Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

На правах рукописи

Клименко Александра Игоревна

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРОСТРАНСТВЕННО-РАСПРЕДЕЛЁННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ

Специальность 03.01.09

Математическая биология, биоинформатика

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

к.б.н.

Лашин Сергей Александрович

Новосибирск 2017

Оглавление

Список используемых аббревиатур и сокращений					
D	цели и задачи диссертационной работы	5 7			
	Научная новизна работы	8			
Теоретическая и практическая значимость работы					
	Положения, выносимые на защиту				
	Апробация работы				
	Объём и структура диссертации	11			
	Публикации	11			
1.	Обзор литературы	16			
	1.1. Организация микробных сообществ и их функционально-экологическая роль	16			
	1.1.1 Бактериальные маты и биоплёнки	17			
	1.1.2 Чувство кворума	20			
	1.1.3 Движение у прокариот	21			
	1.1.4 Реконструкция микробных взаимодействий	24			
	1.1.5 Роль бактериофагов в микробных экосистемах	28			
	1.2. Обзор математических методик и программных средств моделирования микробных сообществ	37			
	1.2.1 Методы реконструкции экологической структуры бактериальных сообществ	38			
	1.2.2 Моделирование метаболизма и генетической регуляции	42			
	1.2.3 Методы моделирования генетического разнообразия и изменчивости	53			
	1.2.4 Пространственная гетерогенность и популяционная динамика микробных сообществ	358			
	1.2.5 Методы моделирования подвижности клеток	67			
	1.2.6 Индивидуально-ориентированные методы моделирования микробных сообществ	71			
	1.2.7 Проблемы интеграции и многоуровневые подходы к моделированию микробных				
	сообществ	78			
	1.3. Заключение к главе 1	80			
2.	Материалы и методы	83			
	2.2. Расширенная версия ГЭК для моделирования пространственно-распределённых сообще	еств			
		86			
	2.2.1 Моделирование протока	89			
	2.2.2 Моделирование диффузии	89			
	2.2.3 Моделирование хемотаксиса	91			
	2.3. Методы анализа результатов вычислительных экспериментов	95			
	2.3.1 Классификация экологических групп	95			
	2.4. Программная реализация ГЭК 3D	101			

	2.4.1 Общая схема и структура проекта	101				
	2.4.2 Поток вычисления	103				
3.	Моделирование эволюции системы «отравитель-жертва» в пространствен распределённой среде	но- 105				
	3.1. Эволюция популяций «отравителя» и «жертвы» в среде типа «река» с выраженными субстратными градиентами	105				
	3.2. Эволюция популяций «отравителя» и «жертвы» в среде типа «озеро» с неоднородным начальным распределением токсина	112				
	3.3. Заключение к главе 3	118				
4.	Моделирование трендов усложнения и упрощения метаболизма прокариот пространственно-гетерогенных местообитаниях 4.1. Моделирование горизонтального переноса генов в пространственно-распределённой системе с изменяющимися условиями среды	г в 120 123				
	4 1 1 К-К системы	125				
		127				
		121				
	4.2. Моделирование деиствия отоора в сообществе с полным наобром комбинации метаболических систем	130				
	4.3. Модели усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетероген среде	ной 133				
	4.3.1 Влияние адаптивных миграций на видовое богатство и биомассу сообщества	137				
	4.3.2 Анализ доминирующих популяций и экогрупп	139				
	4.3.3 Анализ экологических структур сформированных сообществ с помощью метода главн компонент	ых 145				
	4.4. Влияние фаговой инфекции на эволюцию бактериального сообщества	152				
	4.5. Заключение к главе 4	159				
Заключение						
Список литературы						
Приложение 1. Модификации языка описания моделей 198 Приложение 2. Сценарии обработки, анализа и визуализации результатов						
вычислительных экспериментов						
Πj	Приложение 3. Классификация существующих программных средств моделирования микробных сообществ					
Πj	риложение 4. Биологически обоснованные диапазоны параметров моделей	207				

Список используемых аббревиатур и сокращений

- МС микробное сообщество
- ГЭК гаплоидный эволюционный конструктор
- Фаги бактериофаги
- СГПГ симметричная модель «Ген-против-гена»
- ГПГ модель «Ген-против-гена»
- АС модель аллельного соответствия
- ГВ «гонка вооружений»
- ФО флуктуирующий отбор
- ФСО флуктуирующий по специфичности отбор
- ФДО флуктуирующий по диапазону отбор
- ГП горизонтальный перенос генетического материала
- ТЦ трофический цикл
- МГК метод главных компонент

Введение

Микробные сообщества (МС) являются тесно взаимосвязанными системами, содержащими в себе клетки, относящиеся к разным штаммам, видам, родам и даже царствам. Такая гетерогенная природа значительно осложняет анализ их структурно-функциональной организации, а также процессов, протекающих в сообществах. В частности, это относится к выявлению функциональных взаимоотношений между членами МС. Стоит отметить, что под микробными сообществами в данной работе понимается группы прокариотических организмов, включая бактерий, архей и вирусов, взаимосвязанных на экологическом и популяционном уровнях, и тем самым образующих единую систему.

В настоящий момент существует ряд экспериментальных методов, предоставляющих гетерогенные данные, касающиеся различных аспектов этого объекта исследования. Произошедшее за последнее время резкое увеличение объёма доступных метагеномных данных представляет интерес и открывает поле деятельности не только для биостатистиков, но и для специалистов в области моделирования биосистем, поскольку эти данные качество моделей. В позволяют повысить то же время методы математического и компьютерного моделирования оказываются полезны для понимания эволюции МС и их функции в экосистеме.

МС динамически изменяются структурно и функционально в ответ на изменения окружающей среды. Пространственная неоднородность среды обитания, градиенты экологических факторов и миграции вносят свой вклад в действие естественного отбора на участников МС. Поэтому изучение влияния пространственных факторов на направление и характер генетической изменчивости микроорганизмов представляется актуальной целью исследования. В настоящее время в мире активно ведутся исследования в области популяционной генетики пространственно-распределённых биологических систем. При этом появляется всё больше работ, показывающих

5

важность пространственной организации среды обитания и проживающих в ней популяций на эволюцию и функционирование микробных сообществ (Phalak, Chen, Carlson, & Henson, 2016; J. Wimpenny, Manz, & Szewzyk, 2000).

В связи с появлением большого числа экспериментальных данных 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 свойствах. Поэтому структурно-динамических развитие средств компьютерного моделирования эволюции И функционирования бактериальных сообществ представляет существенную теоретическую и практическую значимость.

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; M Tomita et al., 1999)), так и сообществ. Несмотря на достигнутые успехи в моделировании (подробнее см. Обзор литературы), 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» (далее ГЭК) (S. A. Lashin, Matushkin, Suslov, & Kolchanov, 2012; S.A. Lashin, Klimenko, Mustafin, Kolchanov, & Matushkin, 2014; Sergey A Lashin, Suslov, Kolchanov, & Matushkin, 2007), 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 пространственнораспределённых MC. В связи с этим были сформулированы следующие цели и задачи диссертационной работы.

Цели и задачи диссертационной работы

Цель работы:

 Исследование влияния пространственных факторов на процессы генетической изменчивости в микробных сообществах с помощью методов компьютерного моделирования

Задачи:

- 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.
- 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.
- 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

Актуальность и новизна данной работы состоит в том, что впервые разработана методика моделирования и программные средства, которые позволяют моделировать эволюцию бактериальных сообществ с учётом как факторов пространственного распределения, так И генетической изменчивости, принимая во внимание различные уровни биологической организации от генетического до экологического уровня, 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 провести 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 типы 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

- 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.
- 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 100летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева» (Новосибирск, 2017)
- «XVII Всероссийская конференция молодых учёных по математическому моделированию и информационным технологиям (YM2016)» (Новосибирск, 2016)
- «The Tenth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology (BGRS\SB 2016)» (Новосибирск, 2016)
- 4. «Санкт–Петербургский международный симпозиум «Системная биология и биоинформатика» (SBBI'2016)» (Санкт-Петербург, 2016)
- 5. «International Practical Course in Systems Biology (ICYSB 2015)» (Гётеборг, Швеция, 2015)
- 6. «The Ninth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology 2014 (BGRS\SB 2014)» (Новосибирск, 2014)
- 7. «Всероссийская научно-практическая конференция развитие жизни в процессе абиотических изменений на Земле» (Листвянка, 2014)
- «Международная научная студенческая конференция 2014 (МНСК-2014)» (Новосибирск, 2014)

- «XIII всероссийская конференция молодых учёных по математическому моделированию и информационным технологиям (YM2012)» (Новосибирск, 2012)
- 10.«The Eighth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology 2012 (BGRS\SB 2012)» (Новосибирск, 2012)

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:

Статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК:

- 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. – T. 16. – №. Suppl 1. – C. S10.
- 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.
- 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. – T.15. – №. Suppl 1. – C. S3.

 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 // Math. Biology & Bioinformatics. – 2014. – T.9. – №. 2. – C. 585-596.

Статьи в рецензируемых коллективных монографиях:

 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.

Тезисы конференций:

- А.И. Клименко, Ю.Г. Матушкин, С.А. Лашин. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СПОСОБСТВУЕТ ЛОКАЛЬНОМУ ПОДДЕРЖАНИЮ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ЭВОЛЮЦИОННЫХ СЦЕНАРИЕВ В МОДЕЛЯХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ // Беляевские чтения, международная конференция, посвящённая 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева, тезисы докладов, г. Новосибирск, 2017 г., с. 173.
- 2. Ю.Г. Матушкин, А.И. Клименко, Н.А. Колчанов, С.А. Лашин. ФАГОВАЯ ИНФЕКЦИЯ ЗАМЕДЛЯЕТ ВИДООБРАЗОВАНИЕ, **ВЫЗВАННОЕ** ПОТЕРЕЙ ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПЕРЕНОСОМ И ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА B МОДЕЛЯХ ПРОСТРАНСТВЕННО ГЕТЕРОГЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ // Беляевские чтения, международная конференция, посвящённая 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева, тезисы докладов, г. Новосибирск, 2017 г., с. 176.
- 3. Клименко А. И., Мустафин З.С., Матушкин Ю. Г., Лашин С. А. ГЭК 3D: инструмент для многоуровневого моделирования пространственно

распределённых микробных сообществ // XVII Всероссийская конференция молодых учёных по математическому моделированию и информационным технологиям (YM2016), г. Новосибирск, 2016 г., с. 90-91.

- 4. A. I. Klimenko, Yu.G. Matushkin, N.A. Kolchanov, S.A. Lashin PHAGE INFECTION SLOWS DOWN SPECIATION CAUSED BY GENE LOSS AND HORIZONTAL GENE TRANSFER OF METABOLIC GENES IN MODELS OF SPATIALLY DISTRIBUTED BACTERIAL COMMUNITIES // The Tenth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, Novosibirsk, 2016, p. 128.
- 5. A.I. Klimenko, Yu.G. Matushkin, Z.S. Mustafin, A.D. Chekantsev, R.K. Zudin, S.A. Lashin HAPLOID EVOLUTIONARY CONSTRUCTOR 3D: A TOOL FOR MULTILAYER MODELING OF SPATIALLY DISTRIBUTED MICROBIAL COMMUNITIES // The Tenth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, Novosibirsk, 2016, p. 129.
- Лашин С.А., Клименко А.И., Мустафин З.С., Зудин Р.К., Чеканцев А.Д., Матушкин Ю.Г. Комплексные модели микробных сообществ // Международная конференция «Актуальные проблемы вычислительной и прикладной математики – 2015», Новосибирск, Россия, 19-23 октября 2015, с. 176.
- Lashin S.A., Klimenko A.I., Mustafin Z.S., Chekantsev A.D., Zudin R.K., Matushkin Yu.G. Haploid evolutionary constructor 3D: a software for simulation of spatially distributed microbial communities // EMBO / EMBL Symposium "New Approaches and Concepts in Microbiology", Heidelberg, Germany, October 10-14, 2015, p. 231.
- 8. Ю.Г. Матушкин, **А.И. Клименко**, С.А. Лашин. Модели коэволюции в трофических сообществах одноклеточных организмов: влияние

пространственной неоднородности. Доклады V международной конференции «Математическая биология и биоинформатика», Пущино, 19-24 октября 2014 г., с. 156

- 9. Клименко А.И., Лашин С.А., Суслов В.В., Матушкин Ю.Г. Проблемы эволюции путём горизонтального переноса генов // Развитие жизни в процессе абиотических изменений на Земле. 2014. № 3. С. 247.
- 10.Lashin S.A., Klimenko A.I., Mustafin Z.S., Chekantsev A.D., Zudin R.K., Matushkin Yu.G. Haploid Evolutionary Constructor 3D: a tool for simulation of spatially distributed prokaryotic communities // Proceedings of the Ninth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, Novosibirsk, 2014, p. 96.
- 11. *Klimenko A.I.*, Matushkin Yu.G., Lashin S.A. Spatially distributed bacterial communities: simulation with «Haploid Evolutionary Constructor» // Proceedings of the Ninth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, Novosibirsk, 2014, p. 81.
- 12. Матушкин Ю.Г., Клименко А.И., Лашин С.А. Пространственно распределенные модели эволюции в симбиотических/антагонистических прокариотических сообществах // Материалы VI съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС), Ростов-на-Дону, 15-20 июня 2014, стр. 49.
- 13. Клименко А.И., Лашин С.А., Матушкин Ю.Г., Гаплоидный эволюционный конструктор: графический интерфейс для моделирования эволюции бактериальных сообществ // Материалы XIII всероссийской конференции молодых учёных по математическому моделированию и информационным технологиям (YM2012), с. 44-45.
- 14. *Klimenko A.I.*, Lashin S.A. Haploid evolutionary constructor: a graphical user interface for simulating bacterial communities evolution // Proceedings

of the Eighth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, Novosibirsk, 2012, p. 150.

Авторские свидетельства:

1. Лашин С.А., Матушкин Ю.Г., Афонников Д.А., Мустафин З.С., Чеканцев А.Д., Клименко А.И., Зудин Р.К. Программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор» для моделирования популяционноэкологических процессов в микробных сообществах (ГЭК) / Software package «Haploid Evolutionary Constructor" for simulation populationalecological processes in microbial communities (HEC)», 2015

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 заведующему лабораторией к.б.н. Матушкину Ю.Г. и н.с. Суслову В.В. за консультации и продуктивные научные дискуссии.

1. Обзор литературы

1.1. Организация микробных сообществ и их функциональноэкологическая роль

Роль микроорганизмов в биосфере Земли трудно переоценить. Как отмечается в работах Заварзина (Заварзин, 2004), на ранних этапах после зарождения жизни на Земле прокариотические сообщества, катализируя систему биогеохимических циклов, подготовили условия для возникновения более сложных организмов и заложили основу для всей дальнейшей эволюции. Прокариоты и в настоящее время играют ведущую роль в циклах превращения элементов (О, С, N, S, P, Fe и др.), а также являются важнейшими редуцентами, разрушающими остатки мёртвых растений и животных. В настоящее время микробы являются основной формой жизни на Земле. Их совокупная биомасса превышает совокупную биомассу растений и животных и составляет по разным оценкам от 50 до 90% от совокупной планетарной биомассы (Заварзин, 2004).

Микроорганизмы по своей природе образуют разнообразные сообщества, которые динамически изменяются по структуре и функции в ответ на изменения окружающей среды. Примерами таких сообществ являются биоплёнки и бактериальные маты (Karunakaran, Mukherjee, Ramalingam, & Biggs, 2011), а также сообщества, населяющие, например, кишечник (Chewapreecha, 2013) или ротовую полость (Salli & Ouwehand, 2015) человека. Являясь сложной адаптивной системой, микробное сообщество демонстрирует свойства более высокого порядка, которые не присутствуют в отдельных микробах, но возникают из их взаимодействий. Как было отмечено в (Comolli, 2014), взаимодействия комплексной природы, включающие трофические, физические и даже информационные (например, кворумчувствительность) факторы, возникающие между клетками микробного сообщества, в том числе и между клетками разных видов, играют важную роль функционировании этого сообщества в качестве единого целого, В

«голобионта». Примерами таких сообществ являются многовидовые биоплёнки, антибиотиков, совместно защищающиеся OT послойно цианобактериальные организованные маты, структурирующиеся В соответствии с трофическими уровнями и т.п.

В сообществах прокариот происходят активные процессы обмена генетическим материалом, что позволяет микроорганизмам быстро приспосабливаться к широкому спектру условий без необходимости включать весь арсенал необходимых для всего спектра ферментов в геном каждого отдельного организма (Barraclough, Balbi, & Ellis, 2012; Niehus, Mitri, Fletcher, & Foster, 2015; Soucy, Huang, & Gogarten, 2015). Поэтому в случае изменения условий организмы, приобретающие адаптивные гены, могут быстро получить преимущество, а потом выбросить лишние гены, когда условия среды изменятся вновь (Langridge et al., 2015; Maslov, Krishna, Pang, & Sneppen, 2009; Pang & Maslov, 2011; Polz, Alm, & Hanage, 2013). Данные процессы происходят, как правило, с вариабельной частью генома. Известно, что у *Escherichia coli* большая часть генов с известной функцией, относящихся к вариабельной части, отвечают за метаболизм (McInerney, McNally, & O'Connell, 2017; Soucy et al., 2015). Однако, большие размеры геномов сопряжены с сопутствующими издержками, вызванными с одной стороны увеличением времени и ресурсов, необходимого на репликацию таких геномов, а с другой стороны – повышением вероятности получения леталей (Eigen, 1971). Эти факторы ограничивают увеличение размеров генома у прокариотических микроорганизмов, выступая в качестве движущих сил для редукционного сценария их эволюции.

1.1.1 Бактериальные маты и биоплёнки

Жизнедеятельность микроорганизмов, их взаимодействие с представителями других видов и с окружающей средой происходит как в составе моновидовых колоний, так и в рамках сложноорганизованного мультивидового сообщества, образующего биоплёнку или бактериальный мат.

Структура этих микробных сообществ может варьировать от монослоя редких отдельных клеток до толстых слизистых структур макроскопических размеров (J. Wimpenny et al., 2000). За последние годы структура биоплёнок, взятых из различных сред, изучалась с помощью широкого набора микроскопических, физико-химических и молекулярно-биологических техник, что позволило открыть их сложную 3D структуру, включающую в себя для некоторых видов внутренние микропоры. Силы, формирующие каналы И слоистую пространственно-распределённую биоплёнки, структуру включая микроколонии, внеклеточные полимеры и каналы, до сих пор являются предметом научного обсуждения. В частности, цианобактериальные маты имеют достаточно консервативную структуру (см. Рис. 1.1): плотный слой (1-2 мм) первичных продуцентов цианобактерий на поверхности поглощает солнечные лучи и фотосинтезирует. Под верхним слоем находится слой деструкции (4-5 мм), содержащий клетки анаэробов.



Рис 1.1. Схема строения типичного цианобактериального мата. Верхний слой содержит песок и пигмент сцитонемин, выделяемый клетками цианобактерий. За ним идут слой цианобактрий, слой окиси железа, а также слой деструкции, подразделяющийся на подслои пурпурных серных бактерий

и зелёных серобактерий. Слой зелёных серобактерий наблюдается не во всех случаях. По (Whitton, 2012).

Решающее значение в трофических цепях, образующихся в данном слое имеют продукт-субстратные взаимодействия, когда продукт одной группы организмов служит субстратом последующей и так далее. Поскольку трофическое взаимодействие между микроорганизмами определяется правилом минимального диффузионного расстояния, то оптимальная структура сообщества представляет собой систему тонких слоёв групп организмов, каждый из которых играет свою роль в трофической структуре (Заварзин, 2004). сообщества Тем не менее, несмотря на общую цианобактериального универсальность строения мата, исследователи отмечают, что, в зависимости от различных условий в рамках общей структуры мата, формируется пространственная гетерогенность различного качества: в разных частях плёнки могут доминировать разные виды, что особенно сильно проявляется при формировании новой биоплёнки (см. Рис. 1.2 (Брянская, Орлеанский, & Дагурова, 2008)).



Рис 1.2. Распределение видов цианобактерий по градиенту температур в лабораторной модели мата: а – поверхностная плёнка, б – донная плёнка. 1 – *M. laminosus*, 2 – *P. tenue*, 3 – *P. ambiguum*, 4 – *P. valderiae* (Брянская et al., 2008).

Также отмечается, что концентрация субстрата является наиболее важным фактором, определяющим структуру биоплёнки (J. W. T. Wimpenny & Colasanti, 1997), поэтому гетерогенное пространственное распределение субстратов может играть существенную роль в формировании структуры сообщества в целом.

1.1.2 Чувство кворума

В условиях существования в составе биоплёнки микроорганизмы чётко координировать собственный метаболизм и фазы вынуждены жизненного цикла. Поэтому большое значение имеют сигналы межклеточного взаимодействия, помогающие синхронизовать жизнедеятельность больших групп клеток. Химическая коммуникация между бактериями осуществляется при помощи низкомолекулярных гормоноподобных веществ, называемых рецепторными аутоиндукторами. Аутоиндукторы взаимодействуют С регуляторными белками и легко диффундируют через клеточную стенку бактерий. Способность бактерий воспринимать концентрацию сигнальных молекул и оценивать плотность собственной популяции, реагируя на её изменение на популяционном уровне, называют чувством кворума (англ. quorum sensing) (Waters & Bassler, 2005). Как правило, в ответ на увеличение концентрации аутоиндуктора выше некоторого порога, бактериальные клетки изменяют регуляцию экспрессии генов, а, следовательно, и своё поведение. Большинство процессов, контролируемых чувством кворума, непродуктивны, если производятся отдельной бактерией, но становятся выгодными, если выполняются одновременно большим количеством клеток. Например, в работе Визик и др. (Visick, Foster, Doino, McFall-Ngai, & Ruby, 2000) отмечается, что у биолюминисцентной морской бактерии Vibrio fischeri, колонизирующей световой орган гавайского кальмара Euprymna scolopes, работает следующий механизм: клетки производят аутоиндукторы AHL и LuxR, и когда их концентрация достигает критического порога, они образуют LuxR-AHL. Данный комплексы комплекс индуцирует экспрессию

люциферазного оперона, необходимого для свечения. Активируется система с положительной обратной связью, и вся популяция переходит в режим свечения. В результате колония испускает свет, позволяющий кальмару скрывать собственную тень и тем самым избегать хищников, а бактерии получают питательные вещества, расположенные в световом органе кальмара. Уотерс и Басслер (Waters & Bassler, 2005) приводят другой пример чувства кворума у Staphylococcus aureus, который в норме является неопасным представителем микрофлоры человека, но может стать смертельным патогеном при попадании внутрь тканей хозяина. При низкой плотности клеток данные бактерии экспрессируют белковые факторы, которые способствуют прикреплению и колонизации. В то время как при высокой плотности клеток в популяции бактерии репрессируют экспрессию генов, кодирующих эти ферменты, и в то же время секретируют токсины и протеазы, необходимые для распространения патологического процесса (Waters & Bassler, 2005). Поскольку чувство кворума ориентируется на концентрацию сигнальных молекул в среде, факторы пространственного распределения приобретают важную роль при исследовании этого процесса.

1.1.3 Движение у прокариот

Известно, что значительное число видов бактерий способны активно передвигаться в окружающей среде по направлению к питательным веществам или же лучшим условиям обитания (Adler, 1976). Как правило, микроорганизмы используют для своего передвижения или жгутики (Henrichsen, 1972) или другие механизмы, такие как, например, специальные белки, расположенные на мембране (например, *Flavobacterium johnsoniae*) (Shrout, 2015), реснички, позволяющие скользить клеткам *Oscillatoria princeps* (Halfen & Castenholz, 1971), или же изменяя поверхностное натяжение путём выделения поверхностно-активных веществ (как это делают представители вида *Myxococcus xanthus*) и т.д. Способность передвигаться в соответствии с градиентами определённых экологических факторов называется *таксисом* (например, хемотаксис, фототаксис и т.д.) (Нетрусов & Котова, 2007). Наблюдаются различные типы таксиса в зависимости от источника средового стимула. Так фототаксис, т.е. возможность перемещаться в направлении источника света, особенно важен для фототрофных микроорганизмов, а аэротаксис (перемещение градиенту кислорода) ПО важен ДЛЯ микроаэрофильных и анаэробных бактерий. Наиболее распространённый из разновидностей таксиса – это хемотаксис, т.е. движение по направлению к аттрактантам (как правило, питательные и другие необходимые для метаболизма клеток вещества) и от *репеллентов* (антибиотики, токсины и др.). Бактерии имеют определённый механизм биохимической памяти (Macnab & Koshland, 1972), позволяющий им адаптироваться к текущим концентрациям аттрактантов и распознавать градиенты до 10⁻⁸ М, что позволяет им гибко реагировать на изменяющиеся условия среды (Brown & Berg, 1974).

Наиболее полно изученный механизм движения у Escherichia coli собой чередование представляет двигательных режимов двух ненаправленное «кувыркание» почти на месте при отсутствии каких-либо градиентов и периоды прямолинейного движения в направлении градиента концентрации аттрактанта или репеллента. Прямолинейное движение бактерии характеризуется вращением флагеллярных моторов против часовой стрелки, в то время как «кувыркание» обусловлено их вращением по часовой стрелке. Кроме того, при отсутствии энергии у клеток возможно прекращение вращения жгутиков (Kuo & Koshland, 1989). Переключение между режимами происходит за счёт связывания аттрактанта с хеморецептором на поверхности клетки и запуска процесса амплификации сигнала и ответа на него (C. Kim, Jackson, Lux, & Khan, 2001; Sourjik & Berg, 2002). Хемотаксис кишечной палочки контролируется соответствующим сигнальным путём, включающим в себя ряд хеморецепторов, ферментов, процессы фосфориллирования и дефосфориллирования межбелковых взаимодействий И регуляторных ферментов и белков флагеллярного мотора (Falke, Bass, Butler, Chervitz, &

22

Danielson, 1997). Устройство двух модулей генной сети, контролирующей хемотаксис *E. coli* представлено на Рис. 1.3.



Рис. 1.3. Графическое представление модульной организации сигнального пути хемотаксиса у Е. coli. Сенсорный модуль (обведён красной пунктирной линией) включает в себя различные типы хеморецепторов, сгруппированные в кластеры (коричневые), киназы CheA (A) и адаптерный белок CheW (W). CheR (R) и CheB (B) регулируют уровень метилирования рецепторов, предоставляя тем самым механизм адаптации к постоянному стимулу. Причём точность адаптации обеспечивается за счёт того, что CheR метилирует только неактивные рецепторы, а CheB-р деметилирует только активные рецепторы. Модуль подвижности (обведён синей пунктирной линией) содержит флагеллярные моторы, которые могут вращаться по часовой стрелке (CW) или против часовой стрелки (CCW). Оба модуля соединяются CheY фосфорилируется посредством белка (Y), который рецепторактивируемой киназой CheA-р и дефосфорилируется фосфатазой CheZ (Z). CheY-р диффундирует в цитоплазме, связываясь с моторными молекулами FliM, вызывая вращение мотора по часовой стрелке. Падение уровня CheY-р и соответствующее возрастание уровня CheY ведёт к смене направления вращения молекулярного мотора. Переведено и адаптировано из (Micali & Endres, 2016).

Сигнальный путь хемотаксиса *E. coli* настолько чувствителен, что клетки данного вида микроорганизмов способны реагировать на изменения всего десяти молекул аттрактанта на клетку (Segall, Block, & Berg, 1986). При этом, попадая в среду даже с высокими фоновыми концентрациями аттрактанта, система адаптируется к ним и ответ на сигнал прекращается (Kehry, Doak, & Dahlquist, 1985; C. Kim et al., 2001). Наиболее часто у *E. coli* встречаются такие хеморецепторы как Tar (отвечающий на аспартат) и Tsr (сериновый). Несколько реже встречаются Тар (дипептидовый), Trg (галактозовый) и Aer (кислородовый) рецепторы (Bren & Eisenbach, 2000).

Адаптивные миграции микроорганизмов являются одним из факторов эволюции, определяющих специфику борьбы за существование в микробных экосистемах (Bridier et al., 2017; Niehus et al., 2015). Столкнувшись с изменением условий среды, популяция может либо адаптироваться к ним, в частности, подстраивая свой метаболизм к альтернативным источникам более эффективно расходуя имеющиеся энергии или запасы, либо мигрировать в след за оптимальными условиями среды, вторгаясь в новые биотопы и вступая в конкуренцию с видами, принадлежащими локальным сообществам (Callahan, Fukami, & Fisher, 2014; Chew et al., 2014; W. Liu et al., 2016). Влияние подобного адаптивного поведения особей популяции на сценарий развития сообщества в целом представляет интерес с точки зрения более полного понимания взаимодействия различных эволюционных механизмов.

1.1.4 Экологические аспекты микробных сообществ

Микробы в сообществе могут оказывать друг на друга положительное, отрицательное или нейтральное влияние. Положительное (отрицательное) влияние вида A на вид B означает, что численность B растёт лучше (хуже) в присутствии вида A. Отношения между видами могут быть двунаправленными, если это влияние взаимно положительно (мутуализм, если отношение облигаторное, или синэргизм, если не облигаторное), взаимно отрицательно (конкуренция) или положительно с одной стороны, но отрицательно с другой (антагонизм); однонаправленными, если это влияние на одну из двух сторон нейтрально вне зависимости от того, является ли влияние на другую сторону положительным (комменсализм) или отрицательным (аменсализм); ненаправленным, если это влияние друг на друга незначительно или незначимо (нейтрализм) (Таблица 1.1) (Faust & Raes, 2012; Lidicker, 1979).

Таблица 1.1. Формы микробных взаимодействий: положительное, отрицательное и нейтральное влияние одного вида на другой обозначается как +, - и 0, соответственно (H.-S. Song, Cannon, Beliaev, & Konopka, 2014).

	Отношение		Примеры		
	Мутуализм или	++	• Формирование биоплёнки для		
	синэргизм		устойчивости к антибиотикам (Burmølle et		
			al., 2006; Rodriguez-Martinez, Pascual,		
			Rodriguez-Martinez, & Pascual, 2006)		
			• Синтрофия: передача водорода между		
ные			сульфат-редукторами и метаногенами (Pak		
влен			& Bartha, 1998)		
пра	Конкуренция		• Виды с одинаковыми экологическими		
вуна			нишами: Paramecium aurelia и Paramecium		
Д			caudatum (Gause, 1932)		
	Антагонизм	+-	• Хищничество: инфузории, питающиеся		
			бактериями (Faust & Raes, 2012)		
			• Паразитизм: бактерии и бактериофаги		
			(Faust & Raes, 2012)		
dıı	Комменсализм	+0	• Acetobacter oxydans окисляет маннитол,		
юна			производя фруктозу, которая потребляется		
Оде			другими видами, способными		

			метаболизировать фруктозу, но не
			маннитол (Hogan, 2012)
	Аменсализм	-0	• Бактерии рода Lactobacillus производят
			кислоты, снижающие pH в среде (Faust &
			Raes, 2012)
			• Плесень <i>Penicillium</i> секретирует
			пенициллин, убивающий бактерий (Moon,
			Moon, & Keagy, 2010)
le	Нейтрализм	00	• Штаммы йогуртовых заквасок родов
ЭННЭ			Streptcoccus и Lactobacillus в хемостате
авле			(HS. Song et al., 2014) – нет особой
напр			разницы, культивируются они вместе или
He			по отдельности

Неслучайный характер взаимной встречаемости видов, наблюдаемых в экосистемах, может трактоваться как то, что структура сообщества формируется главным образом за счёт микробных взаимодействий (Berry & Widder, 2014). Основные микробные отношения могут изучаться путём сравнения скоростей роста (или концентраций биомассы) из сред с чистой и смешанной культурой соответственно (Biebl & Pfennig, 1978; Wintermute & Silver, 2010). Однако экспериментальная идентификация часто неэффективна из-за сложности изолирования отдельных организмов для экспериментов с чистыми культурами. В качестве альтернативы могут быть использованы такие теоретические инструменты, как методы реконструкции сетей экологических взаимоотношений (Faust & Raes, 2012) и биохимических сетей (Feist, Herrgård, Thiele, Reed, & Palsson, 2009), а также методы анализа метаболических сетей на основе стехиометрических подходов (Klitgord & Segre, 2010).

Тем не менее кроме подходов, основанных на исследовании попарных взаимодействий, существуют другие способы описания экологической структуры сообщества. Макджилл с коллегами в своём подходе экологии, основанной на признаках (McGill, Enquist, Weiher, & Westoby, 2006), предлагают сместить фокус исследования с плохо измеримых на коротких временных промежутках колебаний численности популяций на изучение ряда физиологичных чётко определённых и измеримых характеристик (т.н. признаков или черт), сред локального взаимодействия, релевантных градиентов экологических факторов и использовать адекватную меру эффективности популяции. В рамках данного подхода фокус смещается с таксономических категорий (таких как род и вид) в пользу функциональных типов, определяемых списком измеримых свойств, например, скорости метаболических функций, размер тела, вес, концентрации питательных веществ, площадь зелёного покрова и т.д. Также осуществляется переход от попарных взаимодействий к взаимодействию «вида» и его агрегированного окружения или, иначе говоря, среды локального взаимодействия. Агрегированное окружение формирует поле взаимодействия или, более узко, поле конкуренции, против давления которого приспосабливается конкретная группа организмов. В отличие от традиционной экологии сообществ, в которой действует допущение о преобладающем характере влияния межвидовых взаимодействий на экологическую структуру сообщества, в экологии, основанной на признаках, учитываются так же градиенты экологических факторов, таких как температура, влажность, кислотность и другие, что позволяет исследовать вопросы пространственной изменчивости тех или иных признаков в соответствии с изменениями соответствующих Данный экологических градиентов. подход подразумевает также определённую приоритизацию факторов, позволяя учесть вес каждого фактора при оценке его влияния на экологические свойства системы. Наконец, при оценке того, как изменчивость признаков влияет на эффективность популяции, решающее значение имеет выбор меры эффективности,

понимаемой как способности группы живых организмов поддерживать свою биомассу на протяжении многих поколений. Традиционно в качестве подобной меры, позволяющей сравнивать эффективность различных видов, используется скорость прироста популяции. Однако, это достаточно трудноизмеримая мера и удалённая от физиологии организмов и их взаимосвязей с окружающей средой. Поэтому предлагается переход к мерам, отражающим объём или скорость получения и утилизации энергии и минеральных веществ. Эти меры связаны с приспособленностью, но в то же время обладают более ярко выраженным физиологическим и экологическим смыслом (McGill et al., 2006).

1.1.5 Роль бактериофагов в микробных экосистемах

Бактериофаги (фаги) ЭТО вирусы, облигатными являющиеся бактерий. внутриклеточными паразитами Хвостатые вирусы (отряд *Caudovirales*) составляют большинство известных сегодня бактериофагов. Их вирусные частицы имеют размер от 50 до 200 нм и состоят из головки, содержащей ДНК или РНК фага, и хвоста, который используется фагом для присоединения к поверхности бактерии (Madigan et al., 2014).

Бактериофаги были открыты независимо в 1915 британским вирусологом Фредериком Туортом и канадским бактериологом Феликсом Д'Эррелем в 1917 году. В 20-ые и 30-ые годы XX века были первые попытки применения фаготерапии для лечения бактериальных инфекций. В начале 40ых годов с помощью электронной микроскопии была получена первая структура фага. С 40-ых по 80-ые годы экспериментальные исследования на бактериофагах выступают мощными движущими силами развития молекулярной генетики, но лишь к концу 80-ых – началу 90-ых пробуждается интерес к экологической стороне взаимодействия бактерий и фагов (Salmond & Fineran, 2015). Так в 1989 году выходит статья Бергха и других (Bergh, Børsheim, Bratbak, & Heldal, 1989) о том, что в водных средах бактериофаги встречаются в гораздо более высокой плотности, чем представляли раньше, – вплоть до 2.5 * 10⁸ частиц/мл - что свидетельствовало о важной экологической роли, которую фаги играют в природных водных экосистемах в процессах оборота микробной биомассы. Позднее было показано, что бактериофаги отвечают за оборот ~20% биомассы в море (Clokie, Millard, Letarov, & Heaphy, 2011; Suttle, 2007). С этого момента появляется интерес к фагам в контексте их участия в трофических сетях и циклах обращения углерода, азота и других микроэлементов в океане. Признаётся значение фагов не только как фактора, сдерживающего рост бактерий, но и как трансдуцирующего полезные признаки агента. Наконец, открытие в 2000-ых годах таких молекулярных защитных механизмов бактерий, как CRISPR-Cas системы, и развитие метагеномных технологий глубже понять механизмы, позволяет лежащие В основе динамики взаимодействия бактерий и фагов, и выявить действительное разнообразие последних в природных средах обитания. В то же время возрождается интерес к экспериментальной эволюции бактерий и фагов (Angus Buckling, Craig Maclean, Brockhurst, & Colegrave, 2009).

В процессе эволюции бактерии приобрели ряд механизмов, позволяющих им защищаться от фаговой инфекции, такие как предотвращение адсорбции фага, деградация фаговой ДНК внутри клетки и/или блокирование процесса репликации и лизис заражённых клеток (Koskella & Brockhurst, 2014).



Рис. 1.4. Иллюстрация механизмов сопротивления бактерий заражению литическими бактериофагами. а – противостояние на уровне адсорбции фага; б – антагонизм на уровне работы клеточного иммунитета (системы рестрикции-модификации, CRISPR-Cas системы); в – инициация клеточной гибели при заражении фагом путём запуска деградации клеточной стенки (Koskella & Brockhurst, 2014).

В первом случае (Рис. 1.4а) бактерии могут потерять или изменить мембранные рецепторы, к которым прикрепляются фаги, синтезировать внеклеточный матрикс из полисахаридов, который мешает прикреплению фагов к поверхности клеток или производить конкурентные ингибиторы к сайтам прикрепления фаговых частиц. В свою очередь, бактериофаги контрадаптируются к этим защитным механизмам, изменяя сайты прикрепления на своих хвостовых фибриллах, производя ферменты для расщепления матрикса или изменения рецепторов жертвы (Lenski & Levin, 1985).

Во втором случае (Рис. 1.46), если всё же произошло успешное прикрепление фага к рецептору, бактерии всё ещё способны предотвратить заражение с помощью двух систем бактериального иммунитета. Первой из них является система рестрикции-модификации, специфичная по отношению к определённым последовательностям нуклеотидов в ДНК, называемых сайтами рестрикции, которые распознаются бактериальными эндонуклеазами, деградирующими чужеродную ДНК и оставляющими ДНК организма интактной, поскольку та оказывается специальным образом помечена другим классом ферментов – метилтрансферазами. Однако бактериофаги способны обходить данный защитный механизм с помощью белков антирестрикции (гены *ard*), ингибирующих действие клеточных белков рестрикции.

Второй системой бактериального иммунитета, которая может помочь в случае, если фагу всё уже удалось впрыснуть свой генетический материал внутрь клетки, являются CRISPR-Cas системы, которые найдены у более 40% бактерий и 90% археев (Westra et al., 2012). Это системы адаптивного клеточного иммунитета на основе чужеродных генетических элементов, с которыми сталкивалась клетка, в частности из бактериофагов. Важный вклад в эффективность CRISPR вносит то обстоятельство, что в ответ на одну и ту же вирусную инфекцию даже генетически идентичные бактериальные клетки вставляют в свой геном разные спейсеры, соответствующие разным участкам генома вируса. В результате популяция жертв быстро приобретает генетическое разнообразие, что сильно усложняет стоящую перед вирусами эволюционную задачу. Чтобы защититься сразу от многих разных спейсеров, фагу нужно одновременно приобрести целый комплекс необходимых точечных мутаций, что крайне маловероятно. Однако некоторые фаги, Pseudomonas например, поражающие бактерий aeruginosa способны кодировать анти-CRISPR белки (Acr), которые мешают работе CRISPR-Cas систем и способствуют развитию инфекции (Bondy-Denomy, Pawluk, Maxwell, & Davidson, 2013).

Кроме вышеописанных способов защиты (Рис. 1.4в) многие виды бактерий имеют механизмы инициации клеточной смерти, например, путём деградации клеточной стенки, которые помогают защитить соседние клетки от распространения инфекции (Blower, Evans, Przybilski, Fineran, & Salmond, 2012; Refardt, Bergmiller, & Kümmerli, 2013).

Тесное сосуществование бактериофагов и бактерий обуславливает их совместную эволюцию. Под коэволюцией понимают процесс взаимной адаптации и контрадаптации между экологически взаимодействующими видами (Janzen, 1980). Исторически первой была обнаружена коэволюция бактерий и фагов в контексте вирулентности и резистентности. Известно, что такое взаимодействие бактерий и фагов ускоряет рекомбинацию и скорость приобретения мутаций, связанных с вирулентностью и резистентностью (Pal et al., 2007). Наиболее изученным примером такого взаимодействия является коэволюция почвенных бактерий Pseudomonas fluorescens штамма SBW25 и вирулентных фагов Ф2 (Michael A. Brockhurst, Morgan, Fenton, & Buckling, 2007; Angus Buckling & Rainey, 2002а). В экспериментах по коэволюции in vitro показано, что первые 200-250 бактериальных поколений в ходе движущего отбора происходит серия повторяющихся фиксаций адаптивных аллелей резистентности, за которыми следуют мутации V фагов, восстанавливающие степень их вирулентности (Hall, Scanlan, Morgan, & Buckling, 2011). Вследствие этого со временем бактерии эволюционируют в сторону более широкой резистентности (т.е. могут сопротивляться заражению со стороны большего числа генотипов фагов), а фаги – в сторону более вирулентности (т.е. способности заражать широкой большее число бактериальных генотипов) (Angus Buckling & Rainey, 2002a, 2002b). За этим режимом коэволюции закрепилось название «гонки вооружений» (ГВ), поскольку в ходе него происходит постоянное наращивание арсенала защитных и контрзащитных средств обоими видами-антагонистами (Dawkins & Krebs, 1979; Gandon, Buckling, Decaestecker, & Day, 2008; Woolhouse, Webster, Domingo, Charlesworth, & Levin, 2002). В экспериментальной работе (Paterson et al., 2010) на *P. fluorescens* и их бактериофагах $\Phi 2$ было показано, что ГВ способствует дивергенции вируса как на геномном, так и на фенотипическом уровне (способности заражать тех или иных бактерий).

Однако, в полевых исследованиях чаще встречают другой тип коэволюционной динамики, который называют флуктуирующим отбором (Rodriguez-Brito et al., 2010). Флуктуирующий отбор (ФО) встречается в двух вариантах: либо наблюдаются флуктуации В частоте генотипов. определяющих специализированную резистентность и вирулентность, и тогда это флуктуирующий отбор по специфичности (ФСО); либо наблюдаются флуктуации в диапазоне резистентности и вирулентности, и тогда это флуктуирующий отбор по диапазону (ФДО). В первом случае флуктуации поддерживаются за счёт отрицательного частотно-зависимого отбора. В ходе этого процесса фаги эволюционируют в сторону способности заражать наиболее частые бактериальные генотипы, что даёт преимущество редким бактерий, резистентности y которые вследствие аллелям ЭТОГО подхватываются отбором, их доля в популяции растёт, и преимущество получают новые аллели, ставшие редкими и т.д. (Gandon et al., 2008). Во флуктуации диапазону поддерживаются за счёт втором случае ПО ограничений, накладываемых на эволюцию в сторону генерализма, и компромиссом между лучшей защищённостью от потенциального заражения и большей скоростью роста слабозащищённых генотипов.

ГВ наблюдается преимущественно в питательно-богатых средах, а в питательно-бедных условиях динамика меняется в сторону ФО (Lopez Pascua et al., 2014). Однако, в отличие от *in vitro* экспериментов, в полевых исследованиях чаще присутствует ФО вне зависимости от питательности среды, что оказалось связано с пространственной организацией среды обитания бактерий и бактериофагов (Gomez, Ashby, & Buckling, 2014). Причём было показано, что в отличие от бактерий, у фагов наблюдается тенденция к аккумулированию аллелей вирулентности и эволюции в режиме ГВ вне зависимости от степени перемешивания.

Однако «гонка вооружений» имеет свои пределы. Эксперименты по эволюции *P. fluorescens* и Ф2 *in vitro* показывают, что уже спустя 250 поколений скорость ΓВ ИХ коэволюции замедляется, а диапазоны резистентности бактерий и вирулентности фагов достигают своих асимптот. Это происходит в связи с ограничениями, которые накладывают издержки, связанные с развитием широких диапазонов как у бактерий, так и у фагов (Hall et al., 2011). У бактерий одной из причин, формирующих эти издержки, служит то, что резистентные мутации, изменяющие расположенные на поверхности клетки молекулы липополисахаридов (Scanlan, Hall, Burlinson, Preston, & Buckling, 2013), влекут за собой дисфункцию данных молекул, что снижает приспособленность данных бактерий (M. A. Brockhurst, Rainey, & Buckling, 2004; A. Buckling, Wei, Massey, Brockhurst, & Hochberg, 2006). Природа фаговой цены на генерализм не столь ясна, но известно, что скорости фаговгенералистов снижены по отношению к своим аналогам-специалистам (Poullain, Gandon, Brockhurst, Buckling, & Hochberg, 2008). Таким образом коэволюция в режиме ГВ со временем сводится к устойчивым колебаниям генотипов у бактерий и фагов с различной специфичностью, т.е. вырождается в флуктуирующий по специфичности отбор (Hall et al., 2011).

Исследования коэволюции бактерий и фагов обычно фокусируются на развитии признаков резистентности и вирулентности. Однако, такая коэволюция также может иметь последствия на уровне других частей генома бактерий, т.е. как антагонизм бактерий и фагов влияет на эволюцию других систем. В работе (Scanlan et al., 2015) было проведено экспериментальное изучение эффекта коэволюции бактерий *P. fluorescens* и вирулентного фага Ф2 на геномном уровне и обнаружено, что бактерии, культивировавшиеся при отсутствии фагов (Evo-), показывали значимо более высокие показатели приспособленности, чем коэволюционировавшие популяции (Coevo-). Были установлены определённые локусы, мутации в которых были характерны только для Evo-бактерий и не встречались у Coevo-бактерий, несмотря на более высокие скорости приобретения мутаций последними. Эти локусы оказались ассоциированы со скоростью роста бактериальных колоний. Таким образом, было показано, что коэволюция бактерий и литических фагов ограничивает приобретение бактериями мутаций, благоприятных для роста в абиотической среде.

Как правило, при рассмотрении экологических взаимодействий бактерий и фагов делается акцент именно на фаговом паразитизме. Однако, существуют и обратные примеры, когда бактериально-фаговый антагонизм оборачивается против вирусов. Так, например, индуцируемые фагами хромосомные островки патогенности золотистого стафилококка (*S. aureus*) используют репродуктивный цикл вспомогательного бактериофага 80α , фактически угоняя его капсиды и распространяясь путём трансдукции в бактериальной популяции. В результате такого паразитизма приспособленность самого фага снижается (Novick, Christie, & Penadés, 2010).

Взаимодействие между бактериями и фагами не исчерпывается одним В 1950-ых антагонизмом. годах на дифтерийной палочке лишь Corynebacterium diphtheriae и фаге бета был открыт процесс лизогенной (или (Freeman, фаговой) конверсии 1951), т.е. ситуации, когда профаг предоставляет дополнительные гены, которые повышают приспособленность инфицированной бактерии. В случае с *C. diphtheriae* фаг бета наделяет заражённую культуру способностью производить токсин, делающий штамм вирулентным. Понимание роли бактериофагов в механизмах бактериальной патогенности было укреплено с открытием того факта, что токсин холерного вибриона закодирован в геноме филаментного фага СТХФ (Waldor & Mekalanos, 1996). В дальнейшем с развитием технологий секвенирования обнаружили огромную распространённость профагов в геномах бактерий, в т.ч. несущих гены патогенности. Например, у бактерий вида Streptococcus *pyogenes* около 10% генома состоит из профагов, которые кодируют множество факторов вирулентности (например, пирогенный экзотоксин, приводящий к развитию скарлатины), а у некоторых штаммов E. coli (O157:H7 str. Sakai) профаги могут составлять до 16% генома (Brussow, Canchaya, & Hardt, 2004).

У бактерий существуют различные фагоподобные структуры, которые произошли в результате их симбиотической коэволюции с бактериофагами. Так, например, путём анализа нуклеотидных последовательностей было показано, что у синегнойной палочки *P. aeruginosa* пиоцины R- и F- типов, используемые бактерией для конкуренции с другими штаммами, имеют общее происхождение с P2 и лямбда фагами, соответственно (Nakayama et al., 2000).

Лизогенная конверсия не обязательно связана с патогенностью. Так для цианобактерий *Synechococcus* и *Prochlorococcus*, родов обитающих в фотической зоне океана, известно, что их бактериофаги из семейств Myoviridae и Podoviridae в процессе эволюции приобрели гены psbA и psbD, контролирующие фотосинтез (Mulo, Sicora, & Aro, 2009). В результате эти фаги могут заставить заражённую клетку поставлять энергию, даже если фотосинтетическая была нативная система повреждена. Причём метагеномный анализ поверхностных вод показывает, что около 60% генов psbA принадлежат вирусам (Sharon et al., 2007). Как выяснилось при исследовании вирусов поверхностных слоёв океана, большинство из них имеют ферменты, участвующие в фотосинтезе, что позволяет им получить косвенное преимущество за счёт повышенной приспособленности их хозяев (Sullivan et al., 2006). Недавно было также показано, что ряд бактериофагов, поражающих серобактерий SUP05/Arctic96BD-19 клады, обитающих на дне океана у чёрных курильщиков, переносит им ген диссимиляционной сульфитредуктазы (*rdsr*), участвующего в окислении элементарной серы (Anantharaman et al., 2014). Учитывая, что количество органики, производимое серобактериями «чёрных курильщиков» сопоставимо С продукцией цианобактерий фотической зоны, трудно переоценить важность этого факта для анализа роли бактериофагов в глубоководных экосистемах.
1.2. Обзор математических методик и программных средств моделирования микробных сообществ

Микробные сообщества (МС) представляют собой сложные системы популяций, тесно взаимосвязанных друг с другом и с окружающей средой. Необходимость описания многообразия функциональных и структурных характеристик бактериальных популяций и входящих в них клеток на различных уровнях привела к появлению ряда подходов и методик моделирования MC.

В данной главе представлен обзор существующих методов и средств математического и компьютерного моделирования, использующихся в области экологии микробных сообществ и опирающихся на различные типы экспериментальных данных. Рассмотрены подходы, фокусирующиеся на описании таких аспектов микробного сообщества, как его трофическая структура, метаболическая и популяционная динамика, генетическое разнообразие. а также пространственная гетерогенность И динамика распространения, приведена классификация существующих программных средств моделирования микробных сообществ. Показано, что несмотря на преобладание использованию гибридных тенденции К подходов К моделированию, остаются актуальными проблемы интеграции между моделями, описывающими различные уровни биологической организации сообществ. Многоаспектность интеграционных подходов, используемых для моделирования микробных сообществ, основана на необходимости учитывать гетерогенные данные, полученные из различных источников с помощью высокопроизводительных экспериментальных методов исследования генома.

Предсказательные математические модели не только помогают понять законы, лежащие в основе динамики и синергетических свойств естественных и синтетических микробных сообществ, но также представляют практический интерес для их применения в задачах генной инженерии. Отметим особо тот факт, что сразу несколько биологических особенностей микробных сообществ делают их весьма сложным объектом для изучения in vitro: это и наличие некультивируемых видов, и физические размеры сообществ, и сложности в воспроизведении в лаборатории пространственной структуры и других физических параметров среды обитания сообщества. Соответственно, верификация математических И компьютерных моделей природных сообществ проблемами сопряжены С поиска качественных экспериментальных данных, в ряде случаев принципиально неразрешимых. Для решения подобных проблем предлагается создавать серии искусственных микробных сообществ, для каждого из которых одновременно строилась бы бы верифицировалась математическая модель, которая затем ПО экспериментальным данным, полученным при исследовании этих сообществ (De Roy, Marzorati, Van den Abbeele, Van de Wiele, & Boon, 2013; Wolfe & Dutton, 2015). При этом отмечается широкий спектр экспериментальных техник, которые могли бы использоваться при таком подходе (Колмакова, 2013), в частности, *in vitro* культивирование, микроскопия, *in situ* мониторинг и сэмплинг, высокопроизводительное секвенирование и метагеномика, метатранскриптомика, метапротеомика, метаболомика. Отметим, что одним из средств дизайна подобных синтетических сообществ являются методы математического и компьютерного моделирования (Wolfe & Dutton, 2015).

1.2.1 Методы реконструкции экологической структуры бактериальных сообществ

Реконструкция экологических взаимоотношений в сообществе, устанавливающая его трофическую организацию (сеть метаболических связей между видами), является одним из первых этапов анализа этого сообщества. Методы метагеномики и биоинформатики позволяют идентифицировать виды членов сообщества и оценить их относительные плотности, а также функциональные способности (Wooley, Godzik, & Friedberg, 2010). Появление большого количества метагеномных данных привело к развитию методов реконструкции трофических сетей сообществ по этим данным (Faust & Raes, 2012). В основном это регрессионные и продукционные методы, а также динамическое моделирование (Zomorrodi, Islam, & Maranas, 2014) и стехиометрические подходы расчёта обмена метаболитами (Klitgord & Segre, 2010). Данные методы позволяют оценивать экологические отношения в сообществе, в том числе и в зависимости от параметров среды обитания. Микробные отношения могут быть реконструированы из данных о плотностях популяций. На основе традиционного восприятия отношение пары организмов может быть названо конкурентным (или отрицательным), если их плотности по всем образцам антикоррелированы, несмотря на то, что они обладают общей экологической нишей; и, напротив, отношение пары организмов может быть названо кооперативным (или положительным), если они демонстрируют схожее распределение плотностей. Сеть микробных взаимосвязей может быть предсказана с использованием методов, называющихся реконструкцией сетей. Парные отношения выводятся с помощью основанных на сходстве методов путём анализа распределения взаимной встречаемости/взаимного исключения ДВУХ видов, исходя из суммы баллов похожести. Более сложные взаимодействия между более чем двумя видами могут быть зафиксированы с использованием других техник, таких как регрессионные и продукционные методы. Регрессионные методы представляют плотность определённого вида функцию плотностей Продукционные как OT других видов. методы изначально перечисляют все логически возможные правила сосуществования/исключения видов, которые поддерживаются набором данных 0 ИХ наличии ИЛИ отсутствии. В ходе последовательного фильтрационного процесса сохраняются только значимые правила. Фауст и Paec (Faust & Raes, 2012) предоставляют исчерпывающий обзор по этому вопросу.



Рис. 1.5. Примеры предсказания сложных взаимоотношений на основе набора данных о присутствии и отсутствии микробных ОТЕ (операционных таксономических единиц, англ. ОТU) в образцах. Представленная сеть обобщает правила ассоциации, установленные с помощью априорного алгоритма и отфильтрованные с помощью поправки на множественное тестирование. В текстовой вставке приведён пример такого правила. Каждая вершина в сети представляет ОТЕ, а каждая дуга – правило. Дуга может объединять до трёх ОТЕ, если они участвуют в одном и том же правиле. Для лёгкости интерпретации одна и та же ОТЕ может быть представлена в сети несколько раз. Переведено и адаптировано из (Faust & Raes, 2012).

Установленные отношения между видами-членами могут быть представлены как сеть микробных взаимосвязей, состоящая из вершин (виды или таксоны) и дуг (межвидовые взаимодействия) – см. Рис. 1.5. Поскольку отношения между видами часто асимметричны, т.е. наличие одного вида может влиять на популяцию другого, но не наоборот, то данная сеть представляет собой ориентированный граф. Направление и сила межвидового взаимодействия могут быть представлены в виде стрелки и её толщины соответственно. Переменные окружающей среды также могут быть встроены

в сеть путём трактовки их как дополнительных видов-вершин. Эта расширенная сеть описывает взаимоотношения между видами и признаками окружающей среды. Например, согласованная совместная встречаемость между определёнными видами и питательными веществами (например, нитритами и нитратами) свидетельствует о вовлечённости особых микробов в биогеохимические циклы (Fuhrman, 2009).

Как и другие устойчивые сети (включая белок-белковые взаимодействия, клеточные метаболические системы и человеческие социальные сети), сети микробных взаимодействий безмасштабны (Faust & Raes. 2012). Безмасштабная сеть характеризуется тем, что в ней большинство видов имеют только несколько связей (т.е. вершины низкой степени) и есть несколько видов-ядер с многими связями (т.е. вершины высокой степени). Распределение степеней в безмасштабной сети следует степенному закону (Barabasi & Bonabeau, 2003; Barabási, 2009). Безмасштабные сети устойчивы против случайного удаления узлов, но эта переносимость возникает за счёт крайней уязвимости к целенаправленному удалению ядер (Albet, Jeong, & Barabasi, 2001). Это означает, что микробное сообщество может работать неисправно при потере видов-ядер, но может функционировать нормально после потери менее функционально связанных видов. Любая группа видов, которая плотно связана друг с другом, может пониматься как имеющая перекрывающиеся ниши (Faust & Raes, 2012). Интересной и неразрешённой пока проблемой является экологическая роль видов-ядер и видов, не являющихся ядрами.

Анализ того, насколько адекватно сети взаимной встречаемости взаимодействия, основе отражают реальные лежащие В микробной экосистемы, был проведён в работе (Berry & Widder, 2014). С использованием обобщённых моделей Лотки- Вольтерры (Stein et al., 2013) было показано, что данный подход имеет ряд ограничений, обусловленных как особенностями (искажающий эффект, экспериментальных данных вносимый низко представленными видами), так и самим методом анализа (эффект возрастания

ложных корреляций вблизи вида-ядра в связи с косвенными взаимодействиями).

Таким образом, микробные отношения могут быть реконструированы из данных о плотности видов. Полученные таким образом микробные взаимосвязи специфичны по отношению к условиям, это значит, что информация о микробных взаимоотношениях, полученная при одних условиях, может быть недействительной в других условиях, поскольку структура и свойства сетей микробных взаимосвязей могут значительно видоизменяться в зависимости от условий окружающей среды (Berry & Widder, 2014). Также эти методы ничего не говорят о биологических причинах того, почему определённые виды взаимодействуют особым образом, в то время как другие виды – нет. Чтобы получить более механистичное понимание, требуются методы, основанные на физиологии, такие как стехиометрическое моделирование.

1.2.2 Моделирование метаболизма и генетической регуляции

Для моделирования микробного метаболизма используется широкий круг математических методов, таких как дифференциальные уравнения (Nev & van den Berg, 2017), булевы сети (Shmulevich, Dougherty, Kim, & Zhang, 2002) и сети Петри (Schuster, Pfeiffer, Moldenhauer, Koch, & Dandekar, 2002), алгебраические линейные и нелинейные уравнения (Mooshammer et al., 2014) и стохастические автоматы (Amar et al., 2008). Моделирование метаболизма часто сопряжено с моделированием генетической регуляции (de Jong, 2002; Hecker, Lambeck, Toepfer, van Someren, & Guthke, 2009; Лихошвай et al., 2010). Интегрирующая роль здесь отводится концепции генных сетей. Как правило, в подобных моделях описывалась отдельная метаболическая подсистема микробной клетки, возможно, с сопутствующей ей генетической регуляцией (Covert et al., 2001; Likhoshvai & Ratushny, 2007; Oberhardt, Palsson, & Papin, 2009). Однако, начиная с конца XX – начала XXI столетия, начинаются попытки создания полной модели метаболизма клетки, т.н. «модели электронной клетки» (Durot, Bourguignon, & Schachter, 2009; Ishii, Robert, Nakayama, Kanai, & Tomita, 2004; Price, Reed, & Palsson, 2004; Sauer, Heinemann, & Zamboni, 2007; M Tomita et al., 1999; Masaru Tomita, 2001). В 2012 году Карр с коллегами сообщили о том, что построенная ими модель электронной клетки предсказывает фенотип по генотипу (Karr *et al.*, 2012).

Недавно один из широко используемых методов моделирования клеточного метаболизма – динамический анализ стационарных потоков – был расширен на случай моделирования микробных сообществ (Henson & Hanly, 2014; Mahadevan & Henson, 2012). Также широко используются оптимизационные методы, такие как метод минимизации метаболического регулирования (MOMA) (Segrè, Vitkup, & Church, 2002), а также методы включающие многокритериальную оптимизацию (Zomorrodi et al., 2014; Zomorrodi & Maranas, 2012), которая позволяет исследователю использовать критерии приспособленности уровня всего сообщества. Кроме того, анализ элементарных потоковых режимов (Schuster, Fell, & Dandekar, 2000), а также эволюционная теория игр (Frey, 2010; Pfeiffer & Schuster, 2005) также используются для моделирования метаболизма.

1.2.2.1 Стехиометрические модели метаболизма клетки

Метаболическая сеть содержит множество метаболитов, описание их физического транспорта (внутрь и вовне организма или клетки) и внутриклеточные ферментативные биохимические превращения. Эта сеть может быть представлена в виде графа, который показывает соединение всех метаболитов (вершин) через реакции (рёбра или дуги), или в виде списка уравнений баланса масс метаболитов.

Метаболическая сеть

$$r_1 \rightarrow m_1 \rightarrow r_3$$
 c_2
 $r_2 \rightarrow m_2$
клеточная стенка
Реакции
 $r_1 : c_1 \rightarrow 0.7m_1$
 $r_2 : c_1 \rightarrow 0.3m_2$
 $r_3 : m_1 + m_2 \rightarrow 2c_2$
Балансы масс Внутриклеточных метаболитов
 $\frac{dc_1}{dt} = -[r_1(c_1) + r_2(c_2)]x$
 $\frac{dc_2}{dt} = 0.5r_3(m_1, m_2)x$
 $\frac{dc_2}{dt} = 0.5r_3(m_1, m_2)x$
 $\frac{dm_1}{dt} = 0.7r_1(c_1) - r_3(m_1, m_2)$
 $\frac{dm_2}{dt} = 0.3r_1(c_1) - r_3(m_1, m_2)$
 $\frac{dm_2}{dt} = 0.3r_1(c_1) - r_3(m_1, m_2)$

Рисунок 1.6. Графическое и математическое представление метаболических реакций клетки. По (H.-S. Song et al., 2014).

В устойчивом состоянии балансы масс внутриклеточных метаболитов (т.е. m₁ и m₂ на Рис. 1.6) даны как следующий набор алгебраических уравнений (Рис. 1.6):

$$\mathbf{Sr} = \mathbf{0} \tag{1.1}$$

где **S** это ($I \ge J$)-матрица стехиометрических коэффициентов, а **r** есть вектор-столбец J потоков (I – количество метаболитов, J – количество реакций). Без потери общности можно считать, что $r_j \ge 0$, $j \in \mathbf{J}$ (разбив обратимые реакции на необратимые пары). Приведённые в уравнении (1.1) балансы масс вместе с соответствующими ограничениями потоков называются стехиометрическими моделями. Модели метаболических сетей часто представляют в стандартном формате, называемом Языком Разметки Системной Биологии (Systems Biology Markup Language, SBML)(Hucka et al., 2003).

Поскольку в общем случае I < J, вектор решений **r**, удовлетворяющий уравнению (1.1), образует выпуклый многогранный конус в пространстве потоков (соответственно, называемый потоковым конусом). Используя методы, основанные на стехиометрических моделях, такие как метод баланса стационарных метаболических потоков (Flux Balance Analysis, FBA) (Orth,

Thiele, & Palsson, 2010) и анализ элементарных потоковых режимов (EM) (Trinh, Wlaschin, & Srienc, 2009), можно оценить особое метаболическое состояние организма через установление предположительно активных метаболических путей, имеющих отношение к заданному устойчивому состоянию.

При этом метод FBA предполагает, что метаболизм отдельного микроба может быть представлен оптимальным метаболическим путём, который максимизирует производство биомассы (или любого другого метаболита). FBA получает оптимальный метаболический путь, решая задачу линейного программирования, подчиняющуюся уравнению (1.1) и ограничениям в виде неравенства на потоки. С другой стороны, ЕМ-анализ устанавливает вектора, являющиеся рёбрами потокового конуса (т.е. элементарные режимы), поскольку выпуклые комбинации всех векторов-рёбер могут представлять любое допустимое решение внутри или на поверхности конуса. Полный набор элементарных режимов можно вычислить в один этап с использованием методов на основе ядра стехиометрической матрицы (Urbanczik & Wagner, 2005), но также возможно последовательно вычислить их, используя смешанное целочисленное линейное программирование (de Figueiredo et al., 2009). Недавние успехи в численных реализациях (Terzer & Stelling, 2008, 2010) привели к вычислению до миллионов элементарных режимов. Минимальный набор элементарных режимов, который представляет особое метаболическое состояние, может быть выбран с использованием анализа пространства выходной продукции и методов на основе целочисленного линейного программирования, о которых сообщалось в (Hung, Chan, & Ji, 2011; H. S. Song & Ramkrishna, 2009).

1.2.2.2 Стехиометрическое моделирование множества взаимодействующих видов

Подходы стехиометрического моделирования могут быть применены для анализа микробного сообщества на основе сверхорганизменной концепции,

если метаболическая сеть реконструирована для целого сообщества. Гринблум и др. (Greenblum, Turnbaugh, & Borenstein, 2012) в своём in silico исследовании микробиома кишечника человека описали, как может быть сообщества. реконструирована метаболическая С сеть на уровне использованием базы данных Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG) были аннотированы прочтения метагеномных последовательностей, чтобы определить ферменты, полный набор которых был найден в каждом образце. Затем набор этих ферментов использовался, чтобы построить метаболические сети уровня всего сообщества для различных условий, которые затем могли быть исследованы с помощью FBA и EM-анализов.

Виды анализа на основе стехиометрических метаболических сетей не только предоставляют механистическое понимание взаимодействий видов друг с другом и с окружающей средой, но также оценивают распределения потоков внутри отдельного вида и сообщества. Так, в пионерской работе Столяра и др. (Stolyar et al., 2007), метод FBA был применён для анализа отношения синтрофии между сульфатредуцирующими бактериями (Desulfovibrio vulgaris) (*Methanococcus* И метаногенами *maripaludis*). Метаболическая сеть этого сообщества объединяет сети отдельных видов, трактуя их как внутренние компартменты. Они оценили межвидовые потоки метаболитов вместе с распределениями внутриклеточных потоков в каждом организме путём максимизации взвешенной суммы биомасс видов.

Клитгорд и Сегре (Klitgord & Segre, 2010) развили метод Столяра путём искусственного внедрения дополнительного компартмента, который представляет окружающую среду, населённую различными видами, чтобы исследовать обмен метаболитами между видами для различных попарных комбинаций семи бактериальных видов. Их алгоритм не только воспроизвёл известные отношения взаимного кормления, но также и открыл новые наборы метаболитов, которые потенциально участвуют в межвидовом обмене. Они также показали, как численно определить культурную среду, которая ведёт к

комменсализму или мутуализму для заданного множества организмов. Сильвер (Wintermute & Silver, 2010) разработали Винтермьют И вычислительную систему, основанную на минимизации метаболического регулирования (MOMA) (Segrè al.. 2002), чтобы et исследовать взаимодействия В искусственных парах 46-ти мутантов-ауксотрофов Escherichia coli, имеющих делеции, блокирующие биосинтез жизненно важных метаболитов и тем самым приводящие к зависимости от их притока из внешнего источника. Модель предсказала взаимодействия между штаммами на уровне метаболических путей, и в результате экспериментов по совместному культивированию синергия наблюдалась в 17% из 1035 пар мутантов, что проявлялось в более чем 50-кратном увеличении скорости роста по сравнению с монокультурой.

За применением метода FBA к микробным сообществам закрепилось название метода баланса стационарных метаболических потоков сообщества (community Flux Balance Analysis, cFBA) (Khandelwal, Olivier, Roling, Teusink, & Bruggeman, 2013). Зоморроди и Маранас (Zomorrodi & Maranas, 2012) предложили обобщённую вычислительную платформу для реализации cFBA. Их система, названная OptCom, формулирует двухуровневую задачу оптимизации, где целевые функции как уровня сообщества, отдельной так И уровня клетки максимизируются/минимизируются. Метаболические потоки оцениваются, исходя из компромисса между этими целевыми функциями на уровне отдельных клеток и на уровне целого сообщества. Экспериментальные данные для этого сообщества (такие как структура) и для организмов (такие как скорость потребления), если таковые доступны, могут быть учтены, чтобы улучшить качество предсказаний. Зоморроди и др. (Zomorrodi et al., 2014) также разработали динамическую версию OptCom (названную d-OptCom).

Таффс и др. (Taffs et al., 2009) представили пример анализа сети уровня сообщества, основанный на ЕМ-анализе. Рассмотренное ими сообщество

содержит три функциональные гильдии (Рис. 1.7), включая одноклеточных цианобактерий рода *Synechoccus*, нитевидных аноксигенных фототрофов рода *Chloroflexus* и *Roseiflexus* и сульфат-редуцирующих бактерий. Поскольку ранее были доступны отдельные сети для гильдий, сеть уровня сообщества была создана путём наложения их друг на друга.



Рис. 1.7. Схема взаимодействия гильдий цианобактерий (syn), аноксигенных фототрофов (FAP) и сульфатредуцирующих бактерий (SRB). На рисунке изображён обмен веществ между гильдиями в дневное (A) и ночное (B) время. Сокращения: EtOH – этанол, hv – фотосинтетически активные фотоны, PG – полиглюкоза, PHB – полигидроксибутират. По (Taffs et al., 2009).

Таффс (Taffs al., 2009) И et В предложенном др. ими компартментализованном подходе использовали тот же тип расширенных сетей (т.е. содержащих отдельные сети в качестве компартментов) для ЕМанализа. Однако вычислительная сложность данного анализа значительно возрастает, поскольку с ростом размера сети происходит комбинаторный взрыв количества элементарных режимов. В качестве альтернативы они предложили вложенный подход, в рамках которого сперва анализируется каждая отдельная сеть (что менее требовательно к вычислительным ресурсам) и лишь затем изучаются потенциальные взаимодействия между отдельными сетями, которые выбираются на основе представлений об экологически значимых метаболических путях.

Применение методов анализа, основанных на метаболических сетях и описанных выше, к сложным экологическим системам, содержащим множество видов, генетическая и метаболическая информация которых недостаточно хорошо известна, является достаточно сложной задачей. Также возникает проблема возрастания трудоёмкости вычислений с ростом числа видов, входящих в анализируемые сети расширенных сообществ, которые строятся путём соединения метаболических сетей отдельных видов. В связи с этим, в настоящее время применение этих строящихся снизу-вверх методов сообществами, ограничено простыми составленными ИЗ нескольких видов/гильдий.

1.2.2.3 Динамическое моделирование на основе метаболических функций

Стехиометрический анализ метаболических сетей помогает оценить внутри распределение потоков прокариотического сообщества. Моделирование ответа сообщества динамического на изменения В окружающей среде требует использования систем моделирования, которые учитывают регуляцию метаболических систем. Метаболическая сеть сообщества может быть создана с упором на главные метаболические функции, катализируемые набором определённых функциональных генов. За

счёт сосредоточения на небольшом количестве ключевых метаболических функций использование этого подхода позволяет снизить сложность идентификации модели, которая обычно возникает, когда рассматривают подробную структуру метаболической сети.

Рид и др. (Reed, Algar, Huber, & Dick, 2014) недавно представили геноцентрический подход, укладывающийся в описанную выше схему, где они учли зависимость протекания биохимических реакций от уровня экспрессии функциональных генов, в том числе динамический ответ функции каждого соответствующего гена на изменение химического состава окружающей среды. Используемый в работе подход функциональных генов предполагает группировку организмов в соответствии с их функциональными генами, отражающими тип микробного метаболизма, и использование непосредственных геномных данных о встречаемости того или иного функционального гена. На примере круговорота азота и серы в Аравийском разработали биогеохимической море они модель линамики. явно учитывающую микробные сообшества И основанную на восьми функциональных генах, связанных С различными метаболическими функциями, такими как аэробное дыхание, нитратредукция, нитритредукция, аммонификация нитрита, сульфатредукция, окисление сульфидов, сцепленное с нитратредукцией, аэробное окисление сульфидов, аэробное окисление аммиака, анаэробное окисление аммония и аэробное окисление нитрита. Приросты биомассы информации были оценены, исходя ИЗ 0 термодинамической энергии, В время стехиометрические то как коэффициенты других метаболитов были определены из балансов химических элементов и электронов.

Описание составных экологических систем, содержащих разнообразные наборы доноров и акцепторов электронов, с помощью функционального геноцентрического подхода является актуальной задачей, открывающей альтернативные пути использования для микробных сообществ. В этом отношении перспективным является кибернетический подход, разработанный Рамкришной и коллегами (Ramkrishna & Song, 2012) для моделирования динамики сообществ на основе функционального геноцентрического подхода. В рамках данного кибернетического подхода выдвигается гипотеза, что клеточный метаболизм микроорганизмов регулируется оптимально, чтобы достичь определённую целевую функцию, связанную со скоростями реакций, а не с размером выработки продуктов. Будучи основанным на теории оптимального управления, кибернетический подход предоставляет точные предсказания клеточных ответов на возмущение окружающей среды и генома, не полагаясь на механистические подробности регуляции (J. Il Kim, Song, Sunkara, Lali, & Ramkrishna, 2012; H. S. Song & Ramkrishna, 2012; Young, Henne, Morgan, Konopka, & Ramkrishna, 2008).

Успешное применение вышеупомянутого геноцентрического подхода требует знаний об ассоциациях между функциональными генами и реакциями. Это может быть ограничением, поскольку некоторые потенциально важные функции могут отсутствовать из-за недостаточного метагеномного покрытия. Тем не менее, моделирование динамики микробных сообществ, на основе сверхорганизменной концепции, является продуктивным подходом в случае, если провести полный анализ динамики на уровне отдельных видов затруднительно.

1.2.2.4 Нелинейные регрессионные модели

Чаще всего динамика микробного сообщества исследуется численно с использованием моделей, основанных на дифференциальных уравнениях. Однако, если стоит задача предсказания того, как микробы собираются вместе в данной среде, и как структура сообщества изменяется в различных условиях, то оказываются полезны альтернативные подходы, основанные не на дифференциальных уравнениях. Один из подобных подходов заключается в том, чтобы разработать алгебраические соотношения между плотностями видов и условиями среды, используя методики нелинейной регрессии.

Плотность каждого вида в сообществе может затем быть выражена как функция от факторов среды и, возможно, также от плотностей других видов.

Предположим, что имеется серия данных о плотности видов из различных местоположений, характеризующихся особыми средовыми признаками. В качестве альтернативы могут быть использованы данные о временном микробного сообшества изменении структуры (в фиксированном местоположении), вызванном сезонными климатическими колебаниями. Эти данные предоставляют возможность построить предсказательную модель, которая сочетает встречаемость (или плотность) видов и средовые условия (H.-S. Song et al., 2014). В случае, если механистическая информация о микробном скоплении в ответ на внешние воздействия неизвестна, или её трудно собрать, отношения между видами и факторами среды могут быть через нелинейные алгебраические уравнения. установлены Так ДЛЯ сообщества, составленного из К членов, плотность k-го члена может быть представлена следующим образом:

$$x_k = f_{a,k}(\mathbf{c}, \mathbf{p}), \, k = 1, \, \dots, \, \mathbf{K}$$
 (1.2)

где вектора с и р обозначают средовые переменные и параметры. Как только функциональные формы $f_{a,k}$ и набор параметров р подходящим образом определены, становится возможным предсказать плотность вида в новых условиях, предоставив данные о действующих там факторах окружающей среды. Биоклиматические модели часто используют этот подход, чтобы предсказать плотность видов как функцию от условий среды и их ландшафтных градиентов, и называют их по-разному, например, *моделями экологических ниш* или *моделями распределения видов* (Elith & Leathwick, 2009).

Задачи разработки нелинейных регрессионных моделей включают обработку большого числа потенциальных взаимодействий между видами и факторами среды, включая подбор подходящей формулировки уравнений

нелинейной регрессии для каждого из видов. Для сложных сообществ это представляет определённую сложность в виду трудоёмкости данного процесса и необходимости иметь достаточно большие наборы данных. Методы реконструкции сетей взаимодействий и анализ стехиометрических моделей полезны для выявления ключевых межвидовых реакций. Разработка подходящих функциональных форм может быть облегчена с помощью использования специально спроектированных пакетов программного обеспечения, например, таких как «Эврика», разработанного Шмидтом и Липсоном (Schmidt & Lipson, 2009). Получив набор экспериментальных данных, «Эврика» способна определить простейшую форму математической функции, которая может наилучшим образом описать взаимосвязь этих данных, используя метод символьной регрессии.

1.2.3 Методы моделирования генетического разнообразия и изменчивости

За счёт особенностей геномной организации прокариоты являются организмами с высокой скоростью мутаций и перестройки геномов, включая горизонтальный перенос генетического материала между организмами. Поэтому для более точного описания прокариотических сообществ модели должны учитывать также генетическое разнообразие и процессы генетической изменчивости. Существует ряд подходов, позволяющих это сделать.

Так. работе (Doebeli & Dieckmann, 2003) было В проведено моделирование процессов видообразования вдоль экологических градиентов. Авторы построили гибридную модель эволюционирующей популяции организмов, описываемых как подвижные стохастические агенты на основе обобщённых моделей Лотки-Вольтерры в непрерывном двухмерном Агенты характеризовались некоторым пространстве. количественным признаком, определяющим способность утилизировать ресурсы среды и связанным с приспособленностью, который может трактоваться как морфологическая, поведенческая или физиологическая характеристика.

Кроме того, эти индивиды имели координаты в двумерном пространстве. Местообитание организмов характеризовалось распределением ресурсов согласно линейному градиенту по первому измерению, второе измерение было экологически нейтрально. В качестве фактора отбора выступала частотно-зависимая конкуренция, при которой в полиморфных популяциях, состоящих из субпопуляций с варьирующим фенотипом, взаимодействие между непохожими индивидами слабое, как, например, когда птицы с различными размерами клюва едят разные типы зёрен, а похожий фенотип ведёт к повышению конкуренции. Таким образом конкуренция между индивидами снижается с нарастанием как пространственного, так и Преодоление фенотипического расстояния. некоторого порога фенотипических различий между субпопуляциями приводило к ветвлению, которое трактовалось как видообразование.

Данная модель была исследована для случаев бесполого и полового В бесполом размножения организмов. случае были выявлены три определяющих параметра – крутизна экологического градиента, дальность передвижения и ширина функции конкуренции. Авторы обнаружили критические значения, до которых идёт ветвление, а после которых – блокируется. В половом случае панмиксия приводила к отсутствию эволюционного ветвления из-за перемешивания в ходе рекомбинации крайних фенотипов. Однако в случае ассортативного скрещивания репродуктивная ИЗОЛЯЦИЯ приводила к возникновению фенотипических кластеров С последующим видообразованием. Авторы отмечают, что для популяций, практикующих половое размножение, ограничения по параметрам для ветвления в общем более строгие, чем в бесполом случае. Так же, как и в бесполом случае, видообразование идёт с наибольшей частотой при наличии экологического и пространственного градиентов средней крутизны.

Таким образом в данной работе было показано, что пространственнолокализованные взаимодействия вдоль экологических градиентов могут

способствовать частотно-зависимому видообразованию и приводить к образованию паттернов географической сегрегации между появляющимися видами.

1.2.3.1 Мультилокусная "Gene-for-Gene"(GFG) модель

Работа (Ashby, Gupta, & Buckling, 2014) является хорошей иллюстрацией того, как концепты «гонки вооружений» (ГВ) и флуктуирующего по диапазону отбора (ФДО) могут реализовываться в бактериально-фаговых системах, и как методы математического моделирования могут использоваться для изучения генетического разнообразия и коэволюционных режимов в бактериально-фаговых системах. В данной работе с помощью клеточно-автоматной модели коэволюции в ходе фаговой инфекции с учётом генетического полиморфизма и цены за резистентность/генерализм исследовалось то, как степень перемешивания влияет на интенсивность ГВ. Для этого авторы применили к фаговой инфекции подход «Ген-против-гена» (ГПГ, англ. "Gene-for-Gene"), который появился для описания коэволюции между растениями и их патогенами (Sasaki, 2000).

Идея ГПГ заключается в том, что геномы паразита и хозяина описываются рядом локусов, аллели которых кодируют вирулентность или резистентность соответственно. Чтобы максимизировать вероятность инфицирования паразиты должны приобрести аллели вирулентности против каждой аллели резистентности бактерии, что обычно приводит к «гонке вооружений» и эволюции в сторону генерализма, т.е. более широким диапазонам резистентности и вирулентности.

В согласии с ранее известными результатами (Bohannan & Lenski, 2000) оказалось, что цена на резистентность ограничивала эволюцию к генерализму, однако в случае пространственно-структурированных сред и высокой цены за резистентность этот эффект был менее выражен, чем в равномерно-перемешанном случае. Авторы считают, что это связано с тем, что в равномерно-перемешанном случае колебания диапазона резистентности выше

по амплитуде, что связано с компромиссом между преимуществами широкой резистентности и быстрого размножения чувствительных к инфицированию особей. В случае же чёткой пространственной структуры образуются генетически близкие пространственные кластеры, которые ограничивают амплитуду колебаний диапазонов резистентности, но относительно широкий диапазон всё ещё может быть локально адаптивным из-за обилия различных специализированных фагов вокруг.

Расширение данной модели коэволюции и экспериментальная проверка на бактериях *P. fluorescens* и фагах Ф2 представлены в работе (Gomez et al., 2014). Для исследования условий переключения между различными коэволюционными режимами авторы использовали комбинацию симметричной модели «Ген-против-гена» (СГПГ), использующей два локуса для описания резистентности или вирулентности, и модели аллельного соответствия (AC), отвечающего за степень специфичности фага к конкретному штамму бактерий.

Вирулентность, Q		Генотип паразита							
		00/A	00/B	01/A	01/B	10/A	10/B	11/A	11/B
Генотип хозяина	00/A	σ²	σ²ρ	σ	σρ	σ	σρ	1	ρ
	00/B	σ²ρ	σ²	σρ	σ	σρ	σ	ρ	1
	01/A	σ³	σ³ρ	σ²	σ²ρ	σ²	σ²ρ	σ	σρ
	01/B	σ³ρ	σ3	σ²ρ	σ²	σ²ρ	σ²	σρ	σ
	10/A	σ³	σ³ρ	σ²	σ²ρ	σ²	σ²ρ	σ	σρ
	10/B	σ³ρ	σ3	σ²ρ	σ²	σ²ρ	σ²	σρ	σ
	11/A	σ⁴	σ⁴ρ	σ³	σ³ρ	σ	σ³ρ	σ²	σ²ρ
	11/B	σ⁴ρ	σ⁴	σ³ρ	σ³	σ³ρ	σ³	σ²ρ	σ²

Рис. 1.8. Специфичность взаимодействия паразита и хозяина, основанная на двух типах биаллельных локусов – СГПГ и АС. По (Gomez et al., 2014). Для

хозяев наличие аллели резистентности в локусе, где у паразитов нет аллели вирулентности приводит к снижению шанса заражения Q на множитель σ . В свою очередь, если паразит имеет аллель вирулентности в локусе, где у хозяина нет аллели резистентности, это приводит к возрастанию шанса заражения на множитель $\frac{1}{\sigma}$. Также несоответствие по AC-локусу приводит к снижению вирулентности на множитель ρ .

На Рис. 1.8 показано, как изменяется вероятность заражения бактерии фагом в зависимости от генотипов хозяина и паразита. При этом один тип локусов отвечает за диапазон генотипов, которые могут заражать или противиться заражению, а второй тип локусов контролирует специализацию инфекции на подмножествах генотипов. Наличие локуса второго типа позволяет реализовываться в данной модели не только ГВ, но и ФСО, когда фагам становится выгодным иметь ту же АС-аллель, что имеет большинство бактерий в системе, а бактериям, в свою очередь, выгодно иметь более редкую АС-аллель, чтобы с меньшей вероятностью подвергаться фаговой инфекции. В результате получаются колебания генотипов.

Для оценки влияния степени перемешивания среды на переключения между режимами коэволюции, было предложено оценить соотношение дисперсий временной изменчивости по различным типам локусов:

$$\frac{V_{\rm AC}}{V_{\rm BCe}} > 0.5 \Rightarrow \Phi {\rm CO}$$
 преобладает над ГВ (1.3)

Таким образом, большая дисперсия по первому типу локусов свидетельствует о «гонке вооружений», а большая дисперсия по второму типу локусов свидетельствует о флуктуирующем отборе.

Оказалось, что при низкой вероятности инфицирования, перемешивание сдвигало динамику от ФСО к ГВ. Авторы связывают это с повышенной частотой столкновения бактерий и фаговых частиц. В случае, когда заражение

происходило с большей вероятностью при условии столкновения бактерии и фага, происходила ГВ вне зависимости от степени перемешивания.

В отличие от бактерий, у фагов наблюдается тенденция к аккумулированию аллелей вирулентности вне зависимости от степени перемешивания, поскольку в этом случае фагам выгодно максимизировать вероятность заражения, эволюционируя к генерализму.

1.2.4 Пространственная гетерогенность и популяционная динамика микробных сообществ

Другим аспектом жизнедеятельности микробного сообщества, являющимся предметом как экспериментальных, так и теоретических исследований, является популяционная динамика, т.е. изменение численностей составляющих сообщество популяций во времени или в ряду поколений. В простейшем случае рассматриваются модели однородных сред с равномерным перемешиванием. Одной из первых математических моделей микробных популяций была модель микробной популяции в культиваторе с одним субстратом Ж. Моно, (Monod, 1950; Ризниченко & Рубин, 1993), которая позднее была развита Н.Д. Иерусалимским (Чернавский & Иерусалимский, 1965) на основе принципа лимитирующего фактора в ферментативных процессах с учётом ингибирующего влияния продуктов метаболизма микробных клеток (Ризниченко & Рубин, 1993). Дальнейшее развитие моделей популяционной динамики было связано с учётом внутренней структуры популяции. В частности, модель Мак-Кендрика (1926) г., переоткрыта фон Ферстером в 1959 г.) описывает возрастную структуру микробной популяции с помощью непрерывной функции плотности распределения организмов ПО возрастам (Ризниченко, 2003). Также используются матричные модели Лесли (Leslie, 1945) динамики популяций, имеющих дискретную возрастную структуру (см. работы (Гимельфарб, Гинзбург, Полуэктов, Пых, & Ратнер, 1974; Логофет & Белова, 2007)).

Описанные системы являются моделями популяционного уровня, которые основываются на предположениях о равномерной перемешанности клеток популяции, пространственной однородности среды обитания и однородности клеточного состояния внутри каждой популяции вида или гильдии (т.е. внутреннее состояние клеток в одной популяции тождественно). Однако несмотря на то, что предположение о равномерном перемешивании удобно с точки зрения проведения численного исследования и широко используется, оно слабо согласуется с большинством наблюдений реальных биологических систем, в которых градиенты питательных веществ, света и метаболитов играют важную роль в структуризации сообщества (J. Wimpenny et al., 2000). Даже в равномерно перемешанных условиях отдельные клетки в популяции могут различаться в соответствии со своими фенотипическими функциями (например, скоростью роста) или внутренними (например, метаболическими или генетическими) состояниями. Однако, реальные клетки микроорганизмов подвергаются воздействию различных локальных концентраций средовых переменных (таких как питательные вещества, температура, свет, рН и т.д.), и эти градиенты факторов окружающей среды часто ведут к неоднородному распределению внутренних состояний клетки и их положению в пространстве. Таким образом, методики моделирования, ставящие своей целью более реалистичное описание среды, в которой обитают микроорганизмы, обязательно моделируемые учитывать должны пространственную неоднородность микробных сообществ.

Использование моделей в формализме уравнений в частных производных является одним из традиционных подходов к описанию пространственной гетерогенности и исследованию образующихся в системе паттернов распределения. Одним из первых случае применения данной методики к исследованиям в области теоретической биологии была знаменитая работа А.М. Тьюринга (Turing, 1952), в которой он предложил модель «реакциядиффузия», способную в несложных системах синтеза веществ, связанных отношениями активации и ингибирования и распространяющихся в пространстве посредством диффузии, воспроизводить нетривиальные паттерны пространственного распределения. При описании проточных систем используются классические для гидродинамики уравнения Навье-Стокса (Lencastre Fernandes *et al.*, 2011), также являющиеся уравнениями в частных производных.

Существует ряд подходов, позволяющих описать не только пространственную гетерогенность, но и изменчивость внутри популяций. Одним из таких подходов являются модели популяционного баланса (PBM) 2000). С математической точки зрения данные модели (Ramkrishna, представляют собой интегро-дифференциальные уравнения в частных производных, описывающие как пространственные координаты, так и внутренние характеристики объекта, такие как, например, масса клетки, её возраст и морфология. Индивидуально-ориентированные модели также пространственного позволяют сочетать описание распределения С внутренними характеристиками моделируемых объектов. В моделях данного типа пространственная гетерогенность описывается с помощью «лоскутов» (Stauffer, Kunwar, & Chowdhury, 2005) квадратной решётки или ячеек сетки соответствующей размерности (Klimenko, Matushkin, Kolchanov, & Lashin, 2015). Кроме того, описания пространственной неоднородности для используются клеточные автоматы (J. W. T. Wimpenny & Colasanti, 1997), а также методы теории графов (O'Donnell, Young, Rushton, Shirley, & Crawford, 2007).

1.2.4.1 Модели популяционного баланса

Модели популяционного баланса (Population Balance Models, PBMs) рассматривают не только распределение популяций клеток во внешнем пространстве, но и их распределение во внутреннем пространстве состояний (Ramkrishna, 2000). Таким образом, клетки различаются по «внутренним» и «внешним» координатам. Внешняя координата клетки указывает её

физическое положение, в то время как внутренняя координата обозначает другие признаки клетки, помимо местоположения. В моделях популяционного баланса чаще всего рассматриваются такие переменные внутренних состояний клетки, как клеточная масса, возраст и морфология, которые следует указывать, чтобы определить процессы рождения и смерти или скорости изменения определённых интересующих переменных (Ramkrishna, 2000). В самом общем виде модели популяционного баланса представляются в виде интегро-дифференциальных уравнений в частных производных.

Решение моделей популяционного баланса получается путём численного решения большого набора обыкновенных дифференциальных уравнений, полученных за счёт дискретизации производного и интегрального членов. Отмечалось, трудоёмкость вычислений повышается, что если внутриклеточное состояние задаётся рядом векторов высокой размерности (например, концентрации внутриклеточных метаболитов) (Henson, 2003). Однако чаще всего модели популяционного баланса рассматривают лишь одно внутреннее состояние (такое как возраст клетки или клеточная масса). Следовательно, при правильной постановке модели популяционного баланса могут рассматриваться как альтернативы индивидуально-ориентированным моделям в имитировании популяционной неоднородности. В более развитых моделях внутрь моделей популяционного баланса включаются стохастические события, такие как процессы регуляции генов. Например, Шу и др. (Shu, Chatterjee, Dunny, Hu, & Ramkrishna, 2011) применили систему популяционного баланса, чтобы исследовать действие бистабильности клеток (представленной как два различных уровня концентрации белка PrG) на бимодальные распределения популяции. Пространственная неоднородность также может описываться совмещением моделей популяционного баланса с моделью реактивного транспорта, например, используя вычислительную гидродинамику (Lencastre Fernandes et al., 2011).

1.2.4.2 Клеточные автоматы

Однако для моделирования популяционных процессов непрерывные модели выглядят менее естественно, чем дискретные. К тому же статичная структура систем дифференциальных уравнений не позволяет отразить эволюционные процессы, происходящие в биологических популяциях (в частности, появление новых аллелей, горизонтальный перенос и потерю генов, а также видообразование). Тем не менее существуют альтернативные методы моделирования, основанные на непосредственном, «портретном» моделировании частиц системы. К ним относят, например, клеточные автоматы, сетевые модели и индивидуально-ориентированные методики моделирования.

Впервые клеточные автоматы были предложены ещё фон Нейманом в ходе его работы по исследованию возможности создания самовоспроизводящихся машин (Neumann, 1966). Клеточный автомат – это дискретная динамическая система, состоящая из решётки соединённых между собой одинаковых клеток, обладающих состоянием из конечного алфавита и заданными правилами перехода между состояниями. Изменение состояний клеток происходит синхронно через дискретные интервалы времени. Правила перехода могут быть заданы как детерминистическим, так и вероятностным образом и не меняются в процессе вычисления. При этом на вычисление состояния текущей клетки влияет состояние соседних клеток из определённой окрестности. Решётки клеточных автоматов могут различаться ПО размерности, по связности и по форме клеток. Каждая клетка решётки представляет собой конечный автомат, состояния которого определяются состояниями соседних клеток и, возможно, её собственным состоянием (Ванаг, 1999).

Клеточные автоматы используются в том числе и в биологии, например, для моделирования роста опухоли, питающейся от сосудистой сети с гетерогенным распределением кислорода (Alarcón, Byrne, & Maini, 2003), для моделирования развития вируса гриппа А в эпителиальной ткани (Beauchemin, Samuel, & Tuszynski, 2005), для моделирования развития апикальной меристемы побега *A. thaliana* (Akberdin et al., 2007) и в других областях.

Клеточные автоматы активно применяются в том числе и ДЛЯ моделирования роста бактериальных колоний. Так в работе Вимпенни и Коласанти (J. W. T. Wimpenny & Colasanti, 1997) на примере двумерного клеточного автомата, моделирующего рост колонии Bacillus subtilis, была рассмотрена зависимость структуры колонии от концентрации питательных веществ. Физическое пространство было представлено в виде двумерной решётки, ячейки которой могут быть заняты отдельными бактериальными клетками. В ячейках также могли содержаться от одной и более единиц субстрата, которые стохастически перемещались по решётке в ходе моделирования. Клетки делились в благоприятном в смысле концентрации субстрата направлении, смерть клеток не рассматривалась. Было показано, что низкой концентрации питательных в случае веществ формируются корневидные, ризоидные колонии, а в случае высокой концентрации – плотные круговые колонии, что хорошо согласуется с экспериментальными данными (см. Рис. 1.9).



Рис. 1.9. Результаты моделирования биоплёнки с помощью клеточного автомата при четырёх различных начальных концентрациях субстрата из работы (J. W. T. Wimpenny & Colasanti, 1997). А) 1000; В) 4000; С) 8000; D) 40000 единиц субстрата соответственно. Клеточный автомат представляет

собой решётку 100х100 ячеек, и процесс моделирования начинался с 70 клеток, помещённых в систему.

Позже в работах Ласпиду и Риттманн (Laspidou & Rittmann, 2004a, 2004b) была построена модель единого мультикомпонентного клеточного автомата (UMCCA), позволяющая количественно предсказывать развитие бактериальных биоплёнок. При этом принимаются во внимание следующие компоненты: активные клетки, мёртвая биомасса и внеклеточные полимеры. Так же, как и в предыдущем примере, физическое пространство было представлено в виде мелкозернистой двумерной решётки, отдельная ячейка которой могла содержать одну бактериальную клетку. UMCCA представляет собой гибридную дискретно-дифференциальную математическую модель, которая описывает баланс масс растворимых веществ с помощью систем обыкновенных дифференциальных уравнений, а для описания перемещения твёрдых компонент использует дискретные правила. При делении в замкнутых зонах бактериальные клетки расталкивают своих соседей, которые, в свою очередь, занимают случайные незанятые ячейки решётки по периметру колонии. Авторы рассмотрели изменение композитной плотности в различных условиях: были оценены доли внеклеточных полимеров, активной и инертной биомасс в различных частях колонии, показано, что вверху биоплёнки преобладает активная биомасса и полимеры, образуя ворсистую структуру, а внизу преобладает мёртвая биомасса и биоплёнка более плотная. Для всех типов биомассы отмечается значительная локальная гетерогенность (Laspidou & Rittmann, 2004a).

В уже упоминавшийся работе (Ashby et al., 2014) представление пространственной структуры микробного сообщества в виде клеточного автомата использовалось для исследования влияния степени перемешивания среды обитания на коэволюционные режимы бактерий и фагов. Авторы показали, что пространственно-структурированные среды способствуют более стабильной эволюционной и популяционной динамике, чем равномерно перемешанные среды.

1.2.4.3 Сетевые модели

Сетевые модели основываются на теории графов и используются для моделирования поведения сложных биологических систем, которые могут быть представлены в виде графа (O'Donnell et al., 2007). В рамках сетевых моделей каждый элемент системы рассматривается как стохастический объект. Компонентами сети могут быть колонии одноклеточных организмов, клетки в многоклеточном организме или ферменты и гены, вовлечённые в клеточный метаболизм. Все процессы сводятся к некоторым взаимодействиям между узлами сети, например, отношениям активации или ингибирования между продуктами экспрессии генов или трофическим взаимодействиям между популяциями разных видов. Взаимодействия отображаются с помощью рёбер или дуг, которые могут быть взвешены условной силой взаимодействия, например, скоростью размножения или базальным уровнем экспрессии генов в случае моделирования генных сетей.

Примером использования исследования данного подхода ДЛЯ эволюционной динамики может послужить исследование эволюционной динамики на графах в работе Либермана, Хауэрта и Новака (Lieberman, Hauert, & Nowak, 2005). В ней популяционная структура описывается с помощью графа. Каждой вершине соответствует определённое место в пространстве, занимаемое отдельной особью. Взвешенные дуги отображают репродуктивные скорости, которые описывают то, как часто индивиды будут порождать потомка в смежные вершины (см. Рис. 1.10).



Рис. 1.10. Схема эволюционного процесса для модели Морана (a) (P. A. P. Moran, 1958) и в терминах эволюционной теории графов (б) (Lieberman et al., 2005).

Модель Морана (Р. А. Р. Moran, 1958) описывает стохастическую эволюцию конечной популяции постоянного размера. На каждом шаге выбирается пара особей – первая особь размножается, а вторая – умирает (см. Рис. 1.10а). Потомок первой особи заменяет погибшую. Таким образом модель Морана описывает особый случай полного графа с идентичными весами на рёбрах. Для того, чтобы учесть фактор пространственного распределения особей, авторы работы обобщили данный подход при помощи эволюционной теории графов. Следуя терминологии последней, говорят, что особи занимают

вершины графа. На каждом временном шаге избирается особь для размножения с вероятностью, пропорциональной её приспособленности. При этом веса исходящих дуг определяют вероятности того, что соответствующий сосед будет замещён потомком первой особи. Процесс описывается матрицей **W**, где *w_{ij}* обозначает вероятность того, что потомок особи **i** заменит особь **j** (Рис. 1.10б).

В работе (Lieberman et al., 2005) изучалась зависимость вероятности фиксации полезных мутаций от структуры графа, описывающего расположение обобщённой популяции в пространстве. Выявлены структуры графов, способствующие фиксации полезных мутаций и препятствующие таковой. Таким образом было показано, как фактор пространственного распределения индивидов может влиять на действие естественного отбора.

Сетевое моделирование используется в экологическом моделировании (Anderson & Jensen, 2005; Berry & Widder, 2014), в исследовании особенностей регуляции экспрессии генов (Agrawal, 2002) и других областях. Данная эффективна методика ДЛЯ описания сильно взаимодействующих многокомпонентных систем. Метод сетевого моделирования предоставляет формальную базу для описания структуры системы, при этом результаты К легко визуализируются. недостаткам методики можно отнести необходимость высокого уровня знаний для определения того, какие взаимодействия должны быть учтены при моделировании, а также высокую вычислительную трудоёмкость для больших и сильно связанных систем.

1.2.5 Методы моделирования подвижности клеток

С проблемой пространственной динамики микробных сообществ тесно связано описание подвижности организмов. Известно, что значительное число видов бактерий способны активно передвигаться в окружающей среде по направлению к питательным веществам или же лучшим условиям обитания (Adler, 1976). Клеточное движение может быть смоделировано как случайные

и/или направленные движения. Случайное движение клеток является процессом, похожим на броуновское движение, в то время как направленное или целеустремлённое движение, ведомое стимулами из окружающей среды, называется *таксисом* (производное от греческого *tassein*, означающего «устраивать», но используемое в значении «движение» в биологии (De Sousa, 1971)). Подробный обзор математических подходов, используемых для моделирования бактериального хемотаксиса, представлен в работе (Tindall et al., 2008).

Для микробных сообществ, распределённых вдоль одномерного пространства, популяционное уравнение для *k*-го вида, которое описывает как случайные, так и хемотаксические движения может быть дано в следующей форме (известной как модель хемотаксиса Келлера-Сигела (Tindall et al., 2008)):

$$\frac{\partial x_k}{\partial t} = x_k \mu_k + \frac{\partial}{\partial z_1} \left(\alpha_k \frac{\partial x_k}{\partial z_1} \right) - \frac{\partial}{\partial z_1} \left(\beta_k \frac{\partial s}{\partial z_1} \right), \qquad k = 1, \dots, K \qquad (1.4)$$

где z_1 – пространственная координата, α_k и β_k – коэффициент подвижности и хемотаксический коэффициент вида k, соответственно, и s – концентрация сигнального вещества. В модели хемотаксиса Келлера-Сигела β_k , как правило, рассматривается как функция от x_k и s. Три слагаемых в правой части уравнения (1.4) означают скорость роста, случайное движение и движение посредством хемотаксиса. Знак «плюс», стоящий перед вторым слагаемым, означает, что клетки диффундируют в направлении меньшей плотности популяции. В зависимости от знака β_k третье слагаемое может описывать положительный хемотаксис по направлению к хемоаттрактанту s, $\beta_k > 0$, или отрицательный хемотаксис по направлению от хеморепеллента, $\beta_k < 0$. Скорость роста μ_k зависит от переменных окружающей среды c_i , баланс которых во времени и пространстве описывается следующим уравнением:

$$\frac{dc_i}{dt} = \sum_{k=1}^{K} Y_{i,k} \, x_k r_k + D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial z_1^2}, \qquad i = 1, ..., I$$
(1.5)

Уравнения (3) и (4) могут быть обобщены на трёхмерный случай путём учёта изменения всех переменных вдоль пространственных направлений z_2 и z_3 .

В работе (Emonet, Macal, North, Wickersham, & Cluzel, 2005) было представлено программное средство, позволяющее изучить влияние стохастических флуктуаций в межклеточных взаимодействиях на поведение отдельных клеток. Была разработана мультиагентная программная система AgentCell, с помощью которой авторы смоделировали хемотаксический ответ свободных клеток *E. coli* на градиент хемоаттрактантов в трёхмерной среде. В данной модели каждая клетка бактерии является самостоятельным агентом, имеющим собственную генную сеть хемотаксиса, молекулярные моторы и жгутик. Использовалась модель генной сети хемотаксиса Мортон-Фирт и Коробковой. На вход модели сети поступал параметр занятости рецептора (вероятность того, что рецептор связан с лигандом), что соответствует концентрации питательного вещества в среде. Выходным параметром сети является количество молекул регулятора хемотаксического ответа CheY-P внутри клетки. Для проверки был смоделирован хемотаксический ответ свободно плавающих бактерий на линейный градиент концентрации (Рис. 1.11, 1.12).



Рис. 1.11. Средний хемотаксический ответ для 540 клеток. Чёрным изображено количество клеток, находящихся в полупространстве z > 1.2 мм, как функция от времени при заданном постоянном градиенте аспарагиновой кислоты. Серым показан аналогичный график для случая среды без аспарагиновой кислоты (Emonet et al., 2005).



Рис. 1.12. Модель клетки *E. coli* в среде с вертикальным градиентом (10⁻⁸ М/микрометр) аспартата (Emonet et al., 2005). Бактерия использует свою хемотаксическую сенсорную систему, чтобы управлять своими жгутиками и двигаться по направлению к источнику питательного вещества (его концентрация возрастает с высотой по оси OZ). Красным отмечены события, когда клетка «кувыркалась», оставаясь на месте.

Результаты моделирования согласуются с экспериментальными данными, полученными для отдельных клеток и клеток, взятых из бактериальной популяции (Emonet et al., 2005).

Другим примером использования индивидуально-ориентированного подхода для моделирования подвижности бактериальных клеток является работа Б. Ниу с соавторами (Niu, Wang, Duan, & Li, 2013). Они смоделировали процессы хемотаксиса, сравнив результаты поведения бактерий в 3D среде с чувством кворума и без него. Авторы рассмотрели различные стратегии обмена информацией между клетками бактериальной популяции и оценили их эффективность в деле достижения глобального оптимума. Согласно их результатам, клетки популяции достигают наиболее благоприятных условий в том случае наиболее интенсивной коммуникации, задействующей как индивидуальные, так и межгрупповые механизмы обмена информацией.

1.2.6 Индивидуально-ориентированные методы моделирования микробных сообществ

С развитием компьютерных технологий широкое распространение получили методы индивидуально-ориентированного моделирования (DeAngelis & Mooij, 2005). В рамках данного подхода популяции моделируются как системы, состоящие из агентов, представляющих собой индивидуальные организмы или группы похожих организмов, обладающих набором признаков, варьирующих среди агентов. При этом каждый агент обладает своей уникальной историей взаимодействий со средой и другими агентами. Индивидуально-ориентированные подходы широко применяются в моделировании биологических процессов – от экологических (Grimm, Ayllón, & Railsback, 2017) до эволюционных процессов (С. Liu et al., 2017). В рамках данных моделей изучается то, как поведение отдельных индивидуумов, следующих локальным правилам, приводит к формированию сложных паттернов, в т.ч. и пространственно-распределённых, например, косяки рыб, стаи птиц, рой насекомых и т.п. (DeAngelis & Mooij, 2005). Применение этого

подхода позволяет создавать гибкие модели с учётом множества факторов и взаимодействий Однако индивидуальных В системе. реализация требует индивидуально-ориентированного подхода разработки соответствующих программных средств для моделирования и анализа результатов численных экспериментов. Тем не менее, именно такие многопараметрические, многоуровневые модели могут стать источником новых знаний о механизмах функционирования и эволюции биологических систем, в том числе микробных сообществ.

Преимуществом методов индивидуально-ориентированного моделирования является то, что они позволяют максимально гибко отобразить разнообразие характеристик индивидуальной особи и в то же время явно описывают взаимодействия между отдельными организмами на микроуровне. Основные недостатки данного метода – необходимость в большом количестве экспериментальных данных для детального описания биологических объектов и высокая вычислительная сложность. Трудоёмкость вычислений накладывает определённые ограничения на размеры моделируемых сообществ. Есть два основных подхода к снижению вычислительной нагрузки: (1) ограничение вычислительной области небольшим представительным пространством и (2) использование понятия супериндивидов. Например, можно снизить число моделируемых клеток, сосредоточившись на маленькой области биоплёнки или озера. Масштабирование к большему пространству на основе этого подхода становится трудным в случае, когда значима пространственная В неоднородность системах. настоящее время индивидуально-В микробных сообществ ориентированное моделирование ограничено масштабами от микрометров до сантиметров (Tang & Valocchi, 2013). В качестве альтернативы можно моделировать на основе супериндивидов, представляющих группу отдельных клеток (Scheffer, Baveco, DeAngelis, Rose, & van Nes, 1995). В таком случае возникает проблема, как согласованно определить супериндивидов для данной изучаемой системы, поскольку
определение супериндивидов таким образом, чтобы те содержали большое число клеток, в конечном счёте ослабляет присущую индивидуальноориентированному моделированию силу, которая способна описать динамику каждой отдельной клетки.

В основе индивидуально-ориентированных моделей (и также клеточных автоматов) лежит взгляд, согласно которому высокоуровневые, глобальные и составные свойства целой популяции возникают из низкоуровневых, локальных и простых взаимодействий отдельных сущностей. Несмотря на некоторое сходство с клеточными автоматами, индивидуальноориентированное моделирование имеет ряд существенных отличий: клеточноавтоматные подходы основаны на пространственных решётках с упором на предсказание геометрических структур, образуемых локальными взаимодействиями, в то время как индивидуально-ориентированные модели объясняют индивидуальное разнообразие (в пространственных решётках), чтобы предсказывать их коллективное поведение (Ferrer, Prats, & López, 2008).

Данный класс моделей позволяет описывать как отдельные уровни их биологической организации, так и сразу несколько таких уровней. Последние помогают выявить закономерности эволюции микробных сообществ, возникающие на генетическом уровне и распространяющиеся в дальнейшем на все прочие уровни функционирования микробного сообщества. Однако это приводит к проблеме интеграции описаний различных модельных уровней.

1.2.6.1 Моделирование роста биоплёнки с помощью программного средства BacSim

ВасSim (Kreft, Booth, & Wimpenny, 1998) представляет собой систему для моделирования популяции *E. coli*. В рамках методики моделирования исследуется то, как происходящие на клеточном уровне процессы приводят к формированию бактериальных колоний (биоплёнок). Цель, которую преследовали авторы при построении программы BacSim, – интегрировать клеточные процессы в обобщённую популяционную модель. Диффузия

субстрата моделируется двумерной решёткой с переменной зернистостью, зависящей от градиента концентрации субстрата. Базовый объект в построенной индивидуально-ориентированной модели – клетка бактерии в пространственно-распределённой среде. Учитывая высокую численность реальных бактериальных колоний (от миллиарда особей и более), это накладывает серьёзные ограничения на размер моделируемой колонии (в работе (Kreft et al., 1998) рассматриваются популяции порядка четырёх тысяч клеток). К тому же рассматриваются клетки только одного вида, что сильно ограничивает генетическое разнообразие в рамках сообщества.



Рис. 1.13. Результаты моделирования бактериальной колонии *E. coli* при помощи системы BacSim, показывающие снижение синхронности роста популяции в связи с увеличением пространственной гетерогенности среды (Kreft et al., 1998). Градиент концентрации субстрата отображён следующим образом: чем темнее квадрат, тем выше концентрация глюкозы (логарифмический масштаб).

При помощи данного программного средства было исследовано влияние пространственной гетерогенности среды на синхронность роста популяции *E. coli* (Kreft et al., 1998). Показано, что рассинхронизация скорости роста между отдельными частями колонии практически не связана с индивидуальной формой поверхности клетки, также в работе оценена величина данной рассинхронизации для различных параметров (Рис. 1.13 а, б).

1.2.6.2 Многомерное моделирование роста биоплёнки

Процесс формирования пространственной структуры мультивидовых биоплёнок на основе различных субстратов находится в фокусе многомерных моделей, созданных Пичиореану, Крефтом и ван Лусдрехтом (Picioreanu, Kreft, Van, & Loosdrecht, 2004). В данной работе объекты моделирования (клетки микроорганизмов) представлены в виде твёрдых сферических частиц, распространяющихся в среде. В качестве примера рассмотрена нитрифицирующая биоплёнка, состоящая из аэробных окислителей аммония и нитритов, анаэробных окислителей аммония и из инертной биомассы (Puc. 1.14).



Рис. 1.14. Распределение биомассы и многомерные градиенты промежуточных соединений нитритов, производимых окислителями аммония (голубые) и потребляемые окислителями нитритов (красные) и бактериями анаэробными окислителями аммония (зелёные), в ходе развития биоплёнки на пятый день (а и в) и десятый день (б и г) (Picioreanu et al., 2004).

В работе (Picioreanu et al., 2004) рассмотрено влияние размерности системы на поведение модели, а также зависимость структуры биоплёнки от начального распределения биомассы. С помощью многомерных моделей было предсказано меньше биомассы на несущую область (т.е. более пористые биоплёнки), чем с использованием одномерных моделей, особенно в условиях ограниченного питания и в том случае, когда развитие биоплёнки начиналось с пространственно-рассеянного посевного материала. Вещества, которые потреблялись либо производились в геометрически гомогенных биоплёнках, как правило, формировали только однонаправленные градиенты концентрации. Для промежуточных продуктов, которые производились или

потреблялись в разных зонах биоплёнки, были характерны сильные многомерные градиенты.

1.2.6.3 Методика моделирования и программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор»

Программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) был создан для моделирования микробных сообществ группой научных сотрудников ИЦиГ СО РАН (Лашин, Колчанов, & Матушкин, 2008). Он позволяет моделировать функционирование и эволюцию сообществ прокариот с учётом влияния среды, трофических взаимоотношений между популяциями и видообразования. С использованием данного средства возможно строить и исследовать модели сообществ высокой численности (миллиард особей и более) с изменяющейся структурой и возможностью описания различных уровней биологической организации.



Рис. 1.15. Схема объектов и процессов ГЭК.

В рамках ГЭК рассматривается микробное сообщество, состоящее из нескольких различающихся по генетическому составу популяций, связанных субстрат-продуктными отношениями, и обитающее в идеально перемешанной

проточной среде. На Рис. 1.15 представлена схема основных объектов и процессов ГЭК.

ГЭК используется для моделирования влияния трофической структуры сообщества, мутаций и горизонтального переноса генов на биоразнообразие и эволюцию прокариотических сообществ (Sergey A Lashin, Suslov, & Matushkin, 2010). Также при помощи ГЭК производились исследования эволюционных трендов в системах «Прокариотическое сообщество–фаг» (Лашин, Матушкин, Суслов, & Колчанов, 2011). Помимо этого, ГЭК использовался для моделирования генетической изменчивости в бактериальных сообществах в условиях изменяющейся окружающей среды (S. A. Lashin et al., 2012).

1.2.7 Проблемы интеграции и многоуровневые подходы к моделированию микробных сообществ

Одной из острых и актуальных проблем в сфере моделирования микробных сообществ является проблема интеграции различных методик моделирования в рамках единого исследования. В обзоре (H.-S. Song et al., 2014) приводится следующая классификация стратегий по интегрированию моделей: 1) информационная обратная связь; 2) непрямое сцепление; 3) прямое сцепление. Информационная обратная связь является самой слабой формой интеграции – в данном случае результаты «верхнего» модельного слоя чтобы настроить предположения, используются, лежащие основе В независимого «нижнего» модельного уровня. Непрямое сцепление представляет собой конвейер, при котором результаты одной модели передаются на вход другой независимой модели (Scheibe *et al.*, 2009). Прямое сцепление подразумевает степень интеграции, в которой различные методики моделирования сливаются в единую систему. В случае многоуровневого моделирования (c прямым терминологии Сонга) сцеплением ПО индивидуально-ориентированные методики выигрывают по сравнению со благодаря гибкости и способности интегрировать своими аналогами,

различные методики в качестве подмоделей в рамках единой системы моделирования. Например, данная концепция была успешно применена в работе (Rudge, Steiner, Phillips, & Haselo, 2012) для комбинированного моделирования внутриклеточной динамики, межклеточного сигналинга и клеточной биофизики бактериальных клеток, образующих биоплёнку. silico Реализованный авторами подход позволяет генерировать in предсказания поведения синтетических биоплёнок, которые могут быть использованы для их создания in vitro. При этом особый упор делается на эмерджентные свойства, проявляемые тысячами растущих и обменивающихся сигналами бактериальных клеток, поскольку эти свойства имеют решающее значение для проектирования синтетических биоплёнок.

Другой особенностью, проистекающей из многоаспектности ЭТИХ интеграционных подходов, является необходимость учитывать гетерогенные данные, полученные ИЗ различных источников С помощью высокопроизводительных экспериментальных методов исследования генома, транскриптома, протеома и метаболома сообщества (Zhang, Li, & Nie, 2010). Секвенирование нового поколения, масс-спектрометрия И другие высокопроизводительные генерируют огромные методы массивы экспериментальных данных, предоставляющих информацию о генетической структуре сообщества, представленности видов, экспрессии тех или иных функциональных групп генов и т. д. Поэтому учёт этого информационного пласта в существующих методиках моделирования микробных сообществ является актуальной задачей.

Применительно к задачам экологического моделирования проблема интеграции и многоуровневой организации зачастую предстаёт в форме необходимости использования новых подходов, опирающихся на принципы структурного реализма, эмерджентности и предсказательности (Grimm & Berger, 2016). Эмерджентность предполагает возникновение сложных поведенческих паттернов на основе простых принципов, управляющих

взаимоотношениями отдельных модельных единиц, описываемых своими стандартизованными подмоделями. Чтобы достичь предсказательности, эти подмодели должны быть в значительной степени автономны и проходить независимую верификацию и валидацию, после чего они могут быть использованы в качестве структурных модулей при построении более моделей. При ЭТОМ оптимальный баланс предзаданных сложных макропараметров свойств, формирующихся эмерджентно И ИЗ взаимодействий простых агентов, каждый раз подбирается исследователем на основе собственного опыта и исходя из специфики задачи. Построенные на основании данной методологии модели характеризуются структурным реализмом, т.е. механистическим подходом к описанию ключевых аспектов внутренней организации моделируемой экосистемы, И позволяют генерировать проверяемые гипотезы. В русле этих подходов лежат последние работы по интеграции данных по биоразнообразию и экологии сообществ в рамках единой методологии нового экологического моделирования (Grimm et al., 2017).

1.3. Заключение к главе 1

Сложность микробных сообществ обширный предопределяет математических инструментарий средств И систем моделирования, используемых для исследования этих сложных биологических объектов. Однако успешность применения той или иной методики зависит от целей, которые ставит перед собой исследователь, а также от понимания всех достоинств И недостатков, характерных выбранного способа ДЛЯ моделирования.

Важной задачей, требующей решения для моделирования микробных сообществ, является способность охватывать различные уровни биологической организации. Микробные сообщества являются многоуровневыми системами: результаты деятельности клеток микробного сообщества и процессы генетической изменчивости в них могут оказывать

глубокие воздействия физические и на химические характеристики макроскопического уровня целой экосистемы, в состав которой входит данное сообщество. Одним ИЗ трендов развития данной области является объединение возможностей различных подходов к моделированию в рамках гибридных или многоуровневых моделей, что позволяет получить более полное знание о такой биологической системе, как микробное сообщество. Однако на этом пути существует ряд проблем, связанных как с межуровневой интеграцией моделей, так и с интеграцией данных из гетерогенных источников. Тем не менее, данная работа находится в ключе вышеописанных подходов, предоставляя более глубокое понимание эволюции и динамики микробных сообществ, которое может быть использовано для решения как фундаментальных, так и прикладных задач современной биологии.

В проблем частности, одной ИЗ актуальных является роль горизонтального переноса генетического материала и экологической структуры сообщества в его эволюции и развитии, на счёт чего существуют две полярные точки зрения: Г.А. Заварзин (Заварзин, 2006, 2009) подчёркивает важность экологических взаимосвязей в симбиотрофном сообществе, которые формируют пространство возможной эволюции, в то время как Е.В. Кунин считает горизонтальный перенос важнейшим фактором в эволюции прокариот, легко преодолевающим экологические ограничения (Koonin, 2011). Проведённое в данной работе численное исследование вопроса о взаимовлиянии факторов генетического и экологического уровня в процессе эволюции микробных сообществ проливает свет на условия, в которых реализуется тот или иной сценарий, и тем самым позволяет очертить границы применимости существующих концепций.

Апробация разработанного средства моделирования производилась на модификации классической модели «Отравитель-жертва» взаимодействия двух антагонистических популяций, адаптированной на случай сред различной пространственной структуры. Поскольку адаптивные миграции

81

оказывают решающее влияние на результат антагонизма между видами, были рассмотрены случаи как неподвижных, так и подвижных организмов. Учёт генетической изменчивости и сравнение со случаем равномерного перемешивания представляют новизну данной задачи.

Другой актуальной задачей является исследование влияния факторов пространственной неоднородности, экологических градиентов и подвижности микроорганизмов на тренды усложнения и упрощения геномов микроорганизмов и экологические свойства формируемых сообществ.

Наконец, не менее важной темой является роль фаговой инфекции в эволюции микробного сообщества, населяющего пространственноструктурированную среду, с точки зрения перестройки метаболических систем популяций, составляющих сообщество.

2. Материалы и методы

2.1. Методика моделирования «Гаплоидный эволюционный конструктор»

B базовой моделирования MC был выбран качестве системы программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК), предназначенный для моделирования эволюции сообществ прокариот в проточной среде (S. A. Lashin & Matushkin, 2011; S.A. Lashin et al., 2014; Лашин et al., 2008). Ключевой единицей моделирования ГЭК является популяция метаболически однородных клеток, взаимодействующая с окружающей средой и с другими популяциями. В рамках данной методики моделирования рассматривается следующий набор объектов и процессов.

Объекты:

- Среда. Рассматривается жидкая проточная среда с равномерно распределёнными клетками и веществами;
- Субстраты. Субстратом называется вещество, необходимое жизнедеятельности. Субстраты клеткам ДЛЯ ИХ могут секретироваться клетками популяций (т.н. специфические субстраты) или поглощаться ими для нужд собственного роста. Субстраты, поступающие в среду вместе с протоком извне, называются неспецифическими. Субстраты могут оказывать как ускоряющее, так и замедляющее (вплоть до отрицательного) воздействие на рост популяций;
- Популяции. Популяция характеризуется набором метаболических систем (модельных генов), отвечающих за то, какие субстраты и с какой скоростью клетки данной популяции способны потреблять и производить.

Процессы:

- Поглощение субстратов из среды и секреция продуктов клетками популяций;
- Обмен метаболитами между популяциями внутри среды;
- Самовоспроизведение популяций и естественный отбор;
- Мутации. Мутация представляет собой изменение значения аллеля определённого гена клеткой(-ами) популяции;
- Потеря генов. Клетки популяции могут потерять часть генов, таким образом, образовав новую популяцию с геномом, отличным от исходного;
- Горизонтальный перенос генетического материала. Клетки различных популяций могут обмениваться между собой генами, образуя новые популяции.

В рамках данного подхода под популяцией понимается множество клеток, обладающих одинаковыми свойствами в отношении потребления и производства субстратов, т.е. одними и теми же метаболическими системами. Клетки считаются принадлежащими одной популяции (одному виду), если они:

- потребляют (утилизируют) одинаковое множество неспецифических и специфических субстратов;
- 2. продуцируют одинаковое множество специфических продуктов;
- имеют одну и ту же модель метаболизма, описывающую превращение множества входных субстратов в множество выходных с заданной стехиометрией;
- 4. обладают одной трофической стратегией;
- 5. обладают одной стратегией синтеза.

Под трофической стратегией понимается модель популяции, описывающая закон изменения её численности за одно поколение в зависимости от потреблённых клетками данной популяции субстратов. В рамках данной работы были использованы компенсаторная (ур. 2.1), некомпенсаторная (ур. 2.2) и ингибиторная (ур. 2.3) трофические стратегии.

$$F(n_{0}, \vec{S}, r_{0}, \vec{C}, P, G) = \sqrt{r_{0}n_{0}(P) \sum_{i \in I_{consumed}} c_{i}s_{i}(P) - k_{death}P^{2}}$$
(2.1)

$$F(n_{0}, \vec{S}, r_{0}, \vec{C}, P, G) = P \frac{\left(\frac{n_{0}/P}{K_{01}(r_{0})}\right)^{\gamma_{0}}}{1 + \left(\frac{n_{0}/P}{K_{02}(r_{0})}\right)^{\gamma_{0}}} \prod_{i \in I_{consumed}} \frac{1 + \left(\frac{s_{i}/P}{K_{i1}(c_{i})}\right)^{\gamma_{i}}}{1 + \left(\frac{s_{i}/P}{K_{i2}(c_{i})}\right)^{\gamma_{i}}} - k_{death}P^{2}$$
(2.2)

$$F(n_{0}, \vec{S}, r_{0}, \vec{C}, P, G) = a_{basal}(n_{0})P - \sqrt{\sum_{i \in I_{consumed}} c_{i}s_{i}(P) - k_{death}P^{2}}$$
(2.3)

где $I_{consumed}$ – набор индексов специфических субстратов, потребляемых клетками популяции; \vec{S} – вектор количественных значений потребляемых специфических субстратов; n_0 – количество неспецифического субстрата, потребляемого клетками популяции; r_0 – генетически предопределённая скорость утилизации неспецифического субстрата; P – численность популяции; k_{death} – коэффициент смертности; K_{ij} – коэффициенты, описывающие эффективность влияния субстратов на рост популяции (описывается в виде линейной комбинации одного или нескольких признаков), γ_i – коэффициенты, описывающие нелинейность влияния субстратов на рост популяции.

Основные термины и понятия, которые используются в рамках методики ГЭК:

- признак константа скорости синтеза или утилизации какого-либо определённого субстрата. Считается, что каждый признак однозначно определяется одним геном. Ген в данном случае рассматривается как единица наследования;
- аллель это вариант гена, т.е. конкретное значение соответствующей константы;

- генотип особи представляет собой набор аллелей, разделённый на три группы. Первая группа (c_i) характеризует эффективность утилизации специфических субстратов (s_i), вторая группа (d_i) – скорость выработки субстратов и третья группа (r_i) – эффективность утилизации неспецифических субстратов;
- мутация представляет собой изменение величины соответствующего признака, что может интерпретироваться, как перевод гена в другое состояние (аллель).

С использованием данной терминологии формулируется понятие **мономорфной популяции** – популяции «генетически идентичных» клеток, где у всех клеток соответствующие гены представлены одними и теми же аллелями. Общий для всех клеток такой популяции генотип называется **генотипом мономорфной популяции**.

Помимо популяций бактериальных клеток в ГЭК рассматриваются популяции умеренных бактериофагов. Жизненный цикл умеренного фага в методике ГЭК подчиняется следующим правилам переключения между лизогенным и литическим циклами: в пессимальных условиях вирус встраивается в геном клеток в виде профага, а в оптимальных условиях, способствующих быстрому росту популяции бактерий, бактериофаг вызывает лизис клеток с образованием новых фаговых частиц. Также возможны переключения между режимами в случае изменения условий, в которых находится заражённая популяция (Лашин et al., 2011).

2.2. Расширенная версия ГЭК для моделирования пространственно-распределённых сообществ

В рамках данной диссертационной работы было осуществлено расширение методики «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) для описания функционирования и эволюции МС в пространственноструктурированных средах. Для этого в методику ГЭК был внесён ряд изменений. Так, было расширено описание среды обитания – теперь среда рассматривается не как единый объём, а как 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, потери генов и горизонтальный перенос моделируются в рамках стандартной итерации ГЭК (см. Рис. 2.7) и происходят в каждой ячейке независимо от остальных; отдельным шагом итерационного процесса добавляется перераспределение субстратов и организмов в общей среде (см. Рис. 2.1).

Центральным разработанного ПУНКТОМ расширения методики моделирования является описание перераспределения клеток и веществ между ячейками среды. Перемещение субстратов определяется двумя процессами: диффузией и переносом под действием протока. Далее для наглядности все примеры будут приведены для 2D случая. Переход к 1D и 3D осуществляется путём понижения или повышения, соответственно, размерности векторов и матриц $E_t^s =$ ячеек. Пусть среда описывается серией связности $\begin{pmatrix} e_{11} & \cdots & e_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ e_{m1} & \cdots & e_{mn} \end{pmatrix}$, где e_{ij} – количество вещества **s** в ячейке (**i**,**j**) на **t**-ой итерации. Для того, чтобы определить пространственное распределение вещества на следующем шаге, т. е. посчитать E_{t+1}^s , необходимо учесть действие протока и диффузии. Для этого матрица распределения вещества представляется следующим образом: $E_{t+1}^s = E_t^s + F(E_t^s) + D(E_t^s)$, где $F(E_t^s)$ и $D(E_t^s)$ – матрицы, задающие изменение количества вещества (как положительное, так и отрицательное) в ячейке (i,j) в результате действия протока и диффузии соответственно. Перемещение клеток микроорганизмов, помимо действия на них протока и аналогичного диффузии пассивного транспорта, происходит также посредством хемотаксиса.

На каждом отдельном шаге итерационного процесса перемещение организмов и субстратов возможно лишь между соседними точечными

средами (для двумерного и трёхмерного случаев соседство понимается в рамках 4-х связности и 6-ти связности, соответственно), то есть для перемещения на **n** точечных сред в разработанной методике необходимо **n** итераций, таким образом моделируется распространение субстратов и организмов в среде. На Рис. 2.1 показано, как этапы пространственного перераспределения клеток и веществ встраиваются в общий итерационный процесс ГЭК.



Рис. 2.1. Схема общего итерационного процесса пространственнораспределённой версии ГЭК. Круги разного диаметра показывают популяцию микроорганизмов некоторой численности. Извилистыми красными стрелками показана диффузия. Исходящие от кругов короткие чёрные стрелки изображают основное направление перемещения клеток из данной ячейки посредством хемотаксиса. Стандартная итерация ГЭК включает в себя моделирование следующих стадий: поглощение и секреция субстратов, изменение численности популяций и, опционально, мутации, горизонтальный перенос и/или потерю генов.

2.2.1 Моделирование протока

Проток описывается при помощи вектора коэффициентов интенсивности протока соответствующей размерности. Компоненты данного вектора определяют долю перемещаемых под действием протока клеток и веществ в соответствующем направлении решётки точечных сред. Таким образом исследователь получает возможность задавать направление потока и его скорость. Зададим вектор протока $\vec{fl} = \binom{fl_x}{fl_y}$ в декартовой системе координат (в 1D и 3D случае вектор будет состоять из одной и трёх компонент, соответственно). \vec{fl} – это доля вещества, уносимая из ячейки протоком за итерацию (нормированный так, чтобы $fl_x + fl_y + 4k_d \le 1$, где k_d – нормированный коэффициент диффузии). Очевидно, что $|fl_x| + |fl_y| \le 1$, так как из ячейки нельзя забрать вещества больше, чем в ней есть. Обозначим $\vec{fl}_{abs} = \binom{|fl_x|}{|fl_y|}$. И пусть $\vec{t} = (1,0)$ и $\vec{j} = (0,1)$ – орты системы координат. Тогда можно определить элемент матрицы $F(E_t^s) = (f_{ij})$ как скалярное произведение двух векторов: $f_{ij} = \vec{fl}_{abs} \cdot (c_x - e_{ij}, c_y - e_{ij})$, где

$$c_x = \begin{cases} e_{i,j-1}, \text{если } \overrightarrow{fl} \cdot \overrightarrow{i} \ge 0, \\ e_{i,j+1}, \text{в противном случае.} \end{cases} \quad c_y = \begin{cases} e_{i-1,j}, \text{если } \overrightarrow{fl} \cdot \overrightarrow{j} \ge 0, \\ e_{i+1,j}, \text{в противном случае.} \end{cases}$$

2.2.2 Моделирование диффузии

Под диффузией понимается процесс ненаправленного распространения вещества по всем направлениям, обусловленный хаотическим тепловым движением молекул в среде. Изменение концентрации вещества во времени, обусловленное диффузией, в зависимости от распределения по пространственной координате традиционно описывается при помощи уравнения Фика:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} D \frac{\partial C}{\partial x}$$
(yp. 2.4)

, где С – концентрация, D – коэффициент диффузии. При предположении о постоянстве температурных условий (ур. 2.4) может быть преобразовано к виду:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$
(yp. 2.5)

Изменение количества вещества в результате диффузии равняется разнице между количеством вещества, пришедшего из соседних ячеек, и количеством вещества, ушедшего из текущей ячейки в соседние. Таким образом, транспорт посредством диффузии получается за счёт разницы концентраций в соседних ячейках. Для учёта диффузии составим матрицу $D(E_t^s) = (d_{ij})$, где $d_{ij} = k_d \cdot (e_{i,j-1} + e_{i,j+1} + e_{i-1,j} + e_{i+1,j} - 4e_{ij})$, k_d – доля вещества, которая диффундирует из рассматриваемой ячейки в одну из четырёх сторон (в 3D случае учитываются 6 граней точечной среды, а в 1D – 2 грани). Заметим, что здесь рассматриваются четырёхсвязные ячейки и учитываем все входные и все выходные потоки. В рамках данной работы рассматривались соотношения скоростей протока и диффузии от 2 до 20 раз.

Если рассмотреть диффузию по одной пространственной координате между соседними ячейками j-1, j и j+1, то изменение концентрации за временной шаг будет описываться следующим образом: $C_j(t + 1) = C_j(t) - 2 * k_d * C_j(t) + k_d * C_{j+1}(t) + k_d * C_{j-1}(t)$. Несложными преобразованиями получаем $\Delta C = C_j(t + 1) - C_j(t) = k_d \frac{C_{j-1}(t) - 2C_j(t) + C_{j+1}(t)}{h^2}$, где h=1. Очевидно, данное выражение представляет собой аппроксимацию уравнения Фика (ур. 2.5) с использованием разностного оператора второго порядка при h=1. Таким образом, k_d представляет собой ни что иное, как коэффициент диффузии.

Аналогичным образом описывается пассивный транспорт клеток, обусловленный ненаправленным распространением колонии в результате её роста и расталкивания близлежащих клеток.

2.2.3 Моделирование хемотаксиса

Проток и диффузия/пассивный транспорт действуют и на популяции микроорганизмов, и на субстраты схожим образом. Но для адекватного моделирования миграций клеток необходимо учесть два момента: во-первых, поскольку большая часть клеток находится в составе бактериального мата в прикреплённом состоянии, перемещается только некоторая часть популяции, находящаяся в свободном состоянии (в виде планктона); во-вторых, прокариоты в отличие от поедаемых ими субстратов способны к активному перемещению в результате хемотаксиса. Поэтому в разработанной методике доля свободных клеток описывается отдельным коэффициентом k_{free}, а перемещение посредством хемотаксиса описывается с помощью отдельного слагаемого. Подобно тому, как определяется интенсивность протока и коэффициент диффузии, задаётся и мобильность клеток **m** как некоторая общепопуляционная характеристика (по умолчанию равна нулю).

Таким образом, перераспределение популяций описывается схожим образом, но формула для них несколько изменится: $E_{t+1}^p = E_t^p + F(E_t^p) + D(E_t^p) + A(E_t^p)$, где $A(E_t^p)$ – матрица, задающая изменение количества вещества (как положительное, так и отрицательное) в ячейке (**i**,**j**) в результате активного движения клеток популяции **p** при помощи хемотаксиса. Элемент данной матрицы считается следующим образом: $a_{ij} = p_{in} - p_{out}$,

где p_{in} – число клеток, мигрировавших из соседних ячеек с менее благоприятными химическими условиями в текущую ячейку, а p_{out} – число клеток, мигрировавших из текущей ячейки в соседние с более благоприятными химическими условиями.



Рис. 2.2. Пример поведения популяции в текущей ячейке в зависимости от значений коэффициентов привлекательности (A_{ij}) в соседних ячейках. Стрелками отмечены направления, в которые будет передвигаться часть популяции посредством хемотаксиса. Перечёркнутые стрелки обозначают направления с менее благоприятными условиями, чем в текущей ячейке.

Сначала оценивается благоприятность химических условий в соседних ячейках исходя из разницы между концентрациями аттрактантов и репеллентов в соседней ячейке по отношению к текущей ячейке. Так формируются коэффициенты привлекательности для всех соседних ячеек: $A_{pq} = \sum (b_k * c_k)$, где c_k – это концентрация **k**-го вещества, а

 $b_k = \begin{cases} 1, если \, \mathbf{k} - oe \ вещество \ - \ аттрактант \, \mathbf{p}, \\ -1, если \, \mathbf{k} - oe \ вещество \ - \ репеллент \, \mathbf{p}, \\ 0, если \, \mathbf{p} \ не \ утилизирует \, \mathbf{k}. \end{cases}$

Затем формируются два списка соседних ячеек: в первом значение привлекательности для рассматриваемой популяции ниже, чем в текущей ячейке, а во втором – выше (см. Рис. 2.2). Изменение количества клеток рассматриваемой популяции в текущей ячейке определяется как сумма пришедших (берётся по первому списку) минус сумма ушедших (берётся по второму списку). Причём доля активно перемещающихся клеток делится по всем направлениям в соответствии с удельным весом, задаваемом привлекательностями соседних ячеек, лежащих в этих направлениях. Стоит заметить, что для популяций в нормировке величин \vec{fl} и k_d будет учитываться ещё и k_a .

$$p_{out} = \sum_{q \in N(i,j)} k_a * \frac{A_q}{A_{ij} + \sum_{t \in N(i,j)} A_t} * e_q, \qquad (2.6)$$

где k_a – доля свободных клеток, которая перемещается при помощи хемотаксиса, e_q – численность клеток популяции **p** в **m**-ой соседней ячейке, A_q – привлекательность **q**-ой ячейки, A_{ij} – привлекательность текущей ячейки, N(i,j) – множество соседей ячейки (i,j).

p_{in} рассчитывается, исходя из значений **p**_{out} соседних ячеек:

 $p_{in} = \sum_{t \in N(i,j)} w_{ij} * p_{out}^t$, где w_{ij} – доля p_{out} соседней ячейки, приходящаяся на текущую ячейку.

Аналогично рассматриваются одномерный и трёхмерный случаи. Для последнего матрицы $E_t^s = (e_{ijk})$ приобретут трёхмерный вид, и все векторы также будут трёхмерными, а ячейки станут шестисвязными.

На генетическом уровне определяются такие признаки, как *миграционная ригидность* и *энергетическая стоимость миграции*. Они задаются двумя соответствующими модельными генами хемотаксиса. Аллель гена миграционной ригидности определяет порог разницы в привлекательностях текущей и соседней ячейки, чтобы клетки популяции были готовы туда мигрировать, отражая тем самым верность представителей популяцииносительницы текущей биотопу (ячейке). Это реализуется через повышение привлекательности текущей ячейки по следующей формуле:

$$A_{ij} = (1 + av_1) * A_{ij} \tag{2.7}$$

где A_{ij} – привлекательность текущей ячейки, а av_1 – аллель гена миграционной ригидности.

При значении аллели гена миграционной ригидности, равной -1, популяция безусловно перемещается в более благоприятную соседнюю ячейку, а при значении 1 привлекательность текущей ячейки имеет двойной вес, при значении 5 – шестикратный и т.д.

Отметим некоторые биологические допущения, которые легли в основу разработанного алгоритма моделирования хемотаксиса. Поскольку в ГЭК 3D результаты хемотаксиса видны во временном масштабе на уровне смены поколений, то было принято решение учитывать лишь интегральный его эффект на популяционном уровне. Поэтому нерегулярности движения отдельных клеток на малых временных интервалах (секунды и доли секунд) не рассматриваются детально в рамках модели, поскольку на характерных временах моделирования они усредняются, а в действие вступают такие факторы, как адаптация к фоновому сигналу текущей ячейки и градиент аттрактантов/репеллентов в широком масштабе (т.е. на уровне разницы концентраций в текущей ячейке и соседних). Первое достигается за счёт единоразовости акта хемотаксиса (клетки переместились в соседнюю ячейку и никакой инерции у них не осталось, произошла адаптация, что соответствует литературным данным о работе сигнальных путей, контролирующих хемотаксис у бактерий (Wadhams & Armitage, 2004)), а второе – за счёт разработанного алгоритма расчёта привлекательностей ячеек. Передвижение клеток посредством хемотаксиса приводит к энергетическим затратам. Растратившие имеющийся запас энергии клетки останавливают вращение жгутиковых моторов и останавливаются, пока не приобретут необходимую для движения энергию вновь (Kuo & Koshland, 1989). Учёт энергетического бюджета клетки при моделировании хемотаксиса осуществлялся путём введения подмодели штрафа за миграцию, использующую два модельных гена, контролирующих хемотаксис (см. ур. 2.8).

$$C = \frac{av_2^{av_1}}{1 + av_2^{av_1}}$$
(2.8)

где av_1 – аллель гена миграционной ригидности (первый ген хемотаксиса); av_2 – аллель гена стоимости миграции (второй ген хемотаксиса), C – доля от нормы потребления неспецифического субстрата (максимальное количество молекул субстрата, которое способна поглотить одна особь), которая расходуется из энергетического бюджета клетки при активном перемещении.

Таким образом, штраф на миграцию посредством хемотаксиса определяется как функция от аллели гена стоимости миграции, причём аллель гена миграционной ригидности представляет собой параметр нелинейности данной зависимости. Если запас энергии клетки оказывается ниже, чем требуется для полного покрытия штрафа, то перемещения не происходит.

2.3. Методы анализа результатов вычислительных экспериментов

2.3.1 Классификация экологических групп

классификации Существуют различные организмов на основе экологически значимых свойств, большинство из которых опираются на экологическую амплитуду вида в проекции на тот или иной экологический фактор. Так микроорганизмов выделяются следующие для экофизиологические группы (Заварзин & Колотилова, 2001) по отношению к предпочитаемой температуре окружающей среды: психрофилы, мезофилы, термофилы, экстремальные термофилы и гипертермофилы; по отношению к предпочитаемому pH: ацидофилы (2<pH<6), нейтрофилы (6<pH<8) и алкалофилы (8.5<pH<11); по отношению к кислороду: аэробы и анаэробы и т.д. Другая классификация строится на основе анализа потоков энергии в экосистеме, в рамках неё выделяются продуценты, консументы первого, второго и выше порядков, а также редуценты (Миркин & Наумова, 2017). Не классификация менее известна на основе попарных соотношений: комменсализм, аменсализм, мутуализм, конкуренция, нейтрализм (см. Таблицу 1.1).

Однако помимо подобных классификаций существует также типология, основанная на экологической роли, которую живые организмы играют в сообществах, в которые они входят. Так, для растительных сообществ такие классификации разрабатывались Г.И. Поплавской (Поплавская, 1924) и В.Н. Сукачёвым (Сукачев, 1928), которые выделяли фитосоциальные типы эдификаторов и ассектаторов по принципу системно-образующей роли, играемой видами в сообществе и при его сукцессии. Первые играют роль строителей сообщества – либо в естественных условиях (аутохтонные эдификаторы), либо в результате пертурбаций сообщества, вызванных (дегрессивные кратковременным влиянием человека ИЛИ животных эдификаторы). Вторые же являются соучастниками в построении сообщества, но сами мало влияют на создание фитосоциальной среды внутри него.

В системе Л.Г. Раменского (Раменский, 1935) и Дж.П. Грайма (Grime, 1974) вводится классификация на основе адаптивных стратегий, которые используют растения, приспосабливаясь к окружающей среде. При этом ведущую роль играют следующие два фактора – интенсивность стресса, ограничивающего фотосинтетическую продукцию, и интенсивность воздействия, нарушающего целостность фитоценоза в результате действия как биотических, так и абиотических факторов. В рамках данной классификации выделяются такие фитоценотипы, как виоленты, отличающиеся высокой конкурентностью, устойчивые к стрессу патиенты и конкурентно слабые, однако быстро заполняющие свободное место после нарушения фитоценоза, эксплеренты, а также ряд промежуточных типов.

Для удобства дальнейшего анализа потребовалась классификация, которая позволит с одной стороны учесть роль организмов в их взаимоотношениях друг с другом, а с другой – их роль в структурировании сообщества через оценку сложности организации их метаболизма. Поэтому в рамках данной работы была предложена классификация всех возможных в данной модели популяций по их экологической роли, сделанная на основе двух признаков – широта спектра метаболических активностей (М, размер части генома, ответственной за метаболизм специфических субстратов) и *уклон* ($\mathbf{U} = \mathbf{U}$ исло метаболических систем синтеза – число метаболических систем утилизации специфических субстратов) в сторону утилизации (отрицательное направление) или синтеза (положительное направление). Тем самым при построении своей классификации автор данной работы синтезировала подходы, основывающиеся на попарных взаимодействиях видов, и подходы на основе роли популяции в формировании всего Получившиеся были сообшества. классы названы экологическими функциональными группами (экогруппами) и получили свои названия, исходя из экологической роли, которую выполняют их представители в сообществе (см. Рис. 2.3).

При M <= 3 (популяции с узким спектром метаболических активностей):

- *Минимальный геном* популяция, способная лишь утилизировать неспецифический субстрат.
- На линии альтруизма лежат 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.
- На линии эгоизма лежат квазикомменсалы класс организмов, потребляющих чужие продукты. В отличие от обычных комменсалов квазикомменсалы конкурируют за неспецифический субстрат со своими кормильцами.
- Между линиями эгоизма и альтруизма симметрично относительно линии баланса лежат квазимутуалисты – класс организмов, имеющих короткий и относительно сбалансированный по утилизации/синтезу геном, а потому потенциально способных вступать в симбиотические трофические кольца с другими подобными организмами. В отличие от обычных мутуалистов

квазимутуалисты конкурируют за неспецифический субстрат со своими симбионтами.



Количество специфических метаболических систем

Рис. 2.3. Экогруппы. По оси абсцисс отложено значение «уклона» в сторону генов синтеза (положительная полуось) или генов утилизации (отрицательная полуось), а по оси ординат – общее число генов метаболизма специфических субстратов. M = U - линия альтруизма. M = -U - линия эгоизма. U = 0 - линия баланса.

При 4<=M<=6 (популяции с широким спектром метаболических активностей):

 $|\mathbf{U}|$ При 2 популяция либо экогруппе = относится к квазикомменсалов, либо к экогруппе продуцентов в зависимости от знака U (см. Рис. 2.3). Поскольку в данной модели рассматривались экогруппы, выделяемые трёх ЛИШЬ на основании видов специфических субстратов, ни одна популяция не может характеризоваться более чем тремя метаболическими системами одного типа (утилизации или синтеза), что в случае популяций с большим геномом автоматически влечёт необходимость иметь гены другого типа. Поэтому в данный класс попадают популяции с большим геномом, имеющие значительный уклон в сторону утилизации или синтеза.

 Все остальные популяции относятся к классу эдификаторов – популяций с большим, но сбалансированным геномом, которые обладают широким спектром метаболических активностей и тем самым существенно преобразуют среду обитания, оказывая через неё влияние на многие другие популяции сообщества.

2.3.1.1 Динамика биомасс экогрупп

Сгруппированные по экогруппам популяционные динамики позволяют отличить когерентную эволюцию экосистемы от некогерентной, а также от сукцессии – см. Рис. 2.4.





Рис. 2.4. Примеры характерных динамик биомасс экогрупп. Сверху и по центру представлены случаи без хемотаксиса когерентной эволюции и сукцессии соответственно. Снизу – перехода от некогерентной эволюции к когерентной эволюции в случае с хемотаксисом.

В первом случае будут наблюдаться стационары доминирующих функциональных групп, и изменение конкретного набора видов, населяющих систему не изменяет существенным образом её экологическую структуру. Некогерентная эволюция характеризуется нестабильной динамикой биомасс

100

ключевых экогрупп и нерегулярными колебаниями их долей в сообществах. В случае же сукцессии наблюдается постепенную смену доминирующих видов и установление стационарного режима в климаксном сообществе.

Таким образом динамика биомасс экогрупп позволяет различать различные режимы эволюции экосистемы и сукцессию.

Сценарии обработки, анализа и визуализации результатов вычислительных экспериментов представлены в приложении 2.

2.4. Программная реализация ГЭК 3D

2.4.1 Общая схема и структура проекта

Разработанная методика моделирования реализована на языке C++ и интегрирована в существующий программный комплекс.



Рис. 2.5. Общая схема программного комплекса. Красным выделен модуль, разработанный в рамках данной работы. «CUDA», «MPI» и «OpenMP» – модули для высокопроизводительных вычислений. «GUI Java» – надстройка графического пользовательского интерфейса над «ГЭК 2.0». GUI Qt 3D – это

графический пользовательский интерфейс для «ГЭК 3D». МРІ 3D – это модуль высокопроизводительных вычислений для «ГЭК 3D».

На Рис. 2.5 представлена общая схема программного комплекса «Гаплоидный эволюционный конструктор». Описанная в подразделе 2.2 методика моделирования была реализована в рамках модуля «ГЭК 3D» на базе ядра программного комплекса «ГЭК 2.0». На основе данной работы в секторе компьютерного анализа и моделирования биологических систем ИЦиГ СО РАН Чеканцевым А.Д. и Зудиным Р.К. были разработаны графический интерфейс пользователя и модуль высокопроизводительных вычислений для пространственно-распределённой версии ГЭК (на Рис. 2.5 «GUI Qt 3D» и «МРІ 3D», соответственно).



Рис. 2.6. Структура программного комплекса «ГЭК 3D». «0D ядро» представляет собой базовую версию ячейки с равномерным перемешиванием. Остальные модули реализованы в рамках данной работы.

Реализация «ГЭК 3D» построена на базе ядра версии с равномерным перемешиванием («0D ядро»). На Рис. 2.6 представлены основные компоненты программной системы:

- классы из 0D ядра входят в состав программного представления решётки точечных сред, и для каждой ячейки из данной решётки в цикле происходит расчёт стандартной итерации модели;
- обработчик языка описания моделей расширяет соответствующий обработчик 0D ядра с учётом новых синтаксических конструкций, описывающих неоднородное пространственное распределение, размерность, факторы перераспределения и другие команды;
- установка начальных распределений клеток и веществ производится в соответствии с описывающим модель сценарием, составленным пользователем. В настоящее время поддерживаются такие виды начальных распределений как равномерное, линейный градиент и пользовательское;
- перераспределение клеток и веществ обсчитывается отдельно в двух различных функциях. При этом как для клеток, так и для субстратов с продуктами имеются свои аналоги обработчиков протока и пассивного транспорта/диффузии, в то время как обработчик хемотаксиса применяется только к клеткам микроорганизмов.

2.4.2 Поток вычисления

Несмотря на то, что решётка точечных сред «ГЭК 3D» строится на базе классов из 0D ядра, в поток вычислений пришлось внести некоторые изменения (Рис. 2.7).



Рис. 2.7. А) Поток вычислений «ГЭК 2.0»; Б) Поток вычислений «ГЭК 3D». N – количество ячеек, AV – параметр учёта вязкости среды.

Поток вычислений «ГЭК 2.0» составил стандартную итерацию ГЭК 3D (выделено зелёной рамкой на Рис. 2.7) за исключением протока, который теперь обрабатывается вместе с другими факторами перераспределения клеток и веществ. При этом сначала для каждой из ячеек рассчитывается стандартная итерация, а потом отдельным шагом применяется перераспределение.

Итерации ГЭК изначально были синхронизированы с размножением микроорганизмов. Однако с добавлением пространственного распределения в ходе тех же итераций обсчитываются процессы транспорта и миграции. Соответственно, варьируя количество ячеек при сохранении объёма, можно наблюдать, что при большем количестве ячеек продвижение клеток и веществ происходит медленнее, что соответствует средам с большей вязкостью. Для того, чтобы избежать этого эффекта был введён параметр учёта вязкости (AV на Рис. 2.7), который показывает сколько раз происходит перераспределение и стандартная итерация без изменения численности популяций на один вызов обработчика размножения. Таким образом, чтобы снизить вязкость среды при сохранении числа ячеек, нужно обсчитывать процессы миграции и транспорта в несколько раз чаще, чем размножение.

104

- **3.** Моделирование эволюции системы «отравитель-жертва» в пространственно-распределённой среде
- **3.1.** Эволюция популяций «отравителя» и «жертвы» в среде типа «река» с выраженными субстратными градиентами

С помощью описанной выше методики в программе ГЭК 3D было исследовано изменение генетического разнообразия популяций модели «Отравитель-жертва» (Рис. 3.1) в протяжённой одномерной (1D) среде со сквозным протоком (Рис. 3.2). Будем называть это моделью ОЖ1. Бактериальное сообщество представляло собой две популяции – отравители 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 используется на нужды роста популяций. В этой модели (и в последующих) были произведены расчёты при разном количестве ячеек (от 10 до 1000 с логарифмическим шагом), и качественно характер результатов моделирования сохранялся, поэтому в дальнейшем, не теряя общности, будем в этой работе говорить о 10-ячеечных системах.



Рис. 3.1. Граф трофических отношений в сообществе в модели «Отравитель-жертва». Р1 – популяция отравителя, Р2 – популяция жертвы, S1

 продукт жертвы, S2 – токсин, выделяемый отравителем, N1 – неспецифический субстрат, поступающий в систему.



Рис. 3.2. Схема пространственной организации системы в модели «Отравитель-жертва» со сквозным протоком («река», проточные водоёмы. ОЖ1). Жёлтые кружки изображают неспецифический субстрат, зелёные и фиолетовые – специфические субстраты. Красные и синие кружки со жгутиками изображают клеток популяций отравителя и жертвы соответственно. Клетки и вещества изначально распределены равномерно. Через систему действует сквозной проток с интенсивностью 0.02, т.е. 2% клеток и веществ на каждой итерации уносится вместе с протоком.

Был рассмотрен случай, когда для отравителя и для жертвы был задан следующий генетический полиморфизм: клетки популяции жертвы были полиморфны по признаку чувствительности к ингибитору, а клетки отравителя с разной эффективностью утилизировали продукт жертвы. Поскольку при моделировании не учитывалась мутационная изменчивость, частоты аллелей в популяциях менялись исключительно за счёт разницы прироста численности, на которую влиял тот или иной аллель.



Рис. 3.3. Зависимость стационарных значений численностей популяций (в клетках) отравителя (сверху) и жертвы (снизу) в модели чистой культуры с буферизованным специфическим субстратом или токсином соответственно.

На рис. 3.3 представлена зависимость стационарных значений численностей популяций отравителя и жертвы в модели чистой культуры с буферизованным специфическим субстратом или токсином соответственно. Размах числовых значений параметров, описывающих аллельные варианты, подобран таким образом, чтобы данные стационары отличались примерно в два раза (1.987 для отравителя и 2.164 для жертвы). С содержательной точки зрения аллельные значения описывают переменные коэффициенты gc_i при выражениях, определяющих эффективность утилизации субстрата (ур. 3.1), и

отражают прирост популяции за норму потребления субстрата. В случае токсина при расчёте прироста популяции данный член идёт с отрицательным знаком. Описание данных параметров представлено в приложении 4.

$$c_i = \frac{gc_i}{ccons_ss}$$
(yp. 3.1)

где c_i – эффективность утилизации i-го специфического субстрата, gc_i – изменяющаяся часть c_i , определяемая аллелями гена утилизации i-го специфического субстрата, *ccons_ss* – норма потребления.

Из популяционной картины сообщества, представленной на Рис. 3.4, видно, что после небольшого периода колебаний численности жертвы и роста численности отравителя численности обеих популяций стабилизируются.



Рис. 3.4. Популяционная динамика в общем объёме в модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом (ОЖ1).

Причём на уровне ситуации в отдельных ячейках (Рис. 3.5) видно, что уже спустя 250 поколений клетки жертвы выжили лишь в 1-ой и 2-ой ячейках, а отравитель наблюдается во всех ячейках системы.


Рис. 3.5. Популяционная динамика жертвы (А) и отравителя (Б) в модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом (ОЖ1). Разным цветом показаны численности популяций в разных ячейках.

Подобное распределение клеток различных популяций по ячейкам системы происходит потому, что клетки жертвы могут черпать энергию, только перерабатывая неспецифический субстрат, который локализован в достаточном количестве лишь вблизи источника неспецифического субстрата. В то же время клетки отравителя могут частично компенсировать нехватку

неспецифического субстрата за счёт продукта жертвы S1, который, подхватываясь протоком, распространяется по всей системе.

Была произведена оценка, какие тенденции при этом наблюдаются в изменении генетического разнообразия популяций данной системы. Из представленных диаграмм (Рис. 3.6) видно, что адаптивные аллели (т.е. в случае с жертвой – это константы чувствительности к ингибитору, а в случае отравителя – эффективности утилизации продукта жертвы) со временем полностью замещают менее адаптивные аллели. Причём в ячейках, расположенных дальше от источника неспецифического субстрата (см. ячейку 10 на рис. 3.6), генетическое разнообразие в популяции жертвы падает быстрее и, напротив, в виду низкой конкуренции дольше сохраняется полиморфизм у отравителя (Таблица 3.1). Обратная ситуация наблюдается в ячейках близких к источнику неспецифического субстрата (см. ячейку 1 на рис. 3.6).



Рис. 3.6. Динамика частот аллелей популяций отравителя и жертвы в ячейках 1 и 10 в модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом (ОЖ1). Цвет соответствует аллельному значению (×10⁻⁹ клеток для отравителя

и ×1/7 ·10⁻⁵ клеток для жертвы). Ширина цветной полосы соответствует доле некоторого аллеля в популяции.

Таблица 3.1. Время вытеснения адаптивным аллелем всех остальных (в поколениях) для популяций отравителя и жертвы в разных ячейках для модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом (ОЖ1). Было проведено сто вычислительных экспериментов, в ходе которых начальное распределение аллелей варьировало так, что начальная частота каждого аллеля в популяции лежала в диапазоне 5-15% (рассматривалось всего 9 аллелей в распределении). Приведены доверительные интервалы для уровня достоверности 95%.

Отравитель		Жертва	
	Время потери		Время потери
	генетического		генетического
	разнообразия		разнообразия
	(вытеснения всех		(вытеснения всех
	неадаптивных		неадаптивных
	аллелей),		аллелей),
	поколение		поколение
Ячейка 1	550 ± 2.8	Ячейка 1	89 ± 0.2
Ячейка 2	551 ± 2.8	Ячейка 2	81 ± 0.3
Ячейка 5	561 ± 2.9	Ячейка 5	104 ± 0.3
Ячейка 8	574 ± 3.2	Ячейка 8	19 ± 0
Ячейка 10	582 ± 2.9	Ячейка 10	19 ± 0

Однако ближе к центру системы (5 ячейка в Таблице 3.1) у жертвы наблюдалось увеличение времени сохранения генетического разнообразия – адаптивный аллель зафиксировался только на 104 ± 0.3 поколении. Это связано с тем, что проток приносил в эту ячейку субпопуляции мигрантов из

начала системы, где сохраняется относительно высокое генетическое разнообразие.

Таким образом, пространственная локализация клеток организмов может влиять на скорость эволюции популяций: в зависимости от положения клеток по отношению к источнику неспецифического субстрата наблюдается разная скорость эволюции у популяций отравителя и жертвы. Ближе к источнику неспецифического субстрата отравители эволюционируют быстрее, чем жертвы, и наоборот, чем дальше от источника неспецифического субстрата, тем быстрее жертвы теряют генетическое разнообразие, что обусловливается разной интенсивностью отбора в разных частях пространства.

3.2. Эволюция популяций «отравителя» и «жертвы» в среде типа «озеро» с неоднородным начальным распределением токсина

Далее было проведено исследование влияния неоднородности среды и активного перемещения клеток на динамику системы «Отравитель-Жертва» с «перпендикулярным» протоком, относительно градиента токсина (Рис. 3.7). Будем называть это моделью ОЖ2.



Рис. 3.7. Схема пространственной организации системы с «перпендикулярным» протоком («озеро», стоячие водоёмы. ОЖ2). Отравитель и жертва распределены равномерно. Задан убывающий градиент токсина.

Проток приносит во все ячейки неспецифический субстрат и не перемешивает вещества и клетки между ячейками. Интенсивность протока равна 0.02.

Поскольку адаптивные миграции оказывают решающее влияние на результат антагонизма между видами, была также рассмотрена система подвижных микроорганизмов, в которой клетки обеих популяций мигрировали в сторону ячеек с большей концентрацией питательных веществ, но клетки жертв при выборе более благоприятных условий также избегали высокой концентрации токсина. Таким образом, было изучено влияние хемотаксиса на данную систему. На Рис. 3.8 представлены результаты вычислительного эксперимента без хемотаксиса. После непродолжительного периода колебаний популяционные динамики выходят на стационар.



Рис. 3.8. Графики численностей популяций жертвы (слева) и отравителя (справа) в разных ячейках и в общем объёме (случай без хемотаксиса) для модели ОЖ2 без генетического полиморфизма. В разных ячейках колебания численности жертвы различны из-за неоднородного начального распределения токсина. Численность отравителей в различных ячейках почти не отличается.

Картина разительно меняется в случае, если клетки оказываются способны активно перемещаться в сторону ячеек с более благоприятными для



них условиями, установив долю субпопуляции активных мигрантов, равную 0.1. Результаты моделирования представлены на Рис. 3.9 и Рис. 3.10.

Рис. 3.9. Графики численностей популяций жертвы (сверху) и отравителя (снизу) в разных ячейках и в общем объёме (случай с хемотаксисом) для модели ОЖ2 без генетического полиморфизма.



Рис. 3.10. Графики численностей популяций жертвы и отравителя в общем объёме (случай с хемотаксисом) для модели ОЖ2 без генетического полиморфизма.

Наличие градиента токсина и подвижность клеток приводят к возникновению локальных колебаний численностей популяций, что сказывается не только на динамике отдельных ячеек, но и на системе в целом (Рис. 3.10).

Изучение моделей данного типа при различных условиях среды показало, что наличие неоднородного распределения субстратов (будь то вследствие изначально заданной неоднородности или постоянно воспроизводящейся вследствие диффузии) при возможности хемотаксического движения клеток создаёт совершенно новую динамику в системе – стремление клеток микроорганизмов к лучшим условиям среды обитания приводит к возникновению локальных колебаний их численности (Рис. 3.9). В литературе отмечается подобное поведение для определённых антагонистических штаммов *E. coli* в лабораторных условиях (Kerr, Riley, Feldman, & Bohannan, 2002).

Возможность возникновения на локальном уровне нерегулярной популяционной динамики при наличии неоднородности и хемотаксиса обращает внимание на соответствующее изменение генетического

разнообразия. Для более детального исследования этого вопроса была рассмотрена модель ОЖ2 с генетическим полиморфизмом. На Рис. 3.11 представлена популяционная динамика данной системы по отдельным ячейкам.



Рис. 3.11. Численности популяций отравителя и жертвы по ячейкам для модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом в 10-ячеечной среде с перпендикулярным протоком и диффузией. Клетки могли активно перемещаться посредством хемотаксиса.

Действие диффузии приводит к возникновению неоднородности, что в сумме со способностью клеток к активному перемещению локально создаёт нерегулярную динамику. Динамика изменения частот аллелей представлена на Рис. 3.12 и Рис. 3.13.



Рис. 3.12. Динамика частот аллелей популяций отравителя и жертвы в ячейках 1 и 3 для модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом в 10-ячеечной среде с перпендикулярным протоком и диффузией. Система симметрична, поэтому в ячейках 10 и 8 аналогичная динамика.



Рис. 3.13. Динамика частот аллелей популяций отравителя и жертвы в ячейках 5 и 7 для модели «Отравитель-жертва» с генетическим полиморфизмом в 10-ячеечной среде с перпендикулярным протоком и диффузией. Система симметрична, поэтому в ячейке 4 аналогичная динамика.

Из рисунков 3.12 и 3.13 видно, что на генетическом уровне за исключением 3-ей и 8-ой ячейки, где колебания численности жертвы в начале были особенно сильны, никаких осцилляций не наблюдается. Таким образом, результаты моделирования показывают, что наличие хемотаксиса способно создавать нерегулярные осцилляции численностей в отдельных ячейках, однако на генетическом уровне сохраняется устойчивый тренд изменения частот аллелей. Система в целом становится более устойчивой при сохранении колебаний на локальном уровне, что можно интерпретировать как повышение гибкости такой системы.

3.3. Заключение к главе 3

В данной главе была рассмотрена модель МС типа «Отравитель-жертва», эволюционирующего в средах с различными режимами подачи питательного субстрата. Были изучены популяционная динамика и динамика частот аллелей

118

полиморфизмом моделях различными средами И начальным В с чувствительности к токсину и эффективности утилизации. Показано, что в выраженным неспецифического средах, характеризуемых градиентом субстрата и сквозным протоком («река»), скорость фиксации адаптивных аллелей «отравителя» и «жертвы» различается в разных частях пространства в соответствии с интенсивностью отбора, действующего на популяции. 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. Таким образом, наличие жертв-производителей субстрата необходимо только в некоторых районах пространства, поскольку в дальнейшем этот субстрат может транспортироваться в другие районы. 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.

Моделирование трендов усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенных местообитаниях

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 (N. A. Moran, 2002), потеря генов бактериями в *in vitro* системах (Mira, Ochman, & Moran, 2001), а также оптимизация длины генома при синтрофии (Kunin & Ouzounis, 2003; McCutcheon & Moran, 2011). С другой стороны, приобретение генов устойчивости к антибиотикам (Händel, Hoeksema, Freijo Mata, Brul, & Ter Kuile, 2016; Rodriguez-Martinez et al., 2006), приобретение генов, способствующих выживанию в экстремальных условиях (Nelson et al., 1999; Nesbo, L'Haridon, Stetter, & Doolittle, 2001), а также симбиогенез (вплоть до симбиогенетической теории эволюции) (Archibald, 2011; Margulis, 1970) представляют тенденцию к усложнению геномов.

Одним из факторов влияющих на эволюцию бактерий являются их облигатные паразиты – бактериофаги. Известно, что они не только могут способствовать горизонтальному переносу генетического материала между клетками, но и являться фактором движущего отбора (Hendrix, 2005; Koskella & Brockhurst, 2014; Pride, Wassenaar, Ghose, & Blaser, 2006). Переключение между лизогенным и литическим режимами приводит к различным типам коэволюции в системах «бактериальное сообщество-фаг» (Gomez et al., 2014). Исследования на основе индукции профага ДНК-повреждающими агентами показывают, что литические инфекции более распространены в богатых питательными веществами условиях среды, в то время как лизогения чаще встречается в олиготрофных условиях (Paul, 2008). Недавно было показано, что лизогения может быть успешной стратегией также и в тех случаях, когда бактерии растут быстро и имеют большую численность (Knowles et al., 2016).

Переключение между лизогенным и литическим режимами было описано на небольшом числе моделей хозяин-фаг, таких как *E. coli* и бактериофаг лямбда (Ptashne, 1986), однако факторы, определяющие характер протекания фаговых инфекций в сложных микробных сообществах, остаются слабо изученными.

В литературе описан ряд хорошо изученных примеров коэволюции в системах «бактериальное сообщество-фаг», включающих признаки вирулентности и резистентности. Одним из таких примеров, наблюдающихся в богатых питательными веществами средах, является «гонка вооружений», т.е. движущий отбор в сторону увеличения вирулентности фага и резистентности бактерий (Weitz, Hartman, & Levin, 2005). В бедных средах имеет место другая коэволюционная динамика, называемая колеблющимся отбором: происходят колебания частот генотипов со специализированной резистентностью и вирулентностью или же колебания в диапазонах резистентности и вирулентности (Gomez et al., 2014). В работах Матушкина, Родина и Ратнера на основе построенной ими детерминистской модели системы вирулентный фаг-бактерия сделан вывод о локальной адаптивности, но глобальной ненаправленности происходящего В таких системах коэволюционного процесса, затрагивающего рецепторные белки бактерии и белок адсорбции бактериофага (Родин & Ратнер, 1982). На модели проточного резервуара с различным числом пар взаимно специфичных мутантных штаммов-антагонистов была продемонстрирована роль протока В формировании полиморфизма как наиболее вероятного состояния системы вирулентный фаг-бактерия (Матушкин, Родин, & Ратнер, 1986).

С другой стороны, 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).

Исследования антагонистических отношений в коэволюции хозяев и паразитов обычно концентрируются на признаках вирулентности И резистентности. Однако коэволюция может задействовать также и другие локусы в геноме хозяина. Недавно было показано, что коэволюция бактерий и литических фагов не только приводит к изменениям в ответственных за приобретение резистентность локусах, но И ограничивает мутаций, благоприятных для роста в абиотической среде обитания (Scanlan et al., 2015). Тем не менее последствия подобного совместного существования бактерий и умеренных фагов остаются неясными. В связи с этим в рамках диссертации был исследован вопрос о том, как умеренная фаговая инфекция влияет на приобретение новых метаболических функций клетками бактериальных популяций.

Несмотря на важность обмена генетическим материалом, эволюция прокариот путём горизонтального переноса генетического материала имеет ряд ограничений: гены имеют разную мобильность, экзогену нужен оптимальный промотор, чтобы работать, и экологические взаимосвязи в симбиотрофном сообществе канализируют пространство возможной эволюции, на что указывал ещё Заварзин (Заварзин, 2006, 2009). Однако, Кунин считает горизонтальный перенос важнейшим фактором в эволюции прокариот, легко преодолевающим экологические ограничения (Koonin, 2011).

4.1. Моделирование горизонтального переноса генов в пространственно-распределённой системе с изменяющимися условиями среды

Чтобы определяющим фактором понять, насколько 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 одномерной трубе (см. Рис. 3.2) с изменяющимися условиями среды. Данная модель является расширением на пространственнораспределённый случай описанной ранее для среды с равномерным перемешиванием модели (Sergey A Lashin et al., 2010). Было изучено влияние горизонтального переноса генов на функционирование в стрессовых условиях сообществ из популяций, имеющих различные трофические стратегии: компенсаторную – реализующую закон компенсации экологических факторов Рюбеля, согласно которому отсутствие недостаток или некоторых экологических факторов могут быть компенсированы другими близкими 1935) (ур. 2.1), и некомпенсаторную стратегию, факторами (Rubel, реализующую закон минимума Либиха, согласно которому прирост биомассы популяции зависит от фактора, находящегося в минимуме (Odum, 1983) (ур. 2.2).

Каждый трофический цикл (ТЦ) состоит из трёх популяций (Рис. 4.1). Для этого сообщества мы рассмотрели сочетания трофических стратегий: К-К, НК-НК (где К означает компенсаторную стратегию, а НК – некомпенсаторную стратегию). Данное сообщество было промоделировано для вариантов пространственной организации со сквозным и перпендикулярным протоком (см. Рис. 3.2 и 3.6). Кроме того, рассматривались ситуации с возможностью хемотаксиса при движении клеток в среде и без такой возможности. Для этих моделей было рассмотрено влияние горизонтального переноса генетического материала (ГП) и изменения параметров окружающей среды на функционирование сообщества:

- На 100-й итерации расчёта модели (через 100 поколений) моделировался ГП гена утилизации специфического субстрата S6 из клетки популяции P6 в клетку популяции P1. Это приводило к появлению клеток нового типа, которые затем формировали популяцию P7, связывающую TЦ P1-P2-P3 и P4-P5-P6 (см. Рис. 4.1).
- 2. Чтобы оценить устойчивость новой трофической структуры, сообщество подвергалось стрессовому воздействию: на 2000-й итерации моделировалось снижение концентрации поступающего неспецифического субстрата в 100 раз. Такая «голодовка» продолжалась в течение 1000 поколений, после чего в протоке восстанавливалась исходная концентрация неспецифического субстрата.



Рис. 4.1. Схема трофической системы из двух ТЦ: Р1-Р2-Р3 и Р4-Р5-Р6. N – неспецифический субстрат, поступающий в систему. На схеме также показан ГП генетического материала из клетки популяции Р6 в клетку популяции Р1. В результате образуется клетка нового вида, которая затем образует популяцию Р7. Молнией показан перенос гена утилизации субстрата S6, а серой стрелкой – отделение новой популяции Р7. Клетки популяции Р7 могут утилизировать два специфических субстрата – S1 и S6 (т.е. они некоторым образом объединяют два цикла). Также они синтезируют и секретируют субстрат S2, что включает их в акцепторный, «материнский» ТЦ. Параметры метаболизма наследуются от клетки-акцептора.

В предыдущих исследованиях для случая С равномерным перемешиванием было показано, что в ходе долгого периода голодовки некомпенсаторная стратегия способствует сохранению генетического стратегия разнообразия, компенсаторная однако оказывается более адаптивной в стрессовых условиях голодовки (Sergey A Lashin et al., 2010).

4.1.1 К-К системы

Для случая с компенсаторной трофической стратегией в сквозном протоке без хемотаксиса только возникновение ГП в ячейках, близких к источнику неспецифического субстрата (ячейки 1-3, Рис. 4.2), приводит к значимым изменениям в сценарии развития сообщества: новая популяция выживает и происходит дифференциация размеров популяций. При возникновении ГП в удалённых от источника неспецифического субстрата ячейках (4-10) новая популяция не закрепляется и вскоре элиминируется из системы.

Наличие хемотаксиса способствует закреплению и поддержанию биоразнообразия (выживанию популяции Р7) независимо от локализации горизонтального переноса.



Рис. 4.2. Графики численностей популяций Р1-Р7 в системе К-К в сквозном протоке без хемотаксиса.

Палеонтолог Жерихин и палеоботаник Мейен предложили концепции зональной стратификации (Жерихин, 1978) и фитоспрединга (Meyen, 1987), являющиеся расширениями «экваториальной помпы» Дарлингтона 1957). (Darlington, Согласно их концепциям, наибольшая скорость образования новых таксонов наблюдается в тех местах, где борьба за существование с абиотическими факторами оказывается снижена. В предыдущей модели (случай без хемотаксиса) популяция Р7 выживала лишь если ГП происходил в ресурсно-богатых ячейках (т.е. близко к источнику неспецифического субстрата, в районе 1 ячейки), которые являются аналогами биотопов Жерихина и Мейена. В бедных экотопах, напротив, новый вид не мог набрать достаточной численности для эффективной конкуренции с

членами уже устоявшегося сообщества, несмотря на то, что представители данного вида обладали потенциальным преимуществом (могли утилизировать более широкий спектр субстратов). Таким образом, эволюционный успех нового вида определяется не только его преадаптациями, но и параметрами экосистемы. У данного вывода есть интересные следствия: как правило, аллели, дающие адаптивные преимущества возникают в одном или нескольких индивидах. Однако, если популяция находится в пессимальных условиях, малая субпопуляция носителей данной аллели не сможет зафиксироваться в сообществе, не достигнув критической биомассы, необходимой для того, чтобы естественный отбор превзошёл генетический дрейф по степени влияния на эволюционную перспективу популяции. Поэтому преадаптации должны накапливаться в виде относительно нейтральной изменчивости в периоды, когда давление абиогенных факторов ослаблено, и условия среды относительно оптимальны. Когда же условия среды изменятся, это даст необходимое разнообразие для того, чтобы естественный отбор поддержал более выгодные аллельные комбинации.

4.1.2 НК-НК системы

Для некомпенсаторных систем без хемотаксиса был получен тот же результат, что и для компенсаторных: дифференциация численностей при возникновении ГП вблизи источника неспецифического субстрата и элиминация новой популяции при возникновении ГП вдали от источника неспецифического субстрата.



Рис. 4.3. Графики численностей популяций Р1-Р7 в системе НК-НК в сквозном протоке с хемотаксисом.

Однако, в отличие от К-К случая, наличие хемотаксиса в НК-НК системах радикально меняет сценарий развития сообщества. ГП дестабилизировал систему (Рис. 4.3), что приводило к вымиранию части акцепторного трофического кольца задолго до наступления голодовки (Рис. 4.4): в случаях, когда ГП происходил близко к источнику неспецифического субстрата, вымирало всё акцепторное трофическое кольцо (в ячейках 1-5, за исключением ячейки 3); при возникновении ГП в удалённых от источника неспецифического субстрата ячейках вымирала только Р2 (в ячейках 6-10 и 3). Причём во всех случаях погибает потенциальный бенефициар произошедшего ГП – популяция Р2, которую снабжают своими продуктами сразу две другие популяции (в данном случае – Р1 и Р7).



Рис. 4.4. Схема трофических отношений в сообществе НК-НК (справа – с хемотаксисом, слева – без хемотаксиса) после ГП и голодовки. Оранжевыми стрелками показаны соответствия между ячейками, в которых произошёл ГП и итоговой трофической структуры.

Некомпенсаторное трофическое кольцо можно рассматривать как набор узкоспециализированных симбиотрофных популяций, чей метаболизм был подлажен друг к другу на протяжении эволюционной истории экосистемы. Горизонтальный перенос генов и активные миграции способствуют появлению высококонкурентных видов с более широкой ресурсной базой. Инвазия и/или способна дестабилизировать появление этих видов сложившееся сообщество задолго до наступившей голодовки, что способно привести к труднопредсказуемым (в том числе и для этих видов) последствиям. Таким образом, горизонтальный перенос генов, произошедший сообществе узкоспециализированных симбиотрофных популяций В подвижных микроорганизмов, приводя к появлению высококонкурентных видов с более широкой ресурсной базой, может в нормальных условиях

129

дестабилизировать сложившееся сообщество и даже привести к вымиранию видов, потенциально обладающих адаптивным преимуществом.

Для систем с перпендикулярным протоком новая популяция выживает независимо от типа питания или подвижности.

Таким образом, можно заключить, 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. Несмотря на наличие преадаптаций, таксон должен появиться в ресурсно-богатой среде, где ослаблена борьба за существование с абиогенными факторами. В бедных экосистемах новые виды не успевают набрать достаточной численности, чтобы использовать своё адаптивное преимущество, или даже элиминируются до начала голодовки.

B сообществах микроорганизмов подвижных ТИП питания представителей сообщества определяет эволюционный сценарий, по которому пойдёт развитие сообщества в результате ГП: сценарий Кунина реализуется в компенсаторных системах, а Заварзина – в некомпенсаторных. 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 менее жёстко зависящими от экологических факторов.

4.2. Моделирование действия отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем

Прежде чем приступать к исследованию трендов эволюции прокариот на усложнение и упрощение метаболизма, необходимо понять, как отбор будет

действовать в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. В связи с этим была построена детерминистская модель «полного» сообщества – т.е. такого сообщества, в котором присутствовали в равной пропорции представители всех возможных метаболических конфигураций для системы с тремя специфическими субстратами и одним неспецифическим. Пространственная структура сообщества была аналогична рассмотренным ранее системам с градиентом неспецифического субстрата (см. Рис. 4.4). 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 приспособленностью популяций, входящих только В соответствующие экогруппы.

В результате проведённого численного исследования оказалось, что в детерминированной системе с полным набором комбинаций метаболических систем отбор действует по-разному на подвижные и неподвижные организмы (Рис. 4.5): так, без хемотаксиса в системе выживают только эдификаторы и квазикомменсалы, причём если ближе к источнику неспецифического субстрата биомассы первых и вторых почти равны, то по мере удаления от источника неспецифического субстрата усиливается преобладание квазикомменсалов.

В случае с хемотаксисом спустя всего лишь чуть более чем 3000 поколений в системе остаётся лишь популяция с полным геномом. Причём чем ближе ячейка находится к источнику неспецифического субстрата, тем быстрее в ней вымирают все, кроме популяции с полным геномом. Таким образом, в данном случае отбор поддерживает популяцию с метаболически полным геномом, имеющую замкнутый метаболизм.



Рис. 4.5 Динамики биомасс экологических функциональных групп в системе для случаев с хемотаксисом (внизу) и без (вверху) в ячейках 1, 2, 3, 5, 7 и 10. Синий – эдификаторы, зелёный – продуценты, красный – квазикомменсалы, бирюзовый – квазимутуалисты, сиреневый – минимальный

132

геном. По оси абсцисс отложено время (в поколениях), а по оси ординат – порядок численности экогрупп.

Таким образом, численное исследование детерминированной системы с полным набором комбинаций метаболических систем показало, 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.

4.3. Модели усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенной среде

В ИЦиГ СО РАН ранее были изучены модели усложнения и упрощения геномов микроорганизмов в зависимости от экологических условий для случая с равномерным перемешиванием, и показано, что в зависимости от степени оптимальности условий среды преобладает тот или иной эволюционный тренд (S. A. Lashin et al., 2012). В моделях сообществ, эволюционирующих прокариотических популяций было показано, что в пессимальных условиях среды подавляющее преимущество по биомассе получают популяции с метаболически полным или почти полным геномом, т.е. способные утилизовать все или почти все субстраты, имеющиеся в среде. С другой стороны, в субкомфортных и в комфортных условиях среды наблюдается стойкая тенденция к редукции генома.

В рамках данной диссертационной работы было рассмотрено влияние пространственных градиентов субстратов и структурированности одномерной



протяжённой проточной среды на эволюционные сценарии в локальных местообитаниях.

Рис. 4.6. 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), подачи субстратов в среду, протока, диффузии и миграций; г) Достижимые наборы комбинаций метаболических систем для модели с одним неспецифическим и тремя специфическими субстратами.

В ходе исследования варьировалось наличие или отсутствие способности к хемотаксису у клеток. Исследовались следующие вопросы:

•Какова взаимосвязь экологических условий и длины генома доминирующей популяции?

• Как способность клеток к хемотаксису влияет на среднее число видов и суммарную биомассу сообщества?

 Как способность клеток к хемотаксису влияет на экологическую структуру формирующихся сообществ?

Была проведена серия вычислительных экспериментов на моделях микробного сообщества, эволюции живущего В пространственнораспределённой среде обитания. В начальный момент времени сообщество представляло собой трофическое кольцо из трёх симбиотических популяций, каждая из которых производит специфический нутриент, потребляемый следующей по часовой стрелке популяцией (Рис. 4.6а). Во время моделирования с вероятностью 10⁻⁷ на поколение на клетку происходят процессы горизонтального переноса и/или потери генетического материала, кодирующего метаболические системы, позволяющих либо утилизировать тот или иной специфический нутриент, либо синтезировать его. Эти процессы приводят к появлению новых видов-популяций и к дальнейшей эволюции сообщества (Рис. 4.6б).

Численность популяций микроорганизмов изменялась согласно следующему закону (S. A. Lashin et al., 2012):

$$F(n_0, \vec{S}, r_0, \vec{C}, P, G) = T(n_0, \vec{S}, r_0, \vec{C}, P) - \frac{(G/k_1)^n}{1 + (G^n/(k_1^{-n} - 1))}P$$
(4.1)

где $T(n_0, \vec{S}, r_0, \vec{C}, P)$ – трофическая стратегия популяции (в данном случае использовалась компенсаторная трофическая стратегия (см. ур. 2.1)); \vec{S} – вектор количественных значений потребляемых специфических субстратов; n_0 – количество неспецифического субстрата, потребляемого клетками популяции; r_0 – генетически предопределённая скорость утилизации неспецифического субстрата; P – численность популяции; G – количество значение, определяющее возрастание штрафа за длину генома; n – степень нелинейности штрафа за длину генома.

Последнее вычитаемое описывает штраф за длину генома. Рост популяции происходит в прямой зависимости от количества и числа

потребляемых субстратов и в обратной зависимости как от времени, необходимого на репликацию (которое зависит от числа генов в геноме), так и от времени, затрачиваемого на утилизацию субстратов.

Было принято значение параметра k_1 (ур. 4.1), равное 0.01, что соответствует *низкому* штрафу за длину генома в соответствии с классификацией, используемой в статье (S. A. Lashin et al., 2012).

Среда обитания представляла собой 1D-трубу, поступление (приток) неспецифического (потребляемого всеми клетками сообщества) нутриента в которую происходило только с одной стороны – с «начала» (на рисунке – 4.6b). левый конец) трубы (Рис. Дальнейшее распространение неспецифического нутриента, равно как и специфических, произведённых клетками сообщества, происходит под действием протока и диффузии. Проток может также перемещать отдельные клетки в трубе, в направлении от её «начала» к «концу». В «конце» трубы происходит удаление нутриентов и клеток из среды (Рис. 4.6в). Кроме пассивного перемещения клеток была также рассмотрена способность клеток к хемотаксису, т.е. к самостоятельным миграциям в направлении более благоприятных условий среды в смысле насыщенности питательными веществами.

В видообразования, обусловленного процессе горизонтальным переносом и потерей генетического материала, в модели достижимы метаболические конфигурации, представленные на рис. 4.6г. На одном полюсе группируются популяции с метаболически полным, а на другом – с метаболически бедными геномами и минимальный геном. Популяции, клетки которых характеризуются данными комбинациями метаболических систем, были разбиты в соответствии со своей ролью в экосистеме на пять функциональных экологических групп (экогрупп): эдификаторы, квазикомменсалы, квазимутуалисты, продуценты и минимальный геном (подробное описание экогрупп см. в разделе 2.3.1). Данная классификация

была использована для анализа процессов формирования экологической структуры сообщества в модели.

4.3.1 Влияние адаптивных миграций на видовое богатство и биомассу сообщества

Видовое богатство биомасса сообщества И являются важными экологическими и популяционными характеристиками, позволяющими оценить как биоразнообразие самого сообщества, так и характер условий, воздействующих на его адаптацию, в том случае, если мы можем провести сравнительный анализ с аналогичным сообществом в других условиях. В рамках проведённого численного исследования было изучено влияние хемотаксиса в качестве фактора, формирующего такие условия, поскольку, как отмечалось ранее, адаптивные миграции являются значимым фактором эволюции, определяющим специфику борьбы за существование в экосистеме. Поэтому влияние способностей клеток к хемотаксису на видовое богатство и общую биомассу сообщества представляет научный интерес.

Оказалось, что среднее число видов ниже в 2,84 раза, а суммарная биомасса в 2,02 раза ниже в случае, когда клетки были способны мигрировать в ячейки с лучшими условиями (см. Рис. 4.7).

Данный результат можно проинтерпретировать следующим образом: 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.



Рис 4.7. Итоговые видовое богатство и биомасса (усреднённые по запускам) в разных ячейках для случаев с хемотаксисом (оранжевый) и без (голубой).

В свою очередь, максимальная эффективность утилизации всех ресурсов со стороны уже укрепившихся видов препятствует реализации экологических ниш новыми видами, способных создать новые экологические лицензии (см. Рис. 4.8), понимаемые в классическом смысле как область условий, места и функции, которые предоставляет популяции или группе популяций экосистема в целом, иначе говоря «свободная ниша» (Левченко & Старобогатов, 1990).



Рис. 4.8. Объяснение наблюдаемого эффекта влияния адаптивных миграций на снижение видового богатства и биомассу сообщества через цепное сокращение доступных экологических лицензий.

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.

4.3.2 Анализ доминирующих популяций и экогрупп

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 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

139

(см. Рис. 4.9). Интересно, что в равномерно-перемешанном случае во всей системе возможен лишь один, либо другой исход, здесь же они оказываются разнесены в пространстве. Для случая с хемотаксисом зависимости распределения длин геномов локально доминирующих популяций от пространственной локализации выявлено не было.



Рис. 4.9 Распределения длин геномов локально доминирующих популяций по ячейкам. Номер ячейки возрастает по мере удаления от источника неспецифического нутриента. Цветом показано количество модельных генов, ответственных за метаболизм, у доминирующей в данной ячейке популяции. Высота моноцветного столбца соответствует количеству запусков модели, в которых в данной ячейке доминировала популяция с количеством генов, соответствующим цвету столбца.

Однако для того, чтобы вскрыть причины, лежащие в основе этих паттернов, потребовалось привлечь инструменты анализа, позволяющие раскрыть экологический смысл процессов, происходящих в сообществе. Речь пространственного распределения идёт об анализе доминирующих экологических функциональных групп (далее – экогрупп, см. раздел 2.3.1). Поскольку стало ясно, что длина генома доминирующей популяции сама по себе мало что может сказать об эволюционной тенденции в сообществе вне контекста взаимосвязей между популяциями и вне учёта пространственногетерогенных микроусловий, к которым происходит адаптация, подход анализа экогрупп был применён так же и для анализа динамики эволюции системы во времени. Разбиение популяционных динамик на экогруппы позволило разобраться в сложном характере популяционно-генетических процессов, происходящих в системе, и увидеть стоящий за ними экологический смысл.

Сравнение распределений доминирующих экогрупп по ячейкам в случае без хемотаксиса и с хемотаксисом (см. Рис. 4.10) показывает, что их характер качественно отличается друг от друга. В случае немобильных клеток наблюдается пространственная стратификация доминирующих экогрупп в зависимости от близости ячейки к источнику неспецифического субстрата – ближе 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. Важно отметить, что простой анализ доминирующих популяций и экогрупп не в состоянии выявить этот эффект. Таким образом, в случае без хемотаксиса система стремится к состоянию, которое характеризуется тем же распределением биомасс экологических функциональных групп, ЧТО И В случае детерминированной системы с полным набором комбинаций метаболических систем (см. раздел 4.2), и вектор отбора не меняется.



Рис. 4.10. Распределение доминирующих экогрупп по ячейкам в случае без хемотаксиса (сверху) и с хемотаксисом (снизу). Цветом обозначена доминирующая экогруппа в данной ячейке. Величина моноцветного столбца соответствует количеству запусков модели, в которых в данной ячейке доминировала экогруппа, соответствующая цвету столбца. Экогруппа считалась доминирующей в ячейке, если сумма числа клеток относящихся к ней популяций в данной ячейке превосходила таковую от любой другой экогруппы. Описание экогрупп см. в разделе 2.3.1.

Тем самым показано, что наличие градиента неспецифического субстрата способно приводить к пространственной стратификации доминирующих экогрупп популяций немобильных клеток в отличие от случая с равномерным

перемешиванием (0D-модель) (S. A. Lashin et al., 2012), где реализуется либо доминирование в экосистеме эдификаторов, либо квазикомменсалов, аналогично тому, что получается для случая с хемотаксисом.

В случае, когда клетки могут двигаться под действием хемотаксиса, в основном, наблюдаются два типа исходов: либо доминирует популяция с метаболизмом (эдификатор), либо замкнутым подпитываемые субдоминирующими квазимутуалистами специализированные паразиты (квазикомменсалы). Стоит отметить тот факт, ЧТО В отличие OT детерминированной системы с полным набором комбинаций метаболических систем (см. раздел 4.2), где отбор действует в сторону, благоприятствующую эдификаторам, в случае системы с генетической изменчивостью в виде ГП и потери генов существует ещё одно стабильное распределение биомасс экогрупп (см. Рис. 4.11), причём в этот режим попадают не только формирующиеся системы на ранних стадиях, но И относительно сформированные системы (например, 10 000, 18 000 поколений).



Рис. 4.11. Характерные динамики биомасс экогрупп для случаев с хемотаксисом (справа: б,г) и без (слева: а,в). а – установившийся паритет эдификаторов и квазикомменсалов; б – доминирование эдификаторов; в – переходный режим с последовательным возрастанием доли квазикомменсалов в сообществе (сукцессия); г – доминирование квазикомменсалов. Квазимутуалисты выступают в качестве субдоминант. По оси абсцисс отложено время (в поколениях), а по оси ординат – порядок численности экогрупп.

144
4.3.3 Анализ экологических структур сформированных сообществ с помощью метода главных компонент

Несмотря на продуктивность рассмотренного выше подхода, данных об одних только доминирующих экогруппах недостаточно, чтобы получить целостное представление об экологической структуре сообщества. Поэтому был применён метод главных компонент (МГК) (Hotelling, 1933; Pearson, 1901) к результатам численного моделирования, используя информацию о биомассе каждой экогруппы как на уровне суммарной локальных местообитаний (ячеек), так и всей системы в целом. Тем самым была получена возможность кластеры, соответствующие определённым выявить экологическим структурам.

4.3.3.1 Анализ на уровне всей экосистемы

В качестве объектов для анализа МГК были использованы результаты стохастических вычислительных экспериментов. Количество клеток, приходящихся на каждую из экогрупп как на момент окончания расчётов, так и в среднем, было рассмотрено в качестве признаков: x = (общая биомасса)эдификаторов, общая биомасса продуцентов, общая биомасса квазикомменсалов, общая биомасса квазимутуалистов, общая биомасса популяции с минимальным геномом).

Итоговая картина отражает распределения биомасс экогрупп, характерные для климаксных сообществ, в то время как анализ усреднённых биомасс позволяет выделить те экогруппы, чьё участие было важным в процессе их формирования.



Рис. 4.12. Расположение вычислительных экспериментов в проекции на первые две главные компоненты. Красными кружочками обозначены эксперименты без хемотаксиса, бирюзовыми – с хемотаксисом. Направления признаков указаны тёмно-красными стрелками: aedificator – общая биомасса эдификаторов; producer – общая биомасса продуцентов; quasi.commensal –

общая биомасса квазикомменсалов; quasi.mutualist – общая биомасса квазимутуалистов; y_supershort – общая биомасса популяции с минимальным геномом. Сверху (а) представлена картина, полученная на основании итогового распределения биомассы по экогруппам, а снизу (б) – на основе усреднённых по времени биомасс соответствующих экогрупп.

Проведённый анализ показал, что случаи с хемотаксисом и без хорошо кластеризуются, не перемешиваются (см. Рис. 4.12). Это говорит о том, что способность к активным миграциям посредством хемотаксиса приводит к отличиям в экологической структуре формируемых сообществ. Достоверность отличий средних подтверждается тестом Уэлша для биомасс эдификаторов и квазимутуалистов (p-value < 0.05) как на итоговых, так и на усреднённых данных. В среднем биомасса эдификаторов выше для экосистем, состоящих из немобильных организмов (без хемотаксиса), в то время как биомасса квазимутуалистов выше в случаях мобильных организмов. Для биомасс продуцентов, квазикомменсалов и обладателей минимального генома отличия недостоверны (p-value > 0.05).

Два класса, на которые распадаются (см. Рис. 4.12а) результаты вычислительных экспериментов в случае с хемотаксисом соответствуют двум итоговым экологическим конфигурациям: 1) Доминирование эдификаторов и незначительное присутствие представителей других экогрупп (см. Рис. 4.11б); 2) Доминирование квазикомменсалов в связке с квазимутуалистами при почти полном отсутствии эдификаторов в системе (см. Рис. 4.11г). Исключение составил лишь один вычислительный эксперимент, в котором наблюдалось доминирование квазимутуалистов при наличии эдификаторов в качестве субдоминант, для которого, однако, характерна нерегулярная динамика, а не стационар.

Случаи же без хемотаксиса кластеризуются внутри себя менее чётко на три группы: для всех них характерна общая структура связки эдификаторов и квазикомменсалов, описанная ранее, и различия распространяются лишь на соотношение пространства, занимаемого в преимущественной степени той или иной экогруппой.

4.3.3.2 Анализ на уровне локальных местообитаний

Для того, чтобы понять, как пространственно-гетерогенные локальные экологические условия биотопа влияют на структуру формирующейся в данном биотопе экосистемы, был проведён также анализ на уровне локальных местообитаний. Данный анализ подразумевал следующее отличие В методологии: биомассы экогрупп суммировались не по всей системе в целом, а по отдельным её ячейкам. Таким образом, объект представлял собой уже не отдельный вычислительный эксперимент, а данные для конкретной ячейки отдельного вычислительного эксперимента. Поскольку при проведении данного вида анализа исследователь *а priori* располагает знаниями о том, какие объекты соответствуют каким ячейкам, можно проанализировать зависимость распределений биомасс экогрупп ОТ пространственной локализации, не закладывая это знание заранее в анализ.

Поскольку по мере удаления от источника неспецифического субстрата общая биомасса падает (см. раздел 4.3.1), нулевая гипотеза состоит в том, что для каждой экогруппы будет сохраняться этот тренд. Однако, анализ показывает, что это не так в случаях, когда клетки мобильны, – биомасса эдификаторов достоверно растёт по мере удаления от источника неспецифического субстрата (p-value < 0.01 как на усреднённых, так и на итоговых данных). Также данный тренд нарушается и для клеток, обладающих минимальным геномом, в случаях без хемотаксиса (p-value < 0.05, только на усреднённых данных).



Рис. 4.13. Расположение вычислительных экспериментов без хемотаксиса в проекции на первые две главные компоненты. Цветом кружочков обозначены ячейки, в которых были посчитаны биомассы экогрупп в

149

конкретном вычислительном эксперименте. Направления признаков указаны тёмно-красными стрелками: aedificator – общая биомасса эдификаторов; producer – общая биомасса продуцентов; quasi.commensal – общая биомасса квазимутуалистов; y_supershort – общая биомасса популяции с минимальным геномом. Сверху (а) представлена картина, полученная на основании итогового распределения биомассы по экогруппам, а снизу (б) – на основе усреднённых по времени биомасс соответствующих экогрупп.

На рис. 4.13 представлены результаты анализа МГК по локальным биомассам экогрупп для вычислительных экспериментов без хемотаксиса. По оси абсцисс изменчивость связана, очевидно, с расположением по отношению к источнику НС (причём вклады признаков показывают, что все, кроме минимального генома имеют тенденцию преобладать ближе к началу), что и приводит к формированию градиента биомассы, а вот по оси ординат наибольший и при этом разнонаправленный вклад вносят биомассы эдификаторов и квазикомменсалов. Соотношение между биомассами этих двух экогрупп и обуславливают в основном имеющуюся по этой оси изменчивость.

В случаях с хемотаксисом выделяются два основных направления изменчивости – по суммарной биомассе квазикомменсалов с квазимутуалистами и по биомассе эдификаторов. Причём, первое направление соответствует 95.9% объяснённой дисперсии, и высокие показатели биомассы достигаются лишь в близких к источнику НС ячейках.

Проведённое численное моделирование показывает, что пространственная организация среды обитания формирует ландшафт давления отбора, опосредуя эволюционные процессы, тем самым причиной происходящие в экосистеме. В свою очередь, это служит

компартментализации на экосистемном уровне, приводя к пространственноспецифической 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 относительно редкому событию как горизонтальный перенос определять эволюцию микробного сообщества, преодолевая препятствия, создаваемые жёсткой конкурентной средой уже сложившегося сообщества.

Миграции как процесс, препятствующий выражению пространственной компартментализации, ведут к уменьшению разнообразия сообщества и к экспансии немногих приспособленных популяций, что, однако, не приводит к увеличению общей биомассы по сравнению с сообществами немобильных организмов. Данный эффект можно объяснить цепным сокращением экологических лицензий в связи со снижением разнообразия и упрощением структуры сообщества (см. Рис. 4.8).

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 может быть понято содержание эволюционных процессов, которых происходящих в микробном сообществе. Это отсылает к идеям Г.А. Заварзина, который указывал на то, что «в поисках знаний об эволюции биосферы прошлого приходится опираться не на филогению современных бактерий, а на их функциональные характеристики, то есть не на риботип, а на экотип» (Заварзин, 2006).

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.

4.4. Влияние фаговой инфекции на эволюцию бактериального сообщества

Бактериофаги являются одним из факторов, действующих на эволюцию бактерий. Известно, что они не только могут способствовать горизонтальному переносу генетического материала между клетками, но и являться фактором движущего отбора. Переключение между лизогенным и литическим режимом приводит к различным типам коэволюции в системах «бактериальное сообщество-фаг».

Ранее в работе (Лашин et al., 2011) была описана модель фаговой инфекции в прокариотическом сообществе, которое в начале расчётов представляло собой трофическое кольцо, где каждая из трёх популяций потребляла ровно один специфический субстрат и производила ровно один специфический продукт. В процессе расчёта стохастически с вероятностью 10⁻⁷ на поколение на клетку моделировались процессы как горизонтального переноса генетического материала между клетками разных популяций, так и потери генов. В результате появлялись новые популяции, комбинирующие разные сочетания утилизируемых и синтезируемых субстратов. Добавление в сообщество фаговой популяции приводило к заражению всех популяций, причём доля заражённых клеток зависела как от концентрации фагов в среде,

так и от концентрации прокариотических клеток. При этом инфекция могла развиваться как по литическому, так и по лизогенному сценарию в зависимости от скорости роста популяции хозяина. Было показано, что заражение существенно изменяет эволюционную динамику сообщества, сдерживая рост или даже уничтожая динамично растущие популяции и тем самым поддерживая менее конкурентоспособные в этих условиях популяции.

Была рассмотрена модель сообщества, описанного в разделе 4.3, в пространственно-распределённой среде, организация которой представлена на Рис. 4.13.



Рис. 4.13. Пространственная организация среды обитания в модели фаговой инфекции в прокариотическом сообществе.

В ходе исследования варьировались такие параметры как время и место ввода умеренных фагов в среду, а также наличие или отсутствие способности к хемотаксису у клеток. Исследовались следующие вопросы:

- 1. каковы особенности протекания умеренной фаговой инфекции в сообществе, заражённом на различных этапах его эволюции?
- 2. будет ли это как-то зависеть от пространственных факторов?

Варьирование времени начального добавления фагов в систему позволило обнаружить, что фаговая инфекция, как правило, замедляет видообразование, а видовая структура сообщества спустя некоторое время становится стационарной (Klimenko, Matushkin, Kolchanov, & Lashin, 2016).



Рис. 4.14. Характерная популяционная динамика при добавлении фага в систему на 5000 итерации. Видно, что данное событие приводит к установлению квазистационарного режима с монотонными популяционными динамиками.

Если характерную популяционную рассмотреть динамику при добавлении фага (см. Рис. 4.14), то видно, что до добавления фага в среду идут бурные процессы видообразования – новые популяции возникают и вымирают, однако после – система стабилизируется, и видообразование как будто бы замедляется. Следует отметить, что в рамках данной работы о видообразовании говорится исключительно В терминах потери или приобретения новых метаболических признаков, а эволюция механизмов иммунитета остаётся за рамками данного численного исследования.

Для оценки полученного эффекта был предложен и использован индекс скорости видообразования (SRI), посчитанный согласно следующей формуле:

$$SRI = \frac{\|\{p|p-\text{вновь возникшая жизнеспособная популяция}\}\|}{time_span}$$
(4.2)

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. Согласно уравнению 4.2, чем выше SRI, тем более интенсивные процессы видообразования происходят в данный промежуток времени. И наоборот, чем ниже SRI, тем меньше жизнеспособных популяций появляется в данное время.

После добавления умеренного фага в систему индекс скорости видообразования (SRI) падает более чем на порядок (см. Рис. 4.15). Достоверность различий подтверждена критерием Уэлша при уровне значимости 0.999.



SRI при среднем времени добавления фага (спустя 5000 поколений)

Рис. 4.15. Средний SRI при среднем времени добавления фага в различные ячейки спустя 5000 поколений. Пределы погрешностей на диаграмме отображают стандартное отклонение.

Таким образом, при взаимодействии популяций бактерий и умеренных фагов скорость приобретения метаболических признаков, благоприятных для существования в бесфаговой среде, замедляется при эволюции в присутствии фага по сравнению с контролем, что согласуется с экспериментальными данными (Scanlan et al., 2015).



Рис. (А) Бактерии, коэволюционировавшие с фагами (Coevo), показали большую резистентность, чем популяции бактерий, эволюционировавших в бесфаговой среде (Evo), оказавшихся чувствительными ко всем фаговым популяциям из эксперимента. (В) Диаграммы размаха, показывающие что бактериальные клетки, коэволюционировавшие с фагами, имеют значимо сниженную приспособленность в бесфаговой среде по сравнению С бактериальными популяциями, подвергавшимися не коэволюции, a эволюционировавшими в среде без фагов, приобретая адаптивные мутации. Приспособленность предковой популяции дикого типа отмечена пунктирной линией (=1) (Scanlan et al., 2015).

Чтобы понять, как заражение влияет на видовую структуру сообщества, были построены графики динамики видового богатства для различных случаев, различающихся временем и местом добавления фага, и обнаружена общая тенденция: после добавления фага в среду видовое богатство падает, а его динамика выходит на стационар (для примера см. Рис. 4.16).



Рис. 4.16. График динамики видового богатства для случая добавление фага на 5000 поколении в ячейку (1,1). По оси абсцисс отложено количество поколений, а по оси ординат – количество видов в системе на заданном поколении.



Рис. 4.17. Многообразие инфекционных динамик, встречающихся в моделях эволюции пространственно-распределённого прокариотического сообщества в условиях фаговой инфекции. По оси абсцисс отложено

количество поколений, а по оси ординат – доля заражённых клеток в сообществе на заданном поколении.

Кроме того, в ходе сравнения пространственно-структурированных моделей со случаем равномерного перемешивания были выявлены различия в инфекционной динамике: в то время, как для последних характерно полное заражение клеток в системе, в моделях пространственно-распределённых сред могут встречаться разнообразные инфекционные динамики (см. Рис. 4.17), включая неполное заражение системы и образование пространственных рефугий, т.е. убежищ, в которых сохраняются здоровые представители популяций. В процессе моделирования может происходить смещение очага заражения, его расщепление на несколько и даже его нерегулярное блуждание по системе.



Рис. 4.18. Характерное стационарное распределение долей заражённых популяций, встречающееся во многих вычислительных экспериментах без хемотаксиса. Каждый квадрат представляет соответствующую ячейку. Цветом отмечена доля заражённых популяций от общей биомассы сообщества.

Таким образом, было показано, что в результате умеренной фаговой инфекции происходит резкое падение скорости видообразования, обусловленного горизонтальным переносом и потерей метаболических систем, что может быть объяснено тем, что усиленный отбор затрудняет появление новых жизнеспособных популяций, которые могли бы занять потенциальные экологические лицензии. Этот эффект особенно ярко проявляется при инвазии в ячейки с высоким видовым разнообразием в уже сформированных сообществах.

В то же время умеренный фаг играет роль стабилизирующего фактора, подавляющего чрезмерное видообразование и способствующего переходу экосистемы в стационарное в смысле числа видов состояние.

В отличие от случая с равномерным перемешиванием, в 2D моделях встречается разнообразие инфекционных динамик.

4.5. Заключение к главе 4

Были построены и проанализированы модели

- горизонтального переноса генов в пространственнораспределённой системе с изменяющимися условиями среды;
- действия отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем;
- усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенной среде;
- влияния фаговой инфекции на эволюцию бактериального сообщества.

Показано, что место возникновения ГП существенно влияет на сценарий развития сообщества в системах со сквозным протоком, приводя к дифференциации численностей популяций после голодовки и даже к изменениям состава сообщества. В системах же с перпендикулярным протоком место возникновения ГП играет значительно меньшую роль, чем в сквозном случае: функциональные режимы сообщества никак не меняются от того, где произошёл ГП. В сообществах подвижных микроорганизмов тип питания представителей сообщества определяет эволюционный сценарий, по которому пойдёт развитие сообщества в результате ГП: сценарий Кунина реализуется в компенсаторных системах, а Заварзина – в некомпенсаторных. 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 менее жёстко зависящими от экологических факторов.

В детерминированной системе с полным набором комбинаций метаболических систем 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.

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 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.

Процессы горизонтального переноса и потери генетического материала 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.

Активные миграции являются фактором, препятствующим видообразованию и снижающим суммарную биомассу сообщества, что обуславливается цепным снижением числа доступных лицензий.

В результате умеренной фаговой инфекции происходит резкое падение скорости видообразования, обусловленного перестройкой геномов, 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.

Заключение

В настоящей работе предложена и реализована методика компьютерного моделирования генетической изменчивости в пространственнораспределённых микробных сообществах. Разработанная методика учитывает ключевые особенности объекта моделирования, такие как экологическая структура, генетическая изменчивость, метаболизм, пространственная структура среды обитания, градиенты экологических факторов и подвижность клеток.

MC Были «Отравитель-жертва», рассмотрены типа модели эволюционирующего в средах с различными режимами подачи питательного субстрата, исследованы популяционная динамика и динамика частот аллелей полиморфизмом В моделях с различными средами И начальным чувствительности к токсину и эффективности утилизации. Показано, что в характеризуемых выраженным градиентом неспецифического средах, субстрата и сквозным протоком («река»), скорость эволюции «отравителя» и «жертвы» различается в разных частях пространства в соответствии с интенсивностью отбора, действующего на популяции. 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.

В моделях горизонтального переноса генов в пространственнораспределённой системе с изменяющимися условиями среды показано, что место возникновения ГП существенно влияет на сценарий развития сообщества в системах со сквозным протоком, приводя к дифференциации численностей популяций после голодовки и даже к изменениям состава сообщества. В системах же С перпендикулярным протоком место возникновения ГП играет значительно меньшую роль, чем в сквозном случае: функциональные режимы сообщества никак не меняются от того, где произошёл ГП. В сообществах подвижных микроорганизмов тип питания

162

представителей сообщества определяет эволюционный сценарий, по которому пойдёт развитие сообщества в результате ГП: сценарий Кунина реализуется в компенсаторных системах, а Заварзина – в некомпенсаторных. 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 менее жёстко зависящими от экологических факторов.

В детерминированной системе с полным набором комбинаций метаболических систем 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.

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 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.

Статистический анализ стохастических моделей МС активно мигрирующих организмов показал, что активные миграции являются фактором, препятствующим видообразованию и снижающим суммарную биомассу сообщества, что обуславливается цепным снижением числа доступных лицензий.

В моделях инфицирования MC бактериофагами показано, что в результате умеренной фаговой инфекции происходит резкое падение скорости видообразования, 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.

Выводы

- Разработано расширение методики «ГЭК» для решения задач моделирования генетической изменчивости в пространственнораспределённых 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, характеризуемых 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 литературы

- 1.Adler, J. (1976). Chemotaxis in bacteria. *Journal of Supramolecular Structure*, *4*, 305–317. http://doi.org/10.1146/annurev.bi.44.070175.002013
- 2.Agrawal, H. (2002). Extreme self-organization in networks constructed from gene expression data. *Physical Review Letters*, 89(July), 268702. http://doi.org/10.1103/PhysRevLett.89.268702
- 3.Akberdin, I. R., Ozonov, E. A., Mironova, V. V, Omelyanchuk, N. A., Likhoshvai, V. A., Gorpinchenko, D. N., & Kolchanov, N. A. (2007). A cellular automaton to model the development of primary shoot meristems of Arabidopsis thaliana. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 5(2B), 641–50. http://doi.org/10.1142/S0219720007002862
- 4.Alarcón, T., Byrne, H. M., & Maini, P. K. (2003). A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. *Journal of Theoretical Biology*, 225(2), 257–274. http://doi.org/10.1016/S0022-5193(03)00244-3
- 5. Albet, R., Jeong, N., & Barabasi, A. L. (2001). Error and attack tolerance of complex networks (vol 406, pg 378, 2000). *NATURE*, 409, 542+.
- 6.Amar, P., Legent, G., Thellier, M., Ripoll, C., Bernot, G., Nystrom, T., ... Norris, V. (2008). A stochastic automaton shows how enzyme assemblies may contribute to metabolic efficiency. *BMC Systems Biology*, 2(1), 27. http://doi.org/10.1186/1752-0509-2-27
- 7.Anantharaman, K., Duhaime, M. B., Breier, J. A., Wendt, K. A., Toner, B. M., & Dick, G. J. (2014). Sulfur Oxidation Genes in DIverse Deep Sea Viruses. *Science*, 344, 757–760. http://doi.org/10.1895/wormbook.1.22.2
- 8.Anderson, P. E., & Jensen, H. J. (2005). Network properties, species abundance and evolution in a model of evolutionary ecology. *Journal of Theoretical Biology*, 232(4), 551–8. http://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.03.029

- 9.Archibald, J. M. (2011). Origin of eukaryotic cells: 40 years on. *Symbiosis*, 54(2), 69–86. http://doi.org/10.1007/s13199-011-0129-z
- Ashby, B., Gupta, S., & Buckling, A. (2014). Spatial structure mitigates fitness costs in host-parasite coevolution. *The American Naturalist*, *183*(3), E64– 74. http://doi.org/10.1086/674826
- 11. Barabási, A.-L. (2009). Scale-free networks: a decade and beyond. *Science* (*New York, N.Y.*), *325*(5939), 412–413. http://doi.org/10.1126/science.1173299
- 12. Barabasi, A.-L., & Bonabeau, E. (2003). Scale-Free Networks. *Scientific American*, 60–69. http://doi.org/Article
- Barraclough, T. G., Balbi, K. J., & Ellis, R. J. (2012). Evolving Concepts of Bacterial Species. *Evolutionary Biology*, *39*(2), 148–157. http://doi.org/10.1007/s11692-012-9181-8
- Beauchemin, C., Samuel, J., & Tuszynski, J. (2005). A simple cellular automaton model for influenza A viral infections. *Journal of Theoretical Biology*, 232(2), 223–234. http://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.08.001
- Bergh, O., Børsheim, K. Y., Bratbak, G., & Heldal, M. (1989). High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, *340*(6233), 467–468. http://doi.org/10.1038/340467a0
- Berry, D., & Widder, S. (2014). Deciphering microbial interactions and detecting keystone species with co-occurrence networks. *Frontiers in Microbiology*, 5(MAY). http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00219
- Biebl, H., & Pfennig, N. (1978). Growth yields of green sulfur bacteria in mixed cultures with sulfur and sulfate reducing bacteria. *Archives of Microbiology*, *117*(1), 9–16. http://doi.org/10.1007/BF00689344
- Blower, T. R., Evans, T. J., Przybilski, R., Fineran, P. C., & Salmond, G. P.
 C. (2012). Viral Evasion of a Bacterial Suicide System by RNA-Based Molecular

Mimicry Enables Infectious Altruism. *PLoS Genetics*, 8(10). http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003023

- Bohannan, B. J. M., & Lenski, R. E. (2000). Linking genetic change to community evolution: insights from studies of bacteria and bacteriophage. *Ecology Letters*, 3(4), 362–377. http://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2000.00161.x
- Bondy-Denomy, J., Pawluk, A., Maxwell, K. L., & Davidson, A. R. (2013).
 Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system.
 Nature, 493(7432), 429–32. http://doi.org/10.1038/nature11723
- Bren, A., & Eisenbach, M. (2000). How Signals Are Heard during Bacterial Chemotaxis : Protein-Protein Interactions in Sensory Signal Propagation. *Journal* of Bacteriology, 182(24), 6865–6873. http://doi.org/10.1128/JB.182.24.6865-6873.2000.Updated
- Bridier, A., Piard, J.-C., Pandin, C., Labarthe, S., Dubois-Brissonnet, F., & Briandet, R. (2017). Spatial Organization Plasticity as an Adaptive Driver of Surface Microbial Communities. *Frontiers in Microbiology*, 8. http://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01364
- Brockhurst, M. A., Morgan, A. D., Fenton, A., & Buckling, A. (2007).
 Experimental coevolution with bacteria and phage. The Pseudomonas fluorescens-Phi2 model system. *Infection, Genetics and Evolution*, 7(4), 547–552.
 http://doi.org/10.1016/j.meegid.2007.01.005
- Brockhurst, M. A., Rainey, P. B., & Buckling, A. (2004). The effect of spatial heterogeneity and parasites on the evolution of host diversity. *Proceedings* of the Royal Society B: Biological Sciences, 271(1534), 107–111. http://doi.org/10.1098/rspb.2003.2556
- 25. Brown, D. a, & Berg, H. C. (1974). Temporal stimulation of chemotaxis in Escherichia coli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71(4), 1388–1392. http://doi.org/10.1073/pnas.71.4.1388

- 26. Brussow, H., Canchaya, C., & Hardt, W. D. (2004). Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev*, 68(3), 560–602, table of contents. http://doi.org/10.1128/MMBR.68.3.560-602.2004
- 27. Buckling, A., Craig Maclean, R., Brockhurst, M. A., & Colegrave, N. (2009). The Beagle in a bottle. *Nature*, 457(7231), 824–829. http://doi.org/10.1038/nature07892
- Buckling, A., & Rainey, P. B. (2002a). Antagonistic coevolution between a bacterium and a bacteriophage. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 269(1494), 931–6. http://doi.org/10.1098/rspb.2001.1945
- Buckling, A., & Rainey, P. B. (2002b). The role of parasites in sympatric and allopatric host diversification. *Nature*, 420(6915), 496–499. http://doi.org/10.1038/nature01349
- Buckling, A., Wei, Y., Massey, R. C., Brockhurst, M. A., & Hochberg, M. E. (2006). Antagonistic coevolution with parasites increases the cost of host deleterious mutations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1582), 45–49. http://doi.org/10.1098/rspb.2005.3279
- Burmølle, M., Webb, J. S., Rao, D., Hansen, L. H., Sørensen, S. J., & Kjelleberg, S. (2006). Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 3916– 3923. http://doi.org/10.1128/AEM.03022-05
- Callahan, B. J., Fukami, T., & Fisher, D. S. (2014). Rapid evolution of adaptive niche construction in experimental microbial populations. *Evolution*, 68(11), 3307–3316. http://doi.org/10.1111/evo.12512
- Chew, S. C., Kundukad, B., Seviour, T., van der Maarel, J. R. C., Yang, L., Rice, S. A., ... Kjelleberg, S. (2014). Dynamic Remodeling of Microbial Biofilms

by Functionally Distinct Exopolysaccharides. *mBio*, *5*(4), e01536–14–e01536–14. http://doi.org/10.1128/mBio.01536-14

- 34. Chewapreecha, C. (2013). Your gut microbiota are what you eat. *Nature Reviews Microbiology*, *12*(1), 8–8. http://doi.org/10.1038/nrmicro3186
- 35. Clokie, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., & Heaphy, S. (2011).
 Phages in nature. *Bacteriophage*, *1*(1), 31–45.
 http://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942
- Comolli, L. R. (2014). Intra- and inter-species interactions in microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 5(November), 1–3. http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00629
- Covert, M. W., Schilling, C. H., Famili, I., Edwards, J. S., Goryanin, I. I., Selkov, E., & Palsson, B. O. (2001). Metabolic modeling of microbial strains in silico. *Trends in Biochemical Sciences*, 26(3), 179–186. http://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01754-0
- 38. Darlington, P. J. (1957). Zoogeography. New York: John Wiley.
- Dawkins, R., & Krebs, J. R. (1979). Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character. Royal Society (Great Britain)*, 205(1161), 489–511. http://doi.org/10.1098/rspb.1979.0081
- De Figueiredo, L. F., Podhorski, A., Rubio, A., Kaleta, C., Beasley, J. E., Schuster, S., & Planes, F. J. (2009). Computing the shortest elementary flux modes in genome-scale metabolic networks. *Bioinformatics*, 25(23), 3158–3165. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp564
- 41. De Jong, H. (2002). Modeling and simulation of genetic regulatory systems: a literature review. *Journal of Computational Biology : A Journal of Computational Molecular Cell Biology*, 9(1), 67–103. http://doi.org/10.1089/10665270252833208

- 42. De Roy, K., Marzorati, M., Van den Abbeele, P., Van de Wiele, T., & Boon, N. (2013). Synthetic microbial ecosystems: An exciting tool to understand and apply microbial communities. *Environmental Microbiology*, *16*, 1472–1481. http://doi.org/10.1111/1462-2920.12343
- 43. De Sousa, M. (1971). Kinetics of the distribution of thymus and marrow cells in the peripheral lymphoid organs of the mouse: ecotaxis. *Clin.Exp.Immunol.*, 9(0009-9104 SB IM), 371–380.
- 44. DeAngelis, D. L., & Mooij, W. M. (2005). Individual-Based Modeling of Ecological and Evolutionary Processes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36(2005), 147–168. http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102003.152644
- 45. Doebeli, M., & Dieckmann, U. (2003). Speciation Along Environmental Gradients. *Nature*, 421(January), 259–264. http://doi.org/10.1038/nature01312.Published
- 46. Durot, M., Bourguignon, P.-Y., & Schachter, V. (2009). Genome-scale models of bacterial metabolism: reconstruction and applications. *FEMS Microbiology Reviews*, *33*(1), 164–190. http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00146.x
- 47. Eigen, M. (1971). Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Die Naturwissenschaften*, 58(10), 465–523. http://doi.org/10.1007/BF00623322
- Elith, J., & Leathwick, J. R. (2009). Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 677–697. http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120159
- 49. Emonet, T., Macal, C. M., North, M. J., Wickersham, C. E., & Cluzel, P. (2005). AgentCell: a digital single-cell assay for bacterial chemotaxis.

Bioinformatics (Oxford, England), *21*(11), 2714–21. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti391

- 50. Falke, J. J., Bass, R. B., Butler, S. L., Chervitz, S. a., & Danielson, M. a. (1997). THE TWO-COMPONENT SIGNALING PATHWAY OF BACTERIAL CHEMOTAXIS: A Molecular View of Signal Transduction by Receptors, Kinases, and Adaptation Enzymes. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, (13), 457–512. http://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.13.1.457.THE
- 51. Faust, K., & Raes, J. (2012). Microbial interactions: from networks to models. *Nature Reviews Microbiology*, 10(8), 538–550. http://doi.org/10.1038/nrmicro2832
- Feist, A. M., Herrgård, M. J., Thiele, I., Reed, J. L., & Palsson, B. Ø. (2009). Reconstruction of biochemical networks in microorganisms. *Nature Reviews*. *Microbiology*, 7(2), 129–43. http://doi.org/10.1038/nrmicro1949
- 53. Ferrer, J., Prats, C., & López, D. (2008). Individual-based modelling: an essential tool for microbiology. *Journal of Biological Physics*, 34(1-2), 19–37. http://doi.org/10.1007/s10867-008-9082-3
- 54. Freeman, V. J. (1951). Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of Corynebacterium diphtheriae. *Journal of Bacteriology*, *61*(6), 675–688.
- 55. Frey, E. (2010). Evolutionary game theory: Theoretical concepts and applications to microbial communities. *Physica A: Statistical Mechanics and Its Applications*, *389*(20), 4265–4298. http://doi.org/10.1016/j.physa.2010.02.047
- Fuhrman, J. A. (2009). Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 459(7244), 193–199. http://doi.org/nature08058
 [pii]\n10.1038/nature08058 [doi]
- 57. Gandon, S., Buckling, A., Decaestecker, E., & Day, T. (2008). Host-parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space. *Journal of*

Evolutionary Biology, *21*(6), 1861–1866. http://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01598.x

- Gause, G. (1932). Experimental studies on the struggle for existence I.
 Mixed population of two species of yeast. *Journal of Experimental Biology*, 9, 389–402. http://doi.org/10.1097/00010694-193602000-00018
- Ginovart, M., López, D., & Valls, J. (2002). INDISIM, an individual-based discrete simulation model to study bacterial cultures. *Journal of Theoretical Biology*, 214(2), 305–19. http://doi.org/10.1006/jtbi.2001.2466
- Goldschmidt, F., Regoes, R. R., & Johnson, D. R. (2017). Successive range expansion promotes diversity and accelerates evolution in spatially structured microbial populations. *The ISME Journal*, *11*(9), 2112–2123. http://doi.org/10.1038/ismej.2017.76
- Gomez, P., Ashby, B., & Buckling, A. (2014). Population mixing promotes arms race host-parasite coevolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1798), 20142297–20142297. http://doi.org/10.1098/rspb.2014.2297
- 62. Greenblum, S., Turnbaugh, P. J., & Borenstein, E. (2012). Metagenomic systems biology of the human gut microbiome reveals topological shifts associated with obesity and inflammatory bowel disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. http://doi.org/10.1073/pnas.1116053109
- 63. Grime, J. P. (1974). Vegetation classification by reference to strategies. *Nature*, *250*(5461), 26–31. http://doi.org/10.1038/250026a0
- Grimm, V., Ayllón, D., & Railsback, S. F. (2017). Next-Generation Individual-Based Models Integrate Biodiversity and Ecosystems: Yes We Can, and Yes We Must. *Ecosystems*, 20(2), 229–236. http://doi.org/10.1007/s10021-016-0071-2

- 65. Grimm, V., & Berger, U. (2016). Structural realism, emergence, and predictions in next-generation ecological modelling: Synthesis from a special issue. *Ecological Modelling*, *326*, 177–187. http://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2016.01.001
- 66. Halfen, L. N., & Castenholz, R. W. (1971). GLIDING MOTILITY IN THE BLUE-GREEN ALGA OSCILLATORIA PRINCEPS. Journal of Phycology.
- 67. Hall, A. R., Scanlan, P. D., Morgan, A. D., & Buckling, A. (2011). Hostparasite coevolutionary arms races give way to fluctuating selection. *Ecology Letters*, *14*(7), 635–642. http://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01624.x
- Händel, N., Hoeksema, M., Freijo Mata, M., Brul, S., & Ter Kuile, B. H.
 (2016). Effects of stress, ROS and the SOS response on de novo acquisition of antibiotic resistance in Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(3), 1319–1327. http://doi.org/10.1128/AAC.02684-15
- 69. Hecker, M., Lambeck, S., Toepfer, S., van Someren, E., & Guthke, R.
 (2009). Gene regulatory network inference: Data integration in dynamic models— A review. *Biosystems*, 96(1), 86–103. http://doi.org/10.1016/j.biosystems.2008.12.004
- 70. Hendrix, R. W. (2005). Bacteriophage Evolution and the Role of Phages in Host Evolution. In *Phages: their role in bacterial pathogenesis and biotechnology*

(pp. 55–65). American Society of Microbiology. http://doi.org/10.1128/9781555816506.ch4

- 71. Henrichsen, J. (1972). Bacterial Surface Translocation : a Survey and a Classification. *Bacteriological Reviews*, *36*(4), 478–503.
- Henson, M. A. (2003). Dynamic modeling of microbial cell populations. *Current Opinion in Biotechnology*. http://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00104-6

- 73. Henson, M. A., & Hanly, T. J. (2014). Dynamic flux balance analysis for synthetic microbial communities. *IET Systems Biology*, 8(5), 214–229. http://doi.org/10.1049/iet-syb.2013.0021
- 74. Hogan, C. M. (2012). Commensalism. Retrieved April 3, 2017, from http://editors.eol.org/eoearth/wiki/Commensalism
- 75. Hotelling, H. (1933). Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal of Educational Psychology*, 24(6), 417–441. http://doi.org/10.1037/h0071325
- 76. Hucka, M., Finney, a., Sauro, H. M., Bolouri, H., Doyle, J. C., Kitano, H., ... Wang, J. (2003). The systems biology markup language (SBML): A medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics*, 19(4), 524–531. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg015
- Hung, S., Chan, J., & Ji, P. (2011). Decomposing flux distributions into elementary flux modes in genome-scale metabolic networks. *Bioinformatics*, 27(16), 2256–2262. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr367
- 78. Ishii, N., Robert, M., Nakayama, Y., Kanai, A., & Tomita, M. (2004). Toward large-scale modeling of the microbial cell for computer simulation. *Journal of Biotechnology*, *113*(1-3), 281–94. http://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.04.038
- Janzen, D. H. (1980). When is it Coevolution? *Evolution*. http://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2006.12.016
- Karr, J. R., Sanghvi, J. C., MacKlin, D. N., Gutschow, M. V., Jacobs, J. M., Bolival, B., ... Covert, M. W. (2012). A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype. *Cell*, *150*(2), 389–401. http://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.044
- 81. Karunakaran, E., Mukherjee, J., Ramalingam, B., & Biggs, C. A. (2011). "Biofilmology": a multidisciplinary review of the study of microbial biofilms.

Applied Microbiology and Biotechnology, *90*(6), 1869–1881. http://doi.org/10.1007/s00253-011-3293-4

- Kehry, M. R., Doak, T. G., & Dahlquist, F. W. (1985). Sensory adaptation in bacterial chemotaxis: Regulation of demethylation. *Journal of Bacteriology*, *163*(3), 983–990.
- Kerr, B., Riley, M. a, Feldman, M. W., & Bohannan, B. J. M. (2002). Local dispersal promotes biodiversity in a real-life game of rock-paper-scissors. *Nature*, *418*(6894), 171–4. http://doi.org/10.1038/nature00823
- Khandelwal, R. A., Olivier, B. G., Roling, W. F., Teusink, B., &
 Bruggeman, F. J. (2013). Community flux balance analysis for microbial consortia at balanced growth. *PLoS One*, 8(5), e64567.
 http://doi.org/10.1371/journal.pone.0064567\nPONE-D-13-04733 [pii]
- Kim, C., Jackson, M., Lux, R., & Khan, S. (2001). Determinants of chemotactic signal amplification in Escherichia coli. *Journal of Molecular Biology*, 307(1), 119–35. http://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4389
- Kim, J. Il, Song, H. S., Sunkara, S. R., Lali, A., & Ramkrishna, D. (2012). Exacting predictions by cybernetic model confirmed experimentally: Steady state multiplicity in the chemostat. *Biotechnology Progress*, 28(5), 1160–1166. http://doi.org/10.1002/btpr.1583
- Klimenko, A. I., Matushkin, Y. G., Kolchanov, N. A., & Lashin, S. A. (2015). Modeling evolution of spatially distributed bacterial communities : a simulation with the haploid evolutionary constructor. *BMC Evolutionary Biology*, *15*(Suppl 1), S3. http://doi.org/10.1186/1471-2148-15-S1-S3
- Klimenko, A. I., Matushkin, Y. G., Kolchanov, N. A., & Lashin, S. A. (2016). Bacteriophages affect evolution of bacterial communities in spatially distributed habitats: a simulation study. *BMC Microbiology*, *16*(Suppl 1), S10. http://doi.org/10.1186/s12866-015-0620-4

- Klitgord, N., & Segre, D. (2010). Environments that induce synthetic microbial ecosystems. *PLoS Computational Biology*, *101*(11), 1435–1439. http://doi.org/10.1371/Citation
- Knowles, B., Silveira, C. B., Bailey, B. A., Barott, K., Cantu, V. A., Cobián-Güemes, A. G., ... Rohwer, F. (2016). Lytic to temperate switching of viral communities. *Nature*, *531*(7595), 466–470. http://doi.org/10.1038/nature17193
- Koonin, E. V. (2011). *The Logic of Chance: The Nature and Origin of Biological Evolution. Biometrika* (Vol. 51). http://doi.org/10.2307/2334241
- 92. Koskella, B., & Brockhurst, M. a. (2014). Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(5), 916–931. http://doi.org/10.1111/1574-6976.12072
- Kreft, J. U., Booth, G., & Wimpenny, J. W. T. (1998). BacSim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth. *Microbiology*, *144*(12), 3275–3287. http://doi.org/10.1099/00221287-144-12-3275
- 94. Kunin, V., & Ouzounis, C. A. (2003). The Balance of Driving Forces During Genome Evolution in Prokaryotes The Balance of Driving Forces During Genome Evolution in Prokaryotes. *Genome Research*, 13(7), 1589–1594. http://doi.org/10.1101/gr.1092603
- 95. Kuo, S. C., & Koshland, D. E. (1989). Multiple kinetic states for the flagellar motor switch. *Journal of Bacteriology*, *171*(11), 6279–6287.
- 96. Langridge, G. C., Fookes, M., Connor, T. R., Feltwell, T., Feasey, N., Parsons, B. N., ... Thomson, N. R. (2015). Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in Salmonella. *Proceedings of the National Academy* of Sciences, 112(3), 863–868. http://doi.org/10.1073/pnas.1416707112
- 97. Lashin, S. A., Klimenko, A. I., Mustafin, Z. S., Kolchanov, N. A., & Matushkin, Y. G. (2014). HEC 2.0: improved simulation of the evolution of

prokaryotic communities. *Математическая Биология И Биоинформатика*, 9(2), 585–596. http://doi.org/10.17537/2014.9.585

- Lashin, S. A., & Matushkin, Y. G. (2011). Haploid evolutionary constructor: New features and further challenges. *In Silico Biology*, *11*(3), 125–135. http://doi.org/10.3233/ISB-2012-0447
- 99. Lashin, S. A., Matushkin, Y. G., Suslov, V. V., & Kolchanov, N. A. (2012). Computer modeling of genome complexity variation trends in prokaryotic communities under varying habitat conditions. *Ecological Modelling*, 224(1), 124– 129. http://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.11.004
- Lashin, S. A., Suslov, V. V, Kolchanov, N. A., & Matushkin, Y. G. (2007).
 Simulation of coevolution in community by using the "Evolutionary Constructor" program. *In Silico Biology*, 7(3), 261–75.
- 101. Lashin, S. A., Suslov, V. V, & Matushkin, Y. G. (2010). Comparative modeling of coevolution in communities of unicellular organisms: adaptability and biodiversity. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 8(3), 627–643. http://doi.org/10.1142/S0219720010004653
- 102. Laspidou, C. S., & Rittmann, B. E. (2004a). Evaluating trends in biofilm density using the UMCCA model. *Water Research*, 38(14-15), 3362–72. http://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.051
- 103. Laspidou, C. S., & Rittmann, B. E. (2004b). Modeling the development of biofilm density including active bacteria, inert biomass, and extracellular polymeric substances. *Water Research*, *38*(14-15), 3349–61. http://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.037
- 104. Lencastre Fernandes, R., Nierychlo, M., Lundin, L., Pedersen, A. E., Puentes Tellez, P. E., Dutta, A., ... Gernaey, K. V. (2011). Experimental methods and modeling techniques for description of cell population heterogeneity.

Biotechnology Advances, 29(6), 575–599. http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.03.007

- 105. Lenski, R. E., & Levin, B. R. (1985). Constraints on the Coevolution of Bacteria and Virulent Phage: A Model, Some Experiments, and Predictions for Natural Communities. *The American Naturalist*, 125(4), 582–602.
- 106. Leslie, P. H. (1945). On the use of matrices in certain population mathematics. *Biometrika*. http://doi.org/10.2307/2332297
- Lidicker, W. Z. (1979). A Clarification of Interactions in Ecological Systems. *BioScience*, 29(8), 475–477. http://doi.org/10.2307/1307540
- Lieberman, E., Hauert, C., & Nowak, M. A. (2005). Evolutionary dynamics on graphs, 433(JANUARY), 1–5. http://doi.org/10.1038/nature03211.1.
- Likhoshvai, V. A., & Ratushny, A. V. (2007). Generalized Hill function method for modeling molecular processes. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 05(02b), 521–531. http://doi.org/10.1142/S0219720007002837
- 110. Liu, C., Bridges, M. E., Kaundun, S. S., Glasgow, L., Owen, M. D. K., & Neve, P. (2017). A generalised individual-based algorithm for modelling the evolution of quantitative herbicide resistance in arable weed populations. *Pest Management Science*, *73*(2), 462–474. http://doi.org/10.1002/ps.4317
- Liu, W., Røder, H. L., Madsen, J. S., Bjarnsholt, T., Sørensen, S. J., & Burmølle, M. (2016). Interspecific Bacterial Interactions are Reflected in Multispecies Biofilm Spatial Organization. *Frontiers in Microbiology*, 7. http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01366
- Lopez Pascua, L., Hall, A. R., Best, A., Morgan, A. D., Boots, M., & Buckling, A. (2014). Higher resources decrease fluctuating selection during host-parasite coevolution. *Ecology Letters*, *17*(11), 1380–1388. http://doi.org/10.1111/ele.12337
- Macnab, R. M., & Koshland, D. E. (1972). The Gradient-Sensing Mechanism in Bacterial Chemotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69(9), 2509–2512. http://doi.org/10.1073/pnas.69.9.2509
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., Stahl, D. A., & Brock, T. (2014). *Brock Biology of Microorganisms*. *Igarss 2014* (14th Editi). Pearson Education. http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2
- 115. Mahadevan, R., & Henson, M. A. (2012). Genome-Based Modeling and Design of Metabolic Interactions in Microbial Communities. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 3(4), 1–7. http://doi.org/10.5936/csbj.201210008
- 116. Margulis, L. (1970). Origin of eukaryotic cells: evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian earth. New Haven: Yale University Press.
- 117. Maslov, S., Krishna, S., Pang, T. Y., & Sneppen, K. (2009). Toolbox model of evolution of prokaryotic metabolic networks and their regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(24), 9743–9748. http://doi.org/10.1073/pnas.0903206106
- 118. McCutcheon, J. P., & Moran, N. A. (2011). Extreme genome reduction in symbiotic bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(1), 13–26. http://doi.org/10.1038/nrmicro2670
- McGill, B. J., Enquist, B. J., Weiher, E., & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(4), 178–185. http://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002
- 120. McInerney, J. O., McNally, A., & O'Connell, M. J. (2017). Why prokaryotes have pangenomes. *Nature Microbiology*, 2(4), 17040. http://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.40

- 121. Meyen, S. V. (1987). *Fundamentals of Paleobotany*. New York: Chapman and Hall.
- Micali, G., & Endres, R. G. (2016). Bacterial chemotaxis: Information processing, thermodynamics, and behavior. *Current Opinion in Microbiology*, *30*, 8–15. http://doi.org/10.1016/j.mib.2015.12.001
- 123. Mira, A., Ochman, H., & Moran, N. A. (2001). Deletional bias and the evolution of bacterial genomes. *Trends in Genetics*. http://doi.org/10.1016/S0168-9525(01)02447-7
- 124. Monod, J. (1950). La technique de culture continue. Theorie et applications. *Ann Inst. Pasteur*, *79*, 391–410.
- 125. Moon, D. C., Moon, J., & Keagy, A. (2010). Direct and Indirect Effects. Nat. Educ. Knowl. (Vol. 3). Retrieved from http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/direct-and-indirect-interactions-15650000
- 126. Mooshammer, M., Wanek, W., Hämmerle, I., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., ... Richter, A. (2014). Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon:nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling. *Nature Communications*, 5, 3694. http://doi.org/10.1038/ncomms4694
- Moran, N. A. (2002). Microbial Minimalism: Genome Reduction in Bacterial Pathogens. *Cell*, *108*(5), 583–586. http://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00665-7
- 128. Moran, P. A. P. (1958). Random processes in genetics. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 54(1), 60–71. http://doi.org/10.1017/S0305004100033193
- 129. Mulo, P., Sicora, C., & Aro, E. M. (2009). Cyanobacterial psbA gene family: Optimization of oxygenic photosynthesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. http://doi.org/10.1007/s00018-009-0103-6

- 130. Nakayama, K., Takashima, K., Ishihara, H., Shinomiya, T., Kageyama, M., Kanaya, S., ... Hayashi, T. (2000). The R-type pyocin of Pseudomonas aeruginosa is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage. *Molecular Microbiology*, *38*(2), 213–231. http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02135.x
- Nelson, K. E., Clayton, R. A., Gill, S. R., Gwinn, M. L., Dodson, R. J., Haft, D. H., ... Fraser, C. M. (1999). Evidence for lateral gene transfer between Archaea and Bacteria from genome sequence of *Thermotoga maritima*. *Nature*, *399*(6734), 323–329. http://doi.org/10.1038/20601
- Nesbo, C. L., L'Haridon, S., Stetter, K. O., & Doolittle, W. F. (2001).
 Phylogenetic analyses of two "archaeal" genes in thermotoga maritima reveal multiple transfers between archaea and bacteria. *Molecular Biology and Evolution*, *18*(3), 362–375.
- 133. Neumann, J. von. (1966). *Theory of self-reproducing automata*. University of Illinois press.
- 134. Nev, O. A., & van den Berg, H. A. (2017). Microbial metabolism and growth under conditions of starvation modelled as the sliding mode of a differential inclusion. *Dynamical Systems*, 9367(April), 1–20. http://doi.org/10.1080/14689367.2017.1298726
- 135. Niehus, R., Mitri, S., Fletcher, A. G., & Foster, K. R. (2015). Migration and horizontal gene transfer divide microbial genomes into multiple niches. *Nature Communications*, 6, 8924. http://doi.org/10.1038/ncomms9924
- Niu, B., Wang, H., Duan, Q., & Li, L. (2013). Biomimicry of quorum sensing using bacterial lifecycle model. *BMC Bioinformatics*, *14 Suppl 8*(Suppl 8), S8. http://doi.org/10.1186/1471-2105-14-S8-S8
- Novick, R. P., Christie, G. E., & Penadés, J. R. (2010). The phage-related chromosomal islands of Gram-positive bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(8), 541–51. http://doi.org/10.1038/nrmicro2393

- O'Donnell, A. G., Young, I. M., Rushton, S. P., Shirley, M. D., & Crawford,
 J. W. (2007). Visualization, modelling and prediction in soil microbiology. *Nature Reviews. Microbiology*, 5(9), 689–99. http://doi.org/10.1038/nrmicro1714
- Oberhardt, M. A., Palsson, B. Ø., & Papin, J. A. (2009). Applications of genome-scale metabolic reconstructions. *Molecular Systems Biology*, 5. http://doi.org/10.1038/msb.2009.77
- 140. Odum, E. P. (1983). *Basic ecology*. Saunders College Publishing.
- 141. Orth, J. D., Thiele, I., & Palsson, B. Ø. (2010). What is flux balance analysis? *Nature Biotechnology*, 28(3), 245–248. http://doi.org/10.1038/nbt.1614
- 142. Pak, K. R., & Bartha, R. (1998). Mercury methylation by interspecies hydrogen and acetate transfer between sulfidogens and methanogens. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(6), 1987–1990.
- Pal, C., Macia, M. D., Oliver, A., Schachar, I., Buckling, A., Maciá, M. D.,
 ... Buckling, A. (2007). Coevolution with viruses drives the evolution of bacterial mutation rates. *Nature*, 450(7172), 1079–1081. http://doi.org/10.1038/nature06350
- 144. Pang, T. Y., & Maslov, S. (2011). A toolbox model of evolution of metabolic pathways on networks of arbitrary topology. *PLoS Computational Biology*, 7(5), e1001137. http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1001137
- 145. Paterson, S., Vogwill, T., Buckling, A., Benmayor, R., Spiers, A. J., Thomson, N. R., ... Brockhurst, M. a. (2010). Antagonistic coevolution accelerates molecular evolution. *Nature*, 464(7286), 275–278. http://doi.org/10.1038/nature08798
- Paul, J. H. (2008). Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *The ISME Journal*, 2(6), 579–589. http://doi.org/10.1038/ismej.2008.35

- Pearson, K. (1901). On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *Philosophical Magazine*, 2(11), 559–572.
 http://doi.org/10.1080/14786440109462720
- Pfeiffer, T., & Schuster, S. (2005). Game-theoretical approaches to studying the evolution of biochemical systems. *Trends in Biochemical Sciences*, *30*(1), 20–25. http://doi.org/10.1016/j.tibs.2004.11.006
- 149. Phalak, P., Chen, J., Carlson, R. P., & Henson, M. A. (2016). Metabolic modeling of a chronic wound biofilm consortium predicts spatial partitioning of bacterial species. *BMC Systems Biology*, *10*(1), 90. http://doi.org/10.1186/s12918-016-0334-8
- Picioreanu, C., Kreft, J., Van, M. C. M., & Loosdrecht, M. C. M. Van. (2004). Particle-Based Multidimensional Multispecies Biofilm Model Particle-Based Multidimensional Multispecies Biofilm Model, *70*(5). http://doi.org/10.1128/AEM.70.5.3024
- 151. Polz, M. F., Alm, E. J., & Hanage, W. P. (2013). Horizontal gene transfer and the evolution of bacterial and archaeal population structure. *Trends in Genetics*, 29(3), 170–175. http://doi.org/10.1016/j.tig.2012.12.006
- Poullain, V., Gandon, S., Brockhurst, M. A., Buckling, A., & Hochberg, M. E. (2008). The evolution of specificity in evolving and coevolving antagonistic interactions between a bacteria and its phage. *Evolution*, 62(1), 1–11. http://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00260.x
- Price, N. D., Reed, J. L., & Palsson, B. Ø. (2004). Genome-scale models of microbial cells: evaluating the consequences of constraints. *Nature Reviews Microbiology*, 2(11), 886–897. http://doi.org/10.1038/nrmicro1023
- 154. Pride, D., Wassenaar, T., Ghose, C., & Blaser, M. (2006). Evidence of hostvirus co-evolution in tetranucleotide usage patterns of bacteriophages and eukaryotic viruses. *BMC Genomics*, 7(1), 8. http://doi.org/10.1186/1471-2164-7-8

- Ptashne, M. (1986). A genetic switch: Gene control and phage. lambda. Retrieved from http://www.osti.gov/scitech/biblio/5413898
- 156. Ramkrishna, D. (2000). *Population Balances: Theory and Applications to Particulate Systems in Engineering. Chemical Engineering.* Retrieved from http://books.google.com/books?id=Ep0N3osDPY4C&pgis=1
- 157. Ramkrishna, D., & Song, H.-S. (2012). Dynamic models of metabolism: Review of the cybernetic approach. *AIChE Journal*, *58*(4), 986–997. http://doi.org/10.1002/aic.13734
- 158. Reed, D. C., Algar, C. K., Huber, J. A., & Dick, G. J. (2014). Gene-centric approach to integrating environmental genomics and biogeochemical models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(5), 1879–84. http://doi.org/10.1073/pnas.1313713111
- 159. Refardt, D., Bergmiller, T., & Kümmerli, R. (2013). Altruism can evolve when relatedness is low: evidence from bacteria committing suicide upon phage infection. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 280(1759), 20123035. http://doi.org/10.1098/rspb.2012.3035
- 160. Rodriguez-Brito, B., Li, L. L., Wegley, L., Furlan, M., Angly, F., Breitbart, M., ... Rohwer, F. (2010). Viral and microbial community dynamics in four aquatic environments. *Isme Journal*, 4(6), 739–751. http://doi.org/10.1038/ismej.2010.1
- 161. Rodriguez-Martinez, J. M., Pascual, A., Rodriguez-Martinez, J. M., & Pascual, A. (2006). Antimicrobial resistance in bacterial biofilms. *Reviews in Medical Microbiology*, *17*(3), 65–75. http://doi.org/10.1097/01.revmedmi.0000259645.20603.63
- Rubel, E. (1935). The Replaceability of Ecological Factors and the Law of the Minimum. *Ecology*, *16*(3), 336. http://doi.org/10.2307/1930073

- Rudge, T. J., Steiner, P. J., Phillips, A., & Haselo, J. (2012). Computational Modeling of Synthetic Microbial Bio fi lms.
- 164. Salli, K. M., & Ouwehand, A. C. (2015). The use of in vitro model systems to study dental biofilms associated with caries: a short review. *Journal of Oral Microbiology*, 7. http://doi.org/10.3402/jom.v7.26149
- 165. Salmond, G. P. C., & Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: past, present and future. *Nature Reviews. Microbiology*, *13*(12), 777–86. http://doi.org/10.1038/nrmicro3564
- Sasaki, A. (2000). Host-parasite coevolution in a multilocus gene-for-gene system. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 267(1458), 2183–8. http://doi.org/10.1098/rspb.2000.1267
- Sauer, U., Heinemann, M., & Zamboni, N. (2007). GENETICS: Getting Closer to the Whole Picture. *Science*, *316*(5824), 550–551.
 http://doi.org/10.1126/science.1142502
- 168. Scanlan, P. D., Hall, A. R., Blackshields, G., Friman, V.-P., Davis, M. R., Goldberg, J. B., & Buckling, A. (2015). Coevolution with Bacteriophages Drives Genome-Wide Host Evolution and Constrains the Acquisition of Abiotic-Beneficial Mutations. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(6), 1425–1435. http://doi.org/10.1093/molbev/msv032
- Scanlan, P. D., Hall, A. R., Burlinson, P., Preston, G., & Buckling, A.
 (2013). No effect of host-parasite co-evolution on host range expansion. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(1), 205–209. http://doi.org/10.1111/jeb.12021
- Scheffer, M., Baveco, J. M., DeAngelis, D. L., Rose, K. A., & van Nes, E. H. (1995). Super-individuals a simple solution for modelling large populations on an individual basis. *Ecological Modelling*, 80(2-3), 161–170. http://doi.org/10.1016/0304-3800(94)00055-M

- Scheibe, T. D., Mahadevan, R., Fang, Y., Garg, S., Long, P. E., & Lovley,
 D. R. (2009). Coupling a genome-scale metabolic model with a reactive transport model to describe in situ uranium bioremediation. *Microbial Biotechnology*, 2(2 SPEC. ISS.), 274–286. http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00087.x
- Schmidt, M., & Lipson, H. (2009). Distilling free-form natural laws from experimental data. *Science (New York, N.Y.)*, *324*(5923), 81–85. http://doi.org/10.1126/science.1165893
- 173. Schrag, S. J., & Mittler, J. E. (1996). Host-Parasite Coexistence: The Role of Spatial Refuges in Stabilizing Bacteria-Phage Interactions. *The American Naturalist*, 148(2), 348–377. http://doi.org/10.1086/285929
- 174. Schuster, S., Fell, D. A., & Dandekar, T. (2000). A general definition of metabolic pathways useful for systematic organization and analysis of complex metabolic networks. *Nature Biotechnology*, *18*(3), 326–332. http://doi.org/10.1038/73786
- 175. Schuster, S., Pfeiffer, T., Moldenhauer, F., Koch, I., & Dandekar, T. (2002). Exploring the pathway structure of metabolism: decomposition into subnetworks and application to Mycoplasma pneumoniae. *Bioinformatics (Oxford, England)*. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.2.351
- Segall, J. E., Block, S. M., & Berg, H. C. (1986). Temporal comparisons in bacterial chemotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(23), 8987–8991.
 http://doi.org/10.1073/pnas.83.23.8987
- 177. Segrè, D., Vitkup, D., & Church, G. M. (2002). Analysis of optimality in natural and perturbed metabolic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(23), 15112–15117. http://doi.org/10.1073/pnas.232349399

- 178. Sharon, I., Tzahor, S., Williamson, S., Shmoish, M., Man-Aharonovich, D., Rusch, D. B., ... Béjà, O. (2007). Viral photosynthetic reaction center genes and transcripts in the marine environment. *The ISME Journal*, 1(6), 492–501. http://doi.org/10.1038/ismej.2007.67
- Shmulevich, I., Dougherty, E. R., Kim, S., & Zhang, W. (2002).
 Probabilistic Boolean Networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks. *Bioinformatics*, *18*(2), 261–274.
 http://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.2.261
- Shrout, J. D. (2015). A fantastic voyage for sliding bacteria. *Trends in Microbiology*, 23(5), 244–6. http://doi.org/10.1016/j.tim.2015.03.001
- 181. Shu, C. C., Chatterjee, A., Dunny, G., Hu, W. S., & Ramkrishna, D. (2011). Bistability versus bimodal distributions in gene regulatory processes from population balance. *PLoS Computational Biology*, 7(8). http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002140
- 182. Song, H. S., & Ramkrishna, D. (2009). Reduction of a set of elementary modes using yield analysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(2), 554–568. http://doi.org/10.1002/bit.22062
- 183. Song, H. S., & Ramkrishna, D. (2012). Prediction of dynamic behavior of mutant strains from limited wild-type data. *Metabolic Engineering*, 14(2), 69–80. http://doi.org/10.1016/j.ymben.2012.02.003
- 184. Song, H.-S., Cannon, W., Beliaev, A., & Konopka, A. (2014). Mathematical Modeling of Microbial Community Dynamics: A Methodological Review. *Processes*, 2(4), 711–752. http://doi.org/10.3390/pr2040711
- 185. Soucy, S. M., Huang, J., & Gogarten, J. P. (2015). Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature Reviews Genetics*, 16(8), 472–482. http://doi.org/10.1038/nrg3962

- 186. Sourjik, V., & Berg, H. C. (2002). Receptor sensitivity in bacterial chemotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States* of America, 99(1), 123–127. http://doi.org/10.1073/pnas.011589998
- Stauffer, D., Kunwar, A., & Chowdhury, D. (2005). Evolutionary ecology in silico: Evolving food webs, migrating population and speciation. *Physica A: Statistical Mechanics and Its Applications*, 352(1), 202–215. http://doi.org/10.1016/j.physa.2004.12.036
- Stein, R. R., Bucci, V., Toussaint, N. C., Buffie, C. G., Rätsch, G., Pamer, E. G., ... Xavier, J. B. (2013). Ecological Modeling from Time-Series Inference: Insight into Dynamics and Stability of Intestinal Microbiota. *PLoS Computational Biology*, *9*(12). http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003388
- 189. Stolyar, S., Van Dien, S., Hillesland, K. L., Pinel, N., Lie, T. J., Leigh, J. A., & Stahl, D. A. (2007). Metabolic modeling of a mutualistic microbial community. *Molecular Systems Biology*, *3*, 92. http://doi.org/10.1038/msb4100131
- 190. Sullivan, M. B., Lindell, D., Lee, J. A., Thompson, L. R., Bielawski, J. P., & Chisholm, S. W. (2006). Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts. *PLoS Biology*, 4(8), 1344–1357. http://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040234
- 191. Sundararaj, S., Guo, A., Habibi-Nazad, B., Rouani, M., Stothard, P., Ellison, M., & Wishhart, D. S. (2004). The CyberCell Database (CCDB): a comprehensive, self-updating, relational database to coordinate and facilitate in silico modeling of Escherichia coli. *Nucleic Acids Research*, *32*(90001), D293–D295. http://doi.org/10.1093/nar/gkh108
- Suttle, C. A. (2007). Marine viruses major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10), 801–812. http://doi.org/10.1038/nrmicro1750

- 193. Taffs, R., Aston, J. E., Brileya, K., Jay, Z., Klatt, C. G., McGlynn, S., ... Carlson, R. P. (2009). In silico approaches to study mass and energy flows in microbial consortia: a syntrophic case study. *BMC Systems Biology*, *3*, 114. http://doi.org/10.1186/1752-0509-3-114
- 194. Tang, Y., & Valocchi, A. J. (2013). An improved cellular automaton method to model multispecies biofilms. *Water Research*, 47(15), 5729–5742. http://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.055
- 195. Terzer, M., & Stelling, J. (2008). Large-scale computation of elementary flux modes with bit pattern trees. *Bioinformatics*, 24(19), 2229–2235. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn401
- 196. Terzer, M., & Stelling, J. (2010). Parallel extreme ray and pathway computation. In *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)* (Vol. 6068 LNCS, pp. 300–309). http://doi.org/10.1007/978-3-642-14403-5_32
- 197. Tindall, M. J., Maini, P. K., Porter, S. L., Armitage, J. P., Maini, P. K., Gaglia, G., & Armitage, J. P. (2008). Overview of mathematical approaches used to model bacterial chemotaxis I: The single cell. *Bulletin of Mathematical Biology*. http://doi.org/10.1007/s11538-008-9321-6
- 198. Tomita, M. (2001). Whole-cell simulation: a grand challenge of the 21st century. *Trends in Biotechnology*, *19*(6), 205–210. http://doi.org/10.1016/S0167-7799(01)01636-5
- 199. Tomita, M., Hashimoto, K., Takahashi, K., Shimizu, T., Matsuzaki, Y., Miyoshi, F., ... Hutchison, C. (1999). E-CELL: software environment for wholecell simulation. *Bioinformatics*, 15(1), 72–84. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/15.1.72
- 200. Trinh, C. T., Wlaschin, A., & Srienc, F. (2009). Elementary mode analysis: A useful metabolic pathway analysis tool for characterizing cellular metabolism.

Applied Microbiology and Biotechnology. http://doi.org/10.1007/s00253-008-1770-1

- 201. Turing, A. M. (1952). The chemical theory of morphogenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc.*, *13*, 1.
- Urbanczik, R., & Wagner, C. (2005). An improved algorithm for stoichiometric network analysis: theory and applications. *Bioinformatics*, 21, 1203–1210. http://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti127
- 203. Visick, K. L., Foster, J., Doino, J., McFall-Ngai, M., & Ruby, E. G. (2000). Vibrio fischeri lux genes play an important role in colonization and development of the host light organ. *Journal of Bacteriology*, *182*(16), 4578–4586. http://doi.org/10.1128/JB.182.16.4578-4586.2000
- 204. Wadhams, G. H., & Armitage, J. P. (2004). Making Sense of it All: Bacterial Chemotaxis. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 5(December), 1024–1037. http://doi.org/10.1038/nrm1524
- 205. Waldor, M., & Mekalanos, J. (1996). Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science*, 272(5270), 1910–1914. http://doi.org/10.1126/science.272.5270.1910
- 206. Wanner, O., & Morgenroth, E. (2004). Biofilm modeling with AQUASIM. Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research, 49(11-12), 137–44. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15303734
- 207. Waters, C. M., & Bassler, B. L. (2005). Quorum Sensing : Communication in Bacteria. *Annual Reviews in Cell Development Biology*, 21(1), 319–346. http://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001
- 208. Weitz, J. S., Hartman, H., & Levin, S. A. (2005). Coevolutionary arms races between bacteria and bacteriophage. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America, *102*(27), 9535–40. http://doi.org/10.1073/pnas.0504062102

- 209. Westra, E. R., Swarts, D. C., Staals, R. H. J., Jore, M. M., Brouns, S. J. J., & van der Oost, J. (2012). The CRISPRs, they are a-changin': how prokaryotes generate adaptive immunity. *Annual Review of Genetics*, *46*, 311–339. http://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155447
- Whitton, B. a. (2012). Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time. Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time (Vol. 9789400738). http://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3
- 211. Wimpenny, J., Manz, W., & Szewzyk, U. (2000). Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews*. http://doi.org/10.1016/S0168-6445(00)00052-8
- 212. Wimpenny, J. W. T., & Colasanti, R. (1997). A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models. *FEMS Microbiology Ecology*. http://doi.org/10.1016/S0168-6496(96)00078-5
- 213. Wintermute, E. H., & Silver, P. A. (2010). Emergent cooperation in microbial metabolism. *Molecular Systems Biology*, *6*, 407. http://doi.org/10.1038/msb.2010.66
- Wolfe, B. E., & Dutton, R. J. (2015). Review Fermented Foods as Experimentally Tractable Microbial Ecosystems. *Cell*, *161*(1), 49–55. http://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.034
- 215. Wooley, J. C., Godzik, A., & Friedberg, I. (2010). A primer on metagenomics. *PLoS Computational Biology*. http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000667
- 216. Woolhouse, M. E. J., Webster, J. P., Domingo, E., Charlesworth, B., & Levin, B. R. (2002). Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genetics*, *32*(december), 569–577. http://doi.org/10.1038/ng1202-569

- 217. Young, J. D., Henne, K. L., Morgan, J. A., Konopka, A. E., & Ramkrishna, D. (2008). Integrating cybernetic modeling with pathway analysis provides a dynamic, systems-level description of metabolic control. *Biotechnology and Bioengineering*, *100*(3), 542–559. http://doi.org/10.1002/bit.21780
- 218. Zhang, W., Li, F., & Nie, L. (2010). Integrating multiple "omics" analysis for microbial biology: Application and methodologies. *Microbiology*. http://doi.org/10.1099/mic.0.034793-0
- Zomorrodi, A. R., Islam, M. M., & Maranas, C. D. (2014). D-OptCom: Dynamic Multi-level and Multi-objective Metabolic Modeling of Microbial Communities. *ACS Synthetic Biology*, *3*(4), 247–257. http://doi.org/10.1021/sb4001307
- 220. Zomorrodi, A. R., & Maranas, C. D. (2012). OptCom: A multi-level optimization framework for the metabolic modeling and analysis of microbial communities. *PLoS Computational Biology*, 8(2). http://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002363
- 221. Брянская, А. В., Орлеанский, В. К., & Дагурова, О. П. (2008). ЛАБОРАТОРНАЯ МОДЕЛЬ ЦИАНОБАКТЕРИАЛЬНОГО МАТА ТЕРМАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА КОТЕЛЬНИКОВСКИЙ (ПРИБАЙКАЛЬЕ). Микробиология, 77(4), 1–7.
- 222. Ванаг, В. К. (1999). Исследование пространственно распределенных динамических систем методами вероятностного клеточного автомата. Успехи Физических Наук, 69(5), 481–505.
- 223. Гимельфарб, А. А., Гинзбург, Л. Р., Полуэктов, Р. А., Пых, Ю. А., & Ратнер, В. А. (1974). Динамическая теория биологических популяций. Наука.
- 224. Жерихин, В. (1978). Развитие и смена меловых и кайнозойских фаунистических комплексов (трахейные и хелицеровые). *Труды Палеонтологического Института Академии Наук СССР*, 165, 1–198.

- 225. Заварзин, Г. А. (2004). Лекции по природоведческой микробиологии.Москва: Наука.
- Заварзин, Г. А. (2006). Составляет ли эволюция смысл биологии?
 Вестник РАН, 76(6), 522–533.
- 227. Заварзин, Г. А. (2009). Противоречивость осознания природы естествоиспытателем. *Философия Науки И Техники*, *14*(1), 25–42.
- 228. Заварзин, Г. А., & Колотилова, Н. Н. (2001). Введение в природоведческую микробиологию. Москва: Книжный дом "Университет."
- Колмакова, О. В. (2013). Современные методы определения видоспецифичных биогеохимических функций бактериопланктона, *1*(2013 6), 73–95.
- 230. Лашин, С. А., Колчанов, Н. А., & Матушкин, Ю. Г. (2008). Эволюционный конструктор: методика и комплекс программ для моделирования эволюции трофически связанных популяций одноклеточных гаплоидных организмов. Вычислительные Технологии, 13(6), 91–101.
- 231. Лашин, С. А., Матушкин, Ю. Г., Суслов, В. В., & Колчанов, Н. А.
 (2011). Эволюционные тренды в системах "прокариотическое сообщество" и "прокариотическое сообщество – фаг." *Генетика*, 47(12), 1676–1685.
- 232. Левченко, В. Ф., & Старобогатов, Я. И. (1990). Сукцессионные изменения и эволюция экосистем (некоторые вопросы эволюционной экологии). Журн. Общ. Биол., 51(5), 619–631.
- 233. Лихошвай, В. А., Хлебодарова, Т. М., Ратушный, А. В., Лашин, С. А., Турнаев, И. И., Подколодная, О. А., ... Колчанов, Н. А. (2010). Компьютерный генетический конструктор: математическое моделирование генетических и метаболических подсистем E.Coli. In B. B. Власов, А. Г. Дегерменджи, Н. А. Колчанов, В. Н. Пармон, & Е. А. Репин (Eds.), Роль микроорганизмов в функционировании живых систем: фундаментальные

проблемы и биоинженерные приложения (pp. 376–391). Новосибирск: Издательство СО РАН.

- 234. Логофет, Д. О., & Белова, И. Н. (2007). Неотрицательные матрицы как инструмент моделирования динамики популяций : классические модели и современные обобщения *. Фундаментальнаяи Прикладнаяматематика, 13(4), 145–164.
- 235. Матушкин, Ю. Г., Родин, С. Н., & Ратнер, В. А. (1986). О возможности коэволюции в проточной системе вирулентный фаг-бактерия. *Журнал Общей Биологии*, *XLVII*(1), 64–71.
- 236. Миркин, Б., & Наумова, Л. (2017). Основы общей экологии. Litres.
- 237. Нетрусов, А. И., & Котова, И. Б. (2007). *Микробиология*. Москва: Академия.
- Поплавская, Г. И. (1924). Опыт фитосоциологического анализа растительности целинной заповедной степи Аскания-Нова. *Журн. Русск. Бот. О-Ва*, 9, 125–146.
- 239. Раменский, Л. Г. (1935). О принципиальных установках, основных понятиях и терминах производственной типологии земель, геоботаники и экологии. *Сов. Ботаника*, *4*, 25–32.
- 240. Ризниченко, Г. Ю. (2003). *Математические модели в биофизике и экологии*. Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований.
- 241. Ризниченко, Г. Ю., & Рубин, А. Б. (1993). Математические модели биологических продукционных процессов: Учебное пособие. Москва: Издательство МГУ.
- 242. Родин, С. Н., & Ратнер, В. А. (1982). Теоретический анализ коэволюции белков в системе фаг-бактерия. Детерминированная модель отдельного этапа микроэволюции. *Журнал Общей Биологии*, *XLIII*(2), 175–184.

- 243. Сукачев, В. Н. (1928). *Растительные сообщества* (4th ed.). Ленинград: "Книга" Ленинград-Москва.
- 244. Чернавский, Д. С., & Иерусалимский, Н. Д. (1965). К вопросу об определяющем звене в системе ферментативных реакций. *Изв. АН СССР, Сер. Биол.*, *5*, 665–672.

Приложение 1. Модификации языка описания моделей

Описание синтаксиса языка описания моделей «ГЭК 2.0» (версия для равномерно перемешанных сред) можно найти в работе (S. A. Lashin & Matushkin, 2011). Для описания пространственно-распределённых сообществ потребовалось внести некоторые изменения в синтаксис этого языка. В этом подразделе описаны синтаксические конструкции, описывающие неоднородное пространственное распределение, размерность, факторы перераспределения и другие команды.

Размерность среды задаётся следующим образом:

dimension = {[{0 | 1 | 2 | 3}D:] {<длина>| <длина> x <глубина> | <длина> x < <глубина> x <высота>}}

Например, *dimension* = 200x300x400 или *dimension* = 2D: 300x400, или *dimension* = 1D: 300.

Также изменились параметры субстратов: если раньше начальные концентрации задавались как *substrates_ss* = c1, c2, ... (где c1 и c2 – концентрации специфических субстратов S1 и S2 соответственно), то теперь можно конкретизировать субстрат отдельным блоком подобно тому, как это делается с популяцией:

SUBSTRATES

{N|S}sub=<номер субстрата>

[sub name = <имя субстрата>]

{distribution={homogeneous|<градиент>}|<пользовательское_распредел ение>}

[concentration=<концентрация>] [inflow_ns=<концентрация_в_протоке>] end {N/S}sub(<номер_субстрата>) •••

END SUBSTRATES

Атрибут *concentration* указывается только для равномерного (*homogeneous*) и распределения по линейному градиенту. Градиент задаётся следующим образом:

distribution = grad:(a, b, c) $concentration = c_base$

Т.е. концентрация субстрата в ячейке $(i, j, k) = c_base * (1 + a*i + b*j + c*k)$. В одномерном и двумерном случаях лишние орты и коэффициенты при них не учитываются.

Примеры пользовательских распределений:

Ssub=1 $SUB_NAME = Oxygen$ distribution(*, *, *) = 1e-5 distribution(1, 1, 1) = 1e-4 distribution(1, 1, 2) = 1e-3 distribution(1, 3, 3) = 2e-3 end Ssub(1) Ssub=2 distribution(*, *, *) = 1e-5 distribution(2, 2, *) = 1e-4 distribution(1, *, 3) = 1e-5end Ssub(2) Здесь «звёздочка» означает, что по некоторой координате (допустим по координате высоты) все ячейки попадают под данное правило распределения. Запись *distribution*(*, *, *) = 1e-5 означает, что во всех ячейках системы будет установлена концентрация 1e-5 М для субстрата из текущего блока. В случае конфликтов правил распределения силу имеет последнее из перечисленных, поэтому вначале стоит перечислять наиболее общие правила, а затем – специализированные, которые будут интерпретированы как исключения.

У популяций также появился параметр *distribution*, с тем же смыслом, что и у субстратов. При этом параметр *SIZE* популяции в случае пользовательского распределения имеет смысл «фоновой» численности (т.е. численности данной популяции в ячейках, о которых специально не написано в директивах *distribution*). В случае распределения по линейному градиенту параметр *SIZE* имеет то же значение, что и *c_base* для субстратов.

Проток описывается при помощи вектора коэффициентов интенсивности протока соответствующей размерности:

 $flow = \{x \mid (x, y) \mid (x, y, z)\}$

Во всех инструкциях, изменяющих геном клеток популяции (мутация, потеря генов и горизонтальный перенос), добавился атрибут, указывающий ячейку, в которой происходит данное событие. Например,

 $hgt = cell:(<\kappaoopduhama_no_dлинe(i)>, <\kappaoopduhama_no_глубинe(j)>, <$ $<кооpduhama_no_выcome(k)>); <команда hgt из «ГЭК 2.0»>$

Пример:

hgt = *location:*(1,1,1); *acceptor:*1; *donor:*6; *gene_type:s; sub_num:*6; *p_size:*1*e*+6;

Есть возможность изменять направление и интенсивность протока в ходе расчёта модели. Для этого используется следующая команда:

 $set_flow = \{x \mid (x, y) \mid (x, y, z)\}$

Пример: *set_flow* = (-0.01, 0.0)

Также можно задать циклическую (периодическую) подачу какого-либо субстрата:

sub_cycle=location:(<координата_no_длинe(i)>,<координата_no_глубинe(j)>,<координата_no_выcome(k)>);<mun_cy6cmpama>:<номер_cy6cmpama>;concentration:<концентрация>;duration:<длительность_noдачи_cy6cmpama>;period:<количество_итераций_между_noдачами>

```
<mun cy6cmpama> ::= \{N | S\}
```

Итерация, перед которой выполнилась инструкция *sub_cycle*, считается для неё стартовой, и субстрат начинает циклировать прямо с неё. При этом если инструкция *sub_cycle* была вызвана до начала расчёта, то стартовой итерацией для неё считается первая итерация (startIter=1).

Важно отметить, что отрезок duration не входит в длительность period. *Period* – это количество итераций между подачами подкормки, т.е. «голодный» период.

Пример: *SUB_CYCLE* = *location:*(1,2,2); *S:1; concentration: 1e-3; duration: 200; period: 5600*

Расширены на пространственно-распределённый случай команды, задающие и отменяющие буферизованные субстраты (т.е. субстраты, чья концентрация остаётся на каждой итерации константной в соответствующей ячейке системы):

BUFFER_ON = location:(<координата_no_длинe(i)>, <координата_no_глубинe(j)>, <координата_no_высотe(k)>); <команда BUFFER_ON из «ГЭК 2.0»> *BUFFER_OFF* = *location:*(*<координата_no_длинe*(*i*)*>*, *<координата_no_глубинe*(*j*)*>*, *<координата_no_высотe*(*k*)*>*); *<команда BUFFER_OFF* из «ГЭК 2.0»>

Примеры:

BUFFER_ON=location:(1,5,5);N:1:1e-1

BUFFER_OFF=location:(1,5,5);N:1:1e-1

Есть возможность задать 1D «волну» субстрата:

 SUB_WAVE
 =
 start_location:(<координата_no_длинe(i)>);

 <mun_cy6cmpama>:<homep_cy6cmpama>;
 concentration:<kohuehmpauua>;

 duration:
 <длительность_нахождения_гребня_волны_на_одном_месте>;

 type:<mun_волны>

<mun_cyбстрата> ::= {N / S}

<mun волны> ::= { reflected | periodic}

reflected – это значит, что волна, дойдя до границы системы, пойдёт в обратную сторону;

periodic – это значит, что волна, дойдя до границы системы, снова начнётся со start_location;

Пример:

SUB_WAVE = start_location:(1); N:1; concentration: 1e-3; duration: 5; type: reflected

Доля мигрантов в популяции задаётся с помощью общепопуляционного параметра motility. Пример: *MOTILITY*=0.1

Как популяционные параметры задаются также и гены хемотаксиса:

GENE_CH=1 – ген миграционной ригидности

GENE_CH=2 - ген стоимости миграции

Приложение 2. Сценарии обработки, анализа и визуализации результатов вычислительных экспериментов

Использованные в работе сценарии обработки, анализа и визуализации результатов вычислительных экспериментов представлены в Таблице П2.1.

Таблица П2.1. Сценарии обработки, анализа и визуализации результатов вычислительных экспериментов.

Вид анализа	Содержание	Скрипты
Популяционная	Изменение численности	1D_BiomassDistribution
динамика	популяций (во всей системе и	Dynamics,
	по ячейкам).	drawTotalSizes,
		totalBiomassFluctuation,
		speciesAbundanceFluctu
		ation, addZeros
Динамика частот	Диахронная картина	Выполнено с
аллелей	концентрации тех или иных	использованием Excel
	аллелей в популяции,	
	изменения во времени их	
	соотношения друг с другом.	
Видовое	Подсчёт пространственного	averageSRandBiomass,
богатство и	распределения средних и	localSpeciesRichness,
биомасса	итоговых значений общей	SRlib,
	биомассы и видового богатства	speciesRichnessFluctuati
	для серии стохастических	on, batchSRFluctuation
	вычислительных	
	экспериментов. Подсчёт	
	динамики видового богатства.	

Комплексный	Временная анимация	1D_ComplexSpeciationA
анализ видовой	распределения по	nalysis,
динамики	пространственной координате	1D_SubstrateDistributio
	сразу 4 характеристик: общей	nDynamics
	биомассы, концентрации	
	субстратов, взвешенной длины	
	геномов и видового богатства	
Доминирующие	Сбор статистики о количестве	batchDGLstat,
популяции и	метаболических систем у	batchDominantEcoGrou
экогруппы	доминирующей (локально или	pStat, histograms
	во всей системе) популяции, а	
	также доминирующей	
	экогруппы для серии	
	стохастических	
	вычислительных	
	экспериментов.	
Экологические	Подсчёт средних и итоговых	ecoGroupsAbundances,
структуры	распределений биомассы по	EcoGroupsPCA,
сформированны	экогруппам и статистический	localEcoGroupsPCA,
х сообществ	анализ различий в структурах	t_tests
	сообществ, формируемых под	
	влиянием различных условий	
Инфекционные	Изменение доли (по биомассе)	infectedBiomassPortionF
динамики	заражённых популяций во	luctuation, batchIBPF,
	времени. Построение	generateDiseaseSnapshot
	анимационных карт заражения	s, diseaseMapGIFs,
	популяций сообщества.	infectionLib, tilePlot
Скорость	Подсчёт индекса скорости	speciation_rate,
видообразования	видообразования (SRI) для	addZeros

серии	стохастических	
вычислительны	ЫХ	
экспериментов		

Приложение 3. Классификация существующих программных средств моделирования микробных сообществ.

Таблица ПЗ.1. Сравнение индивидуально-ориентированных программных средств для моделирования бактериальных сообществ в пространственно-распределённой среде.

Название программ ного средства (литерату рный источник)	Единиц а модели рования	Размер популяц ии	Генетическое разнообразие	Пространст венное распределе ние	Круг решаемых задач	Докум ентиро ваннос ть	Подде ржива емые платф ормы
AgentCell(v. 2.0) (Emonet <i>et</i> <i>al.</i> , 2005)	Клетка	Нескольк о тысяч клеток	Только Escherichia coli	Клетки двигаются в трёхмерном пространств е с заданным градиентом аттрактанто в	Расчёт хемотаксического ответа клеток на градиент аттрактантов в 3D среде	Сущес твует инстру кция по устано вке на Linux	Linux
AQUASI M (Wanner & Morgenrot h, 2004)	Компар тмент	Определ яется толщино й биоплёнк и (в примере – в метрах)	Позволяет моделировать мультивидовые реакторы, но не допускает генетической изменчивости в процессе моделирования	Есть (с учётом различных топологий связности компартмен тов и мембран)	Моделирование бактериальных биоплёнок в водных экосистемах. Позволяет проводить анализ чувствительности модели и оценку параметров.	Есть руково дство пользо вателя и рассыл ка с поддер жкой	Windo ws, Linux, MacO S
INDISIM (Ginovart, López, & Valls, 2002)	Клетка, суперин дивид	Миллион ы клеток	Поддерживает индивидуально е разнообразие клеток, но не допускает генетической изменчивости в процессе моделирования	Есть (квадратная решётка из ячеек)	Исследование - распределения биомассы в колонии; - связи между скоростью роста колонии и концентрациями питательных веществ, а также температурой среды; - колебания метаболитов в биореакторах	-	Windo ws
Гаплоидн ый эволюцио нный конструкт ор 3D (Klimenko <i>et al.</i> , 2015)	Метабо лически одноро дная популя ция	Свыше миллиар да клеток	Полная поддержка генетического разнообразия и изменчивости вплоть до видообразован ия	Есть* (квадратная решётка из ячеек).	 задачи эволюционного и экологического моделирования; исследование взаимодействия популяционно- генетических, пространственных факторов и трофической структуры экосистемы и их влияния на эволюцию микробного сообщества 	Доступ на докуме нтация на веб- сайте	Windo ws, Linux

* – с учётом данной работы.

Приложение 4. Биологически обоснованные диапазоны параметров моделей

Параметры моделей ГЭК, касающиеся размеров клетки и необходимых для размножения клеток количеств субстратов, а также другие факторы были оценены на основе данных по *E. coli* (штамм K12, MG1655) из базы данных «The CyberCell Database» (CCDB) (Sundararaj et al., 2004).

Таблица П4.1. Биологически обоснованные диапазоны параметров моделей (по (S. A. Lashin & Matushkin, 2011)).

Параметр	Описание (единицы измерения)	Диапазон
		типичных
		значений
V _{total}	Объём среды (л)	$10^{-6} - 100$
N _{env,i}	Концентрация і-го неспецифического субстрата в	0-1
	среде обитания (mM)	
S _{env,i}	Концентрация і-го специфического субстрата в	0-1
	среде обитания (mM)	
N _{flow,i}	Концентрация і-го неспецифического субстрата в	0 – 1
	притоке (mM)	
flp	Коэффициент интенсивности протока в р-ом	-1 - 1
	направлении (1/поколение)	
kdp	Коэффициент интенсивности диффузии в р-ом	0-0.1
	направлении (1/поколение)	
Р	Размер популяции (число клеток)	$0 - 10^{20}$
k _{free}	Доля клеток, находящихся в неприкреплённом	0 – 1
	состоянии (в виде планктона)	
k _{death}	Коэффициент смертности популяции (1/клетки)	$0 - 10^{-10}$
V _{consumed}	Средний объём, фильтруемый клеткой за одну	5.4.10-12
	итерацию (л/поколение)	

r _i	Эффективность утилизации і-го неспецифического	$10^{-7} - 10^{-4}$
	субстрата – прирост численности за	
	поколение/количество утилизированного субстрата	
	за поколение (клетки/молекулы)	
ccons_ns	Норма потребления. Максимальное число	$10^5 - 10^7$
	потребляемых молекул неспецифических	
	субстратов на клетку. Фиксированная часть r _i .	
	(молекулы)	
gr _i	Изменяющаяся часть r _i , определяемая аллелями	1 - 20
	гена утилизации і-го неспецифического субстрата, –	
	среднее число потомков/среднее поколение	
	(клетки/поколение)	
c _i	Эффективность утилизации і-го специфического	$10^{-7} - 10^{-4}$
	субстрата – прирост численности за	
	поколение/количество утилизированного субстрата	
	за поколение (клетки/молекулы)	
ccons_ss	Норма потребления. Максимальное число	$10^{5} - 10^{7}$
	потребляемых молекул специфических субстратов	
	на клетку. Фиксированная часть c _i . (молекулы)	
gci	Изменяющаяся часть с _і , определяемая аллелями	1 - 20
	гена утилизации i-го специфического субстрата, –	
	среднее число потомков/среднее поколение	
	(клетки/поколение)	
di	Эффективность синтеза і-го продукта	$10^4 - 10^8$
	(молекулы/поколение)	
cprod	Норма синтеза. Фиксированная часть d _i –	$10^4 - 10^7$
	количества синтезированных одной клеткой	
	молекул продукта за поколение	
	(молекулы/поколение)	

gd_i	Изменяющаяся часть d _i (безразмерный)	1 – 20
m	Доля активно мигрирующих посредством	0 – 1
	хемотаксиса клеток из числа неприкреплённых	
	клеток (безразмерный)	