

На правах рукописи

Фурсова Полина Викторовна

**Вариационная модель развития поликультур
микроорганизмов без пополнения запаса
взаимонезаменимых ресурсов**

03.00.02 – биофизика

03.00.16 – экология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук

Москва 2004

Работа выполнена на кафедре общей экологии Биологического факультета МГУ

Научный руководитель: д.б.н. Левич Александр Петрович

Официальные оппоненты:

д.ф.-м.н. профессор Ризниченко Галина Юрьевна,

д.б.н. профессор Эль-Регистан Галина Ивановна.

Ведущая организация:

Институт физики атмосферы РАН, лаборатория моделирования в экологии.

Защита состоится “___” _____ 2004 г. на заседании Диссертационного совета Д.501.001.96 при Московском государственном университете им. М.В.Ломоносова по адресу: 119992, Москва, ГСП-2, Ленинские горы, МГУ, Биологический факультет, кафедра биофизики, аудитория «Новая».

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета МГУ.

Автореферат разослан “___” _____ 2004 г.

Ученый секретарь Совета

д.б.н. профессор

Т.Е.Кренделева

Постановка проблемы и ее актуальность. Среди современных проблем биологии центральное место занимает проблема адекватного экологического прогноза. В приложении к экологии сообществ, в частности микробиологических, она может быть переформулирована как проблема строгого количественного предсказания (расчета) численностей видов, образующих сообщество, как функций, аргументами которых являются факторы, определяющие жизнедеятельность организмов. Среди таких факторов одно из первых мест занимает обеспеченность особей ресурсами среды. Живые организмы потребляют из окружающей среды десятки различных ресурсов, необходимых для их жизнедеятельности. Это и биогенные элементы, и микроэлементы, и энергия и т.п. При построении экологических моделей формально мы обязаны учесть взаимодействие организмов со всеми этими факторами. Однако строгий учет всех ресурсов при моделировании, например, системами дифференциальных уравнений невозможен из-за технических трудностей, поскольку такая модель должна будет содержать слишком много компонент и параметров. Доступная же для анализа модель будет опираться на субъективный отбор «наиболее существенных» по мнению исследователя ресурсов.

Одним из критериев адекватности расчетных схем может служить умение управлять структурой сообщества или, другими словами, умение поддерживать необходимый состав сообщества, представленного группами организмов в необходимых пропорциях. Интерес к подобным прикладным задачам связан с тем, что параметры биологических процессов и урожай продуцируемых веществ сильно зависят от доли, которая в биомассе сообщества приходится на те или иные виды организмов. Особая ситуация в микробиологических биотехнологиях возникает из-за явления диссоциации (вариации фаз) микроорганизмов, обусловленной геномными перестройками. При этом активность диссоциантов, их физиологические особенности, влияющие на продуцирование биологически активных веществ, различны, что приводит к необходимости контролировать состав возникающей поликультуры. Возможность управления составом сообществ в ряде прикладных задач становится самостоятельной исследовательской проблемой.

В основе работы лежит следующая экспериментальная ситуация. Сообщество микроорганизмов, состоящее из одной или нескольких групп клеток, помещают в замкнутую среду, содержащую различные компоненты питания, необходимые для его развития. Считается, что ресурсы не могут заменить друг друга, так как выполняют различные функции по отношению к росту. В процессе культивирования, включающем в себя деление клеток и их гибель, не производят добавления или изъятия ресурсов и микроорганизмов каким-либо искусственным способом. При таком росте сообщество развивается до наступления стационарной фазы, то есть остановки роста, вызванной исчерпанием одного или нескольких ресурсов. Если продол-

жить эксперимент, то после некоторого времени пребывания в стационарной фазе наступает естественная деградация сообщества (фаза отмирания).

Для описания микробиологических культур с точки зрения указанных проблем прогноза и управления в диссертационной работе использована вариационная модель потребления и роста для экологических сообществ. Эта модель позволяет по запасам ресурсов в среде и известным потребностям организмов рассчитывать, во-первых, области лимитирования для любых сочетаний ресурсных факторов в среде и, во-вторых, численности популяций сообщества на стационарной стадии роста как функции лимитирующих рост ресурсов. В диссертационной работе стационарное состояние сообщества микроорганизмов описывается решением экстремальной задачи для функции обобщенной энтропии с балансовыми ограничениями.

В отличие от широко применяемых в математической биологии методов моделирования, использующих аппарат теории дифференциальных уравнений (обыкновенных или с частными производными) и позволяющих исследовать динамику процессов, протекающих в биологической системе, указанный подход дает лишь стационарное состояние, в которое система приходит с течением времени. С другой стороны, используя вариационное моделирование, можно избежать ряда трудностей в изучении динамических моделей, связанных с их чрезвычайной громоздкостью, неопределенностью значений множества параметров, невозможностью применения традиционных методов сокращения числа переменных, обусловленной спецификой задач и т. п.

Цели и задачи исследования. Целью настоящего исследования является разработка аналитического метода определения ресурсов, ограничивающих рост смешанной культуры микроорганизмов на стационарной стадии роста, и количественного расчета долей каждой из групп клеток в этих условиях. Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

- получить выражения для расчетов границ областей лимитирования, на которые распадается пространство потребляемых ресурсов в зависимости от начальных условий культивирования и потребностей клеток в питательных веществах;
- вывести формулы для расчета относительной численности каждой группы клеток на стационарной стадии роста;
- изучить некоторые возможные интерпретации используемого экстремального принципа;
- проанализировать в рамках вариационной модели имеющиеся данные экспериментов прошлых лет по культивированию моно- и смешанных культур бактерий диссоциантов *Pseudomonas aeruginosa*;

- разработать и реализовать схему проведения новых экспериментов по культивированию культур диссоциантов *P. aeruginosa*, на средах с заданными условиями лимитирования, с учетом необходимых дополнений к методикам;
- провести расчеты для смешанной культуры диссоциантов бактерий *P. aeruginosa* и проверить адекватность полученных теоретических предсказаний лимитирующих ресурсов и состава микробиологического сообщества экспериментальным данным.

Научная новизна работы. В диссертационной работе предложены способы расчетов границ областей лимитирования и численностей организмов на стационарной стадии роста для ряда конкретных случаев. Получено решение экстремальной задачи в условиях, когда количество потребляемых ресурсов больше числа групп микроорганизмов в культуре. Исследован вид областей лимитирования и состав сообщества на стационарной стадии роста в случае, когда значения потребностей клеток, принадлежащих разным группам, близки к пропорциональным. Кроме того, изучен вопрос об ограничении запасами питательных веществ роста монокультур. Перечисленные результаты позволяют сделать простым и доступным применение вариационной модели для изучения традиционных лабораторных объектов исследования.

В диссертационной работе впервые доказаны теоремы о свойствах экстремальной задачи и функционала обобщенной энтропии («теорема Гиббса» и «теорема Больцмана»).

Впервые проведен анализ чувствительности вариационной модели к изменению ее параметров, что чрезвычайно важно для дальнейшего анализа соответствия теоретических и экспериментальных данных.

Изучены возможные пути регулирования состава сообщества, предоставляемые вариационной моделью.

Впервые получены точные количественные данные о потребностях R-, S- и M-диссоциантов бактерий *P. aeruginosa* в основных питательных веществах. Рассчитаны границы областей лимитирования и относительные численности диссоциантов на стационарной стадии развития смешанных культур на основе данных о модельных параметрах-потребностях.

Научная и практическая ценность работы. Вариационное моделирование нашло свое применение в различных областях биологии, однако, несмотря на ряд достоинств, по-прежнему остается мало востребованным методом моделирования. Основной причиной этого является трудность в выборе целевой функции. Результаты настоящей работы могут быть использованы для описания различных биологических объектов, удовлетворяющих предъявляемым моделью требованиям. Кроме того, возможно их применение и в других областях естествознания, где решаются подобные экстремальные задачи.

Экспериментальным объектом диссертационной работы являются смешанные культуры диссоциантов *P. aeruginosa*. Представители рода *Pseudomonas* широко используются в раз-

личных биотехнологических процессах: в химических производствах, в биогидрометаллургии, в производстве химических препаратов для сельского хозяйства, при получении полимеров, для повышения нефтеотдачи пластов, при переработке и удалении отходов и веществ, загрязняющих среду, в том числе нефтяных загрязнений. В связи с этим большое значение приобретают все полученные в процессе исследования сведения об этих организмах.

В работе описан возможный способ создания сообщества одноклеточных организмов с нужными свойствами путем изменения отношений питательных веществ в среде. Полученные результаты позволяют говорить о перспективах решения не только задач, связанных с биологической утилизацией многокомпонентных загрязнений, но и с проблемами создания кормовой базы растительноядных рыб в рыбоводных хозяйствах, в задачах борьбы с эвтрофированием водоемов.

Апробация работы и публикации. Работа была доложена на семинаре сектора информатики и биофизики сложных систем кафедры биофизики Биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова, на V Международном конгрессе по математическому моделированию (Дубна, 2002), на X Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование.» (Пушино, 20-25 января 2003 г.). По теме диссертации опубликованы или приняты к печати 13 работ (из них 3 тезисов конференций).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа представляет собой рукопись на 137 страницах, включая 14 рисунков и 20 таблиц. В списке литературы содержится 168 наименований.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭТАПЫ РАБОТЫ

Результаты, достигнутые в области управления структурой фитопланктонных сообществ (Левич с соавт., 1997), позволили предположить, что применение аналогичных методов вариационного моделирования для исследования потребления и роста культур бактерий также окажется удачным. Схожесть объектов с точки зрения модели (одноклеточные организмы, размножающиеся делением и конкурирующие за несколько взаимозаменяемых ресурсов), одинаковые методы культивирования (выращивание без пополнения запасов ресурсов, в течение которого не производят добавление или изъятие клеток), а также накопленный к моменту начала над диссертационной работой экспериментальный материал стали аргументами в пользу попытки описать развитие культуры диссоциантов *P.aeruginosa* с помощью вариационной модели.

Все исследование можно разделить на три части: ознакомление с литературными источниками, изучение некоторых математических аспектов вариационной модели и работа непосредственно с данными по культивированию бактерий.

Современное состояние математического моделирования экологии сообществ отражено в литературном обзоре, опубликованном в виде книги (Фурсова, Левич, 2002). В основном его содержание представлено результатами исследований, напечатанных за последние 5–7 лет в таких журналах как Биофизика, Журнал общей биологии, Ecological Modelling, Journal of Theoretical Biology, Bulletin of Mathematical Biology, Journal of Applied Ecology и в других зарубежных и отечественных изданиях.

Состояние сообщества, состоящего из w групп микроорганизмов, которые потребляют m взаимонезаменимых ресурсов, на стационарной стадии развития может быть описано решением следующей вариационной задачи на условный экстремум (Левич, 1982; Левич с соавт., 1994; 1997):

$$\left\{ \begin{array}{l} H(n_1, \dots, n_w) = -n \sum_{i=1}^w \frac{n_i}{n} \ln \frac{n_i}{n} \rightarrow \text{extr}, \\ \sum_{i=1}^w n_i = n, \\ \sum_{i=1}^w q_i^k n_i \leq L^k, \quad k = \overline{1, m}, \\ n_i \geq 0, \quad i = \overline{1, w}. \end{array} \right.$$

Здесь n_i – искомая численность каждой из групп клеток сообщества на стационарной стадии роста; n – полная численность клеток в сообществе; q_i^k – потребляемое из среды количество k -ого ресурса, необходимое для деления клетки группы i , в расчете на одну клетку (потребность организма группы i в ресурсе k), L^k – содержание ресурса k в среде в начале культивирования ($L^k \geq 0$); w – количество групп микроорганизмов в сообществе; m – количество потребляемых ресурсов.

Под состоянием сообщества понимается набор численностей n_i , $i = \overline{1, w}$ каждой из групп клеток, образующих сообщество. Модель предсказывает состояние сообщества на стационарной стадии роста. Предполагается, что достижение стационарной стадии обусловлено исчерпанием одного (или нескольких) из исследуемых ресурсов, а не какими-либо другими причинами (выполнение этой предпосылки необходимо учитывать при выборе методики культивирования, ориентированной на верификацию модели).

Считается, что наборы потребностей клеток из различных групп (q_i^1, \dots, q_i^m) , $i = \overline{1, w}$ не пропорциональны друг другу. Это связано с тем, что в рамках рассматриваемой модели отсутствие пропорциональности обеспечивает различимость групп клеток.

В качестве целевой функции H использован так называемый функционал обобщенной энтропии. Важно отметить, что функционал H не постулирован, а выведен на основе категориально-функторного метода сравнения математических структур (Левич, 1982). Этот аппарат позволяет рассчитать числовую характеристику состояния сообщества, которая позволила бы сравнивать различные состояния между собой. Указанной характеристикой, названной "*обобщенной энтропией*", является логарифм удельного числа допустимых (не нарушающих заданную на множествах структуры) преобразований данного состояния системы. Для множеств с разбиениями формулой для обобщенной энтропии полностью совпадает с формулами для энтропии идеального газа Л.Больцмана. Структурой множеств с разбиениями в работе описывается микробиологическое сообщество, состоящее из нескольких групп клеток. Допустимыми преобразованиями в этом случае являются размножение, смертность организмов, отсутствие поглощения одних организмов другими и интродукции извне. Итак, экстремальный принцип, формализуемый вариационной задачей, постулирует, что динамические системы из заданного состояния переходят в состояние с экстремальной (в пределах, допустимых имеющимися ресурсами) структурой. (Подробное описание оснований для подобной формулировки и вывода функционала содержится в работе А.П.Левича (1982).)

Существенно, что ограничения вариационной задачи записаны в виде неравенств. Тем самым учтен тот факт, что ресурсы не могут заменить друг друга, а, следовательно, для остановки роста сообщества достаточно истощения хотя бы одного ресурса и наступление стационарной стадии вовсе не означает, что все компоненты питания потреблены полностью.

Численность каждой из групп клеток в зависимости от начальных запасов питательных веществ $n_i(\vec{L})$ является решением сформулированной вариационной задачи, получившим название «формула структуры сообщества»:

$$n_i(\vec{L}) = n \exp \left\{ - \sum_{k=1}^m \lambda^k q_i^k \right\}.$$

Множители Лагранжа λ^k и полная численность сообщества n как функции потребляемых ресурсов $\vec{L} \equiv \{L^1, L^2, \dots, L^m\}$ могут быть найдены из алгебраических уравнений

$$\left\{ \begin{array}{l} \sum_{i=1}^w \exp \left\{ -\sum_{k=1}^m \lambda^k q_i^k \right\} = 1, \\ \lambda^k \left(n \sum_{i=1}^w q_i^k \exp \left\{ -\sum_{k=1}^m \lambda^k q_i^k \right\} - L^k \right) \in \Theta, \quad k = \overline{1, m}, \\ \lambda^k \geq 0, \quad k = \overline{1, m}. \end{array} \right.$$

Показано, что это решение всегда существует, единственно и осуществляет максимум функционала H (Левич с соавт., 1994). Доказана теорема стратификации, которая позволяет для любого начального набора ресурсов L^k определять те компоненты, которые будут ограничивать рост сообщества на стационарной стадии.

Для того чтобы описать развитие сообщества диссоциантов с помощью вариационной модели потребления и роста, сначала необходимо было получить явные формулы для расчетов границ областей лимитирования и численностей групп клеток. При этом следовало обратить внимание на особенности тех ситуаций, которые имеют место в лабораторных экспериментах. Следующей задачей стал анализ чувствительности модели к изменению ее параметров. Проведенное исследование впоследствии позволило судить о степени согласованности теоретических и экспериментальных результатов.

По результатам лабораторных экспериментов с монокультурами было необходимо определить параметры модели, которые представляют собой потребности диссоциантов в угле, азоте и фосфоре. Затем, основываясь на данных опытов по экспериментальному определению ресурсов, ограничивающих рост сообщества (так называемые опыты с добавками), как для моно-, так и для смешанных культур, проверить соответствие предсказываемых теоремой стратификации лимитирующих ресурсов экспериментальным данным. И, наконец, для различных вариантов поликультур (для всех попарных смесей и смеси трех диссоциантов) провести проверку адекватности теоретических расчетов состава сообщества на стационарной стадии роста результатам опытов.

Первым этапом работы с экспериментальными данными стала систематизация и анализ результатов опытов по культивированию моно- и смешанных культур R-, S-, M-диссоциантов *P.aeruginosa*, которые были проведены в период с 1999 по 2001 гг. Главная задача состояла в том, чтобы отобрать из большого массива данных те, которые удовлетворяют предпосылкам вариационной модели. Для расчетов потребностей диссоциантов по данным экспериментов, в которых проводили химические определения состава среды, достаточно было проследить, чтобы изменение количества клеток и уровней содержания питательного вещества были зафиксированы за один и тот же промежуток времени. В том случае, если определение химиче-

ского состава среды не проводили, сначала проверяли: достигнута ли стационарная стадия (и известно ли количество клеток на этот момент); вызвана ли остановка роста именно исчерпанием рассматриваемых питательных веществ (другими причинами могли быть: нарушение температурного режима культивирования, закисление среды, недостаточная аэрация, слишком высокая плотность культуры для используемых пробирок и др.). Затем по различным косвенным признакам делали вывод о том, какие питательные вещества могли быть полностью исчерпаны в каждом из опытов. Знание лимитирующего, т.е. полностью потребленного из среды ресурса, позволяет рассчитать величину потребности как отношение содержания вещества в начале опыта к количеству клеток, достигнутому культурой к моменту остановки роста.

После того, как были получены значения потребностей в углероде, азоте и фосфоре, по полученным формулам рассчитали границы областей лимитирования и относительные численности клеток диссоциантов на стационарной стадии роста. Для сравнения теоретических расчетов с экспериментальными данными необходимо было удостовериться в следующем: вносили ли в опытах по определению лимитирующих ресурсов добавочные вещества в тот момент, когда культура уже достигла стационарной стадии, а процессы лизиса еще не значительны (для проверки адекватности предсказания ограничивающих рост факторов); проводили ли определение состава сообщества (рассев) на стационарной стадии роста (для проверки адекватности предсказания относительных численностей).

Этот этап работы с экспериментальными данными позволил:

- получить данные о потребностях диссоциантов в основных компонентах питания;
- сделать вывод о приемлемой согласованности теоретических и экспериментальных данных;
- определить, какие уточнения необходимо внести в методики проведения опытов для того, чтобы как можно больше опытных результатов были пригодны для анализа в рамках исследуемой вариационной модели.

После того, как были полностью обработаны данные указанных экспериментов, был проведен следующий этап работы по выращиванию моно- и смешанных культур R-, S- и M-диссоциантов *P.aeruginosa*. Основной целью этого этапа было: опираясь на данные о потребностях, составить среды, ограниченные по каждому из питательных веществ (с точки зрения вариационной модели потребления и роста), и экспериментально проверить наличие заданного условия лимитирования (как для моно-, так и для смешанных культур). Затем для каждой среды рассчитать состав смешанных (парных и тройной смесей) культур на стационарной стадии развития, их оптическую плотность к моменту остановки роста, вызванной исчерпанием ресурсов, и сравнить полученные данные с результатами эксперимента. Кроме того, по дан-

ным опытов с монокультурами рассчитывали потребности диссоциантов в углероде, азоте и фосфоре и сравнивали их значения с полученными ранее.

В процессе обработки данных этого этапа было выяснено, что в проведенных опытах не следует рассматривать содержание фосфора в среде как фактор, способный ограничивать рост культур. Согласно проведенным экспериментам на бедных средах не удается добиться исчерпания фосфатов. Возможной причиной этому может служить способность диссоциантов *P.aeruginosa* на бедных средах неоднократно использовать запасы фосфора при культивировании. В связи с этим были пересмотрены все экспериментальные данные с точки зрения влияния на рост только двух возможных лимитирующих ресурсов: углерода и азота. Результаты оказались следующими: в 83% опытов по определению лимитирующих факторов и 85% опытов со смешанными культурами различия между предсказаниями модели и экспериментальными данными не превышают пределов, допустимых с учетом ошибок измерений.

Полученные данные о величинах потребностей и произведенные расчеты численностей диссоциантов в каждой из областей лимитирования позволили проанализировать возможные пути регулирования состава культур с помощью изменения отношения первоначального запаса ресурсов в среде.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования. Экспериментальные данные представляют результаты опытов по культивированию моно- и смешанных культур R-, S- и M-диссоциантов бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Диссоциативные переходы бактерий, или вариация фаз, вносят важнейший вклад в создание гетерогенности бактериальной популяции. Они обусловлены геномными перестройками, которые происходят с высокой частотой, превышающей частоту случайных мутаций на несколько порядков, и обладают плеiotропным действием. Это определяет постоянные и обратимые изменения многих морфологических и физиолого-биохимических свойств клеток: способность к деградации и синтезу ценных веществ, устойчивость к внешнему воздействию, скорость роста, потребность в питательных веществах. В настоящее время диссоциативные формы обозначают символами согласно некоторым морфологическим признакам их колоний: S (smooth) — гладкие, R (rough) — шероховатые, M (mucoid) — слизистые.

Всего было проведено 152 эксперимента по выращиванию монокультур и 77 – смешанных (попарных комбинаций диссоциантов и смеси всех трех). Культивирование осуществляли на средах с различным начальным содержанием углерода, азота и фосфора методом накопительного культивирования. Эти вещества необходимы для роста и являются взаимозамени-

мыми. Бактерии выращивали в пробирках на 50 мл с 10 мл среды на качалке (180 об/мин) при температуре 28°C в течение полутора-трех суток до достижения стационарной фазы роста. В качестве посевного материала использовали односуточные культуры диссоциантов псевдомонад, выращенных на агаризированной среде, содержащей мясо-пептонный бульон и сусло в отношении 1:1 (БСА). Плотность инокулята каждого из диссоциантов во всех опытах выравнивали по нефелометру или по стандарту мутности до содержания клеток 10^9 или 10^7 в 1 мл. Посевной материал вносили в количестве 3-х объемных процентов.

В процессе роста проводили измерения оптической плотности культуры, уровня кислотности среды, в некоторых опытах контролировали химический состав среды. Глюкозу определяли с помощью трифенилтетразолия хлорида (Химия углеводов, 1967), азот – с сульфифеноловым реактивом (Поляков, 1950), фосфор – методом Пануша (Малый практикум по биохимии, 1979). Также использовали полуколичественные экспресс-методы определения глюкозы (индикаторные полоски для полуколичественного определения глюкозы в крови "Диаглюк", диапазон определяемых концентраций составляет 0.0-1000 мг% (0.0-55.5 ммоль/л)), нитратов (аналитические тест-полоски фирмы "Merck", диапазон определяемых концентраций – 10-25-50-100-500 мг/л) и фосфатов (фотометрический фосфат-тест фирмы "Merck", возможно определение концентраций в пределах от 0.010 до 5.00 мг/л).

Для определения количества клеток в культуре на стационарной стадии развития для каждого диссоцианта был получен коэффициент, связывающий оптическую плотность с численностью клеток.

Соотношение диссоциантов в популяции определяли по морфологии колоний рассевом на плотную среду, содержащую мясо-пептонный бульон и сусло в равных отношениях.

Для экспериментального определения ресурса, ограничивающего рост культуры, проводили так называемые опыты с добавками. В момент предполагаемого достижения стационарной стадии культуру разделяли на четыре пробирки. В три из них вносили добавки – глюкозу, нитрат или фосфат, – четвертую оставляли без изменений (контроль). Для проверки возможности многофакторного лимитирования культуру разделяли уже на восемь пробирок и вносили не три, а семь возможных комбинаций добавок – каждое вещество в отдельности, их парные комбинации и все три ресурса. Количество добавляемых веществ равнялось их первоначальному содержанию в среде. Культуру оставляли расти в различных опытах на срок от 4 до 12 часов, затем проводили измерение оптической плотности. Если добавление компонентов питания в среду приводило к возобновлению деления клеток, то эти ресурсы считали лимитирующим. В случае если внесение вещества не приводило к росту культуры, считали, что этот фактор не ограничивал развития сообщества.

Продолжительность экспериментов с культурами псевдомонад составляла несколько десятков часов. В то время как диссоциативные перестройки (изменения генетических свойств клеток) происходят с частотой порядка от одной сотой до одной десятитысячной на одно клеточное деление. По этой причине правильно считать, что изменения в составе смесей диссоциантов за времена культивирования и при использованных в опытах плотностях культур являются результатом селекции в процессе конкуренции диссоциантов за ресурсы, а не собственно процессов диссоциации.

Если условия культивирования и измерений не соответствовали предпосылкам используемой в работе модели, данные эксперимента исключали из дальнейшего рассмотрения.

Вариационное моделирование роста и потребления для сообщества микроорганизмов.

Исходя из сформулированной вариационной модели, в диссертационной работе получены все формулы, которые необходимы для определения границ стратов в изучаемых случаях, а именно: для монокультур, смеси двух и трех групп клеток, потребляющих два или три питательных вещества. Пусть, например, задано сообщество, состоящее из двух групп клеток, потребляющих два ресурса: L^1 и L^2 . Пусть известны потребности микроорганизмов в ресурсах: $\{q_i^k\}$, $k = 1, 2; i = 1, 2$ (индекс k нумерует ресурсы, индекс i – группы).

Согласно теореме стратификации пространство ресурсов распадается на 3 области (рис. 1), в одной из которых лимитирующими оказываются оба ресурса (область I), а в двух других – один ресурс (в области II – L^1 , в области III – L^2). Коэффициенты угла наклона прямых, ограничивающих области лимитирования, задаются сле-

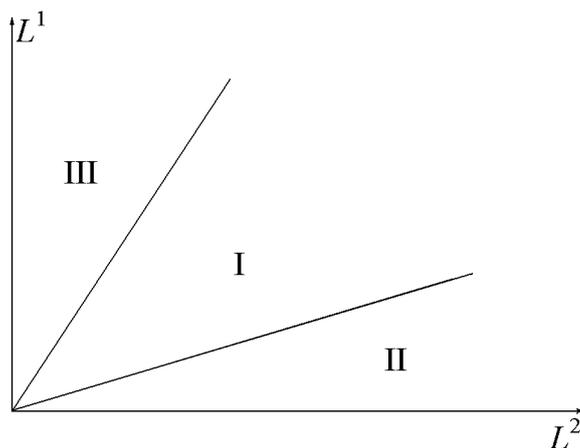


Рис. 1. Стратификация пространства двух потребляемых ресурсов для поликультур. В области I лимитируют оба фактора, в II – L^1 , в III – L^2

дующим образом: $\nu = \nu(q_i^k) = \frac{q_1^1 x_0^{q_1^1} + q_2^1 x_0^{q_2^1}}{q_1^2 x_0^{q_1^1} + q_2^2 x_0^{q_2^1}}$, $\eta = \eta(q_i^k) = \frac{q_1^1 y_0^{q_1^2} + q_2^1 y_0^{q_2^2}}{q_1^2 y_0^{q_1^2} + q_2^2 y_0^{q_2^2}}$, где x_0 – корень урав-

нения $x^{q_1^1} + x^{q_2^1} = 1$, а y_0 – корень уравнения $y^{q_1^2} + y^{q_2^2} = 1$.

В зависимости от условий лимитирования по формуле структуры сообщества рассчитывают, какая доля в общей численности будет приходиться на каждую из двух групп клеток, образующих сообщество. Так, в области лимитирования одним ресурсом L^k , $k = 1, 2$ относительные численности диссоциантов на стационарной стадии роста задаются выражениями

$\frac{n_1}{n} = x_0^{q_1^k}, \frac{n_2}{n} = x_0^{q_2^k}$, где x_0 – корень уравнения $x_0^{q_1^k} + x_0^{q_2^k} = 1$. Аналогично, для культуры, состоя-

щий из трех групп организмов, коэффициенты угла наклона прямых, ограничивающих обла-

сти лимитирования, рассчитываются по формулам $v = v(q_i^k) = \frac{q_1^1 x_0^{q_1^1} + q_2^1 x_0^{q_2^1} + q_3^1 x_0^{q_3^1}}{q_1^2 x_0^{q_1^1} + q_2^2 x_0^{q_2^1} + q_3^2 x_0^{q_3^1}}$,

$\eta = \eta(q_i^k) = \frac{q_1^1 y_0^{q_1^2} + q_2^1 y_0^{q_2^2} + q_3^1 y_0^{q_3^2}}{q_1^2 y_0^{q_1^2} + q_2^2 y_0^{q_2^2} + q_3^2 y_0^{q_3^2}}$, где x_0 – корень уравнения $x^{q_1^1} + x^{q_2^1} + x^{q_3^1} = 1$, а y_0 – корень

уравнения $y^{q_1^2} + y^{q_2^2} + y^{q_3^2} = 1$. В области лимитирования одним ресурсом $L^k, k = 1, 2, 3$ доли

диссоциантов на стационарной стадии роста задаются выражениями $\frac{n_1}{n} = x_0^{q_1^k}, \frac{n_2}{n} = x_0^{q_2^k}, \frac{n_3}{n} = x_0^{q_3^k}$,

причем $x_0^{q_1^k} + x_0^{q_2^k} + x_0^{q_3^k} = 1$.

В общем виде изучен вопрос о реализации алгоритмов вариационной модели в том случае, когда число групп в сообществе меньше числа потребляемых ресурсов. Кроме того, рассматривали случай, когда потребности клеток различных групп близки к пропорциональным.

В диссертационной работе проведен анализ чувствительности вариационной модели к изменению ее параметров – потребностей клеток. Каждое значение потребности (для клеток каждой группы в каждом веществе) изменяли в отдельности на 10, 25, 50 и 100% при неизменных остальных величинах. В качестве показателя для оценки чувствительности модели к изменению параметров использовали относительные численности каждой группы на стационарной стадии роста, общую численность сообщества, а также величины, характеризующие границы областей лимитирования. Анализ полученных результатов позволяет сделать следующие выводы. Наименьшие изменения показателей оценки чувствительности происходят в областях однофакторного лимитирования. Относительная величина отклонения значений обильней групп не превышает относительной величины изменения параметра. Исключение составляют случаи, когда колебание значения потребности вызывает изменение ранга требовательности организмов некоторой группы к ресурсу (т.е., изменяется порядок групп в ряду от самой большой потребности в данном ресурсе к самой маленькой).

Также в диссертационной работе доказаны следующие свойства вариационной задачи и функционала обобщенной энтропии:

1. Принцип максимума обобщенной энтропии (при условии, что потребление ресурсов ниже определённого уровня) эквивалентен принципу минимума потребления системой лимит-

тирующих ресурсов (при условии, что энтропия системы имеет значение выше некоторого порога).

2. Функционал обобщенной энтропии монотонно возрастает вместе с возрастанием первоначального запаса каждого из ресурсов.

Определение параметров вариационной модели – потребностей микроорганизмов в основных питательных веществах. Под потребностью организма понимается количество ресурса, необходимое для роста популяции, в расчете на одну клетку. Таким образом, получить соответствующие величины потребностей диссоциантов в источниках питания можно по формуле $q_i^L = \frac{\Delta L}{\Delta n_i}$, где ΔL – количество потребленного из среды вещества, L – компонент питания, Δn_i – количество вновь образовавшихся клеток за тот же период времени, индекс i характеризует диссоциант.

Таблица 1. Средние значения потребностей R-, S-, M-диссоциантов *P.aeruginosa* в углероде, азоте и фосфоре ($\times 10^{-12}$ мг/кл) с учетом 95% - х доверительных интервалов

Диссоциант	Ресурс		
	Углерод	Азот	Фосфор
R	129 ± 22	7.0 ± 2.5	1.0 ± 0.5
S	409 ± 55	17.5 ± 3.0	4.0 ± 1.5
M	525 ± 114	31 ± 3.0	6.0 ± 2.5

Потребности R-, S- и M-диссоциантов бактерий *P. aeruginosa* определяли по результатам анализа данных экспериментов с монокультурами. По данным опытов, в динамике которых определяли концентрации питательных веществ, потребности рассчитывали, исходя из соответствующих измерений величин ΔL и Δn_i . В

большинстве экспериментов химическое определение концентраций питательных веществ в динамике культивирования не проводили.

Поэтому для определения количества потребленного ресурса, используемого при расчетах потребностей, руководствовались следующим: если остановка роста произошла по причине исчерпания некоторого питательного вещества, то количество потребленного к концу роста культурой этого ресурса можно считать равным его содержанию в среде в начальный момент культивирования. При этом для вычисления потребности необходимо использовать количество клеток, выросших за тот же период времени, то есть к моменту достижения стационарной фазы.

Все экспериментальные данные проанализировали с целью ответа на вопрос о том, какие ресурсы могли ограничивать рост культуры в каждом из опытов. В результате были выбраны данные тех экспериментов, по которым можно рассчитывать потребности. Средние значения потребностей приведены в табл. 1.

Выявление лимитирующих ресурсов. Согласно теореме стратификации, пространство m потребляемых сообществом ресурсов распадается на $2^m - 1$ областей лимитирования. Для каждого набора питательных веществ, определяющих исходную экспериментальную среду, можно определить, к какой из областей лимитирования она принадлежит, а это значит – указать те ресурсы, исчерпание которых приведет к остановке роста культуры. Теорема стратификации дает однозначный алгоритм расчета границ областей лимитирования для сообщества с заданным набором потребностей q_i^k . Стратификация пространства двух и трех ресурсов в случае моно- и смешанных культур представлены на рис. 1–3.

Для проверки адекватности предсказания вариационной моделью фактора, ограничивающего рост микробиологического сообщества, проводили сравнение расчетных и экспериментальных данных. Основой для получения последних стали результаты опытов с добавками, реализовавших метод экспериментального определения лимитирующего ресурса.

Используя для расчетов значения потребностей R-, S- и M-диссоциантов (табл. 1), получили для культур этих бактерий границы областей лимитирования. Для начальных условий опытов с добавками, исходя из соответствующих для каждой из культур расчетов, определяли область лимитирования, которой принадлежит изучаемая среда. Сравнение модельных и экспериментальных данных показало, что в 75% опытов рост возобновился после добавки вещества, определенно моделью как лимитирующего.

Одним из аспектов управления структурой сообщества можно считать создание таких начальных условий культивирования, при которых огра-

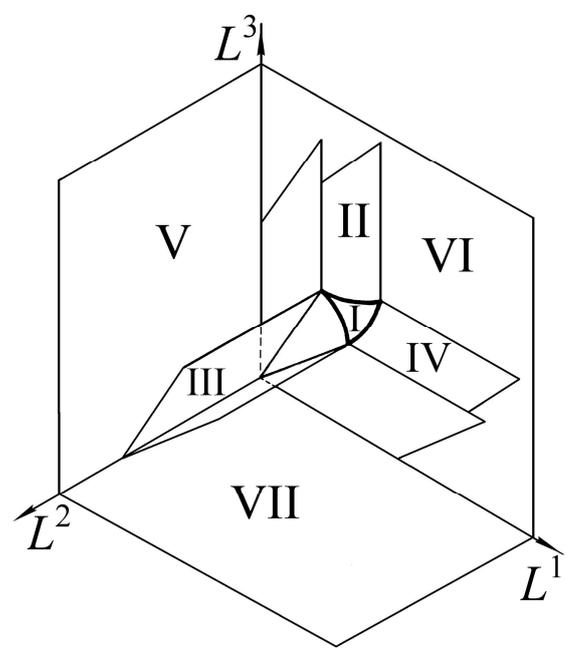


Рис. 2. Стратификация пространства трех потребляемых ресурсов для поликультуры. В области I лимитируют все три ресурса, в II – L^1 и L^2 , в III – L^1 и L^3 , в IV – L^2 и L^3 , в V – L^1 , в VI – L^2 , в VII – L^3

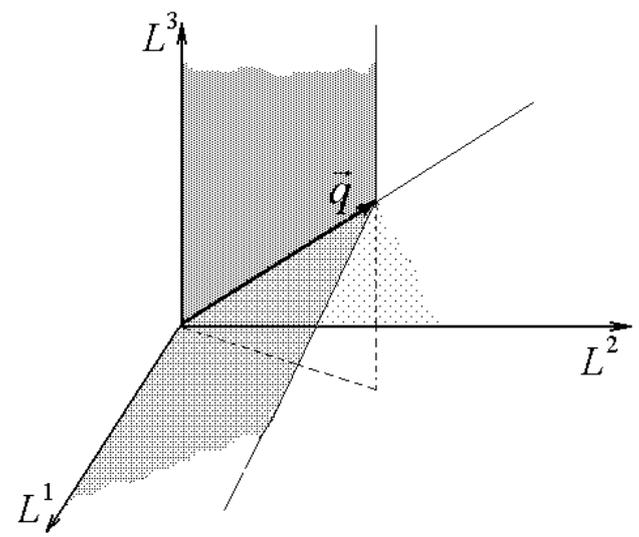


Рис. 3. Стратификация пространства трех потребляемых ресурсов для монокультур

ничивать рост будут заданные исследователем факторы. Для изучения подобной возможности по рассчитанным значениям потребностей составили среды, которые с точки зрения вариационной модели ограничены по углероду, азоту и фосфору. Затем, основываясь на данных опытов с добавками, проверяли наличие заданного лимитирования при выращивании моно- и смешанных культур. Результаты опытов с добавками на среде, ограниченной по углероду, полностью подтверждают заданный характер лимитирования: во всех случаях возобновление роста происходило после внесения в культуру глюкозы или комбинации веществ, ее содержащую. При выращивании всех культур на среде, ограниченной по азоту, из-за бедности сред происходило закисление, которое, вероятно, приводило к гибели бактерий, поскольку добавки любых комбинаций ресурсов не приводили к возобновлению роста. Также в эксперименте не удалось наблюдать ограничение роста фосфором. Несмотря на снижение относительного содержания фосфатов, полного исчерпания этого ресурса не происходило. Анализ данных по культивированию сообществ диссоциантов на этих средах позволил сформулировать гипотезу о неоднократном использовании фосфора клетками диссоциантов *P.aeruginosa*. (Подобная идея была высказана ранее на основе биохимических исследований фосфорного обмена у микроорганизмов (Кулаев, 1975).) При этом для этого явления, возможно, существенное значение имеет бедность сред, на которых выращивали культуры на данном этапе (в ранних опытах на более богатых средах было зафиксировано как исчерпание фосфора, так и возобновление роста после его добавки, что и позволило рассчитать потребности диссоциантов в этом ресурсе).

Принятие гипотезы о неоднократном обращении фосфора приводит к необходимости считать этот ресурс находящемся в среде в достаточном количестве. В результате были пересмотрены все экспериментальные данные с точки зрения двух факторов, которые могут ограничить рост диссоциантов – углерода и азота. Всего для анализа опытов с добавками оказался пригодным 71 опыт (37 с монокультурами и 34 со смешанными). В 59 из них произошло возобновление роста после внесения ресурса, предсказываемого моделью как лимитирующего (табл. 2, 3, рис. 4, 5). Таким образом, по данным двух экспериментальных этапов и с учетом гипотезы о неоднократном обращении фосфора, в 83% случаев теоретические и опытные данные совпадают. Несоответствия между предсказанным и полученным в экспериментах характером лимитирования объяснимы ошибками в значениях потребностей, которые являются параметрами расчетов границ стратов, а также погрешностями в составлении исходных сред для культивирования. Интересным представляется тот факт, что экспериментальное подтверждение получило совместное лимитирование роста культур углеродом и азотом. (В таблицах приведены результаты всех экспериментов. В качестве наглядной иллюстрации, на рис. 4 и 5 в виде диаграммы приведены данные по опытам со смешанной культурой, состоящей из трех диссоциантов.)

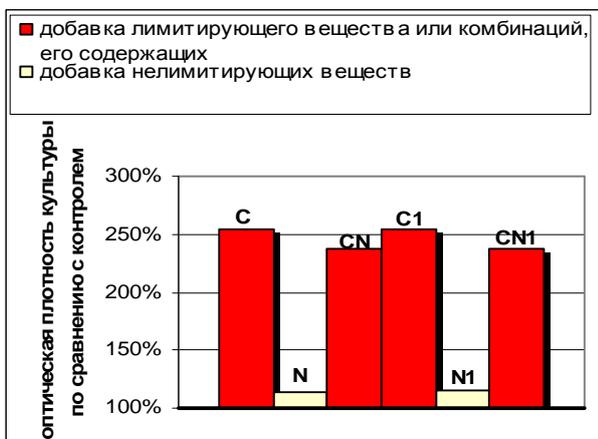
Таблица 2. Реакция на добавки в монокультурах (в процентах). За 100% принята оптическая плотность культуры без добавок (контроль). Цифра 1 в обозначении вносимых ресурсов означает дополнительное присутствие фосфора. Жирным шрифтом выделены показатели, свидетельствующие о возобновлении роста в результате внесения питательных веществ, предсказанных моделью как лимитирующих

№	Лимитирующий ресурс по модели	Добавка	R	S	M
1	C	C	121	220	110
		N	91	102	96
2	N	C			101
		N			131
3	C	C			117
		N			119
4	C	C	220	140	217
		N	97	80	74
5	C	C		227	
		N		73	
6	N	C	93		
		N	93		
7	C	C	94	62	100
		N	95	100	68
8	N	C	95	100	90
		N	143	112	100
9	C	C		122	160
		N		100	90
10	C	C	212		97
		N	162		66
11	C	C	129	129	143
		N	86	100	86

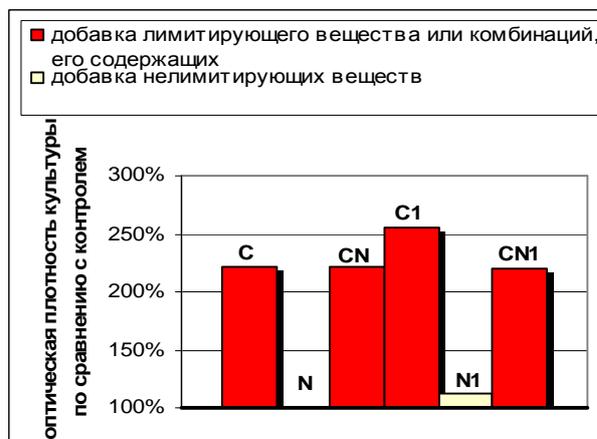
№	Лимитирующий ресурс по модели	Добавка	R	S	M
12	C	C	131	101	119
		N	76	68	81
13	C	C			112
		N			91
14	C	C	246	171	184
		CN1	195	140	163
15	C	C	213	213	222
		N	104	100	110
		CN	204	178	208
		C1	223	209	212
		N1	100	120	120
16	CN	CN1	223	219	194
		C	105		
		N	105		
		CN	86		
		C1	104		
17	CN	N1	82		
		CN1	168		
		C	135	149	178
		N	91	102	104
		CN	214	202	216
17	CN	C1	135	153	158
		N1	100	104	92
		CN1	207	196	218

Таблица 3. Добавки в смешанных культурах (в процентах). За 100% принята оптическая плотность культуры без добавок (контроль). Цифра 1 в обозначении вносимых ресурсов означает дополнительное присутствие фосфора. Жирным шрифтом выделены показатели, свидетельствующие о возобновлении роста в результате внесения питательных веществ, предсказанных моделью как лимитирующих

№	Лимитирующий ресурс по модели	Добавка	RS	RM	SM	RSM		
1	C	C		82	89	87		
		N		59	84	98		
2	N	C	92	96	104	96		
		N	104	104	116	128		
3	C	C	142	160	160	150		
		N	75	100	90	71		
4	C	C			121			
		N			79			
5	C	C	120	120		113		
		N	100	93		75		
6	C	C	103	143				
		N	81	102				
7	C	C	103	109		129		
		N	88	81		91		
8	C	C	220	200	194	254		
		N	98	94	98	114		
		CN	202	198	214	237		
		C1	204	227	276	254		
		N1	110	114	94	116		
		CN1	212	227	270	237		
9	C	C				233		
		N				102		
		CN				246		
		C1				200		
9	C	CN1				173		
		10	C	C				222
				N				100
				CN				222
C1						256		
N1						113		
CN1						220		
11	CN	C	102	99	77	126		
		N	116	81	87	93		
		CN	116	157	107	137		
		C1	111	104	103	86		
		N1	96	68	91	89		
		CN1	113	157	125	200		
12	CN	C	100	108	116	142		
		N	90	92	110	102		
		CN	104	125	127	205		
		C1	90	98	112	142		
		N1	92	92	102	98		
		CN1	170	163	163	193		

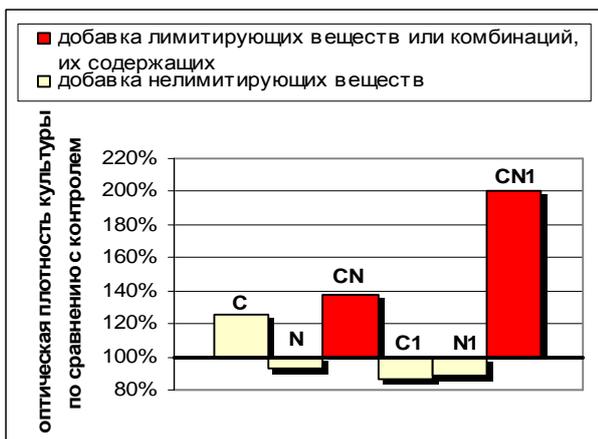


Соответствует опыту № 8 из таблицы 3

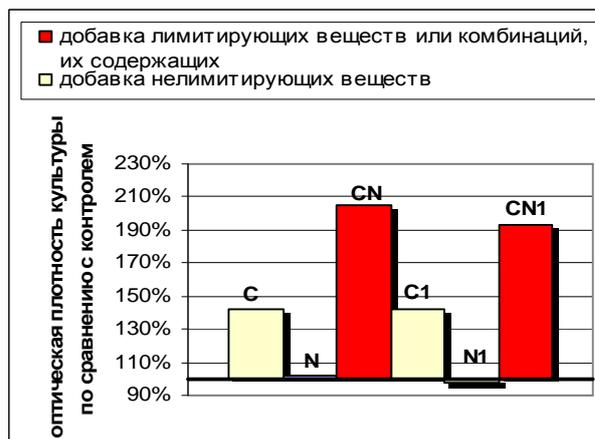


Соответствует опыту № 10 из таблицы 3

Рис. 4. Влияние добавок на оптическую плотность смешанной культуры, состоящей из R-, S- и M-диссоциантов в случае лимитирования углеродом. За 100% принята оптическая плотность культуры без добавок (контроль).



Соответствует опыту № 11 из таблицы 3



Соответствует опыту № 12 из таблицы 3

Рис. 5. Влияние добавок на оптическую плотность смешанной культуры, состоящей из R-, S- и M-диссоциантов в случае совместного лимитирования углеродом и азотом. За 100% принята оптическая плотность культуры без добавок (контроль).

Состав смешанных культур на стационарной стадии развития. В рамках вариационной модели потребления и роста данные о потребностях организмов позволяют в зависимости от начального состава среды определять те ресурсы, которые будут ограничивать рост культуры. Знание лимитирующего фактора, в свою очередь, дает возможность рассчитать состав сообщества (доли каждой из образующих его групп клеток) на стационарной стадии развития. В диссертационной работе получены формулы, по которым можно определить, какая доля в общей численности будет приходиться на каждую из двух или трех групп клеток, образующих сообщество, при всех возможных условиях лимитирования.

На основании полученных значений потребностей диссоциантов *P.aeruginosa* и границ областей лимитирования рассчитывали состав смешанных культур бактерий на стационарной стадии роста. Адекватность модельных предсказаний проверяли, сравнивая их с результатами экспериментов.

Экспериментальными данными являются результаты выращивания четырех типов смешанных культур диссоциантов *P.aeruginosa*. Для теоретических расчетов стационарного состава сообщества для каждой опытной среды сначала были определены ресурсы, ограничивающие рост сообщества. Оказалось, что все наборы ресурсов, определяемые начальным составом среды, принадлежат стратам с однофакторным лимитированием (полученные результаты хорошо согласуются с результатами опытов с добавками).

Полученные по модельным расчетам относительные численности диссоциантов сравнивали с данными экспериментов. Здесь необходимо сделать существенное замечание о сопоставлении теоретических и опытных данных. Из эксперимента по результатам посева известны доли единиц, образующих колонии (КОЕ) диссоциантов, в то время как модель позво-

ляет рассчитывать относительные численности клеток. В рамках данной работы принята следующая гипотеза: на стационарной стадии роста клетки бактерий находятся в одинаковом физиологическом состоянии и доля проросших клеток (КОЕ) среди всех клеток данного диссоцианта одинакова для всех диссоциантов.

Итак, было получено, что из 36-ти наборов данных в 33-х предсказанной моделью состав поликультур отличается от экспериментального менее чем на 15%. Наибольшее отклонение расчетных значений от опытных составляет 17%. Согласно проведенному анализу чувствительности модели к вариациям параметров, полученные различия могут быть объяснены ошибками в значениях потребностей, применявшихся в расчетах. Кроме того, согласно результатам определения состава смешанных культур в повторностях, разброс данных достигает $\pm 15\%$.

После проведения экспериментов на средах с заданными условиями лимитирования и последующего перехода к двум рассматриваемым ресурсам (см. предыдущий раздел) сравнение расчетного и экспериментального состава культур по всем проведенным опытам дал следующие результаты. Данные представлены в табл. 4. (В таблице приведены результаты всех экспериментов. В качестве наглядной иллюстрации на рис. 6–8 приведены данные о доле R-диссоцианта в смешанных культурах.) В семи из 45 экспериментов разница в долях диссоциантов составляет 15 и более процентов от общей численности сообщества (24, 32, в остальных случаях менее 20 процентов). В остальных 38 случаях (т.е. в 85%-ах опытов) разность между предсказанными моделью и полученными в эксперименте долями диссоциантов составляет менее 15 процентов от общей численности. Причины несоответствий экспериментальных и расчетных значений аналогичны указанным выше.

Полученные данные о величинах потребностей и произведенные расчеты численностей диссоциантов в каждой из областей лимитирования позволили проанализировать возможные пути регулирования состава культур с помощью изменения отношения запаса ресурсов. Регулирование состава возможно лишь в задаваемых моделью пределах. Оказалось, что для исследованных диссоциантов *P.aeruginosa* с их значениями потребностей нельзя существенно изменять структуру сообщества. Это связано, во-первых, с узостью интервалов, задающих области многофакторного лимитирования, в сравнении с точностью, с которой могут быть составлены исходные среды, а во-вторых, с незначительными различиями состава сообщества в разных стратах по сравнению с погрешностью определения долей диссоциантов. Однако, при "подходящих" значениях потребностей, варьируя соотношение питательных веществ в среде, можно получать на стационарной стадии роста различные распределения групп по рангам (от

наименее до наиболее многочисленной). Результаты соответствующих расчетов приведены в диссертации и в опубликованных работах.

Таблица 4. Состав смешанных культур на стационарной стадии роста

№	Культура	Состав по результатам эксперимента (в процентах)	Состав по модельным расчетам (в процентах)
1	RS	67:33	69:31
	SM	66:34	54:46
2	RS	62:38	65:35
	RM	71:29	74:26
	SM	50:50	60:40
	RSM	43:41:16	60:29:11
3	RS	70:30	69:31
	SM	50:50	54:46
	RSM	67:11:22	62:23:15
	RSM	58:18:24	62:23:15
4	RM	60:40	73:27
	SM	42:58	54:46
5	RS	61:39	69:31
	RM	62:38	73:27
	SM	50:50	54:46
	RSM	62:32:6	62:23:15
6	RM	78:22	73:27
	SM	43:57	54:46
	RSM	68:17:15	62:23:15
7	RS	79:21	69:31
	RM	87:13	73:27
	SM	52:48	54:46
	RSM	75:12:13	62:23:15

№	Культура	Состав по результатам эксперимента (в процентах)	Состав по модельным расчетам (в процентах)
8	RSM	68:19:13	62:23:15
9	RS	60:40	67:33
10	RS	70:30	65:35
	RM	80:20	74:26
	RSM	45:31:24	60:29:11
	RSM	65:19:16	60:29:11
11	RM	75:25	74:26
12	RS	57:43	69:31
	RM	74:26	73:27
	RM	66:34	73:27
	SM	72:28	54:46
	RSM	54:34:12	62:23:15
	RSM	38:23:39	62:23:15
13	RSM	61:22:17	62:23:15
	RS	35:65	67:33
	RM	54:46	73:27
	SM	65:35	57:43
14	RSM	56:24:20	61:26:13
	RS	67:33	67:33
	RM		73:27
	SM	62:38	57:43
	RSM	76:9:15	61:26:13

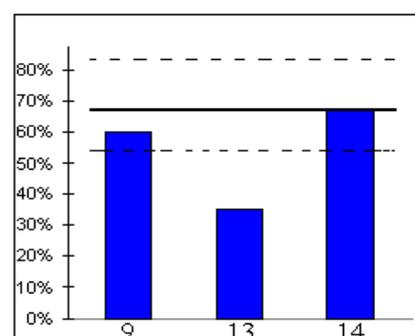
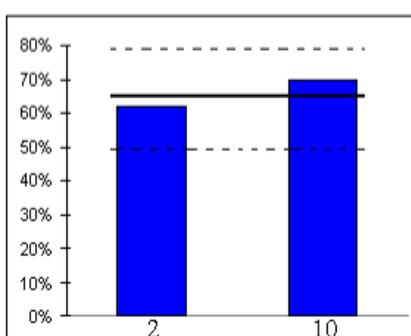
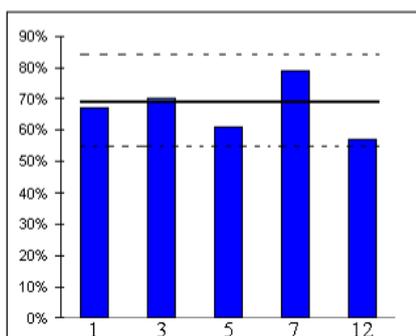


Рис. 6. Доля R-диссоцианта в смешанной культуре, состоящей из R- и S-диссоциантов*

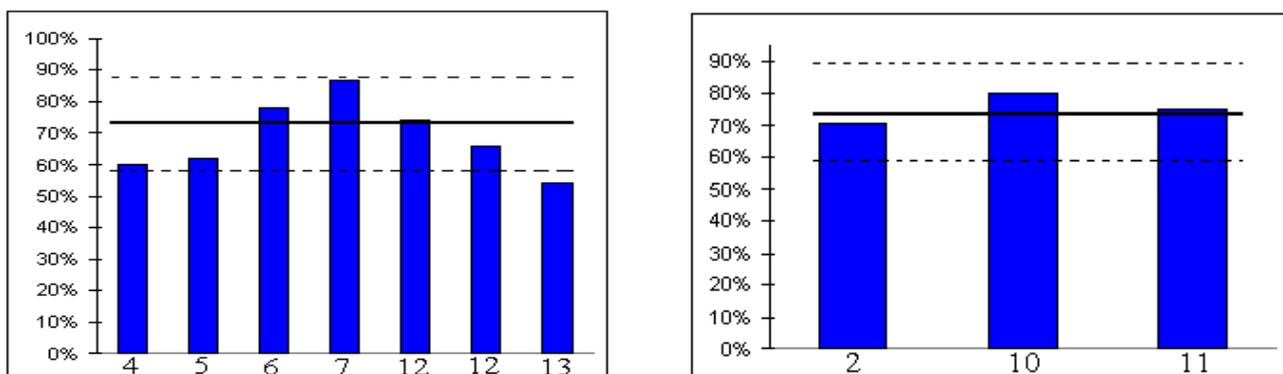


Рис. 7. Доля R-диссоцианта в смешанной культуре, состоящей из R- и M-диссоциантов*

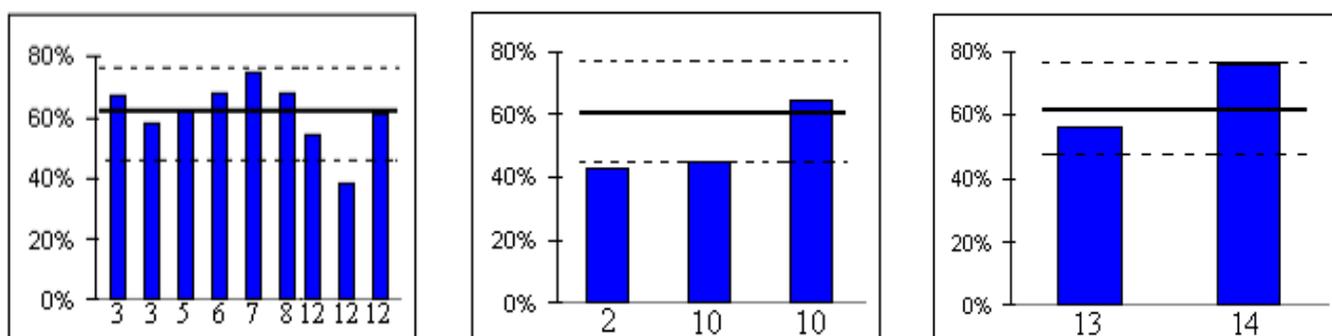
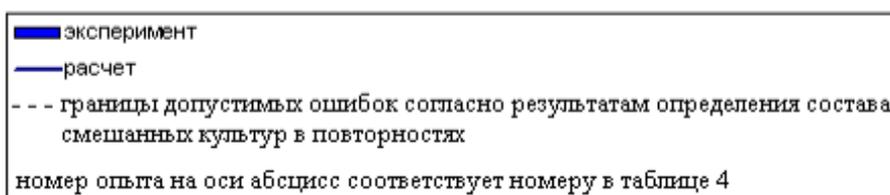


Рис. 8. Доля R-диссоцианта в смешанной культуре, состоящей из R-, S- и M-диссоциантов*

*Обозначения:



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертационной работе получен алгоритм для расчета границ областей лимитирования и относительных численностей групп микроорганизмов, образующих сообщество, на стационарной стадии роста в зависимости от содержания в среде лимитирующих ресурсов.

Изучены частные случаи вариационной модели потребления и роста, соответствующие лабораторным опытам. Исследованы некоторые математические аспекты вариационной модели. В частности, показано, что экстремальный принцип, лежащий в основе используемой модели, допускает интерпретации в виде принципа минимального потребления лимитирующих ресурсов и в виде энтропийной параметризации изменения запасов ресурсов в среде.

Систематизированы и проанализированы накопленные экспериментальные данные по культивированию моно- и смешанных культур диссоциантов бактерий *P.aeruginosa*. Разработаны и реализованы схемы проведения опытов с заданными условиями лимитирования. Исхо-

дя из экспериментальных материалов, рассчитаны необходимые параметры вариационной модели, которыми являются потребности диссоциантов в углероде, азоте и фосфоре. На основе полученных значений потребностей реализован алгоритм расчетов границ областей лимитирования и относительных численностей диссоциантов. Проведено сравнение модельных предсказаний и результатов опытов. Полученные результаты позволяют говорить о согласованности теоретических расчетов и экспериментальных данных.

На основе рассчитанных величин потребностей численностей диссоциантов в каждой из областей лимитирования проанализированы возможные пути регулирования состава культур с помощью изменения отношения запаса ресурсов.

В диссертационной работе высказана гипотеза о возможности неоднократного использования фосфора клетками диссоциантов *P.aeruginosa*.

ВЫВОДЫ

1. На основе вариационной модели потребления и роста для экологических сообществ получен алгоритм для расчета границ областей лимитирования и относительных численностей групп микроорганизмов, образующих сообщество, на стационарной стадии роста в зависимости от начальных запасов в среде лимитирующих ресурсов.

2. Изучены частные случаи вариационной модели, соответствующие лабораторным опытам: сообщество состоит из одной, двух или трех групп микроорганизмов, потребляющих один, два или три питательных вещества; потребности организмов в основных ресурсах близки к пропорциональным.

3. Доказано, что принцип максимума обобщенной энтропии (при условии, что потребление ресурсов ниже определённого уровня) эквивалентен принципу минимума потребления системой лимитирующих ресурсов (при условии, что энтропия системы имеет значение выше некоторого порога).

4. Доказано, что функционал обобщенной энтропии монотонно возрастает вместе с возрастанием первоначального запаса каждого из ресурсов.

5. Рассчитаны потребности диссоциантов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* в углероде, азоте и фосфоре, которые являются параметрами вариационной модели. На основе полученных значений потребностей реализован алгоритм расчетов границ областей лимитирования и относительных численностей диссоциантов.

6. Проведено сравнение модельных предсказаний ресурсов, ограничивающих рост моно- и смешанных культур диссоциантов *P.aeruginosa*, с результатами экспериментов по выявлению лимитирующих веществ. Также проведено сравнение расчетных и опытных данных о составе

смешанных культур микробиологических сообществ на стационарной стадии развития. Полученные результаты позволяют говорить о согласованности теоретических расчетов и экспериментальных данных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Я выражаю глубокую признательность Е.С.Милько, И.А.Ильиных, Л.М.Полянской за предоставленные экспериментальные данные, без которых работа не была бы возможной. Мне помогли своим добрым отношением, поддержкой и ценными советами Е.С.Милько, В.Н.Максимов, А.Б.Рубин, Г.Ю.Ризниченко, Н.Г.Булгаков, С.В.Мамихин, А.В.Соловьев, В.Л.Алексеев.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фурсова П.В., Левич А.П. Математическое моделирование в экологии сообществ // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов: Обзорная информация. 2002. № 9. С. 1-100.
2. Левич А.П., Фурсова П.В. Теоремы и задачи вариационного моделирования в экологии сообществ // Фундаментальная и прикладная математика. 2002. Т. 8. Вып. 4. С. 1035-1045.
3. Fursova P.V. Jaynes formalism development for ecological communities modelling // 5 International congress of mathematical modelling. Book of abstracts. 2002. V.2. P. 197.
4. Фурсова П.В. Потребности в глюкозе, нитратах, фосфатах и их вариации в анализе смешанной культуры диссоциантов *Pseudomonas aeruginosa* // Изв. АН. Сер. биол. 2003. № 1. С. 122-127.
5. Фурсова П.В., Левич А.П., Алексеев В.Л. Экстремальные принципы в математической биологии // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123. № 2. С. 115-137.
6. Фурсова П.В. Видовые обилия и области лимитирования в вариационной модели экологического сообщества // Биофизика. 2003. Т.48. № 2. С.344-351.
7. Фурсова П.В. Алгоритмы расчетов в вариационной модели экологического сообщества // Математическое моделирование. 2003. Т.15. № 5. С. 115-128.
8. Фурсова П.В. Вариационная модель развития поликультуры микроорганизмов, растущих на многокомпонентном субстрате без пополнения запаса ресурсов // Тезисы X международной конференции "Математика, компьютер, образование", г. Пущино, 20-25 января 2003 г. С.237.

9. Фурсова П.В., Милько Е.С., Ильиных И.А., Максимов В.Н., Левич А.П. Определение потребностей диссоциантов *Pseudomonas aeruginosa* в углероде, азоте и фосфоре // Микробиология. 2004. Т.73. №1. С.45-50.
10. Фурсова П.В., Милько Е.С., Ильиных И.А., Левич А.П. Выявление компонентов питания, ограничивающих рост моно- и смешанных культур диссоциантов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* // Вестник Московского университета. Сер.16. Биология. 2004. №1. С. 19-23.
11. Фурсова П.В., Левич А.П. О регулировании состава экологического сообщества с помощью изменения отношения концентраций ресурсов в среде // Биофизика. 2004. Т.49. №5. С. 912-919.
12. Фурсова П.В. Расчеты видовых обилий в исследовании разнообразия диссоциантов *Pseudomonas aeruginosa* // Научные труды Международного биотехнологического центра МГУ: тезисы докладов второй международной научной конференции «Биотехнология – охране окружающей среды» и третьей школы-конференции молодых ученых и студентов «Сохранение биоразнообразия и рациональное использование биологических ресурсов», Москва, 25-27 мая 2004 г. М.: Изд-во «Спорт и Культура». 2004. С. 83.