

Лабораторная работа № 8

«МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ В БИОЛОГИИ. ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛИМИТИРУЮЩЕГО СУБСТРАТА НА СКОРОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ. УРАВНЕНИЕ МОНО»

Жизнь любого организма зависит от множества факторов (пища, субстрат, свет, температура и т.д.) и наиболее значимым среди них в каждый момент времени является тот фактор, который наиболее уязвим, то есть находится в минимальной доступности. Он лимитирует ростовые процессы и развитие, определяет скорость размножения. Это не что иное как закон минимума Либиха.

Количественная зависимость удельной скорости размножения (r) от количества (или концентрации) ограничивающего компонента S , чаще всего, имеет насыщенный характер может быть описана уравнением Моно:

$$r(S) = \frac{r_{max} \cdot S}{K_S + S} \quad (1)$$

где r_{max} – максимально возможная скорость прироста при избытке ресурса (например, субстрата), K_S – коэффициент насыщения

Согласно теоретическим выкладкам, коэффициент насыщения (K_S) численно равен такому количеству компонента или концентрации субстрата, при котором наблюдается половинная от максимальной скорость прироста численности. Пример зависимости Моно отображен на рисунке 1.

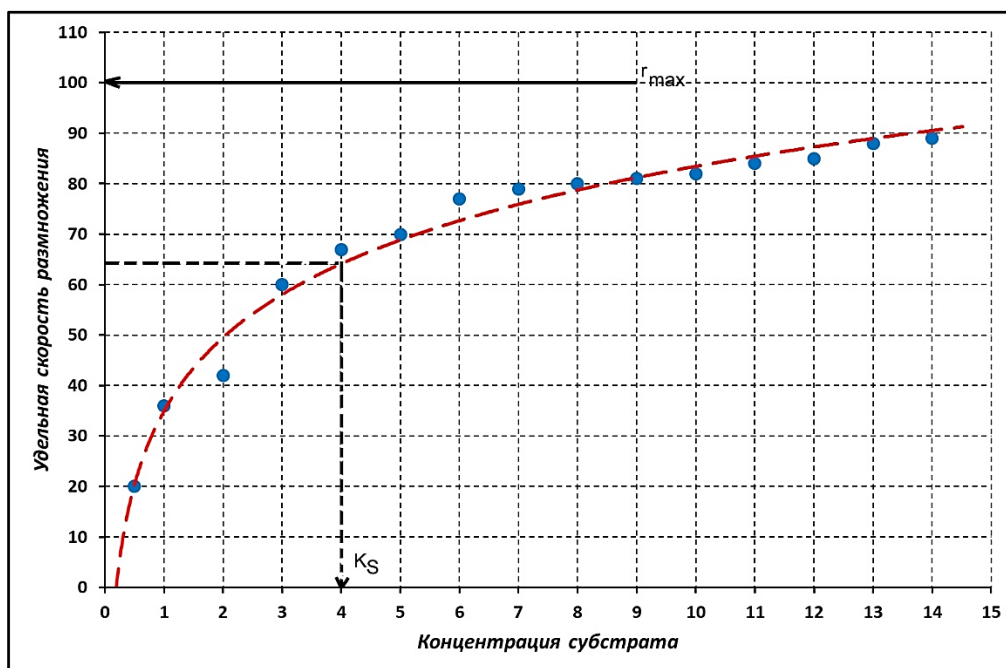


Рисунок 1 – Пример зависимости Моно

Задание. Для определения кинетических характеристик бактерии *Streptococcus ovulatus* изучали рост и размножение клеток этих бактерий при различных концентрациях питательного субстрата (пептона). Клетки выращивали в оптимальных условиях и через каждые полчаса измеряли оптическую плотность культуры (показатель численности популяции бактерий). Полученные в результате эксперимента данные отражены в таблице 1 и графики на ее основе – рисунки 2 и 3.

Таблица 1 – Оптическая плотность культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона

Время размножения, час	Оптическая плотность культуры (E_x) при различной концентрации субстрата				
	50 мг/л	100 мг/л	200 мг/л	400 мг/л	800 мг/л
0	0,13	0,13	0,1	0,15	0,11
0,5	0,17	0,16	0,13	0,2	0,18
1	0,18	0,21	0,19	0,28	0,27
1,5	0,25	0,25	0,25	0,43	0,37
2	0,3	0,35	0,32	0,6	0,49
2,5	0,35	0,45	0,5	0,83	0,76
3	0,41	0,6	0,62	1,33	1,07
3,5	0,54	0,83	0,95	1,82	1,76
4	0,64	1,05	1,37	2,42	2,36
4,5	0,79	1,35	1,8	3,63	3,97

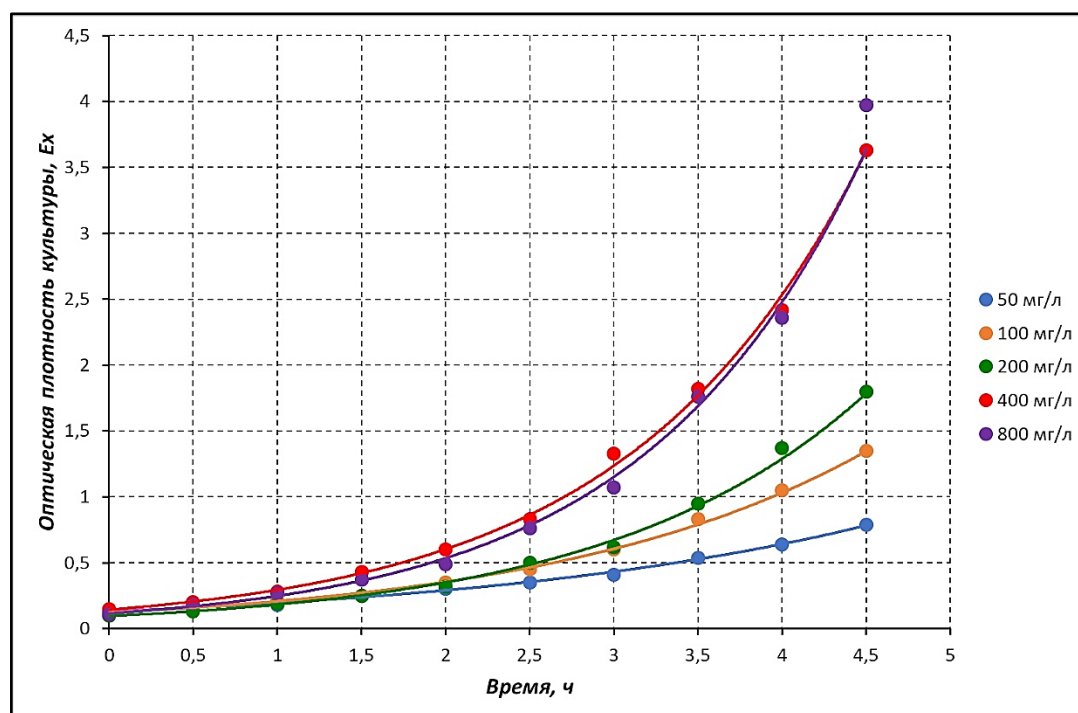


Рисунок 2 – Оптическая плотность культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона (график в MS Excel 2019)

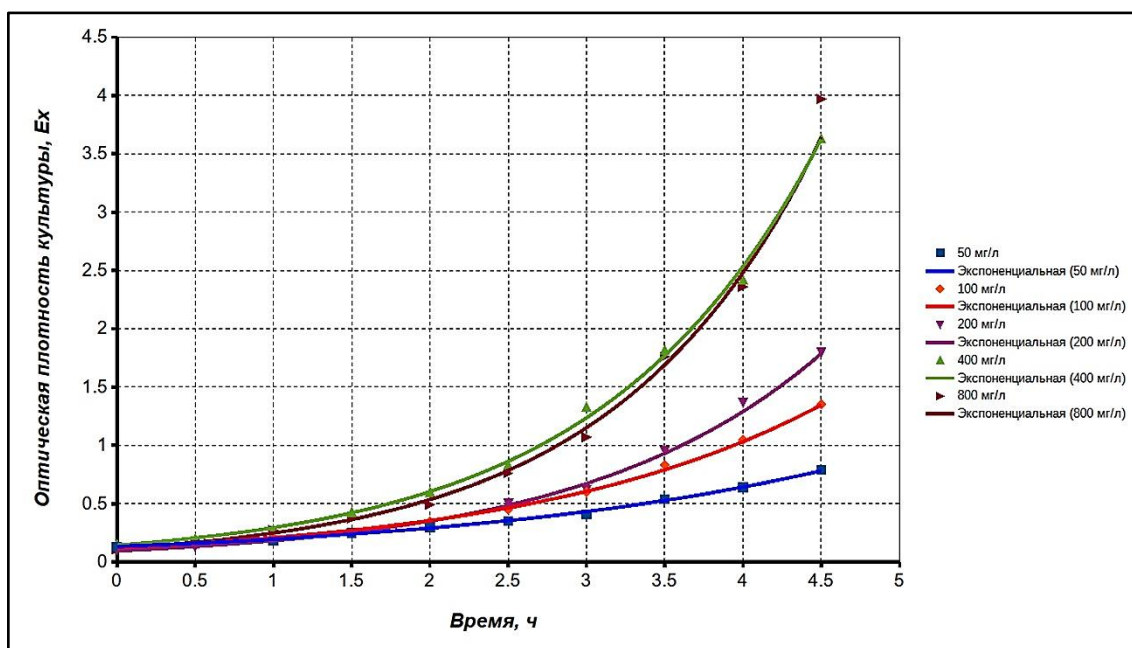


Рисунок 3 – Оптическая плотность культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона (график в LO Calc 7.6)

Необходимо определить на основе полученных экспериментальных данных кинетические параметры размножения клеток бактерии *S. ovulatus* (параметры уравнения Моно: r_{max} и K_s).

Решение:

Первоначально необходимо создать электронную таблицу (в MS Excel или LO Calc 7.6), содержащие экспериментальные данные из таблицы 1 (рисунок 4).

	A	B	C	D	E	F
1	Время размножения, час	Оптическая плотность культуры E_x при различной концентрации субстрата				
2						
3		50 мг/л	100 мг/л	200 мг/л	400 мг/л	800 мг/л
4	0	0,13	0,13	0,1	0,15	0,11
5	0,5	0,17	0,16	0,13	0,2	0,18
6	1	0,18	0,21	0,19	0,28	0,27
7	1,5	0,25	0,25	0,25	0,43	0,37
8	2	0,3	0,35	0,32	0,6	0,49
9	2,5	0,35	0,45	0,5	0,83	0,76
10	3	0,41	0,6	0,62	1,33	1,07
11	3,5	0,54	0,83	0,95	1,82	1,76
12	4	0,64	1,05	1,37	2,42	2,36
13	4,5	0,79	1,35	1,8	3,63	3,97

Рисунок 4 – Электронная таблица с данными по оптической плотности культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона

На **первом этапе** обработки данных можно найти показатель r_{max} для каждой концентрации пептона. Для этого в качестве показателя, отражаю-

щего относительные изменения численности популяции *S. ovulatus* во времени, необходимо использовать отношение соответствующих значений оптической плотности Ex_1/Ex_0 . В связи с чем необходимо ввести дополнительную переменную $\ln(Ex_1/Ex_0)$ и внести ее в рабочую таблицу. При расчете частного Ex_1/Ex_0 для каждой концентрации пептона берутся данные каждого последующего времени и делятся на первоначальное его значение, а затем оно логарифмуется (напомним, что $\ln(1)=0$). Получившиеся значения округлите до сотых. Итоговый результат сравните с рисунком 5.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Время	Оптическая плотность культуры E_x при различной концентрации субстрата					$\ln(Ex_1/Ex_0)$ при различной концентрации субстрата				
2	размножения, час										
3		50 мг/л	100 мг/л	200 мг/л	400 мг/л	800 мг/л	50 мг/л	100 мг/л	200 мг/л	400 мг/л	800 мг/л
4	0	0,13	0,13	0,1	0,15	0,11	0	0	0	0	0
5	0,5	0,17	0,16	0,13	0,2	0,18	0,27	0,21	0,26	0,29	0,49
6	1	0,18	0,21	0,19	0,28	0,27	0,33	0,48	0,64	0,62	0,9
7	1,5	0,25	0,25	0,25	0,43	0,37	0,65	0,65	0,92	1,05	1,21
8	2	0,3	0,35	0,32	0,6	0,49	0,84	0,99	1,16	1,39	1,49
9	2,5	0,35	0,45	0,5	0,83	0,76	0,99	1,24	1,61	1,71	1,93
10	3	0,41	0,6	0,62	1,33	1,07	1,15	1,53	1,82	2,18	2,27
11	3,5	0,54	0,83	0,95	1,82	1,76	1,42	1,85	2,25	2,5	2,77
12	4	0,64	1,05	1,37	2,42	2,36	1,59	2,09	2,62	2,78	3,07
13	4,5	0,79	1,35	1,8	3,63	3,97	1,8	2,34	2,89	3,19	3,59

Рисунок 5 – Рабочая таблица с данными по оптической плотности культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона

Затем необходимо построить график зависимости переменной $\ln(Ex_1/Ex_0)$ от времени размножения (график точечный с линейной линией тренда и с указанием уравнения функции на графике) и сравните с рисунком 6.

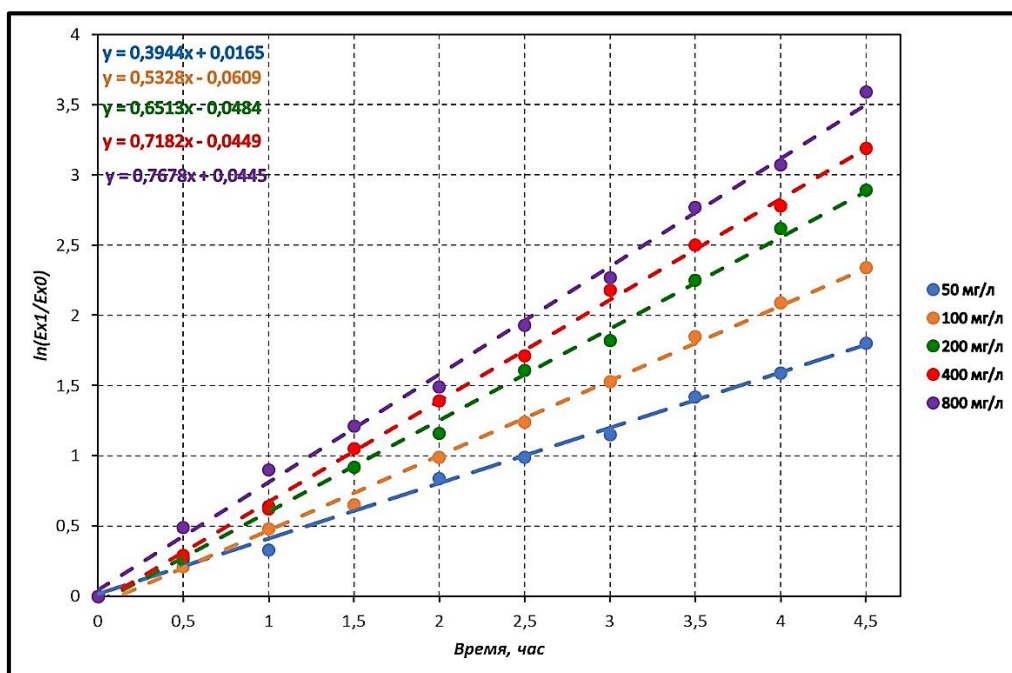


Рисунок 6 – Зависимости переменной $\ln(Ex_1/Ex_0)$ от времени размножения

Напомним, что полученные уравнения – это не что иное, как линейные уравнения $y = kx + b$, где значение коэффициента k , который определяет наклон графика и будет значение ежегодного прироста r . Полученные значения ежегодного прироста сопоставляются с концентрацией пептона и сводятся в таблицу (таблица 2) и на ее основе можно построить график (рисунок 7).

Таблица 2 – Удельная скорость размножения культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона

Концентрация лимитирующего субстрата S , мг/л	50	100	200	400	800
Удельная скорость размножения r	0,3944	0,5328	0,6513	0,7182	0,7678

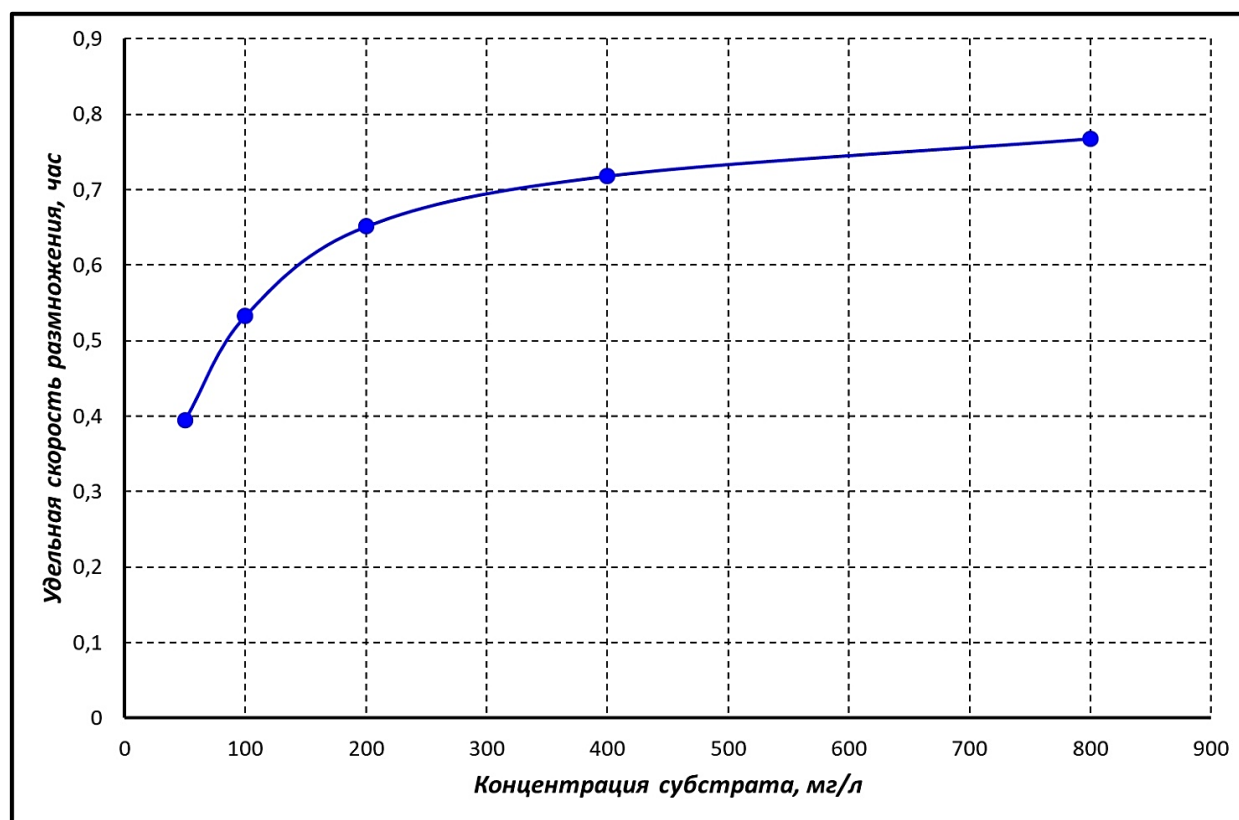


Рисунок 7 – Удельная скорость размножения культуры бактерии *S. ovulatus* при разной концентрации пептона

Получившийся график полностью соответствует графику зависимости Моно и для нахождения параметров этого уравнения (r_{max} и K_S) проще всего воспользоваться методом Корниш-Боудена. Чтобы построить график Корниш-Боудена **на втором этапе** решения для каждой пары $S-r$ из таблицы 2 на оси абсцисс влево (т.е. $-S$) будет откладываться отрицательное значение S , а по оси ординат – значение r . Соответственно, координаты точек будут иметь вид $\{-S; 0\}$ и $\{0; r\}$. Для удобства построения точечного графика линейных функций создадим рабочую таблицу по координатам (рисунок 8).

	A	B	C
1	Концентрация лимитирующего субстрата S, мг/л	Координаты x	Координаты y
2	800	-800	0
3		0	0,7678
4	400	-400	0
5		0	0,7182
6	200	-200	0
7		0	0,6513
8	100	-100	0
9		0	0,5328
10	50	-50	0
11		0	0,3944

Рисунок 8 – Рабочая таблица для построения графика Корниш–Боудена

График строится пошагово (иначе все появившиеся точки будут относиться к одной совокупности) и для начала нужно построить график для одной концентрации пептона, например, 800 мг/л (для примера из рисунка 8). После того, как точки будут отмечены, необходимо добавить линию тренда (линейную) с прогнозом (экстраполяцией) вперед на 200 периодов. Далее нужно добавить данные для построения графика концентрации 400 мг/л пептона. В рассматриваемых нами редакторах электронных таблиц это делается по-разному.

1. Добавление данных на график в MS Excel 2019

Для этого необходимо кликнуть правой кнопкой мыши по области построения графика и кликнуть на пункт «Выбрать данные» из контекстного меню (рисунок 9).

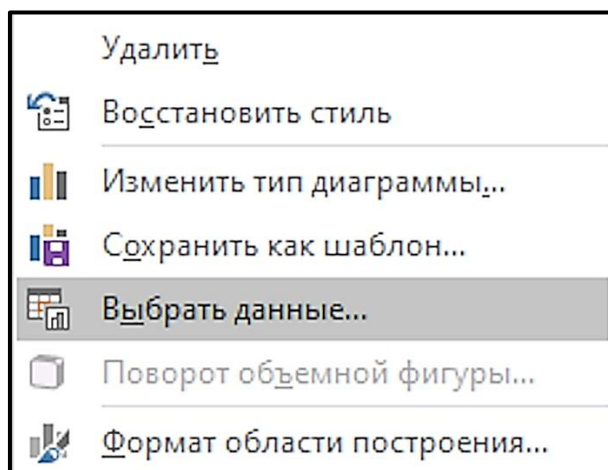


Рисунок 9 – Пункт «Выбрать данные» в контекстном меню MS Excel 2019

Далее, в левом боксе «Элементы легенды (ряды)» диалогового окна нужно нажать кнопку «Добавить» и в соответствующих боксах («Значения X» и «Значения Y») указать диапазон данных по оси абсцисс и ординат для

концентрации 400 мг/л из таблицы для графика Корниш-Боудена (рисунок 8). Подобным образом добавьте данные на график и для остальных концентраций пептона. После чего для каждой пары координат добавьте линию тренда подобно концентрации 800 мг/л, рассмотренной выше и сдвиньте в настройках графика пересечение оси ординат с осью абсцисс на самом минимальном значении последней (то есть максимально влево). Точка, в которой сошлись все получившиеся прямые и будет отправной для определения параметров уравнения Моно (r_{max} и K_s). Опустив вектор из этой точки вниз на пересечение с осью абсцисс, будет получено значение K_s (в нашем случае – 55 мг/л), а проводя вектор из точки пересечения влево, до оси ординат, будет определено значение r_{max} (в нашем случае – 0,82). Сравните получившиеся данные с рисунком 10.

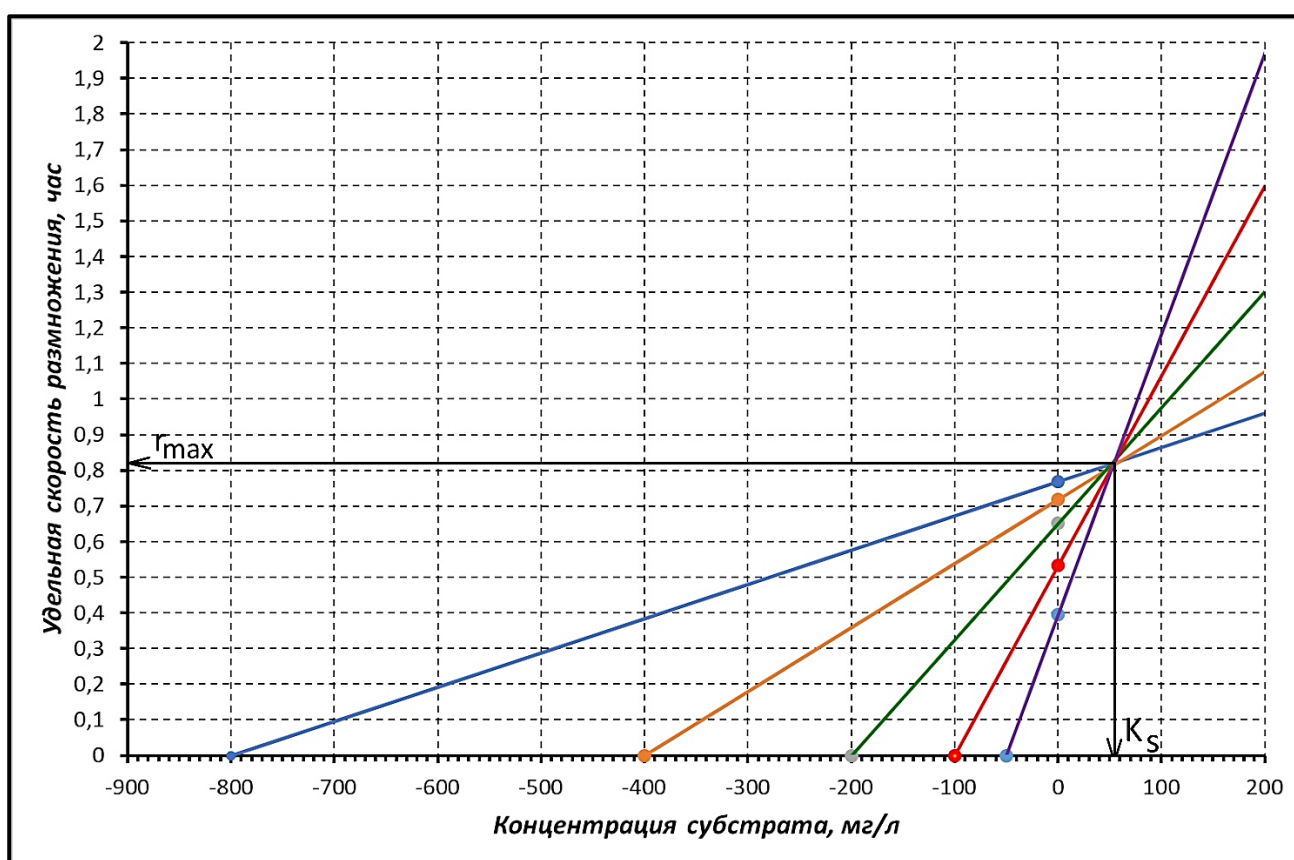


Рисунок 10 – График Корниша-Боудена для определения параметров уравнения Моно в MS Excel 2019

2. Добавление данных на график в LO Calc 7.6

Для начала строится первичный график для концентрации пептона, например, 800 мг/л (из данных рисунка 8). После чего нужно кликнуть правой кнопкой мыши по области построения графика и в контекстном меню выбрать опцию «Диапазоны данных» (рисунок 11).

Затем в появившемся диалоговом окне «Диапазоны данных» необходимо перейти в закладку «Ряды данных» и нажать кнопку «Добавить», после чего указать диапазон данных для X и Y. Такую же операцию нужно повторить для каждой оставшейся концентрации из таблицы (рисунок 8).

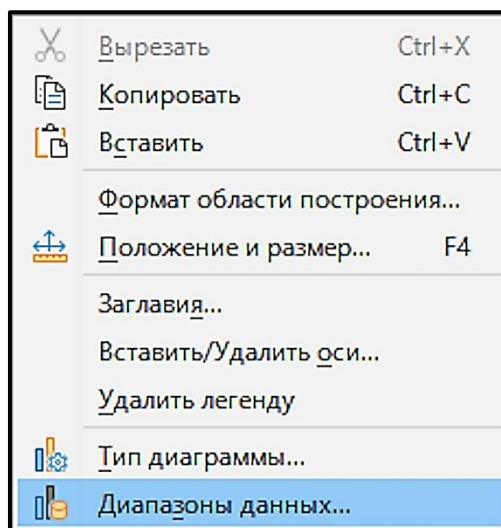


Рисунок 11 – Пункт «Диапазоны данных» в контекстном меню LO Calc 7.6

После того как пары точек добавлены на график, нужно для каждой пары добавить линию тренда (правая кнопка мыши на точке данных → пункт «Вставить линию тренда») и продлить ее (экстраполировать) на 200 позиций вперед (рисунок 12), а пересечение оси ординат с осью абсцисс сдвинуть максимально влево и получившийся график сравните с рисунком 13.

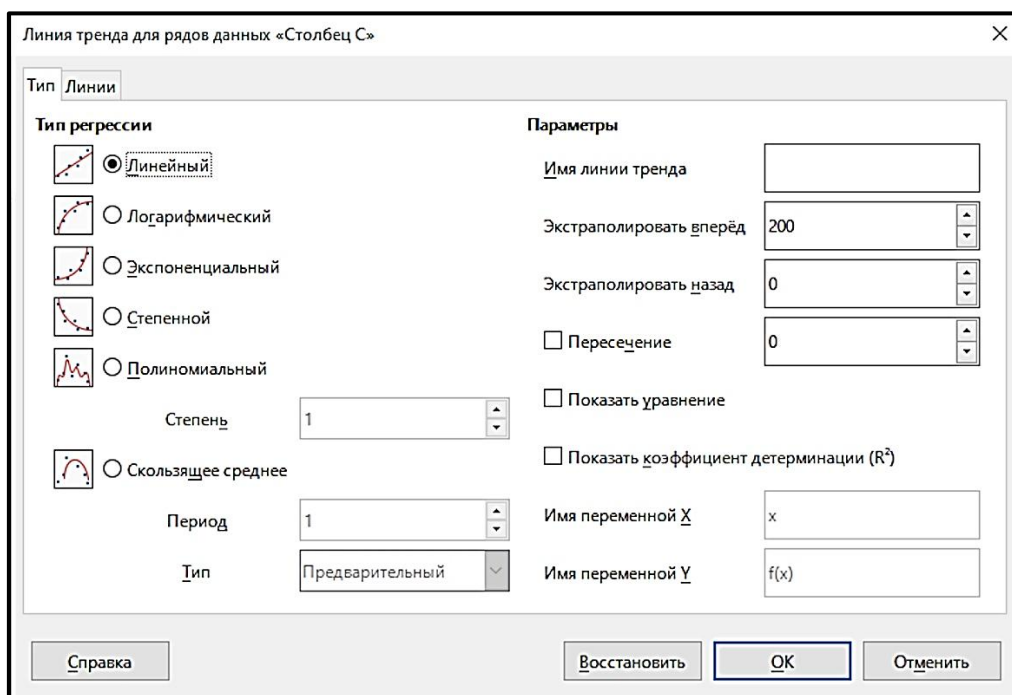


Рисунок 12 – Диалоговое окно «Линия тренда» в LO Calc 7.6

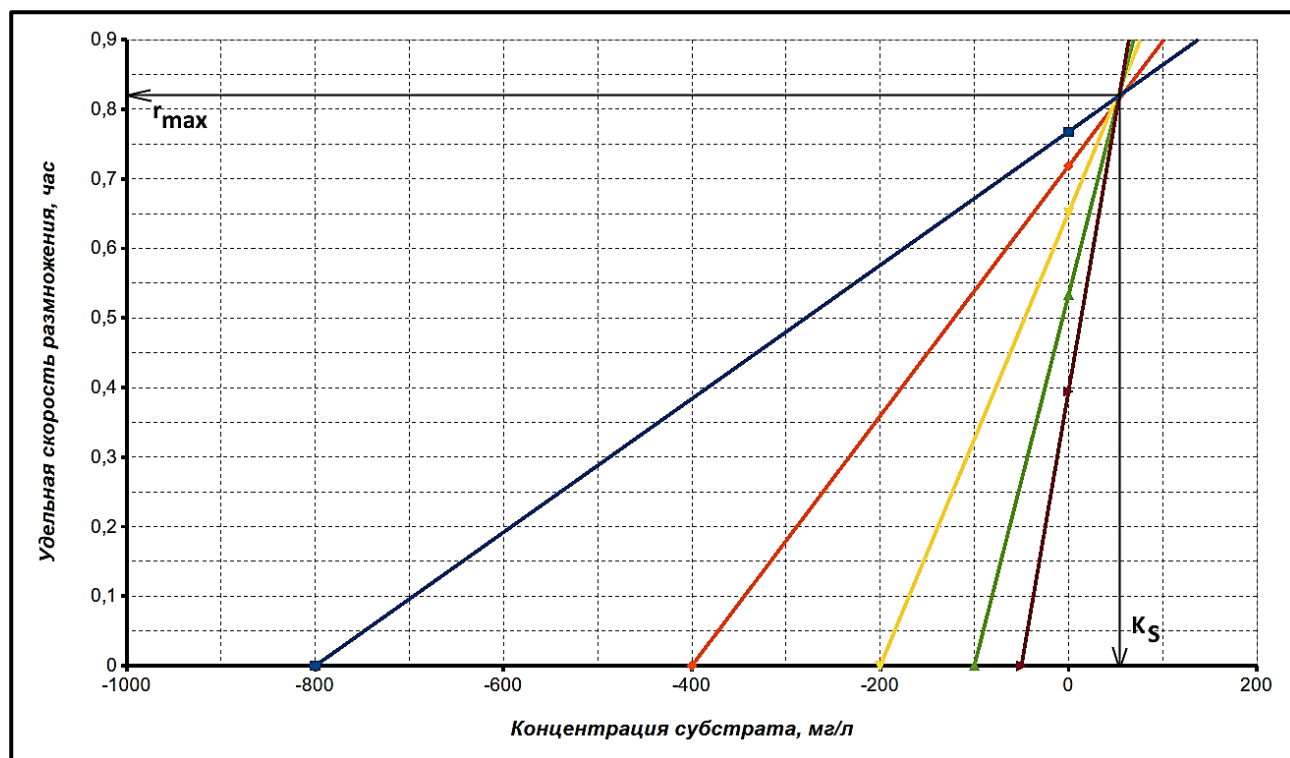


Рисунок 13 – График Корниша-Боудена для определения параметров уравнения Моно в LO Calc 7.6

Таким образом было выяснено, что зависимость рост и размножение клеток бактерии *Streptococcus ovulatus* подчиняется зависимости Моно, а также определены его кинетические параметры (r_{max} и K_s).

Задания для самоконтроля

1) Изучали кинетику размножения богомола обыкновенного (*Mantis religiosa*) в популяции окрестностей г. Гомеля. Во время исследований предположили, что интенсивность поедания пищи и скорость размножения в популяции прямо пропорциональны. В связи с этим измеряли зависимость между плотностью распределения пищи (чаще всего – короткоусые двукрылые) на 1 м^2 (x) и количеством пищи, съеденной в единицу времени одной особью (y):

x	0	0,001	0,002	0,004	0,008	0,016	0,018	0,020	0,032
y	0	5,8	9,3	14,4	18,3	21,4	23,1	23,5	25,4

Выявите зависимость потребления пищи богомолем, а также определите кинетические параметры интенсивности поедания пищи богомолем и с помощью уравнения подобного уравнению (1) плотность распределения кормовых объектов, при которой скорость размножения популяции богомола будет равна половине от максимальной.

2) Исследовали кинетику размножения мышовки лесной (*Sicista betulina*) в окрестностях скважин Южно-Осташковского нефтяного месторождения по тем же условиям, что и в задаче 1. Полученные данные о зависимости между плотностью распределения пищи (среднее число личинок и куколок жуков–ксилофагов на 1 м^2 – x) и средним числом личинок и куколок, поедаемых одной мышовкой (y) имели следующий вид:

x	0	10	20	40	60	100	150	200	250
y	0	2,65	5,21	9,68	24,9	51,9	70,2	79,3	85,0

Проанализируйте кинетику поедания личинок и куколок ксилофагов мышовкой лесной, определите значения соответствующих параметров. При решении задачи обратите внимание на то, что график зависимости между средним числом личинок и куколок на 1 м^2 и средним числом кормовых объектов, съеденных одной мышовкой, имеет два отличающихся участка.