

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

УДК 576.8

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МИКРОЭВОЛЮЦИИ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОТКРЫТЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ¹

И.А. Логинов, А.В. Брильков*

С помощью математической модели микроэволюции микробных популяций в турбидостате (открытой биологической системе с постоянной организацией по классификации М. Эйгена) показано, что остаточная концентрация субстрата у популяций, выигравших в конкуренции, не всегда минимальна по сравнению с другими вариантами. Таким образом, широко известный хемостатный критерий, который основан на снижении остаточной концентрации субстрата у вида, победившего в конкуренции, в турбидостате не работает. Более общим критерием микроэволюции популяций в открытых биологических системах является возрастание потока энергетического субстрата, использованного популяцией победившего в процессе автоселекции вида.

В пятидесятых годах прошлого века, после того как были обоснованы и применены методы непрерывного культивирования микроорганизмов, стало возможным разрабатывать эвристические математические модели процессов развития открытых биологических систем с проверкой в экспериментах [1-3]. По Эйгену [4], существует всего два типа открытых термодинамических систем, которые могут находиться в стационарном состоянии, причем в приложении к проточному культивированию микроорганизмов и клеток они соответствуют следующим двум вариантам: хемостату и турбидостату (его еще называют плотностатом). *Хемостат* – это система с постоянными потоками, где задается постоянной скоростью размножения микроорганизмов за счет фиксированной скорости потока среды через культиватор. Стационарное состояние в хемостате осуществляется при лимитировании роста популяции микроорганизмов недостатком питательных веществ или элементов минерального питания (и те и другие называют субстратами). *Турбидостат* – система с постоянной организацией, которая соответствует максимально возможной скорости роста популяции при фиксированной плотности популяции микроорганизмов в культиваторе, заданной экспериментатором с помощью различных технических устройств [5-7].

Таким образом, в руках экспериментаторов имеются открытые системы двух основных типов развития – и для биологии, и для термодинамики. Если в таких системах происходят эволюционные изменения, переход от одного стационарного состояния к другому в результате изменения качественных свойств систем (например, в результате процессов мутирования и отбора), то основные характеристики этих генетических перестроек в популяциях, или шагов эволюции, можно измерить, не теряя общности подхода с точки зрения как биологии, так и физики. Пока это еще недостаточно осознано с точки зрения методологии, хотя и накоплено достаточно много данных по работе “эволюционных машин” обоих типов [8-10].

Как показывают теоретический анализ и многочисленные экспериментальные данные, в условиях внешнего лимитирования роста микроорганизмов недостатком субстрата в хемостате критерием микроэволюции и конкурентоспособности популяций служит уменьшение стационарной (остаточной) концентрации субстрата у вида, победившего в конкуренции [8-11]. Особый интерес представляют микроэволюционные переходы в турбидостате при лимитированном недостатком субстрата росте популяций. Эти случаи, в принципе, возможны [10, 12], но относятся пока к наименее изученным и экспериментально, и теоретически. Поскольку в турбидостате поддерживается постоянной плотность популяции X_0 , то при неизменной концентрации субстрата на входе S_0 изменение экономического коэффициента потребления субстрата Y мутантной популяции приводит к изменению стационарной концентрации субстрата \tilde{S} в культуре, следовательно, изменяется удельная скорость роста μ исходной и мутантной популяции. Подобное изменение μ и Y мутантной популяции, по сравнению с родительской, может лежать в основе отбора мутантов с более высокой или низкой экономичностью использования субстрата в процессе автоселекции при лимитировании роста микроорганизмов субстратом в турбидостате.

¹ При поддержке гранта ККФН 12F007M и гранта Министерства образования РФ № E02-12.5-305.

*© И.А. Логинов, А.В. Брильков, 2004; Институт Биофизики СО РАН, Красноярский государственный университет; E-mail: logival@yandex.ru; bril@ibp.ru

Математическая модель развития образовавшейся мутантной формы микроорганизмов X_m при совместном культивировании с исходным видом X_i в турбидостате записывается аналогично модели Моно-Герберта для непрерывной культуры [13]:

$$\begin{cases} \dot{X}_i = [\mu_i(S) - D]X_i \\ \dot{X}_m = [\mu_m(S) - D]X_m \\ \dot{S} = D(S_0 - S) - \mu_i X_i / Y_i - \mu_m X_m / Y_m \end{cases}, \quad (1)$$

$$D = \begin{cases} D_0 + k(X_i + X_m - X_0); & \text{при } X_i + X_m > X_0 - D_0/k \\ 0; & \text{при } X_i + X_m \leq X_0 - D_0/k \end{cases}$$

где удельная скорость протока D задается в соответствии с уравнением пропорционального регулятора плотности популяции в турбидостате [7]; D_0, k - постоянные коэффициенты, причем $D_0 > 0, k > 0, D_0/k \ll X_0$; X_0 - заданное значение плотности популяции в турбидостате; S_0 - заданное значение концентрации субстрата во входной среде; удельные скорости роста исходной $\mu_i(S)$ и мутантной $\mu_m(S)$ популяций полагаются зависящими от концентрации субстрата по Моно: $\mu_i = \mu_{m,i} S / (K_{S,i} + S)$; $\mu_m = \mu_{m,m} S / (K_{S,m} + S)$; $\mu_{m,i}, \mu_{m,m}, K_{S,i}, K_{S,m}, Y_i, Y_m$ - постоянные коэффициенты.

С помощью модели (1) можно выявить основные закономерности действия естественного отбора в непрерывной культуре микроорганизмов при лимитировании их роста недостатком субстрата. Здесь предполагается, что в процессе спонтанного мутирования образуется некоторое количество мутантных клеток определенного класса m с измененными характеристиками Y_m и μ_m , причем плотность мутантной популяции достаточна для того, чтобы описывать динамику ее развития детерминистской моделью. Частоты спонтанного мутирования как исходной, так и вновь образовавшейся мутантной популяций полагаются настолько малы, что вклад процессов мутирования в дальнейшее совместное развитие обеих популяций можно не учитывать. Вместе с тем не следует забывать, что в этой упрощенной схеме не учтен поток мутантов, который сопутствует исходной популяции, находящейся в стационарном состоянии в непрерывной культуре. Их экологические свойства не позволяют им конкурировать за субстрат с исходной популяцией, но благодаря процессам мутирования они существуют, хотя и при очень низкой плотности популяции. Отметим также, что предлагаемая модель описывает развитие популяций микроорганизмов в пространственно однородных условиях, т.е. в реакторе идеального смешения.

С целью упрощения записи введем цифровые обозначения: все характеристики исходной популяции будем записывать с индексом 1, мутантной популяции - 2.

При условии ненулевой удельной скорости протока и с учетом переобозначений система (1) переписется в следующем виде:

$$\begin{cases} \dot{X}_1 = [\mu_1(S) - D_0 - k(X_1 + X_2 - X_0)]X_1 \\ \dot{X}_2 = [\mu_2(S) - D_0 - k(X_1 + X_2 - X_0)]X_2 \\ \dot{S} = [D_0 + k(X_1 + X_2 - X_0)][S_0 - S] - \mu_1(S)X_1/Y_1 - \mu_2(S)X_2/Y_2. \end{cases} \quad (2)$$

Система (2) имеет несколько нетривиальных положений равновесия $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2, \tilde{S})$.

а) Устойчивое существование одного из видов, например, X_1 и элиминация другого X_2 , $(\tilde{X}_1, 0, \tilde{S}_1)$.

Стационарные значения \tilde{X}_1 и \tilde{S}_1 получаем из решения системы (2) при: $\mu_1(\tilde{S}_1) = D$

$$\begin{cases} \tilde{X}_1 = S_0 + [\mu_1(\tilde{S}_1) - D_0]/k \\ \tilde{S}_1 = S_0 - \tilde{X}_1/Y_1 \end{cases}, \quad (3)$$

где $\mu_1(\tilde{S}_1) = \mu_{m,1} \tilde{S}_1 / (K_{S,1} + \tilde{S}_1)$. Разрешая систему (3) относительно \tilde{X}_1 и \tilde{S}_1 , получаем:

$$\begin{cases} \tilde{S}_1' = \left[-A_1 + \sqrt{A_1^2 - 4A_2} \right] / 2, \\ \tilde{X}_1' = (S_0' - \tilde{S}_1') \end{cases}, \quad (4)$$

где для упрощения записи введем обозначения: $A_1 = \frac{1}{k'} + 1 + X_0' - S_0' - \frac{D_0'}{k'}$; $A_2 = X_0' - S_0' - \frac{D_0'}{k}$; $D_0' = \frac{D_0}{\mu_{m,1}}$;

$$S_0' = \frac{S_0}{K_{S,1}}; S_1' = \frac{S_1}{K_{S,1}}; X_1' = \frac{X_1}{K_{S,1}Y_1}; X_0' = \frac{X_0}{K_{S,1}Y_1}; k' = \frac{kK_{S,1}Y_1}{\mu_{m,1}}.$$

Положение равновесия (4) с действительными неотрицательными значениями X_1', S_1' единственно; поскольку $A_1=1/k'+1+A_2$, то для его существования необходимо и достаточно, чтобы выполнялось условие $A_2 < 0$, или

$$S_0 > X_0/Y_1 - D_0/kY_1.$$

Подставляя выражение для стационарного значения концентрации биомассы X_1' из (4) в необходимое и достаточное условие ненулевой скорости протока в (1):

$$\tilde{X}_1 > X_0 - D_0/k,$$

получаем необходимое и достаточное условие для того, чтобы проток питательной среды в турбидостате не прекратился (идентичное (5)):

$$S_0 > X_0/Y_1 - D_0/kY_1. \quad (5)$$

Из анализа положения равновесия (4) на устойчивость, по Ляпунову, получаем условие устойчивого выигрыша вида X_1 в конкуренции с X_2 :

$$\mu_2(\tilde{S}_1) < D. \quad (6)$$

Следовательно, для устойчивого выигрыша первого вида в конкуренции со вторым необходимо и достаточно, чтобы при стационарной концентрации субстрата удельная скорость роста второго вида была меньше скорости его вымывания. Соотношение экологических свойств двух видов, а также значения параметров управления S_0 и X_0 , необходимые и достаточные для устойчивого закрепления первого вида и элиминации второго в турбидостате, следует из системы неравенств:

$$\begin{cases} X > 0 \\ S > 0 \\ \mu_2(\tilde{S}_1) < D = \mu_1(\tilde{S}_1). \end{cases} \quad (7)$$

Из последнего неравенства системы (7) получаем ограничения на экологические свойства видов для устойчивого выигрыша первого вида:

$$\tilde{S}_1 = (\mu_{m,2}K_{S,1} - \mu_{m,1}K_{S,2}) / (\mu_{m,1} - \mu_{m,2}). \quad (8)$$

Условие (8) выполняется всегда, если зависимость $\mu_1(S)$ располагается выше, чем $\mu_2(S)$ при всех значениях концентрации субстрата S . Если же зависимости эти пересекаются, то условия (8) выполняются, когда $\mu_1(S)$ идет выше $\mu_2(S)$ с ростом концентрации субстрата после точки пересечения. Координату точки пересечения находим из условия $\mu_1(\hat{S}) = \mu_2(\hat{S})$:

$$\hat{S} = (\mu_{m,2}K_{S,1} - \mu_{m,1}K_{S,2}) / (\mu_{m,1} - \mu_{m,2}). \quad (9)$$

В итоге, условие (8) переписывается следующим образом:

$$\tilde{S}_1 > \hat{S}. \quad (10)$$

Подставим в выражение (8) значение S из (4), получим условие на входную концентрацию субстрата S_0 :

$$S_0 > X_0/Y_1 - D_0/kY_1 + (\mu_{m,2}K_{S,1} - \mu_{m,1}K_{S,2}) \times \left\{ 1/(\mu_{m,1} - \mu_{m,2}) + 1/[(K_{S,1} - K_{S,2})kY_1] \right\}. \quad (11)$$

Таким образом, если зависимости $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$ пересекаются, то необходимое и достаточное условие устойчивого выигрыша X_1 в конкуренции с X_2 (11) записывается следующим образом:

$$S_0 > (X_0 - D/k)/Y_1 + \hat{S} + \mu_1(S)/kY_1 = \hat{S} + X_0/Y_1 + [\mu(\hat{S}) - D_0]/kY_1. \quad (12)$$

б) Устойчивое существование и выигрыш второго вида в конкуренции с первым при элиминации первого $(0, \tilde{X}_2, \tilde{S}_2)$.

Координаты стационарной точки $(0, \tilde{X}_2, \tilde{S}_2)$ находим по формулам (4) простой заменой индексов 1→2. Анализ на устойчивость стационарной точки $(0, \tilde{X}_2, \tilde{S}_2)$ по первому приближению проводится аналогично проведенному для стационарной точки $(\tilde{X}_1, 0, \tilde{S}_1)$.

Необходимые и достаточные условия для существования второго вида и устойчивого выигрыша в конкуренции с первым записывается следующим образом:

$$S_0 > X_0 / Y_2 - D_0 / (kY_2); \quad (13)$$

$$\tilde{S}_2 < \left(\mu_{m,2} K_{S,1} - \mu_{m,1} K_{S,2} \right) / (\mu_{m,1} - \mu_{m,2}) \quad (14)$$

или

$$S_0 < (X_0 - D_0 / k) / Y_2 + \left(\mu_{m,2} K_{S,1} - \mu_{m,1} K_{S,2} \right) \times \left\{ 1 / (\mu_{m,1} - \mu_{m,2}) + 1 / \left[(K_{S,1} - K_{S,2}) / k Y_2 \right] \right\}. \quad (15)$$

В случае пересечения зависимостей $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$ условия (14) и (15) записываются:

$$\tilde{S}_2 > \hat{S}, \quad (16)$$

$$S_0 < (X_0 - D_0 / k) / Y_2 + \hat{S} < \mu_2(\hat{S}) / k Y_2 = \hat{S} + X_0 / Y_2 + \left[\mu(\hat{S}) - D_0 \right] / (k Y_2). \quad (17)$$

в) Стационарное существование обоих видов ($\tilde{X}_1, \tilde{X}_2, \tilde{S}$).

Стационарные значения плотностей популяций соответствующих видов $\dot{X}_1 = 0, \dot{X}_2 = 0, \dot{S} = 0$ и $\mu_1(\tilde{S}) = \mu_2(\tilde{S}) = D$ получаем из решения системы (2) при

$$\tilde{X}_1 = Y_1 \left\{ Y_2 (S_0 - \tilde{S}) - X_0 - \left[\mu(\tilde{S}) - D_0 \right] / k \right\} / (Y_2 - Y_1), \quad (18)$$

$$\tilde{X}_2 = Y_2 \left\{ -Y_1 (S_0 - \tilde{S}) + X_0 + \left[\mu(\tilde{S}) - D_0 \right] / k \right\} / (Y_2 - Y_1). \quad (19)$$

Стационарное значение концентраций субстрата находят из условия пересечения зависимостей $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$:

$$\mu_1(\tilde{S}) = \mu_2(\tilde{S}).$$

Следовательно, его можно получить независимо:

$$\tilde{S} = \left(\mu_{m,2} K_{S,1} - \mu_{m,1} K_{S,2} \right) / (\mu_{m,1} - \mu_{m,2}) = \hat{S}. \quad (20)$$

Анализируя на устойчивость положение равновесия системы (2), получаем, что для асимптотической устойчивости стационарной точки ($\tilde{X}_1, \tilde{X}_2, \tilde{S}$) необходимо и достаточно, чтобы выполнялось условие:

$$(Y_2 - Y_1) (\tilde{\mu}'_2 - \tilde{\mu}'_1) > 0. \quad (21)$$

Необходимые и достаточные условия для устойчивого сосуществования двух видов при лимитировании роста субстратом в турбидостате задаются следующей системой неравенств:

$$\begin{cases} \tilde{S} > 0, \\ \tilde{X}_1 > 0, \\ \tilde{X}_2 > 0, \\ (Y_2 - Y_1) (\tilde{\mu}'_1 - \tilde{\mu}'_2) > 0. \end{cases} \quad (22)$$

Первое неравенство в системе (22) означает необходимость пересечения зависимостей $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$. Используя выражения (18) и (19) и выполняя условия устойчивости (21), из второго и третьего неравенства получаем границы области устойчивого сосуществования двух видов, приняв для конкретности $Y_2 > Y_1, \tilde{\mu}'_1 > \tilde{\mu}'_2$:

$$\begin{aligned} S_0 &> \tilde{S} + X_0 / Y_2 + \left[\mu(\tilde{S}) - D_0 \right] / (k Y_2), \\ S_0 &< \tilde{S} + X_0 / Y_1 + \left[\mu(\tilde{S}) - D_0 \right] / (k Y_1). \end{aligned} \quad (23)$$

Или, учитывая, что зависимости $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$ пересекаются,

$$\tilde{S}_1 < \hat{S}, \quad \tilde{S}_2 > \hat{S}, \quad (24)$$

$$K_{S,1} / \mu_{m,1} > K_{S,2} / \mu_{m,2}. \quad (25)$$

Используя найденные условия существования монокультур видов (5) и (13), условия устойчивого выигрыша монокультур в конкуренции (12) и (17) и условия устойчивого сосуществования видов (23), построим разбиение пространства управляемых параметров (S_0, X_0) на области с различными исходами конкуренции двух видов при лимитировании субстратом в турбидостате (рис.1). Уравнения прямых AB и CD на рис.1 находят из выражений (12) и (17) или из идентичных им (23), уравнения прямых EP и EH – из условий су-

существования монокультур (5) и (13) соответственно. На рис.2 приведены соответствующие этому разбиению зависимости $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$ соответствующих видов.

Из условий (10), (16) и (24) следует, что устойчивый выигрыш вида X_2 в конкуренции наблюдается, если стационарные значения концентрации субстрата для монокультур \tilde{S}_1 и \tilde{S}_2 располагаются слева от точки пересечения \hat{S} : (соответствующая этому область управления параметров *OCGE* на рис.1). Иными словами, учитывая, что $Y_2 > Y_1$,

$$\tilde{S}_1 < \tilde{S}_2 < \hat{S}. \tag{26}$$

Аналогичные условия для закрепления монокультуры вида X_1 (рис.1, область AS_0B) – расположение \tilde{S}_1 и \tilde{S}_2 справа от \hat{S} :

$$\hat{S} < \tilde{S}_1 < \tilde{S}_2. \tag{27}$$

В области III (*ABPGC*) на рис.1 выполняется условие (24), \tilde{S}_1 и \tilde{S}_2 по разные стороны от \hat{S} (рис.2) – виды X_1 и X_2 сосуществуют.

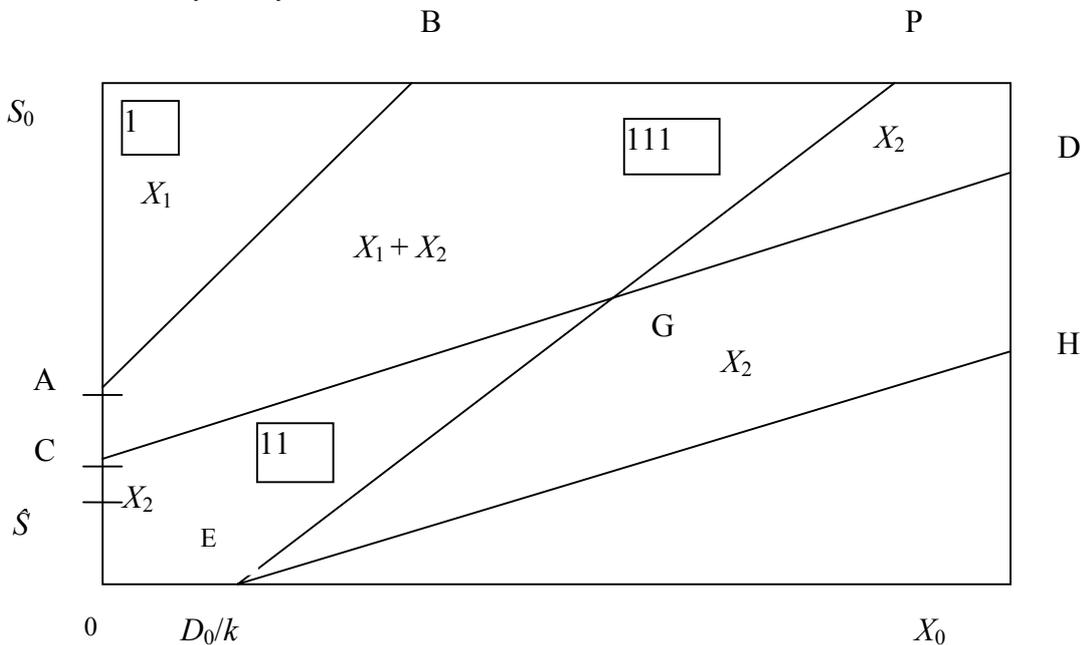


Рис. 1. Разбиение пространства управляющих параметров (S_0, X_0) на области с различными исходами конкуренции двух видов X_1 и X_2 за субстрат в турбидостате. Сосуществование видов возможно в области III. В области I выигрывает первый вид, в области II – второй

Проанализируем теперь ситуацию, когда, экологические свойства видов и параметры культивирования в турбидостате (S_0, X_0) допускают существование монокультур обоих видов X_1 и X_2 , но совместное их существование неустойчиво. Это значит, что первые три неравенства в системе (22) справедливы, а последнее условие устойчивого существования (21) не выполняются:

$$\begin{aligned} \tilde{\mu}_1' &> \tilde{\mu}_2', \\ Y_1 &> Y_2. \end{aligned} \tag{28}$$

Обратный случай, когда $\tilde{\mu}_1' < \tilde{\mu}_2'$, а также $Y_1 < Y_2$, рассматривается аналогично, простой заменой индексов 1→2.

Поскольку условия существования монокультур вида X_1 и X_2 выполняются, условия устойчивого закрепления монокультур остаются прежними (12) для устойчивого выигрыша X_1 и (17) для устойчивого выигрыша X_2 .

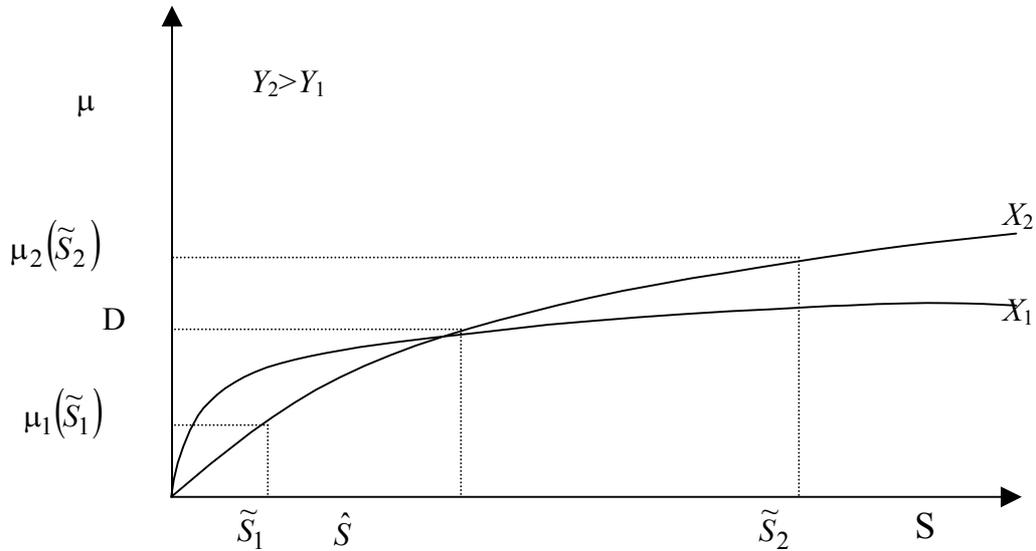


Рис. 2. Экологические свойства видов X_1 и X_2 , сосуществующих в турбидостате (область параметров III на рис. 1, в которой это возможно)

Разбиение пространства параметров управления (S_0, X_0) и экологические свойства видов X_1 и X_2 при неустойчивости их совместного сосуществования приведены на рис.3 и 4. Прямая AB на рис.3 задается условием (17), прямая CD – (12), прямые EP и EH условием (13) и (5) соответственно. Используя условия (12) и (17), определяем, что с учетом пересечения зависимостей $\mu_1(S)$ и $\mu_2(S)$ (рис.4) в области I на рис.3 выигрывает в конкуренции вид X_1 (в этой области справедливо неравенство $\hat{S} < \tilde{S}_2 < \tilde{S}_1$), в области II – вид X_2 (здесь $\tilde{S}_2 < \tilde{S}_1 < \hat{S}$), в области параметров III выигрывает либо первый вид, либо второй в зависимости от начального состояния плотностей популяций видов $X_{1,H}$ и $X_{2,H}$ (в этой области параметров (S_0, X_0) справедливо неравенство $\tilde{S}_2 < \hat{S} < \tilde{S}_1$, т.е. стационарные значения \tilde{S}_2 и \tilde{S}_1 находятся по разные стороны от \hat{S}). Как показывает анализ системы (1), виды X_1 и X_2 в случае неустойчивого сосуществования в стационарной точке $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2, \tilde{S})$ не могут сосуществовать также и в колебательном режиме.

Используя линейный интеграл системы (1) – закон сохранения:

$$X_1/Y_1 + X_2/Y_2 + S = S_0, \tag{29}$$

исключим из первых двух уравнений S и получим систему:

$$\begin{aligned} \dot{\tilde{X}}_1 &= [\mu_1(X_1, X_2) - D]X_1, \\ \dot{\tilde{X}}_2 &= [\mu_2(X_1, X_2) - D]X_2. \end{aligned} \tag{30}$$

Проведя анализ на устойчивость стационарной точки $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2)$ системы (30), получим условие, идентичное (21):

$$(Y_1 - Y_2)(K_{S,2}/\mu_{m,2} - K_{S,1}/\mu_{m,1}) > 0. \tag{31}$$

При выполнении условия (31) стационарная точка $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2)$ – устойчивый узел, при невыполнении – неустойчива, седло. Это, означает, что при неустойчивости стационарного сосуществования видов на фазовой плоскости (X_1, X_2) нет ни одной замкнутой фазовой траектории, охватывающей точку $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2)$ т.е. сосуществования в колебательном режиме тоже нет – в конкуренции выигрывает либо один вид, либо другой.

Поскольку нам известен характер неустойчивости особой точки $(\tilde{X}_1, \tilde{X}_2)$ (седло), то, принимая во внимание первоначальное стационарное существование одного исходного вида X_1 , можно оценить величину концентрации мутантного вида X_2 , появляющегося позднее в результате однократного мутирования, превышение концентрации необходимо мутантному виду для успешного выигрыша в конкуренции над исходным.

Для устойчивого закрепления X_2 в области параметров III (рис.3) необходимо, чтобы выполнялось условие:

$$X_{2,H} > \tilde{X}_2, \tag{32}$$

Где значение \tilde{X}_2 находится по формуле (19). Учитывая, что численность мутантной популяции из-за низкой частоты мутирования мала по сравнению с этой величиной, а также то, что удельная скорость роста мутантной популяции меньше скорости потока в данном случае (рис.4), можно сделать вывод, что с вероятностью, близкой 1, такие мутанты будут вытеснены из культиватора [8]. Таким образом, при возникновении мутантов с экологическими свойствами, соответствующими области III на рис.3, в конкуренции выигрывает исходный вид X_1 .

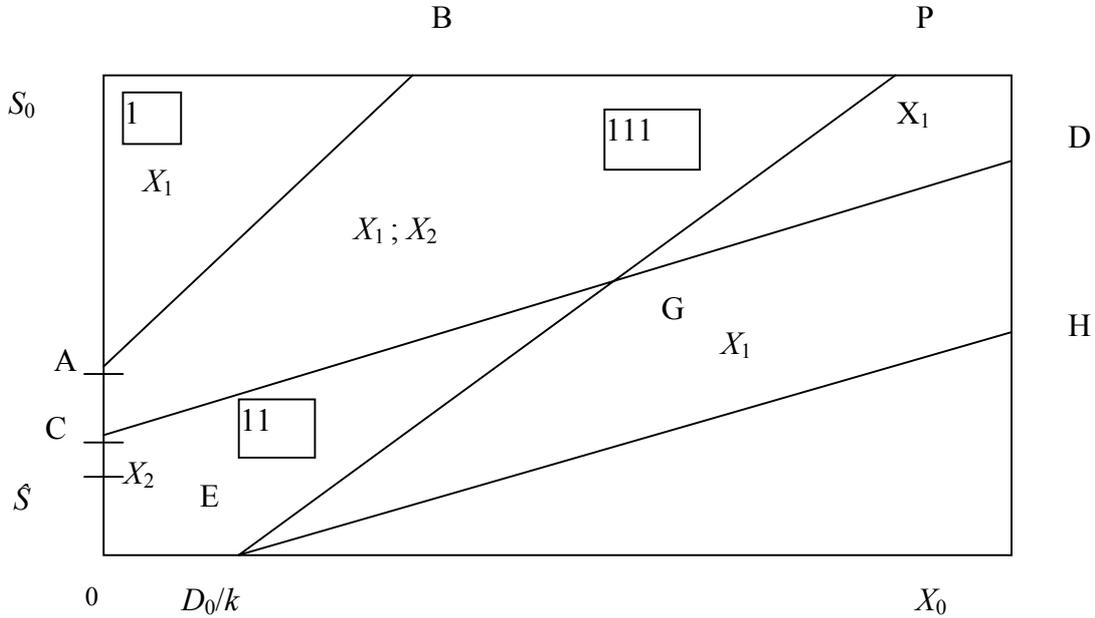


Рис. 3. Разбиение пространства параметров управления (S_0, X_0) в турбидостате на области с различными исходами конкуренции двух видов X_1 и X_2 за субстрат при неустойчивости их совместного сосуществования. В области I выигрывает первый вид X_1 , в области II – второй вид X_2 , в области III – либо X_1 , либо X_2

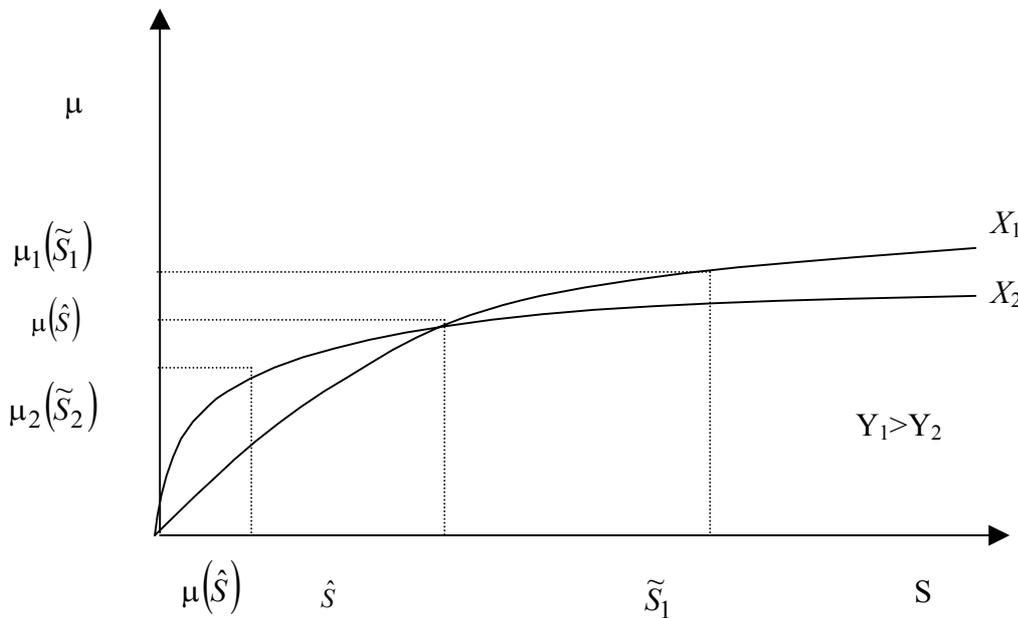


Рис. 4. Экологические свойства видов X_1 и X_2 , совместное сосуществование которых в турбидостате неустойчиво (стационарные значения S_1 и S_2 приведены для области III на рис.3)

В процессе автоселекции в турбидостате при лимитировании субстратом теоретически следует ожидать замещение исходного вида менее экономичными мутантами, сосуществование исходного вида с менее эко-

номичными мутантами, замещение исходного вида более экономичными мутантами и, наконец, сосуществование с более экономичными мутантами.

В соответствии с условием (31) совместное сосуществование популяций исходного вида и мутанта возможно только при одновременном возрастании сродства мутантной популяции к субстрату и экономичности использования субстрата Y либо при одновременном снижении сродства к субстрату и экономичности мутанта:

$$Y_1 > Y_2, K_{S,1}/\mu_{m,1} < K_{S,2}/\mu_{m,2}; Y_1 < Y_2, K_{S,1}/\mu_{m,1} > K_{S,1}/\mu_{m,2}.$$

В противном случае сосуществование неустойчиво, и если условия существования для каждой из монокультур видов выполняются, то тем не менее мутантный вид закрепиться не может, устойчиво существует исходный вид.

Выясним, существует ли содержательный количественный критерий, пользуясь которым, можно было бы предсказать закрепление либо одной из монокультур, либо смеси популяций конкурирующих за субстрат видов в турбидостате, зная их экологические свойства. Разберем численный пример, иллюстрирующий различные исходы конкуренции.

Таблица 1

Поток энергетического субстрата H_3 , захваченного популяцией, в зависимости от исходной конкуренции за субстрат в турбидостате при возрастании его концентрации на входе S_0 . Заданное значение концентрации биомассы в турбидостате $X_0=50$ мг/л по сухому весу

N	S_0 , мг/л	Состав видов	\tilde{S} , мг/л	D , час ⁻¹	\tilde{X} , мг/л	$H_3 = D(S_0 - \tilde{S})$ мг/(л × час)	Y , г/г
1	127	X_1	1,93	0,037	50,027	4,630	0,4
		X_1X_2	30,0	0,375	50,365	33,75	0,519
		$X_2^*)$	26,3	0,362	50,352	36,45	0,5
2	140	X_1	14,46	0,225	50,214	28,12	0,4
		$X_1X_2^*)$	30,0	0,375	50,365	41,25	0,458
		X_2	29,22	0,398	50,368	40,11	0,5
3	156	$X_1^*)$	30,08	0,376	50,366	47,30	0,4
		X_1X_2	30,0	0,375	50,365	47,25	0,4
		X_2	55,17	0,423	50,413	42,65	0,5
4	170	$X_1^*)$	43,85	0,467	50,457	58,91	0,4
		X_1X_2	30,0	0,375	50,365	52,50	0,36
		X_2	69,15	0,437	40,427	44,07	0,5

^{*} Виды либо их смесь, выигрывающие в результате конкуренции при данных (S_0, X_0) .

Свойства видов выберем типичными для лабораторных и природных популяций бактерий, в том числе и для рекомбинантных штаммов *Escherichia coli*, при лимитировании роста распространенным энергетическим субстратом глюкозой [5, 10-15]: $X_1: \mu_{m,1} = 1 \text{ час}^{-1}, K_{S,1} = 50 \text{ мг/л}, Y_1 = 0,4; X_2: \mu_{m,2} = 0,5 \text{ час}^{-1}, K_{S,2} = 10 \text{ мг/л}, Y_2 = 0,5$. Параметры управления в турбидостате в соответствии с математической моделью (1) следующие: $X_0 = 50 \text{ мг/л}, D_0 = 0,01 \text{ час}^{-1}, \kappa = 1 \text{ час}^{-1}(\text{мг/л})^{-1}$. Перечислим границы областей, допускающих существование обоих видов, но с различными исходами конкуренции в порядке возрастания S_0 (в мг/л): I-125 < S_0 < 130,7; II-130,7 < S_0 < 156; III-156 < S_0 < 155,9. Координаты точки G: $X_0 = 50 \text{ мг/л}, S_0 = 150 \text{ мг/л}$. Результаты расчетов для нескольких значений из области I-III сведены в табл.1. Величины рассчитывались по формулам (3)-(4) для монокультур и (18)-(20) для смеси.

Как видно из результатов, приведенных в табл.1, остаточная концентрация субстрата у популяций, замесивших исходную, не всегда минимальна по сравнению с другими вариантами, таким образом, *хемостатный критерий, который основан на снижении остаточной концентрации субстрата у вида, победившего в конкуренции, в турбидостате не работает*. Однако поток энергетического субстрата, захваченного популяцией закрепившегося в результате конкуренции вида $H_3 = D(S_0 - S)$, – всегда выше. Этот вывод распространяется не только на монокультуры, но также справедлив при сравнении потоков захваченного субстрата отдельно для монокультур видов и для смеси при их сосуществовании (табл.1). Возрастание потока энергетического субстрата, захваченного популяцией, может служить удобным количественным критерием закрепления в результате конкуренции в турбидостате не только отдельных монокультур, но и их устойчивого сосуществования, если оно возможно. Отметим, что многие исследователи микробной физиологии также склоняются к аналогичному выводу о важности, в первую очередь, именно скорости потребления микроорганизмами лимитирующего рост субстрата для оценки конкурентоспособности природных микробных популяций [15].

Таким образом, установлено, что характерной особенностью процесса автоселекции при лимитировании роста микроорганизмов энергетическим субстратом в турбидостате, такой, как, например, снижение остаточной концентрации субстрата в хемостате, в большинстве случаев является возрастание потока субстрата,

захваченного популяцией $H_3 = D(S_0 - \tilde{S})$, как при замещении исходного вида мутантом, так и при их устойчивом сосуществовании. Возрастание H_3 наиболее ярко выражено при замещении исходного вида мутантом, обладающим следующими свойствами: большее сродство популяции к субстрату и при этом большая экономичность использования субстрата ($K_{S,m} < K_{S,i}$; $Y_m > Y_i$) или меньшее сродство к субстрату и при этом меньшая экономичность ($K_{S,m} > K_{S,i}$; $Y_m < Y_i$). В общем случае возрастание потока субстрата, захваченного популяцией, справедливо также и для процессов автоселекции в хемостате, поскольку во всех рассмотренных случаях при постоянных D и S_0 остаточная концентрация лимитирующего роста субстрата \tilde{S} в хемостате при этом снижается, соответственно, H_3 возрастает.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Novick A., Szilard L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1950. – **112**: 715-718.
2. Monod J. La technique de culture continue. – Ann. Inst. Past. - 1950. - **79**: 390-410.
3. Moser H. The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. – Washington: Carnegie Inst. of Wash., 1958. – P. 1-136.
4. Эйген М. Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул. – М.: Мир, 1973. – С. 1-216.
5. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – С. 1-331.
6. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология. – Новосибирск: Наука, 1978. – С. 1-207.
7. Гуревич Ю.Л. Устойчивость и регуляция размножения в микробных популяциях. - Новосибирск: Наука, 1984. – С. 1-161.
8. Hsu S.B., Hubbell S.P., Waltman P.A. A mathematical theory for single nutrient competition in continuous cultures of microorganisms// SIAM J. Appl. Maths. - 1977. – **32**: 366-383.
9. Дегерменджи А.Г. Проблема сосуществования взаимодействующих проточных популяций// Смешанные проточные культуры микроорганизмов. - Новосибирск, 1981.- С. 26-106.
10. Печуркин Н.С., Брильков А.В., Марченкова Т.В. Популяционные аспекты биотехнологии. – Новосибирск: Наука, 1990. – С. 1-173.
11. Wick L.M., Weilenmann H., Egli T. The apparent clock-like evolution of *Escherichia coli* in glucose-limited chemostats is reproducible at large but not at small population sizes and can be explained with Monod kinetics// Microbiology. – 2002. – **148**: 2889-2902.
12. Rice C.W., Hempfling W.P. Nutrient-limited continuous culture in the pH-auxostat// Biotechnol. Bioeng. – 1985. – **27**: 187-191.
13. Herbert D., Elsworth R., Telling R.C. The continuous culture of bacteria: A theoretical and experimental study //J. Gen. Microbiol. - 1956. – **14**: 601-62.
14. Ganusov V.V., Brilkov A.V. Estimating the instability parameters of plasmid-bearing cells. I. Chemostat culture// Journal of Theoretical Biology. – 2002. – **219**: 193-205.
15. Tempest D.W. Biochemical significance of microbial growth yields: A reassessment?// Trends of Biochem. Sci. - 1978. – **32**: 366-383.

MATHEMATICAL MODELING OF THE MICROEVOLUTION OF MICROORGANISMS POPULATIONS IN OPEN BIOLOGICAL SYSTEMS

I.A. Loginov, A.V. Brilkov

With the help of the mathematical model of microbial populations development in the turbidostat (open biological system with constant organization by M. Eigen classification) it was shown that the residual concentration of substrate in populations succeeding in the competition is not always minimum in comparison with other variants. Thus, the chemostat criterion based on the decrease of residual concentration of substrate in the species succeeded in competition does not work in the turbidostat. The increase of energy flow of the substrate used by the population of strain, which won in the process of autoselection, is the most general criterion of microevolution of populations.