

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA INFORMAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

Modelování a simulace – simulační studie
Studie morfologie kolonie hub
pomocí celulárního automatu

4. prosince 2022

Hung Do (xdohunoo)
Marek Dohnal (xdohna48)

Obsah

1	Procesy v koloniích hub	2
2	Návrh modelu kolonie	2
3	Implementace modelu	3
4	Nastavená pravidla modelů automatu	3
4.1	Pravidla prvního modelu	4
4.2	Pravidla druhého modelu	4
4.3	Pravidla rozšířeného druhého modelu	5
5	Simulace kolonie rozšířeného druhého modelu	5
6	Zhodnocení rozšířeného druhého modelu	8

I Procesy v koloniích hub

V koloniích hub můžeme nalézt mnoho komplexních biologických procesů, které vykazují různé charakteristiky, lišící se napříč rozmanitými druhy v říši Fungi, mezi nejznámější z nich patří fermentace, která se využívá například pro zvýšení trvanlivosti potravin. Do příčin rozdílů mezi procesy přítomnými v koloniích hub lze řadit způsob, jakým se houba rozmnožuje (sexuálně, asexuálně), nebo metodu příjmu potravy (symbioticky, parazitně, saprofiticky).

Naše studie se soustředí na užší skupinu těchto procesů. Zaměřujeme se na kolonii hub, rostoucí na zdroji živin, který konzumuje, a se kterým dále neinteraguje. Důsledkem konzumace živin se může kolonie nepohlavně rozmnožovat dělením jedinců, biomasa se takto rozrůstá a následkem expanze kolonie ubývá živin z prostředí. Morfologie, hustota a velikost výsledné kolonie se liší z velké části na základě množství živin, které prostředí poskytuje. Substrát, obsahující nižší počet živin, vede k řidší kolonii, ve které se vyskytuje viditelné větvení. Prostor s vysokou koncentrací živin naopak produkuje kolonie uniformní a husté biomasy [1] [2].

Charakteristika růstu kolonií hub byla předmětem dvou studií, které k modelování přistupují různými způsoby. První studie předkládá několik modelů založených na celulárních automatech s různě složitými tranzitivními funkcemi, avšak neexperimentuje s různým množstvím živin v prostředí [1]. Druhá studie se blíže zaměřuje na morfologii kolonie, a simuluje její vývoj pomocí komplexnějšího matematického modelu, využívajícího diferenciálních rovnic. Výstupem je více či méně členitá vrstevnice, která „roste“ z počáteční úsečky spor. [2]

Cílem naší studie je zjistit, zda lze upravit některý z modelů navržen Josephem Laszlem a Robertem Silmanem [1] tak, aby se v simulaci projevil morfologické změny kolonie závisící na rozdílném množství živin v prostředí.

2 Návrh modelu kolonie

Návrh modelu si vyžaduje abstrakci skutečného systému reprodukce hub a jejich interakce s prostředím. Míra abstrakce, kterou volíme, je poměrně vysoká. Neimplementujeme existující komplexní matematické modely, které počítají například s vlivem živin na toxicitu prostředí [3], a jsou schopny lépe reflektovat více vnějších vlivů na růst kolonie. Naš model v kontrastu pracuje pouze s jedním vlivem, kterým je množství živin v prostředí. Zároveň náš model nepracuje v definovaném časovém a prostorovém měřítku; jelikož naším cílem je studovat pouze morfologii kolonie, nezabýváme se modelováním dosažené velikosti kolonie v určitém čase. Reprezentace rozmnožování v automatu se liší od skutečnosti v tom, že spory se v modelu rozmnožují pouze fragmentací podhoubí do nejbližšího 8-okolí, ale ve skutečnosti kromě tohoto procesu také dochází k disperzi spor do větších vzdáleností.

Prostředí, ve kterém kolonie roste, konceptualizujeme jako čtvercové pole buněk celulárního automatu, které samo o sobě neuchovává žádné hodnoty. Každá buňka spravuje svůj stav, a veškeré změny v systému jsou modelovány změnami stavů buněk.

Návrh pravidel automatu se zakládá předpokladu, že nižší množství živin má za důsledek řidší a méně uniformní kolonii, která má větší sklony k větvení [1] [2], a zároveň způsobuje diferenciaci mezi buňkami kolonie [4].

Proces, kterým si každá buňka projde, je rozdělen do několika fází, přičemž většina přechodů mezi fázemi je implementována jako stochastický proces, viz. tabulka 3. Buňka začíná

v prázdném stavu, který modeluje absenci biomasy. Pokud je v jejím prostředí určité množství neprázdných buněk, t. j. buněk reprezentujících houbovou tkáň, buňka se stane vegetativní houbovou tkání. Dále takto obsazená buňka podléhá třem fázím stárnutí, každá fáze sestává ze 4 stochastických kroků v automatu. Nejprve na vegetativním podhoubí dochází k vývoji tzv. „foot cells“, které jsou počáteční fází dospívání kolonie. Následně dochází k vývoji konidiofor, které jsou nosičem struktur sloužících k reprodukci. Konečná fáze je dospělost těchto struktur, ze kterých se u skutečných kolonií šíří spory [4]. Pokud prázdná buňka není obsazena, dochází k úbytku živin. Tento proces je modelován jako 4 stochastické kroky automatu, po kterých se buňka stane nedostupnou pro obsazení následkem reprodukce.

Náš model se dá chápat jako rozšířené spojení Modelu 1a, Modelu 2a a Modelu 4 Josepha Laszla a Roberta Silmana [1]. Z Modelu 1a jsme převzali pravidla pro dělení buněk, proces konzumace živin jsme implementovali na základě Modelu 2a, a Model 4 jsme rozšířili o další stav, a následně implementovali jako reprezentaci stárnutí kolonie. V tabulce 3 je popsána výsledná množina pravidel nově navrženého automatu.

3 Implementace modelu

Naši simulaci jsme napsali v jazyku C za použití knihovny `ncurses`. Soubory jsou rozděleny do dvou složek: ve složce `./include` nalezneme hlavičkové soubory a v `./src` zdrojové soubory. V programu se nachází dvě dvourozměrná pole o velikosti 400x200 buněk udržující stav v dané buňky. Jedno pole slouží ke čtení a zobrazení („front buffer“) a druhý slouží na zápis další iterace („back buffer“). Po dokončení iterace se tyto dvě pole prohodí („back“ se zobrazí a „front“ je připraveno na zápis).

Program začíná v hlavní funkci, ve které se volají inicializační a nastavovací funkce společně s načítáním argumentů. Poté se spouští nekonečný cyklus programu, ve kterém se zpracovávají uživatelské vstupy, aktualizace a zobrazení stavu celulórního automatu.

Soubor `./include/board.h` deklaruje rozhraní pro práci se samotným automatem. Nejdůležitějšími funkcemi rozhraní je funkce `void apply_rules(struct board_t *)`, skrz který může programátor definovat chování/pravidla automatu. Ta jsou definována v modulech `board_rule1.c`, `board_rule2.c` a `board_rule_aging`.

Nakonec se zde nachází soubory `./include/board_setup.h` a `./src/board_setup.c` definující počáteční pozici celulórního automatu. Soubor `.c` je vygenerovaný pomocí příloženého Python skriptu `pixel_editor.py`.

Program byl testován primárně na systému Linux 5.15-78-1-MANJARO x86_64 GNU/Linux, nicméně se ho podařilo rozjet i na jiných systémech jako:

- FreeBSD 13.1-STABLE
- Linux CentoOS 5.4.225 x86_64 GNU/Linux
- Linux Ubuntu 20.04 LTS 5.10.102.1-microsoft-standard-WSL2 x86_64 GNU/Linux

4 Nastavená pravidla modelů automatu

Předtím, než jsme začali modely studie Josepha Laszla a Roberta Silmana [1] upravovat, jsme se rozhodli pro implementaci Modelu 1c autorů. Pravidla tohoto modelu jsou k vidění v

tabulce 1 a implementace modelu se nachází v souboru `board_rule1.c`. Následně jsme upravili Model 2a autorů spojením s Modelem 1a, tak, aby po přijetí parametru udávajícího množství živin v prostředí byl schopen měnit tvar výsledné kolonie. Výsledná pravidla jsou k vidění v tabulce 2, implementace se nachází v modulu `board_rule2.c`. Nakonec jsme druhý model rozšířili o logiku reflektující diferenciaci kolonie. Pravidla výsledného modelu jsou shrnuta v tabulce 3 a model je implementován v souboru `board_rule_aging.c`.

4.1 Pravidla prvního modelu

Prázdná buňka	
Počet okupovaných sousedů	Šance na růst
1	12.5 %
2-8	0 %

Tabulka 1: Tabulka s pravidly prvního modelu

4.2 Pravidla druhého modelu

Prázdná buňka						
Počet sousedů	Šance na růst NH ¹ -> 1-3	Šance na růst NH == 4	Šance na růst NH == 5	Šance na růst NH == 6	Šance na růst NH >= 7	Šance na úbytek živin v buňce
1	12.5 %	12.5 %	12.5 %	12.5 %	12.5 %	50 %
2	0 %	25 %	25 %	25 %	25 %	75 %
3	0 %	0 %	50 %	50 %	50 %	100 %
4	0 %	0 %	0 %	50 %	50 %	100 %
5	0 %	0 %	0 %	0 %	50 %	100 %
6-8	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	100 %

Tabulka 2: Tabulka s pravidly druhého modelu

¹NH značí nutriční hodnotu/parametr

4.3 Pravidla rozšířeného druhého modelu

Prázdná buňka							Živá buňka
Počet sousedů	Šance na růst NH \rightarrow 1-3	Šance na růst NH == 4	Šance na růst NH == 5	Šance na růst NH == 6	Šance na růst NH \geq 7	Šance na úbytek živin v buňce	Šance na stárnutí buňky
1	12.5 %	12.5 %	12.5 %	12.5 %	12.5 %	50 %	0 %
2	0 %	25 %	25 %	25 %	25 %	75 %	0 %
3	0 %	0 %	50 %	50 %	50 %	100 %	12.5 %
4	0 %	0 %	0 %	50 %	50 %	100 %	12.5 %
5	0 %	0 %	0 %	0 %	50 %	100 %	12.5 %
6-8	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	100 %	12.5 %

Tabulka 3: Tabulka s pravidly rozšířeného modelu

5 Simulace kolonie rozšířeného druhého modelu

Pro demonstraci chování modelu jsme šestkrát spustili simulaci přes 150 iterací s jinými nutričními parametry. Model akceptuje nutriční parametry v rozsahu 1 až nekonečno, ovšem experimentálně jsme zjistili, že se výsledky znatelně liší jen mezi úrovněmi 1 až 6. Nutriční parametry udávají, kolika fázemi se prochází při konzumaci živin buňky. Pro úroveň n se projde $n + 1$ fázemi, než se buňka stane neobsaditelnou. Výsledky simulace jsou zobrazeny v obrázku 1.

Výsledek c) byl spuštěn se stejnými parametry jako Model 4 studie [1]. Náš výsledek se liší od původní implementace tím, že zde nedochází k tak výrazné diferenciaci kolonie. Tento rozdíl je dle nás způsoben nižším počtem iterací (150 iterací proti 275 iteracím původních autorů). Výsledek d) se výsledku Modelu 4 původních autorů blíží nejvíce.

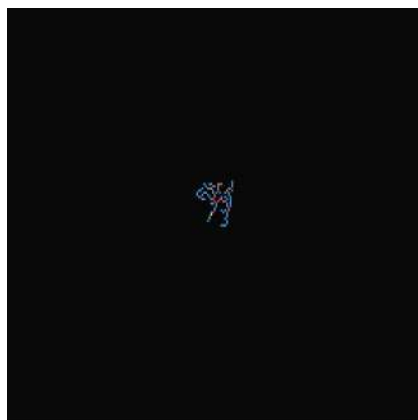
Zbytek výsledků jsme porovnávali se studií [2] z hlediska prostorové morfologie, a se studií [4] z hlediska morfologie diferenciací. Můžeme pozorovat, že simulace b) nejvíce aproximuje řídký růst podhoubí a nepravidelný rozmach kolonie patrný z obrázku obrázku 1d studie [2]. Další simulace z hlediska prostorové morfologie se zvyšujícím se množstvím živin konvergují směrem k hladším hranám a hustšímu růstu, stejně jako ve studii [2]. U simulace a) můžeme pozorovat velice malý prostorový rozmach.

Reprezentaci diferenciací morfologie lze vidět nejlépe na simulacích d), e) a f). Na všech třech výsledcích jsou patrné barevné koncentrické kruhy, které reprezentují zóny stárnutí. Je zde vidět, že větší množství živin má za následek větší míru diferenciaci [4]. Stárnutí je naopak málo patrné u modelů a), b), a c).

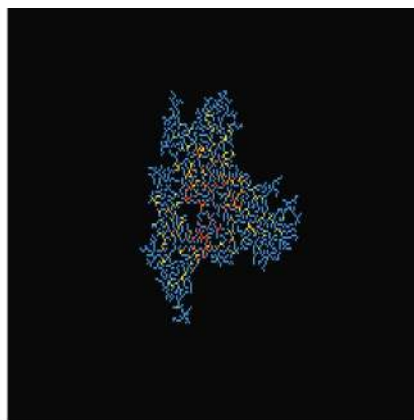
V tabulce 4 jsou statistiky jednotlivých studií. Smyslem těchto statistik je dát do souvislosti počet houbových buněk a neobyvatelných buněk. Můžeme pozorovat, že u simulací a) až d) počet neobyvatelných buněk vůči simulacím s menším nutričním parametrem narůstá a ovlivňuje výslednou morfologii kolonie. U výsledků e) a f) naopak klesá a již není příliš podstatným faktorem pro výsledný tvar kolonie.

Výsledek	Nutriční parametr	Počet živých buňek	Počet neobyvatelných buňek	Poměr živých buňek k neobyvatelným buňkám
a)	1	89	229	0,3886
b)	2	1664	3165	0,5258
c)	3	2957	5144	0,5748
d)	4	8466	7518	1,1167
e)	5	14582	6172	2,3496
f)	6	18925	4488	4,2933

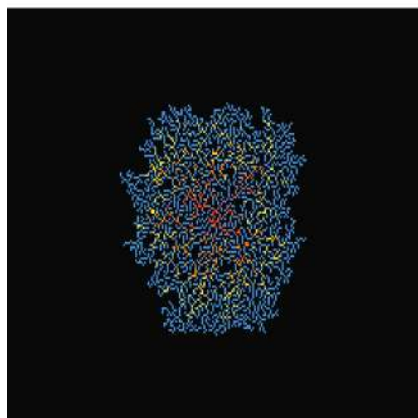
Tabulka 4: Statistiky jednotlivých simulací rozšířeného druhého modelu po 150 iteracích



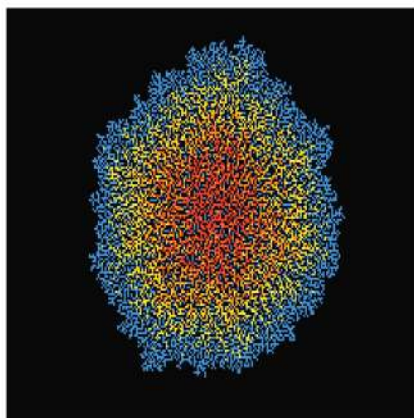
a) $n = 1$



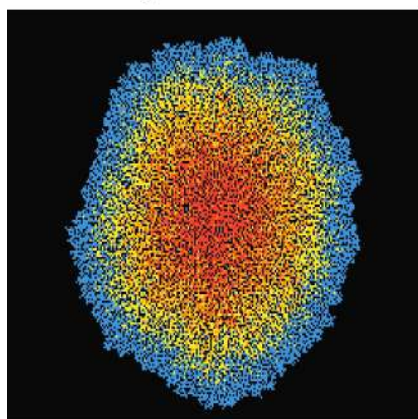
b) $n = 2$



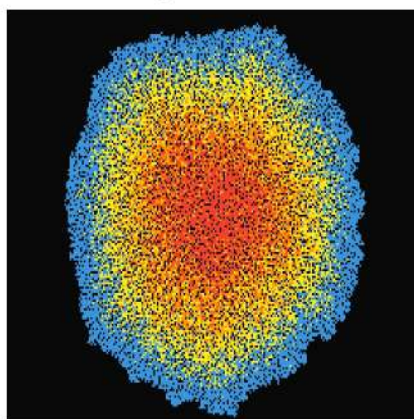
c) $n = 3$



d) $n = 4$



e) $n = 5$



f) $n = 6$

Obrázek 1: Výsledky simulace rozšířeného druhého modelu pro počáteční nutriční hodnoty 1 až 6, po 150 iteracích.

6 Zhodnocení rozšířeného druhého modelu

Výsledné simulace ukázaly, že model je schopen přibližně reflektovat morfologické změny způsobené změnou živin. Jako přednost modelu by se dala vyzdvihnout jeho jednoduchost. Narozdíl od komplexních matematických modelů lze pravidla našeho celulárního automatu shrnout do tabulky, a snáze je pochopit. Model na druhou stranu nevykazuje velkou flexibilitu. Experimentálně se ukázalo, že model dokáže reflektovat výraznější změny pro zhruba 4 různé nutriční hladiny. Z hlediska prostorové morfologie potom dochází k přílišnému zmenšování kolonie u simulací a) a b) v porovnání se studií [2]. Prostorová diferenciace je znázorněna nejlépe u simulací s vyšším nutričním parametrem. Jsou zde dobře viditelné kruhy, které kolonii rozdělují do vývojových fází. V simulacích s nízkým množstvím živin naopak k přílišné diferenciaci nedochází, protože ji malé množství živin nedovoluje [4].

Konstatujeme, že model je schopen reflektovat dopad živin na prostorovou charakteristiku a stárnutí kolonie. Model by se dalo vylepšit například tak, že by v příští variantě implementovalo pravidlo, které by mělo za následek větší prostorové šíření kolonie při nízkých nutričních hodnotách.

Odkazy

- [1] J. A. Laszlo a R. W. Silman, „Cellular automata simulations of fungal growth on solid substrates,“ *Biotechnology Advances*, roč. 11, č. 3, s. 621–633, 1993, Special Issue: Solid Substrate Fermentations, ISSN: 0734-9750. DOI: [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(93\)90031-H](https://doi.org/10.1016/0734-9750(93)90031-H). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/073497509390031H>.
- [2] J. M. López a H. J. Jensen, „Generic model of morphological changes in growing colonies of fungi,“ *Phys. Rev. E*, roč. 65, s. 021903, 2 led. 2002. DOI: 10.1103/PhysRevE.65.021903. URL: <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.65.021903>.
- [3] G. M. Gadd, L. Ramsay, J. W. Crawford a K. Ritz, „Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals,“ *FEMS Microbiology Letters*, roč. 204, č. 2, s. 311–316, lis. 2001, ISSN: 0378-1097. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10903.x. eprint: <https://academic.oup.com/femsle/article-pdf/204/2/311/19111180/204-2-311.pdf>. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10903.x>.
- [4] G. Georgiou a M. L. Shuler, „A computer model for the growth and differentiation of a fungal colony on solid substrate,“ eng, *Biotechnology and bioengineering*, roč. 28, č. 3, s. 405–416, 1986, ISSN: 0006-3592.