

На правах рукописи

Клименко Александра Игоревна

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ  
ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРОСТРАНСТВЕННО-РАСПРЕДЕЛЁННЫХ  
МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ**

03.01.09 Математическая биология, биоинформатика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Новосибирск – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в секторе компьютерного анализа и моделирования биологических систем, г. Новосибирск

**Научный  
руководитель**

**Лашин Сергей Александрович**

к. б. н., заведующий сектором компьютерного анализа и моделирования биологических систем ФГБНУ ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН»

**Официальные  
оппоненты**

**Щербаков Дмитрий Юрьевич**

д. б. н., заведующий лабораторией геносистематики, ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

**Макеев Всеволод Юрьевич**

чл.-корр. РАН, доктор физико-математических наук, заведующий отделом вычислительной системной биологии, ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, г. Москва

**Ведущее учреждение:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Кольцово, Новосибирская область

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г. на утреннем заседании диссертационного совета на базе ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» в конференц-зале Института по адресу:

пр. ак. Лаврентьева 10, г. Новосибирск, 630090,

тел +7 (383) 3634906, факс +7(383) 3331278.

e-mail: [dissov@bionet.nsc.ru](mailto:dissov@bionet.nsc.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИЦиГ СО РАН и на сайте Института: [www.bionet.nsc.ru](http://www.bionet.nsc.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Микробные сообщества (МС) являются тесно взаимосвязанными системами, содержащими в себе различные группы прокариотических организмов, включая бактерий, архей, и вирусов, взаимосвязанных на экологическом и популяционном уровнях. Такая гетерогенная природа МС значительно осложняет анализ их структурно-функциональной организации, а также процессов, протекающих в сообществах. В частности, это относится к выявлению функциональных взаимоотношений между членами МС.

В настоящее время в мире активно ведутся исследования в области популяционной генетики пространственно-распределённых биологических систем. При этом появляется всё больше работ, показывающих важность пространственной организации среды обитания и проживающих в ней популяций на эволюцию и функционирование МС (Phalak et al., 2016; Wimpenny et al., 2000).

В связи с появлением большого числа экспериментальных данных (Luo et al., 2014; Shi et al., 2009; Tringe et al., 2008) о функционировании МС в различных условиях (в т.ч. в пространственно-гетерогенных средах), возникла потребность в инструментах, позволяющих на основе этих данных извлекать информацию и получать знания об их структурно-динамических свойствах. Поэтому развитие средств компьютерного моделирования эволюции и функционирования бактериальных сообществ представляет существенную теоретическую и практическую значимость для понимания эволюции МС и их функции в экосистеме.

В настоящее время в мире разработан большой арсенал методов и программ для компьютерного моделирования как отдельных микробов, включая полногеномные модели клетки (Karr et al., 2012; Tomita et al., 1999), так и целых сообществ. Несмотря на достигнутые успехи в моделировании, большинство из представленных методов и программ моделирования фокусируются на описании одного-двух уровней биологической организации МС, что затрудняет комплексное и всестороннее теоретическое исследование их принципов организации, функционирования и эволюции. Ранее в ИЦиГ СО РАН был разработан программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) (Lashin et al., 2007; 2012; 2014), в моделях которого рассматриваются такие уровни биологической организации как генетический, метаболический, популяционный и экологический. Применение таких комплексных моделей

позволило получить широкий спектр теоретических результатов по функционированию и эволюции МС. Однако, в исходной версии ГЭК рассматривались только среды обитания с равномерным перемешиванием, что не позволяло использовать его для исследования пространственно-распределённых МС. В связи с этим были сформулированы следующие цели и задачи диссертационной работы.

**Цели и задачи диссертационной работы.** Целью данной работы является исследование влияния пространственных факторов на процессы генетической изменчивости в микробных сообществах с помощью методов компьютерного моделирования.

Для достижения цели был поставлен и решён ряд задач:

1. Расширить методику «Гаплоидный эволюционный конструктор» для решения задач моделирования генетической изменчивости в пространственно-распределённых микробных сообществах и создать средства для анализа модельных данных разработанной системы.
2. Исследовать модели микробных сообществ с трофическими отношениями вида «отравитель-жертва», выявить влияние пространственных факторов на динамику частот аллелей и возможные режимы функционирования системы.
3. Провести исследование моделей симбиотических сообществ в пространственно-распределённой системе с изменяющимися условиями среды. Выявить влияние пространственных факторов и горизонтального переноса генов на возможные режимы функционирования системы популяций микроорганизмов с компенсаторным и некомпенсаторным типами зависимости от экологических факторов.
4. Исследовать модели усложнения и упрощения метаболизма прокариот, эволюционирующих в пространственно-структурированной среде. Выявить экологические структуры формирующихся сообществ и зависимость трендов эволюции от факторов пространственной неоднородности и подвижности микроорганизмов.
5. Провести численное исследование влияния умеренной фаговой инфекции на эволюционные процессы усложнения и упрощения метаболизма прокариот. Исследовать зависимость эволюции сообщества от пространственной локализации очага заражения.

**Научная новизна работы.** Впервые разработана методика моделирования и программный комплекс ГЭК 3D, которые позволяют моделировать эволюцию микробных сообществ с учётом как факторов пространственного

распределения, так и генетической изменчивости, принимая во внимание различные уровни биологической организации (от молекулярно-генетического до экологического), направление и интенсивность отбора, влияние структурированности среды обитания, различных градиентов экологических факторов и подвижности клеток на функционирование и развитие сообществ прокариот. Всё вместе это даёт возможность проводить комплексное исследование взаимодействия популяционно-генетических и пространственных факторов и их влияния на эволюцию микробного сообщества.

Впервые показано, что при наличии в одномерной среде градиентов субстратов и при условии неподвижности клеток возможные тренды усложнения или упрощения метаболизма распределяются в пространстве по ячейкам системы, а также выявлено соответствие между этим распределением с пространственным распределением экологических функциональных групп. Показано, что способность к хемотаксису у клеток популяций в эволюционирующем сообществе может приводить к снижению как числа видов в системе, так и суммарной биомассы сообщества, что обусловлено цепным снижением числа доступных лицензий в процессе упрощения экологической структуры сообщества. Показано, что умеренный бактериофаг играет стабилизирующую и сдерживающую роль, замедляя видообразование, обусловленное перестройкой геномов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Методика моделирования и программный комплекс, представленные в диссертации, могут быть использованы для оценки популяционных характеристик видов, входящих в микробное сообщество, и решения задач экологического моделирования. Кроме того, с помощью ГЭК 3D возможно рассчитать динамики сложносоставных биореакторов, применяемых в биотехнологических целях.

Построенные модели позволяют исследовать закономерности эволюции микробных сообществ в зависимости от структуры среды и действующих факторов эволюции, а также предсказывать экологическую структуру, которая сформируется в заданных условиях в сообществе, состоящим из определённого набора видов.

Исследование закономерностей эволюции микробных сообществ поможет более глубокому пониманию соответствующих экосистем и рациональному

природопользованию. Разработанная система может быть использована для преподавания теории эволюции и генетики популяций.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Параметры экосистемы определяют эволюционную перспективу популяций немобильных микроорганизмов, получивших преимущество в результате горизонтального переноса генов.
2. Мобильные микроорганизмы, получившие преимущество в результате горизонтального переноса генов, преодолевают биоценотические ограничения, благодаря способности к адаптивным миграциям.
3. Пространственная организация среды обитания микробных сообществ формирует ландшафт давления отбора, на котором происходит устойчивая самоорганизация экологических структур.
4. Способность к хемотаксису у клеток бактериальных популяций в микробном сообществе приводит к снижению как числа видов в экосистеме, так и суммарной биомассы сообщества.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были представлены на следующих научных конференциях, симпозиумах и практических курсах: «Беляевские чтения, международная конференция, посвящённая 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева» (Новосибирск, 2017), 8-ая, 9-ая и 10-ая Международные конференции по биоинформатике регуляции и структуры генома\системной биологии (BGRS\SB 2012, 2014, 2016; Новосибирск), «Санкт–Петербургский международный симпозиум «Системная биология и биоинформатика» (SBBI'2016)» (Санкт-Петербург, 2016), XIII и XVII Всероссийские конференции молодых ученых по математическому моделированию и информационным технологиям (YM 2012, 2016; Новосибирск), «International Practical Course in Systems Biology (ICYSB 2015)» (Гётеборг, Швеция, 2015), «Всероссийская научно-практическая конференция развитие жизни в процессе абиотических изменений на Земле» (Листвянка, 2014), «Международная научная студенческая конференция 2014 (МНСК-2014)» (Новосибирск, 2014).

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена на 209 страницах машинописного текста, содержит 53 рисунка и 5 таблиц. Список литературы включает 244 ссылки. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов, двух глав с описанием результатов моделирования, заключения, выводов, списка литературных источников и четырёх приложений.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 20 работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК, 1 статья в рецензируемой коллективной монографии, 1 авторское свидетельство и 14 тезисов конференций.

**Личный вклад автора.** Работа была выполнена автором самостоятельно. Основные результаты, представленные в публикациях, были получены автором.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую признательность заведующему сектором и научному руководителю к.б.н. Лашину С.А., а также к.б.н. Матушкину Ю.Г., д.б.н. Лихошваю В.А., д.б.н. Хлебодаровой Т.М. и н.с. Суслову В.В. за консультации и продуктивные научные дискуссии.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Обзор литературы**

Обзор литературы состоит из двух частей – описания объекта и предмета исследования – микробных сообществ, их организации, а также функционально-экологической роли; вторая часть литературного обзора посвящена рассмотрению математических методик и программных средств, предназначенных для моделирования микробных сообществ, включая такие аспекты как экологическая структура, генетическое разнообразие и изменчивость, микробный метаболизм и генетическая регуляция, популяционная динамика, пространственная гетерогенность среды обитания и хемотаксис.

### **Глава 2. Материалы и методы**

В разделе 2.1 приведено описание методики моделирования Гаплоидный эволюционный конструктор (ГЭК) (Lashin et al., 2007; 2012; 2014), выбранной в качестве базовой системы моделирования МС. В разделе 2.2 описано расширение ГЭК на случай неоднородных пространственно-структурированных сред, выполненное в данной работе, и его программная реализация в виде комплекса ГЭК 3D.

В рамках ГЭК 3D расширено описание среды обитания – в отличие от ГЭК, где среда рассматривалась как единый объём, в ГЭК 3D среда представляет собой конечный набор равных объёмов – «точечных сред» или ячеек с идеальным перемешиванием в каждой из них и общим сквозным протоком. Процессы производства и потребления субстратов, размножения, мутации, потеря генов и горизонтальный перенос моделируются в рамках стандартной итерации ГЭК и происходят в каждой ячейке независимо от

остальных; отдельным шагом итерационного процесса добавляется перераспределение субстратов и организмов в общей среде.

Методы анализа результатов вычислительных экспериментов описаны в разделе 2.3. Там же приведена предложенная в работе классификация экологических функциональных групп (экогрупп), построенная на основе широты спектра метаболических активностей и преобладания процессов утилизации или синтеза метаболитов. *Минимальный геном* – популяция, способная лишь утилизировать неспецифический субстрат. *Продуценты* – класс организмов, образующих метаболические тупики, которые могут быть использованы другими организмами в качестве источника энергии, структурного элемента, донора или акцептора электронов и т.д. *Квазикомменсалы* – класс организмов, у которых процессы потребления чужих продуктов преобладают над производством своих. *Квазимутуалисты* – класс организмов, обладающих коротким геномом и потенциально способных вступать в симбиотические трофические кольца. *Эдификаторы* – популяции, обладающие широким спектром метаболических активностей и поэтому способные существенно преобразовывать среду обитания, оказывая через неё влияние на многие другие популяции сообщества.

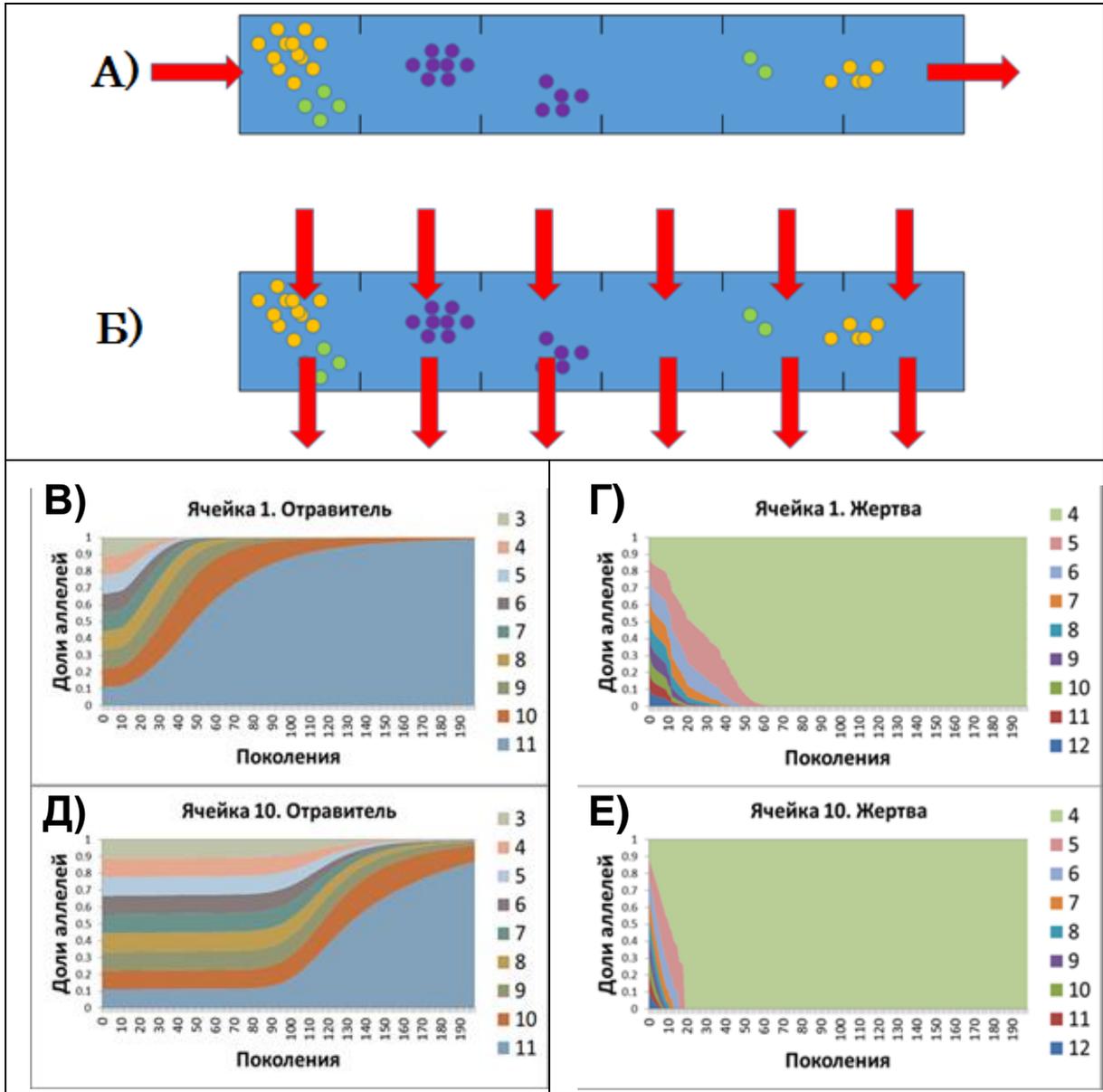
В разделе 2.4 представлена программная реализация ГЭК 3D. Описаны общая схема, структура программного комплекса и поток вычисления.

### **Глава 3. Моделирование эволюции системы «отравитель-жертва» в пространственно-распределённой среде**

В данной главе была рассмотрена модель МС типа «Отравитель-жертва», эволюционирующего в средах с различными режимами подачи питательного субстрата (см. Рис. 1 А, Б). Сообщество состояло из двух популяций – «отравителя» и «жертвы». Продукт жизнедеятельности «отравителя» ингибировал рост клеток популяции «жертвы», продукт которых, в свою очередь, активировал рост клеток популяции «отравителя». При этом обе популяции потребляли попадающий из внешнего источника в систему неспецифический субстрат, который использовался на нужды роста обеих популяций. Были изучены популяционная динамика и динамика частот аллелей в моделях с различными средами и начальным полиморфизмом чувствительности к токсину и эффективности утилизации.

Показано, что в средах, характеризующихся выраженным градиентом неспецифического субстрата и сквозным протоком («река»), скорость эволюции «отравителя» и «жертвы» различается в разных частях

пространства в соответствии с интенсивностью отбора, действующего на популяции (см. Рис. 1 В, Г, Д, Е). Наличие популяции «жертвы», безусловно необходимое для жизнедеятельности всего сообщества в 0D-среде (среда с полным перемешиванием), не является таковым для всех регионов пространственно-распределённого сообщества даже в случае 1D-среды.



**Рисунок 1. Моделирование эволюции системы «отравитель-жертва» в пространственно-распределённой среде.**

**А)** Схема пространственной организации системы в модели «Отравитель-жертва» со сквозным протоком («река», проточные водоёмы). **Б)** Схема пространственной организации системы с «перпендикулярным» протоком («озеро»). Жёлтые кружки изображают неспецифический субстрат, зелёные и фиолетовые – специфические субстраты (продукты). **В-Е)** Динамика частот аллелей популяций «отравителя» и «жертвы» в ячейках 1 и 10 в модели «Отравитель-жертва» в среде типа «река». Толщина (по вертикали) цветной полосы соответствует доле аллеля в популяции.

Таким образом, для выживания сообщества достаточно наличие «жертв» – производителей субстрата – только в некоторых районах пространства, поскольку в дальнейшем этот субстрат может транспортироваться в другие районы. При этом различные районы будут характеризоваться разной интенсивностью отбора, испытываемого «отравителями» и «жертвами». Тем самым показано, что пространственная неоднородность в прокариотических сообществах может обуславливать большую вариативность в скорости протекания эволюционных процессов. Также показано, что в неоднородных средах с «перпендикулярным» протоком («озеро»), несмотря на вызываемую хемотаксисом нерегулярность локальной популяционной динамики, тренд изменения частот аллелей в целом остаётся устойчивым.

#### **Глава 4. Моделирование трендов усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенных местообитаниях**

Работа, представленная в данной главе, состоит из четырёх частей:

1. Моделирование горизонтального переноса генов в пространственно-распределённой системе с изменяющимися условиями среды;
2. Моделирование действия отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем;
3. Модели усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенной среде;
4. Влияние фаговой инфекции на эволюцию бактериального сообщества.

Известно, что существуют два противоположных тренда эволюции генома – на упрощение и на усложнение, – каждый из которых берёт верх в тех или иных условиях. К ярким примерам упрощения относится редукция генома у паразитов (Moran, 2002), потеря генов бактериями в *in vitro* системах (Mira et al., 2001), а также оптимизация длины генома при синтрофии (Kunin & Ouzounis, 2003; McCutcheon & Moran, 2011). С другой стороны, приобретение генов устойчивости к антибиотикам (Handel et al., 2016; Rodriguez-Martinez et al., 2006), приобретение генов, способствующих выживанию в экстремальных условиях (Nelson et al., 1999; Nesbo et al., 2001), а также симбиогенез (Archibald, 2011; Margulis, 1970) представляют тенденцию к усложнению геномов.

В литературе описан ряд хорошо изученных примеров коэволюции в системах «бактериальное сообщество-фаг», включающих признаки

вирулентности и резистентности (Родин & Ратнер, 1982; Матушкин, Родин, & Ратнер, 1986). Одним из таких примеров, наблюдающихся в богатых питательными веществами средах, является т.н. «гонка вооружений», т.е. движущий отбор в сторону увеличения вирулентности фага и резистентности бактерий (Weitz et al., 2005). В бедных средах имеет место другая коэволюционная динамика, называемая колеблющимся (или флуктуирующим) отбором: происходят колебания частот генотипов со специализированной резистентностью и вирулентностью или же колебания в диапазонах резистентности и вирулентности (Gomez et al., 2014). Пространственная структура сообщества также является фактором, влияющим на динамику коэволюции – в то время как среды с равномерным перемешиванием способствуют «гонке вооружений» за счёт увеличения вероятности встречи бактериальных клеток и фаговых частиц (Gomez et al., 2014), среды с выраженными пространственными градиентами клеток, фаговых частиц и веществ поддерживают устойчивое сообщество за счёт создания убежищ и стабилизации совместного существования бактерий и фагов (Schrag & Mittler, 1996).

Влияние фаговой инфекции на эволюцию геномов бактерий шире, чем традиционно рассматриваемые признаки вирулентности и резистентности. Недавно было показано, что коэволюция бактерий и литических фагов не только приводит к изменениям в ответственных за резистентность локусах, но и ограничивает приобретение мутаций, благоприятных для роста в абиотической среде обитания (Scanlan et al., 2015). Тем не менее последствия подобного совместного существования бактерий и умеренных фагов оставались неясными. В связи с этим в данной работе был исследован вопрос о влиянии умеренной фаговой инфекции на приобретение новых метаболических функций клетками бактериальных популяций.

Несмотря на важность обмена генетическим материалом, эволюция прокариот путём горизонтального переноса (ГП) генетического материала имеет ряд ограничений, в частности экологические взаимосвязи в симбиотрофном сообществе канализируют пространство возможной эволюции, на что указывал ещё Г.А. Заварзин (Заварзин, 2006; 2009). Однако, Е.В. Кунин считает горизонтальный перенос важнейшим фактором в эволюции прокариот, легко преодолевающим экологические ограничения (Koonin, 2011).

Чтобы понять, насколько определяющим фактором являются экологические условия для успешности субпопуляций клеток,

появляющихся в результате горизонтального переноса генов, и в каких условиях возможно их закрепление, а в каких – структура экосистемы будет жёстко ограничивать реализацию данной возможности, была создана модель совместного функционирования и конкуренции популяций в сообществе, состоящем из двух трофических циклов, в протяжённой среде с изменяющимися условиями. Было изучено влияние горизонтального переноса генов на функционирование в стрессовых условиях сообществ из популяций, имеющих компенсаторные и некомпенсаторные трофические стратегии. Было показано, что в сообществах неподвижных микроорганизмов реализуется сценарий Заварзина, предполагающий обусловленность результатов ГП параметрами экосистемы, – ГП приводит к появлению новой жизнеспособной популяции, лишь если происходит в ресурсно-богатых ячейках. Т.е., несмотря на наличие преадаптаций, таксон должен появиться в ресурсно-богатой среде, где ослаблена борьба за существование с абиогенными факторами (см. Рис. 2 Ж). В бедных ресурсами экосистемах новые виды не успевают набрать достаточной численности, чтобы использовать своё адаптивное преимущество, или даже элиминируются до начала голодовки. В сообществах подвижных микроорганизмов тип питания представителей сообщества определяет эволюционный сценарий, по которому пойдёт развитие сообщества в результате ГП: сценарий Кунина, предполагающий закрепление новой популяции в сообществе, реализуется в компенсаторных системах, а Заварзина – в некомпенсаторных (см. Рис. 2 Ж). В целом, результаты моделирования больше соответствуют точке зрения Заварзина, нежели Кунина: эволюционную перспективу популяции, получившей преимущество в результате горизонтального переноса, определяют не её собственные преадаптации, а параметры экосистемы. Данные ограничения могут быть преодолены лишь мобильными организмами, способными к адаптивным миграциям и в меньшей степени зависящими от экологических факторов.

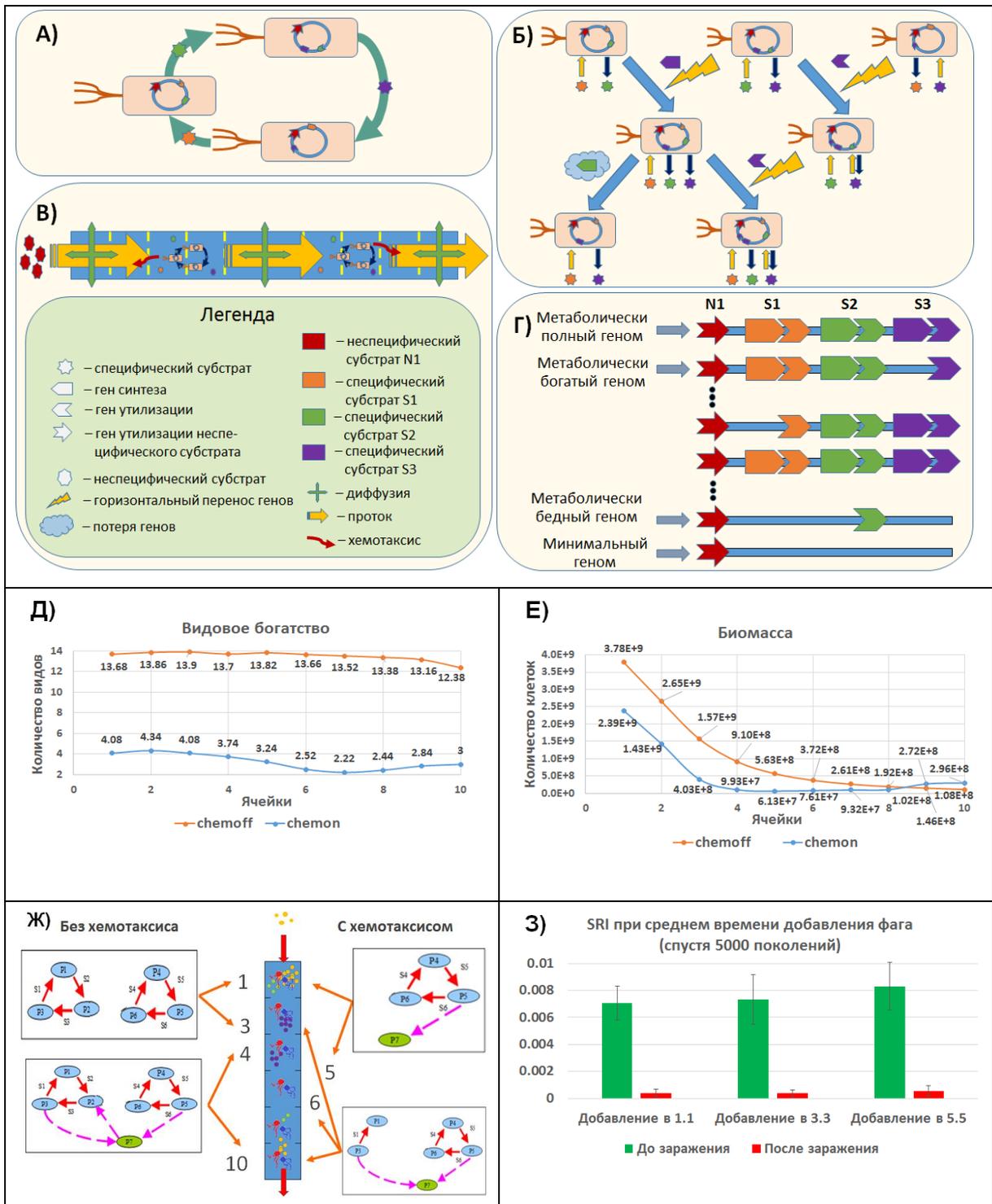
Численное исследование трендов эволюции прокариот на усложнение и упрощение метаболизма потребовало рассмотреть, как отбор будет действовать в детерминированной модели сообщества с полным набором комбинаций метаболических систем. Пространственная структура сообщества аналогична рассмотренным ранее системам с градиентом неспецифического субстрата (см. Рис. 2 В). Было рассмотрено влияние подвижности и неподвижности клеток на итоговую экологическую

структуру, которая формируется в результате развития сообществ такого типа. Тем самым были обнаружены характерные распределения биомасс экогрупп, не зависящие от таких стохастических факторов, как время и место горизонтального переноса или потери генов, но определяемое только приспособленностью популяций, входящих в соответствующие экогруппы. Было показано, что отбор действует по-разному на подвижные и неподвижные организмы. В случае отсутствия способности к активной миграции развитие системы приводит к установлению структуры из эдификаторов и квазикомменсалов, где вторые преобладают над первыми по мере удаления от источника неспецифического субстрата. Для подвижных организмов, способных к адаптивным миграциям в более благоприятные химические условия, отбор поддерживает популяцию с метаболически полным геномом (эдификатор), имеющую замкнутый метаболизм.

Стохастическая модель позволила рассмотреть влияние пространственных градиентов субстратов и структурированности протяжённой проточной среды на тренды усложнения и упрощения метаболизма в прокариотическом сообществе. В процессе расчёта стохастически с вероятностью  $10^{-7}$  на поколение на клетку моделировались процессы как переноса генов между клетками разных популяций, так и потери генов. В результате появлялись новые популяции, комбинирующие разные сочетания утилизируемых и синтезируемых субстратов. В ходе исследования варьировалось наличие или отсутствие способности к хемотаксису у клеток. При этом исследовались взаимосвязь экологических условий и длины генома доминирующей популяции и то, как способность клеток к хемотаксису влияет на среднее число видов, суммарную биомассу и экологическую структуру формирующихся сообществ.

Анализ длин геномов доминирующих популяций позволил выявить определённые паттерны пространственной локализации видов с различной длиной генома. В качестве меры длины генома рассматривалось количество ответственных за метаболизм модельных генов у представителей данной популяции. Было показано, что в случае без хемотаксиса в ячейках, находящихся ближе к источнику неспецифического субстрата, чаще доминирует популяция с метаболически полным геномом, а по мере удаления от источника неспецифического субстрата растёт доля доминант с коротким (метаболически бедным) геномом. Для случая с хемотаксисом зависимости распределения длин геномов локально доминирующих

популяций от пространственной локализации выявлено не было. Чтобы вскрыть причины, лежащие в основе этих паттернов, подход анализа экогрупп был применён для исследования динамики эволюции системы во времени.



**Рисунок 2. Моделирование трендов усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенных местообитаниях.**

А) Начальный граф исходной трофической структуры сообщества. Б) Схема приобретения и потери метаболических систем посредством горизонтального переноса

и потери ответственных за эти метаболические свойства генов. **В)** Пространственная схема организации сообщества (труба из 10 ячеек, «река»), подачи субстратов в среду, протока, диффузии и миграций. **Г)** Достижимые наборы комбинаций метаболических систем для модели с одним неспецифическим и тремя специфическими субстратами. **Д-Е)** Видовое богатство и биомасса (усреднённые по запускам) в разных ячейках для случаев с хемотаксисом (оранжевый) и без (голубой). **Ж)** Модель горизонтального переноса генов (ГП) в пространственно-распределённой системе с изменяющимися условиями среды. Схема трофических отношений в сообществе организмов с некомпенсаторным типом зависимости от экологических факторов (справа – с хемотаксисом, слева – без хемотаксиса) после ГП и голодовки. Оранжевыми стрелками показаны соответствия между ячейками, в которых произошёл ГП и итоговой трофической структуры. **З)** Средний индекс скорости видообразования (SRI) при времени добавления фага в различные ячейки спустя 5000 поколений. Случай без хемотаксиса. Пределы погрешностей на диаграмме отображают стандартное отклонение.

Разбиение популяционных динамик на экогруппы позволило разобраться в сложном характере популяционно-генетических процессов, происходящих в системе и увидеть стоящий за ними экологический смысл. Было показано, что распределение доминирующих экогрупп по ячейкам в случае без хемотаксиса и с хемотаксисом качественно отличается друг от друга – для мобильных клеток за несколькими исключениями наблюдается доминирование во всей системе либо эдификаторов, либо квазикомменсалов, в то время как для немобильных клеток наблюдается пространственная стратификация доминирующих экогрупп в зависимости от близости ячейки к источнику неспецифического субстрата – ближе к источнику доминируют эдификаторы, а дальше – квазикомменсалы. Причём анализ динамик биомасс экогрупп показывает, что присутствует тенденция к паритету этих двух экогрупп по биомассе, несмотря на неравное соотношение пространства, на котором реализуется их доминирование. При этом в среднем биомасса эдификаторов выше для экосистем, состоящих из немобильных организмов (без хемотаксиса), в то время как биомасса квазимутуалистов выше в случаях мобильных организмов.

Отдельного упоминания заслуживает влияние хемотаксиса на среднее число видов и суммарную биомассу сообщества. Оказалось, что число видов в среднем (по 50 численным экспериментам) ниже в 2,84 раза (см. Рис. 2 Д), а суммарная биомасса в 2,02 раза ниже (см. Рис. 2 Е) в случае, когда клетки были способны мигрировать в ячейки с лучшими условиями. Высокая мобильность позволяет популяции максимально эффективно утилизировать имеющийся во всех частях пространства субстрат. Это

приводит к быстрому росту популяций, способных утилизировать субстраты, актуально присутствующие в среде. В свою очередь, максимальная эффективность утилизации всех ресурсов со стороны уже укрепившихся видов препятствует реализации экологических ниш новыми видами, способных создать новые экологические лицензии. Таким образом, в данном численном исследовании показано, что активные миграции являются фактором, препятствующим видообразованию и снижающим суммарную биомассу сообщества, что обуславливается быстрой экспансией уже укрепившихся видов.

Влияние фаговой инфекции на процессы усложнения и упрощения метаболизма прокариот было исследовано при помощи аналогичной стохастической модели с добавлением фага. Варьировались время и место добавления бактериофага в среду. Для исследования процессов образования новых форм в результате потери или приобретения клетками метаболических признаков был предложен индекс скорости видообразования (SRI), посчитанный согласно следующей формуле:

$$SRI = \frac{\|\{p|p - \text{вновь возникшая жизнеспособная популяция}\}\|}{time\_span}$$

где *time\_span* – промежуток времени, на протяжении которого оценивается скорость видообразования; популяция считается жизнеспособной, если она просуществовала большее число поколений, чем заданный порог, который равнялся 500.

Численное исследование показало, что в результате умеренной фаговой инфекции происходит резкое падение скорости видообразования (см. Рис. 2 З), обусловленного перестройкой метаболизма, что может быть объяснено тем, что усиленный отбор затрудняет появление новых жизнеспособных популяций, которые могли бы занять потенциальные экологические лицензии. В то же время умеренный фаг играет роль стабилизирующего фактора, подавляющего чрезмерное видообразование и способствующего переходу экосистемы в стационарное в смысле числа видов состояние.

Проведённое численное моделирование показывает, что пространственная организация среды обитания формирует ландшафт давления отбора, опосредуя тем самым эволюционные процессы, происходящие в экосистеме. В свою очередь, это служит причиной компарментализации на экосистемном уровне, приводя к пространственно-специфической реализации разнообразных эволюционных сценариев, что согласуется с другими исследованиями, как

теоретической (Goldschmidt, Regoes, & Johnson, 2017) так и экспериментальной (Callahan et al., 2014; Goldschmidt et al., 2017) направленности. Важность миграции для эволюционной успешности актов горизонтального переноса была показана в работах (Niehus et al., 2015). Миграция обеспечивает стабильный генный приток нужной плотности, позволяющий мутантам набрать критическую биомассу, необходимую для закрепления в сообществе, что позволяет такому редкому событию как горизонтальный перенос определять эволюцию микробного сообщества, преодолевая препятствия, создаваемые жёсткой конкурентной средой уже сложившегося сообщества. Миграции как процесс, препятствующий выражению этой компартиментализации, ведут к уменьшению разнообразия сообщества и к экспансии немногих приспособленных популяций, что, однако, не приводит к увеличению общей биомассы сообщества по сравнению с сообществами немобильных организмов. Данный эффект можно объяснить цепным сокращением экологических лицензий в связи со снижением разнообразия и упрощением структуры сообщества. Несмотря на стохастичность процессов генетической изменчивости, происходит устойчивая самоорганизация на уровне паттернов экологических структур. Вместе с тем наличествует множественность бассейнов притяжения эволюции систем подобного типа. Пространство эволюционных траекторий канализируется. Независимо ни от происхождения, ни от конкретного набора метаболических систем в отдельных популяциях, складываются определённые конфигурации функциональных типов, лишь в терминах которых может быть понято содержание эволюционных процессов, происходящих в микробном сообществе. Таким образом, контекст взаимосвязей между популяциями и пространственно-гетерогенные локальные экологические условия, к которым происходит адаптация, определяют действие отбора на уровне экосистем, оставляя те трофические конфигурации, которые оказываются наиболее устойчивыми в данных условиях.

## **ВЫВОДЫ**

1. Разработано расширение методики «ГЭК» для решения задач моделирования генетической изменчивости в пространственно-распределённых микробных сообществах и реализовано в виде программного комплекса «ГЭК 3D», созданы средства для анализа модельных данных системы «ГЭК 3D».

2. В модели микробного сообщества по типу «Отравитель-жертва» показано, что в средах, характеризующихся выраженным градиентом неспецифического субстрата и сквозным протоком, скорость эволюции «отравителя» и «жертвы» различается в разных частях пространства в соответствии с интенсивностью отбора, действующего на популяции. Впервые показано, что, несмотря на вызываемую хемотаксисом в неоднородной среде нерегулярность локальной популяционной динамики, тренд изменения частот аллелей остаётся устойчивым.
3. Показано, что в модели симбиотических сообществ с компенсаторным типом питания горизонтальный перенос генов лишь в ресурсно-богатых ячейках оказывает влияние на сценарий развития сообщества. В некомпенсаторных системах сочетание хемотаксиса и горизонтального переноса может приводить к дестабилизации системы и перестройке её экологической структуры.
4. Впервые показано, что при наличии в одномерной среде градиентов субстратов и при условии неподвижности клеток возможные типы усложнения или упрощения метаболизма распределяются в пространстве по ячейкам системы. Выявлено соответствие между этим распределением с пространственным распределением экологических функциональных групп.
5. Показано, что процессы горизонтального переноса и потери генов в сообществах подвижных прокариот могут приводить к стабильному распределению биомасс экогрупп, отличному от того, которое наблюдается в ходе естественного отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. Показано, что в этот режим попадают не только формирующиеся сообщества на ранних стадиях, но и относительно сформированные экосистемы.
6. Показано, что способность к хемотаксису у клеток популяций в эволюционирующем сообществе может приводить к снижению как числа видов в системе, так и суммарной биомассы сообщества, что обусловлено цепным снижением числа доступных лицензий в процессе упрощения экологической структуры сообщества.
7. Показано, что умеренный бактериофаг играет стабилизирующую и сдерживающую роль, замедляя видообразование, обусловленное перестройкой геномов, что особенно ярко проявляется при инвазии в ячейки с высоким видовым разнообразием в уже сформированных сообществах.

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Klimenko A.I.**, Matushkin Yu.G., Lashin S.A. Bacteriophages affect evolution of bacterial communities in spatially distributed habitats: a simulation study. // BMC microbiology. – 2016. – Т.16. – №. Suppl 1. – С. S10.
2. **Клименко А.И.**, Мустафин З.С., Чеканцев А.Д., Зудин Р.К. Матушкин Ю.Г., Лашин С.А. Современные подходы к математическому и компьютерному моделированию в микробиологии. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т.19. – №. 6. – С. 745-752.
3. **Klimenko A.I.**, Matushkin Yu.G., Kolchanov N.A., Lashin S.A. Modeling evolution of spatially distributed bacterial communities: a simulation with the haploid evolutionary constructor // BMC Evol Biol. – 2015. – Т.15. – №. Suppl 1. – С. S3.
4. Lashin S.A., **Klimenko A.I.**, Mustafin Z.S., Kolchanov N.A., Matushkin Yu.G. HEC 2.0: improved simulation of the evolution of prokaryotic communities // Математическая биология и биоинформатика. – 2014. – Т.9. – №. 2. – С. 585-596.
5. Lashin S.A., Matushkin Yu.G., **Klimenko A.I.**, Suslov V.V., Kolchanov N.A. Evolution, Biodiversity and Ecology in Microbial Communities: Mathematical Modeling and Simulation with the “Haploid Evolutionary Constructor” Software Tool // Biodiversity - The Dynamic Balance of the Planet, PhD. Oscar Grillo (Ed.), 2014, ISBN: 978-953-51-1315-7, InTech, DOI: 10.5772/58302.