

УДК 536.75: 576.8

НА ПУТИ К ФИЗИЧЕСКИМ ПРИНЦИПАМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

^{1,2}Брильков А.В., ^{2,1}Логинов Ю.Ю., ¹Логинов И.А., ³Брилькова Е.В.,
¹Золотов О.А., ¹Дубич В.В.

¹Сибирский федеральный университет;

²Сибирский государственный аэрокосмический университет им. ак. М.Ф. Решетнева;

³Институт биофизики СО РАН, Красноярск, e-mail: abrilkov@sfu-kras.ru

В экспериментах по микроэволюции генетически модифицированных бактерий (ГМО) при непрерывном культивировании показано, что при переходе от одного стационарного состояния к другому в открытой биологической системе скорость производства энтропии должна возрастать, а не уменьшаться, как следует из основных положений неравновесной термодинамики. С точки зрения термодинамики проточные культуры микроорганизмов – хемостат и турбидостат – это открытые термодинамические системы, способные находиться в устойчивых стационарных состояниях. Причем, в соответствии с классификацией М.Эйгена (1973), хемостат соответствует случаю постоянных потоков, а турбидостат – случаю постоянной организации. Несмотря на кажущееся разнообразие микроэволюционных переходов в двух типах открытых систем при их изучении обнаруживаются общие закономерности. Важнейшей из них является возрастание потока использованной популяциями свободной энергии, и, следовательно, возрастание теплорассеяния и скорости производства энтропии. Результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего развития термодинамической теории открытых биологических систем, дальнейшего изучения общих закономерностей биологического развития.

Ключевые слова: неравновесная термодинамика, теорема Пригожина о минимуме производства энтропии, открытые биологические системы, микроэволюция, генетически модифицированные организмы (ГМО), непрерывное культивирование, хемостат, турбидостат

TOWARDS THE PHYSICAL PRINCIPLES OF THE BIOLOGICAL EVOLUTION

^{1,2}Brilkov A.V., ^{2,1}Loginov Y.Y., ¹Loginov I.A., ³Brilkova E.V., ¹Zolotov O.A., ¹Dubich V.V.

¹Siberian Federal University;

²Siberian State Aerospace University named after M.F. Reshetnev;

³Institute of Biophysics Siberian Branch of RAS, Krasnoyarsk, e-mail: abrilkov@sfu-kras.ru

Our observations of the experimental evolution of genetically modified bacterial strains (GMO) during continuous cultivation indicate that the entropy production rate should increase in open biological system, in controversy with the general principles of the non equilibrium thermodynamics. From the point of view of thermodynamics a microbial continuous cultures – the chemostat and the turbidostat – are open thermodynamic systems able to stay in stable steady states. According to the M. Eigen(1973) classification, the chemostat corresponds to the case of constant flows (constant dilution rate), whereas the turbidostat – to the case of constant organization (constant population density). As follows from the Prigogine's minimum entropy production theorem the entropy production rate should decrease in the processes of the steady states evolution in open systems of both types. However the flow of free energy used by open biological systems of both types increases in this case, consequently, the heat-dissipation which characterizes the entropy production rate should also increase. So, the necessity of the further development of the thermodynamic theory of open biological systems and the implementation of physical principles of the biological evolution is obvious.

Keywords: thermodynamics; Prigogine's minimum entropy production theorem; open biological systems; experimental evolution; genetically modified organisms (GMO); continuous culture; chemostat, turbidostat

Статья представляет собой краткий обзор подходов к разработке физических принципов биологической эволюции. Показано, что в процессе экспериментальной эволюции генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО) в открытой биологической системе скорость производства энтропии должна возрастать, а не уменьшаться, как следует из основных положений неравновесной термодинамики. С точки зрения термодинамики, непрерывные культуры микроорганизмов – это открытые термодинамические системы, способные находиться в устойчивых стационарных состояниях. В соответствии с классификацией М. Эйгена (1973), хемостат соответствует случаю постоянных потоков (постоянная

скорость разбавления среды), в то время как турбидостат – случаю постоянной организации (постоянная плотность популяции микроорганизмов). Как следует из общих принципов неравновесной термодинамики (теорема Пригожина) открытые системы обоих типов в стационарном состоянии должны эволюционировать в направлении снижения скорости производства энтропии. Наши наблюдения экспериментальной эволюции микроорганизмов, в том числе и ГМО, при непрерывном культивировании в хемостате и турбидостате противоречат этому. Результаты экспериментов свидетельствуют о необходимости дальнейшего развития термодинамической теории открытых биологических систем, дальнейше-

го изучения общих закономерностей биологического развития.

Непрерывные культуры микроорганизмов. В начале 50-х годов прошлого века были обоснованы и стали широко применяться в экспериментах два типа непрерывного (проточного) культивирования микроорганизмов – с постоянным протоком питательной среды через культиватор (хемостат) и постоянной оптической плотностью суспензии микроорганизмов в культиваторе (турбидостат) [1, 2, 3].

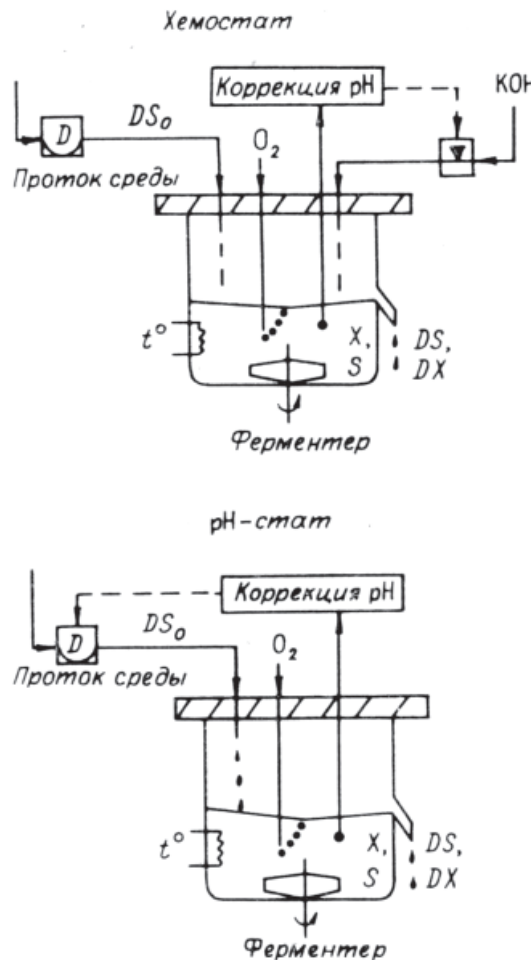


Рис. 1. Принципиальные особенности двух типов непрерывной культуры микроорганизмов – хемостата и турбидостата (pH-стата)

Принципиальные особенности двух типов непрерывной культуры микроорганизмов – хемостата и турбидостата – приведены на рис. 1 (изображен распространенный вариант турбидостата – pH-стат). В хемостате это – постоянный проток питательной среды с удельной скоростью разбавления D , в турбидостате – постоянство плотности популяции микроорганизмов, которое обеспечивается регулировкой скорости разбав-

ления среды. С помощью технических следящих устройств свежая питательная среда подается со скоростью, равной скорости прироста популяции. Поясним разницу на распространенной математической модели непрерывной культуры Моно-Герберта [4]:

$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= \mu X - DX; \\ \frac{dS}{dt} &= DS_0 - \mu \frac{X}{Y} - DS; \end{aligned} \quad (1)$$

$$\mu = \mu_m S / (K_s + S),$$

где X – плотность популяции микроорганизмов; S_0, S – концентрация субстрата во входной среде и в культиваторе; μ – удельная скорость роста популяции; Y – коэффициент экономичности использования субстрата; функция $\mu = \mu(S) = \mu_m S / (K_s + S)$ – зависимость удельной скорости роста популяции микроорганизмов от концентрации субстрата выбрана в наиболее распространенной форме записи по Моно в виде кривой с насыщением; K_s – константа полунасыщения; μ_m – константа максимальной скорости роста популяции.

В хемостате $D = \text{const}$ и при $\mu(S) = D$ из уравнений (1) можно найти стационарные значения X и S соответственно:

$$X^* = Y(S_0 - S^*), \quad (2)$$

$$S^* = K_s D / (\mu_m - D).$$

В отличие от хемостата, в турбидостате экспериментатором задается постоянная плотность популяции микроорганизмов $X_0 = \text{const}$, а удельная скорость разбавления D определяется уравнением регулятора, например, в самом простейшем случае, линейного типа:

$$D = k(X - X_0), \quad (3)$$

где X_0 – заданная плотность популяции; k – постоянная регулирования, $k > 0$.

Стационарные значения фактической плотности популяции микроорганизмов и концентрации субстрата в культиваторе в турбидостате при выполнении равенства $\mu(S) = D$ следующие:

$$X^* = \mu(S^*)/k + X_0, \quad (4)$$

$$S^* = S_0 - X^*/Y.$$

Из выражений (4) следует, что в стационарном состоянии в турбидостате с регулятором линейного типа, задаваемым уравнением (3), устанавливается плотность популяции микроорганизмов X^* несколько выше необходимого экспериментатору значения X_0 – на малую величину $\varepsilon = \mu(S^*)/k$.

При использовании регуляторов других типов действительная плотность популяции X^* может быть и немного меньше задаваемого значения X_0 .

Турбидостатные методы культивирования технически сложнее и используются реже, большей частью благодаря тому, что они позволяют исследовать разнообразные ограничения роста популяций микроорганизмов, поскольку при ограничении роста популяции микроорганизмов внешним ингибитором хемостат неустойчив [4]. В экологических исследованиях турбидостат обычно соответствует росту популяций в нелимитированных по ресурсам условиях, что в природе может встречаться на ранних фазах экологической сукцессии, например, при заселении новой экологической ниши. Непрерывное культивирование в хемостате с глубоким лимитированием роста субстратом является аналогом большинства природных ситуаций, где встречается ограничение роста недостатком питательных веществ, витаминов, элементов или микроэлементов. Очевидно, что при использовании достаточно точного регулятора плотности популяции в турбидостате или его аналогах (уравнение (3)) можно в принципе задать любую степень лимитирования роста популяции микроорганизмов недостатком определенного субстрата, т.е. так же, как и в хемостате. Однако закономерности микроэволюции микробных популяций при длительном развитии в этих двух типах открытых систем, как мы увидим ниже, отличаются.

«Экспериментальные эволюционные машины» [1, 4-6]. Здесь необходимо подчеркнуть два важных свойства турбидостата и хемостата. С точки зрения функционирования открытых систем хемостат и турбидостат – это термодинамические системы, способные находиться в устойчивых стационарных состояниях. Причем, в соответствии с классификацией М. Эйгена, хемостат соответствует случаю постоянных потоков, а турбидостат – случаю постоянной организации (или постоянных реакционных сил). Несмотря на кажущееся кинетическое разнообразие эволюционных переходов в этих двух типах открытых систем, при их изучении обнаруживаются общие закономерности, прежде всего, возрастание потока использованной популяцией энергии $H_{исп}$ (рис. 2). Энергетический подход к описанию общих закономерностей биологической эволюции на различных уровнях организации биологических объектов был разработан в трудах А. Лотки, Х. Моровица, Г. Одума, Н.С. Печуркина и др. [6-10]. Недавно эти представления

были развиты и обобщены Н.С. Печуркиным в виде энергетических принципов биологической эволюции [6]. Первый принцип экстенсивного развития заключается в максимизации в процессе эволюции потока внешней энергии, используемой популяцией, второй принцип интенсивного развития устанавливает максимум потока используемой энергии на единицу биологической структуры [6].

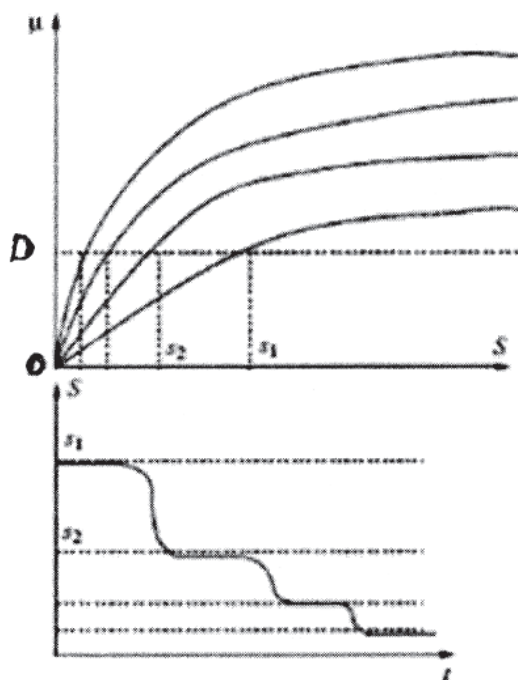


Рис. 2. Снижение стационарной («остаточной») концентрации субстрата, лимитирующего рост популяции микроорганизмов, в процессе микроэволюции при длительном непрерывном культивировании в хемостате (схема)

Эволюция самовоспроизводящихся молекулярных структур типа гиперциклов (замкнутых цепочек из ферментов и нуклеиновых кислот) в двух типах открытых систем изучалась М. Эйгеном [11]. Он рассматривал конкуренцию гиперциклов в открытых системах при двух типах селекционных ограничений: постоянные потоки (аналог хемостата) и постоянная организация (аналог турбидостата). Близость его результатов к расчетам по кинетике эволюционных переходов в микробных популяциях оказалась удивительной [12]. Если же дополнить расчеты, введя поток богатых энергией мономеров, которые служат источником энергии и вещества для синтеза полимеров, то выполнение энергетического принципа экстенсивного развития Н.С. Печуркина становится совершенно очевидным для обоих случаев селекционных ограниче-

ний. Рассмотрим этот случай подробнее, поскольку он изучен лучше.

В соответствии с классификацией М. Эйгена [6], экспериментальной эволюционной системой, соответствующей случаю постоянных потоков, является хемостат, в котором развивается генетически неоднородная популяция микроорганизмов. Для хемостата основное условие – это постоянство скорости разбавления среды: $D = \text{const}$.

Запишем систему уравнений для развития некоторой i -й мутантной популяции микроорганизмов X_i в хемостате, пренебрегая потоком обратных мутаций (см. схему на рис. 2):

$$\begin{aligned} \frac{dX_i}{dt} &= \mu_i X_i - DX_i; \\ \frac{dS}{dt} &= DS_0 - \frac{\mu_i X_i}{Y_i} - DS; \\ \mu_i &= \mu_{\max,i} S / (K_{s,i} + S), \end{aligned} \quad (5)$$

где X_i – плотность i -й мутантной популяции микроорганизмов; μ_i – удельная скорость размножения i -й мутантной популяции микроорганизмов; D – удельная скорость разбавления среды; S – концентрация субстрата в культиваторе; S_0 – концентрация субстрата в среде на входе в культиватор; Y_i – коэффициент экономичности использования субстрата микроорганизмами; $K_{s,i}$, $\mu_{\max,i}$ – константы Моно для i -й мутантной популяции микроорганизмов.

Для стационарного состояния i -й мутантной популяции X_i , имеем следующие решения:

$$\begin{aligned} X_i^* &= Y_i(S_0 - S_i^*), \\ S_i^* &= K_{s,i} D / (\mu_{\max,i} - D). \end{aligned} \quad (6)$$

Анализ оказывает, что стационарное состояние i -й мутантной популяции (X_i^* , S_i^*) устойчиво по Ляпунову и глобально устойчиво в том случае, если S_i^* является наименьшей стационарной концентрацией лимитирующего рост субстрата по сравнению с аналогичными концентрациями для всех других популяций, включая исходную и всевозможные мутантные [13, 14].

Это означает, что данная i -я мутантная популяция X_i выигрывает в конкуренции за субстрат у всех остальных и устойчиво существует в хемостате до тех пор, пока не появится некоторая другая мутантная форма X_k стационарная концентрация субстрата S_k^* для которой будет еще меньше: $S_k^* < S_i^*$. Таким образом, появление мутантов с повышенной скоростью роста в хемостате всегда приводит к снижению стацио-

нарной концентрации лимитирующего рост субстрата S_i^* .

Типичная схема микроэволюционных переходов в микробных популяциях, развивающихся в хемостате с лимитированием роста по субстрату, выглядит следующим образом (см. рис. 2, см. также [1, 4, 5]). При появлении, более активного мутанта будет происходить переход к еще более низкой стационарной величине S_i^* , и, таким образом, можно наблюдать эволюцию стационарных состояний. При постоянстве D (условие хемостата) будет возрастать степень использования субстрата, т.е. снижаться остаточная, неиспользованная концентрация лимитирующего рост субстрата. Иными словами, будет возрастать его использованная доля, и, таким образом, для хемостата как термодинамической системы с постоянными потоками выполняется энергетический принцип экстенсивного развития Н.С. Печуркина – поток энергетического субстрата возрастает в процессе микроэволюции [6].

Микроэволюционные переходы в турбидостате относятся пока к менее изученным, и экспериментально, и теоретически. Поскольку в турбидостате поддерживается постоянная плотность популяции $X_0 = \text{const}$, то при неизменной концентрации субстрата на входе S_0 изменение экономичности использования субстрата Y_i у мутантной популяции должно, в принципе, привести к изменению стационарной концентрации субстрата S_i^* в турбидостате (ее еще называют «остаточной» концентрацией субстрата). Следовательно, при этом должна измениться и удельная скорость роста исходной и мутантной популяций, благодаря чему создается селективное преимущество мутантной формы по сравнению с исходной.

Анализ математической модели микроэволюции для турбидостата (выражения (1), (3), (5)) показывает, что остаточная концентрация субстрата у популяции мутанта, заместившего исходную популяцию в турбидостате, не всегда минимальна. Таким образом, классические хемостатные критерии микроэволюции и конкурентоспособности популяций, основанные на снижении остаточной концентрации субстрата или большем наклоне зависимости $m(S)$ у популяции, выигравшей в конкуренции, в турбидостате не работают [4]. Более общим критерием микроэволюции и для хемостата, и для турбидостата является возрастание потока энергетического субстрата $H_{\text{исп}}$, использованного популяцией, победившей в конкуренции [14].

Термодинамические критерии эволюции. Физические принципы эволюции от-

крытых термодинамических систем (теорема Пригожина, принцип Онзагера) противоречат развитию реальных живых систем, которые в своем развитии явно увеличили и рассеяние, и использование потоков энергии, поглощаемых из окружающей среды [6-12, 15-20]. Направление эволюции стационарных состояний в открытых системах в соответствии с теоремой И. Пригожина, как показано ниже, не соответствует наблюдаемому в экспериментах с трансгенными микроорганизмами пути эволюции этих состояний.

Известно, что существование общих термодинамических критериев эволюции биологических систем как открытых систем вдали от равновесия само по себе вызывает сомнения [15-17]. Экспериментальные измерения скорости образования энтропии биологической системы в принципе можно сделать по скорости теплопродукции при необратимых изменениях в системе. Конечно, необходимо учитывать, что теплопродукция организмов зависит и от состояния мембранных структур, и от состояния энергетического метаболизма и т.д. [15]. Этим требованиям вполне отвечают стационарные состояния в непрерывной культуре микроорганизмов, в особенности микроэволюционные переходы, связанные с процессами перестройки генетической структуры популяции, такие как, например, потеря плазмид клетками генетически модифицированных микроорганизмов (ГМО), без изменения типа и состояния энергетического метаболизма клеток.

К настоящему времени хорошо известно, что трансгенные штаммы бактерий, содержащие клонированные гены в составе плазмид, легко теряют плазмиды и быстро замещаются бесплазмидными вариантами при культивировании в проточных условиях в непрерывной культуре (в хемостате или турбидостате). Потерю признака, детерминируемого клонированными в плаزمиде генами, в этих процессах микроэволюции трансгенных плазмидсодержащих бактерий легко наблюдать в экспериментах [21]. Удельная скорость размножения бесплазмидных вариантов значительно превышает аналогичную у плазмиднесущих бактерий, вынужденных расходовать дополнительные энергетические ресурсы на обеспечение функции клонированных в плазмиде генов. Показано, что удельная скорость теплопродукции популяции микроорганизмов в непрерывной культуре прямо пропорциональна удельной скорости роста, или, в более общем случае, – потоку энергетического субстрата, использованного популяцией [22, 23].

Следовательно, при переходе от одного стационарного состояния к другому в процессе микроэволюции микробных популяций в открытой системе удельная скорость теплопродукции, а с ней и скорость прироста энтропии, по-видимому, должна возрастать, а не уменьшаться, как полагают М. Эйген [11], Г. Николис и И. Пригожин [18], В. Эбелинг [19], А.И. Зотин с соавт. [20] и другие исследователи. Очевидное противоречие физических принципов развития открытых биологических систем и количественных критериев, основанных на экспериментах с проточными популяциями микроорганизмов, нуждается в экспериментальном подтверждении. Соответствующая проверка была проведена нами в экспериментах на примере микроэволюции трансгенных штаммов бактерий (ГМО).

Эксперименты по микроэволюции трансгенных бактерий (ГМО) в открытых системах. В экспериментах изучали микроэволюцию трансгенных плазмидсодержащих штаммов бактерий *Escherichia coli* MG1655, связанную с потерей признака, детерминируемого генами, клонированными в плазмиде, при длительном непрерывном культивировании в *pH*-стате (аналог турбидостата).

Для удобства наблюдения микроэволюционных переходов в популяции микроорганизмов использовались бактерии *Escherichia coli* MG1655 (pGLO), (Ap, GFP), с плазмидами, содержащими клонированные гены зеленого флуоресцентного белка GFP. Плаزمида pGLO, содержащая ген GFP сконструирована в лаборатории Biogad (США), уровень экспрессии клонированных генов легко контролируется с помощью флуориметра. Долю мутантных клеток в популяции бактерий, потерявших маркерный признак флуоресценции, легко наблюдать после посева на чашки Петри с агаризованной средой, либо непосредственно в самой пробе при микроскопировании [24]. Штамм *Escherichia coli* MG1655 (pGLO), (Ap,GFP) любезно предоставлен проф. Б. Левином (университет Эмори, Атланта, США), содержит клонированный ген зеленого флуоресцентного белка GFP под контролем арабинозного промотора. Таким образом, уровень экспрессии GFP зависит от концентрации арабинозы в среде [24].

Определяя селективное преимущество бесплазмидных штаммов, можно оценить давление отбора против плазмидсодержащих штаммов популяции бактерий с определенным уровнем экспрессии (выражения) признака. Одновременно в стационарном состоянии определяется скорость потребления энергетического субстрата, в данном случае арабинозы, которая характеризует энергети-

ческую стоимость поддержания признака, детерминируемого плазмидными генами трансгенных бактерий.

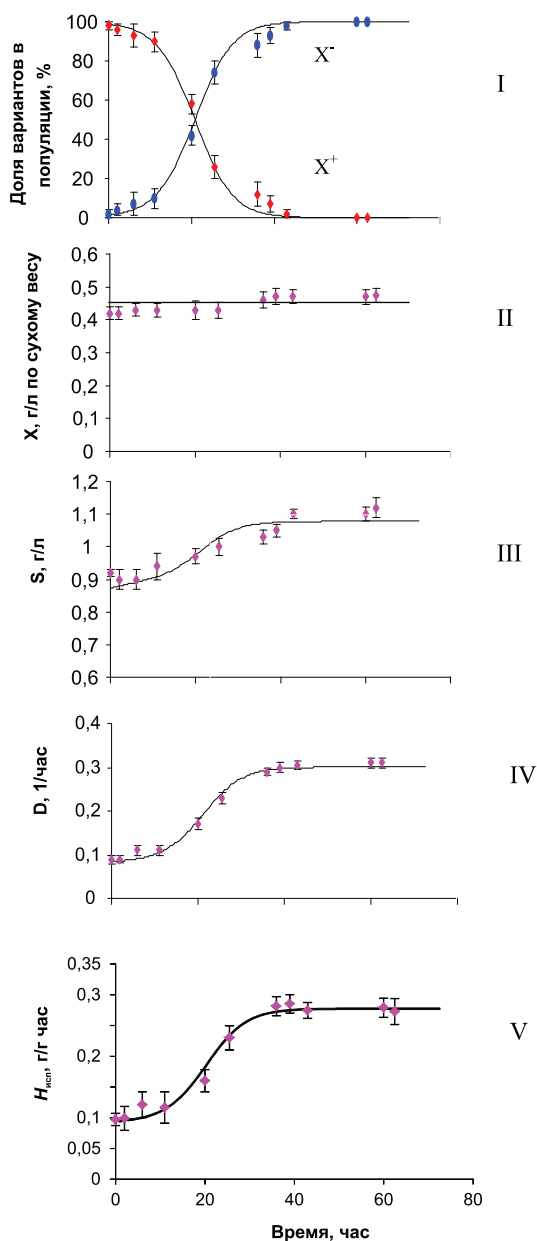


Рис. 3. Замещение исходной плазмидсодержащей популяции трансгенных бактерий *Escherichia coli* MG1655 (pGLO), (Ap,GFP) бесплазмидной популяцией при длительном непрерывном культивировании в рН-стате (турбидостате). I – доля плазмидсодержащих и бесплазмидных клеток в популяции бактерий, %; II – динамика плотности популяции (приведена концентрация биомассы, г/л); III – возрастание стационарной («остаточной») концентрации субстрата в турбидостате в процессе замещения, г/л; IV – возрастание удельной скорости разбавления среды, ч⁻¹; V – возрастание потока энергетического субстрата (арабинозы), использованного популяцией бактерий, $H_{исп}$, г/г час

Типичные экспериментальные данные по микроэволюционным переходам в рН-стате (турбидостате) приведены на рис. 3 (замещение исходного плазмидсодержащего штамма бактерий *Escherichia coli* MG1655 (pGLO), (Ap,GFP) бесплазмидной популяцией при длительном непрерывном культивировании). Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что:

1) в процессе микроэволюции популяции плазмидсодержащих трансгенных бактерий в турбидостате происходит возрастание стационарной (остаточной) концентрации субстрата S^* (см. рис. 3);

2) в процессе микроэволюции популяции трансгенных плазмидсодержащих бактерий в турбидостате, также как и в хемостате (см. рис. 2), возрастает поток использованного популяцией бактерий энергетического субстрата ($H_{исп}$).

Таким образом, внешний поток свободной энергии, используемый открытой биологической системой, в данном случае, популяцией трансгенных бактерий, а с ним и теплорассеяние возрастает в процессе ее эволюционного развития. Следовательно, скорость прироста энтропии также должна возрастать при самопроизвольном переходе от одного стационарного состояния к другому в процессе микроэволюции, а не уменьшаться, как это следует из основных положений неравновесной термодинамики (см. например, [11, 15-20]).

Проведенное в настоящей работе экспериментальное изучение микроэволюционных переходов в популяции трансгенных бактерий (ГМО), связанных с потерей признаков, детерминируемых клонированными генами, требует дальнейшего развития термодинамической теории открытых биологических систем, уточнения физических принципов биологической эволюции.

Исследования по изучению закономерностей микроэволюции трансгенных бактерий (ГМО) проводятся при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 г., проект НК-550П/2.

Список литературы

1. Gitelson I.I., Pechurkin N.S., Bril'kov A.V. Population Problems in the Biology of Unicellular Organisms. – London: Harwood Academic Publ. GmbH (United Kingdom), 1989. – P. 1–77.
2. Monod J. La technique de culture continue. Theorie et applications // Ann. Inst. Past. – 1950. – Vol. 79. – P. 390–410.
3. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat // Science. – 1950. – Vol. 112. – P. 715–718.
4. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология. – Новосибирск: Наука, 1978. – С. 1–278.
5. Wick L.M., Weilenmann H., Egli T. The apparent clock-like evolution of *Escherichia coli* in glucose-limited chemostats is reproducible at large but not at small population sizes and can

be explained with Monod kinetics // *Microbiology*. – 2002. – Vol. 148. – С. 2889–2902.

6. Печуркин Н.С. Энергетические аспекты развития надорганизменных систем. – Новосибирск: Наука, 1982. – С. 1–113.

7. Pechurkin N.S. Quantitative criteria for estimation of natural and artificial ecosystems functioning // *Adv. Space Res.* – 2005. – Vol. 35, №9. – P. 1507–1511.

8. Hannon Bruce. The role of input-output analysis of energy and ecologic systems / Bruce Hannon // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1185. – P. 30–38.

9. Morowitz Harold J., Smith Eric. Energy flow and the organization of life / Harold J. Morowitz, Eric Smith // *Complexity*. – 2007. – Vol. 13, №1. – P. 51–59.

10. Odum Howard T. Environment, power, and society for the twenty-first century: the hierarchy of energy / Howard T. Odum. – N.Y. e. a.: Columbia University Press, 2007. – P. 1–418.

11. Эйген М. Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул. – М.: Мир, 1973. – С. 1–216.

12. Печуркин Н.С., Никифорова Н.В., Дегерменджи А.Г. Сравнительный анализ эволюции гиперциклов Эйгена и микробных популяций в открытых системах // *Биофизика*. – 1982. – Т. 27, №2. – С. 297–303.

13. Hsu S.B., Hubbell S.P., Waltman P.A mathematical theory for single-nutrient competition in continuous cultures of microorganisms // *SIAM J. Appl. Maths.* – 1977. – Vol. 32. – P. 366–383.

14. Brilkov A.V., Bogucharov A.A. Energetic principles of autoselection in microorganisms continuous culture // *Abstr. 9th ISCC*. – Hradec Kralove (CSSR), 1987. – P. 8.

15. Рубин, А. Б. Термодинамика биологических процессов // *Сорос. образов. журн.* – 1998. – №10. – С. 77–83.

16. Мартюшев Л.М. Принцип максимальности производства энтропии в физике и смежных областях / Л.М. Мартюшев, В.Д. Селезнев. – Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2006. – 83 с.

17. Axel Kleidon, Yadvinder Malhi and Peter M. Cox. Maximum entropy production in environmental and ecological systems // *Phil. Trans. R. Soc. B*. – 2010. – Vol. 365. – P. 1297–1302.

18. Николис Г., Пригожин И. Самоорганизация в неравновесных системах: от диссипативных структур к упорядоченности через флуктуации. – М.: Мир, 1979. – С. 1–512.

19. Эбелинг В., Энгель А., Файстель Р. Физика процессов эволюции. – М.: Эдиториал УРСС, 2001. – С. 1–328.

20. Зотин А.И., Зотин А.А. Направление, скорость и механизмы прогрессивной эволюции: Термодинамические и экспериментальные основы. – М.: Наука, 1999. – С. 1–320.

21. Ganusov V.V., Brilkov A.V. Estimating the instability parameters of plasmid-bearing cells. I. Chemostat culture // *Journal of Theoretical Biology*. – 2002. – Vol. 219, № 2. – P. 193–205.

22. Ishikawa Y., Shoda M. Calorimetric Analysis of *Escherichia coli* in Continuous Culture // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1983. – Vol. 25. – P. 1817–1827.

23. Brettel R., Corti L., Lamprecht I., Schaarschmidt B. Combination of a continuous culture with a flow-microcalorimeter // *Studia biophysica*. – 1972. – B. 34, H. 1. – S. 71–75.

24. Siegele D.A., Hu J.C. Gene expression from plasmids containing the *araBAD* promoter at subsaturating inducer concentrations represents mixed populations // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1997. – Vol. 94. – P. 8168–8172.