini, J. N. Wilking, H. Vlamakis, S. Ebrahim, R. Kolter, D. A. Weitz, and M. P. Brenner, Osmotic spreading of Bacillus subtilis biofilms driven by an extracellular matrix. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 1116 (2012).

[2] A. Oron, S.H. Davis, S.G. Bankoff, Long-scale evolution of thin liquid films. Reviews of Modern Physics 69, 931 (1997).

[3] Espeso D. R., Carpio A. Einarson B. Differential growth of wrinkled biofilms. Physical Review 91, 022710 (2015).