

Системный анализ, математическое моделирование, информационные системы

УДК 577.4:579.841.11.017.6

П.В. ФУРСОВА*, Е.С. МИЛЬКО, И.А. ИЛЬИНЫХ, А.П. ЛЕВИЧ

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет,

Международный учебно-научный биотехнологический центр МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119992

e-mail: polina_fursova@mail.ru

Подходы к управлению составом сообщества диссоциантов *Pseudomonas aeruginosa*: экспериментальные данные и модельные расчеты

Изучали состав и плотность смешанных культур R-, S- и M-диссоциантов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* в стационарной стадии развития. Экспериментальные данные о доле диссоциантов в сообществе сравнивали со значениями относительной численности, полученными по расчетам в рамках вариационной модели экологического сообщества. В 36 наборах данных модельный состав поликультур отличается от опытного не более, чем на 17%, а в 29 из них отклонение не превышает 12%. Относительная ошибка предсказания оптической плотности культур в 29 из 36 опытах не превышает 36%. В остальных семи случаях указаны причины более сильных различий.

Ключевые слова: состав сообщества, управление составом сообщества, *Pseudomonas aeruginosa*.

В биологических процессах с участием микроорганизмов важная роль принадлежит сообществам бактерий. Параметры процессов и урожай продуцируемых веществ в большой степени зависят от доли, которая в биомассе сообщества приходится на те или иные группы клеток. Поэтому так важны технологические приемы управления структурой сообщества, которые могут поддерживать сообщества необходимого состава, представленного группами микроорганизмов в необходимых пропорциях.

Особая ситуация в микробиологической биотехнологии возникает из-за явления диссоциации микроорганизмов [1]: любая культура способных диссоциировать бактерий фактически является сообществом спонтанно возникающих диссоциантов. При этом активность диссоциантов, их физиологические особенности, влияющие на продуцирование биологически актив-

ных веществ, различны, что приводит к необходимости контроля за составом возникающей поликультуры. Например, штаммы бактерий *Pseudomonas aeruginosa* входят в препарат для очистки оборудования от загрязнения тяжелыми фракциями нефти [2], причем S-диссоциант оказывается более активным в разрушении n-гексадекана [3].

Один из приемов для формирования структуры сообществ состоит в регулировании их состава с помощью изменения соотношения компонентов минерального питания в среде [4, 5]. Например, для *P. aeruginosa* известно, что доминирование того или другого диссоцианта в почве зависит от минерального состава грунтовых вод.

По мнению авторов, экспериментальные подходы к управлению структурой сообществ должны быть предварены модельным анализом путей управления.

Список сокращений: БСА — плотная среда, содержащая мясо-пептонный бульон и сусло-агар в равном соотношении; КОЕ — колониеобразующая единица.

* Автор для переписки.

В отличие от методов дифференциального исчисления, которые наиболее распространены в экологическом моделировании и позволяют описывать динамику процессов в режиме реального времени, вариационные подходы, как правило, предсказывают лишь конечное стационарное состояние сообщества [6]. Однако на пути имитации процесса с помощью дифференциальных уравнений возникают трудности как принципиального, так и технического характера. Принципиальная трудность состоит в том, что не существует систематических правил вывода самих уравнений. Процедуры их составления основываются на полуэмпирических закономерностях, правдоподобных рассуждениях, аналогиях и искусстве модельера. Технические трудности связаны с высокой размерностью задач по управлению структурой сообществ. Для существенно многовидовых сообществ, потребляющих многочисленные ресурсы, требуется подбор сотен коэффициентов и анализ систем из десятков уравнений. Обычные приемы снижения числа переменных – их агрегирование или учет только доминирующих групп организмов – непригодны во многих задачах экологии. С течением времени существенную роль в сообществе начинают играть редкие и малочисленные виды, которые, тем самым, следует включать в число переменных на начальных этапах моделирования.

Для теоретического анализа микробиологического сообщества *P. aeruginosa* мы использовали вариационную модель потребления и роста [5], которая позволяла по известным потребностям физиологически различающихся групп организмов рассчитывать численность субпопуляций диссоциантов как функцию ограничивающих рост ресурсов.

Целью настоящей работы был анализ роста смешанных культур диссоциантов *P. aeruginosa*, а точнее, состава сообщества бактерий и его плотности на стационарной стадии развития, а также изучение зависимости состава поликультуры от различных начальных запасов среды.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Культивирование бактерий. В период с 1999 по 2001 гг. были проведены 56 опытов по выращиванию смешанных культур R-, S-, и M-диссоциантов штамма *P. aeruginosa* К-2 (№ 438 в коллекции DM-MSU*) (все попарные сочетания диссоциантов и поликультура из трех диссоциантов). Бактерии культивировали без пополнения запаса ресурсов на средах с различным начальным содержа-

нием глюкозы, нитратов и фосфатов. Уровень глюкозы в средах изменяли в пределах от 0,03 до 1,6%, нитрата — от 0,010 до 0,577%, фосфаты использовали в концентрации 0,005 и 0,020%.

Бактерии культивировали в пробирках емкостью 50 мл с 10 мл среды на качалке (180 об/мин) при температуре 28° до достижения стационарной стадии роста. В качестве посевного материала использовали суточные культуры диссоциантов псевдомонад, выращенные на плотной среде, содержащей мясо-пептонный бульон и суело в равном отношении. Бактерии со скошенного агара переносили петлей в пробирку с физиологическим раствором. Плотность инокулятов каждого из диссоциантов во всех опытах выравнивали с помощью нефелометра или по стандарту мутности до содержания клеток 10^7 в 1 мл. Посевной материал вносили в количестве 3%. Рост бактерий оценивали нефелометрически по плотности культуры. Соотношение диссоциантов в популяции определяли по морфологии колоний на БСА.

Вариационная модель потребления и роста. Для описания развития микробных культур в настоящей работе использовали вариационную модель потребления и роста для экологических сообществ, которая позволяет по известным потребностям физиологически различающихся групп микроорганизмов рассчитывать как области лимитирования для любых сочетаний ресурсных факторов в среде, так и численность популяций сообщества на стационарной стадии роста в зависимости от величины запасов лимитирующих рост ресурсов.

Расчет состава поликультур. Стационарную стадию развития культуры диссоциантов описывали решением вариационной задачи [5, 7]:

$$\begin{cases} H(n_1, \dots, n_w) = \left(\sum_{i=1}^w n_i \right) \ln \left(\sum_{i=1}^w n_i \right) - \sum_{i=1}^w n_i \ln n_i \rightarrow \max; \\ \sum_{i=1}^m q_i^k n_i \leq L^k, k = \overline{1, m}; \\ n_i \geq 0, i = \overline{1, w}, \end{cases} \quad (1)$$

где n_i — конечная искомая численность каждой из групп организмов, образующих сообщество, q_i^k — количество k -го ресурса, необходимое для роста клетки группы i , в расчете на одну клетку (потребность организма группы i в ресурсе k), m — общее количество взаимозаменяемых ресурсов, потребляемых сообществом, w — число групп в сообществе, L^k — начальное содержание ресурса k в среде ($L^k \geq 0$).

* Кафедра микробиологии МГУ.

В качестве целевой функции $H(\bar{n})$, $\bar{n} = (n_1, \dots, n_w)$, использован так называемый функционал обобщенной энтропии, а ограничения представляют собой законы сохранения. Важно отметить, что функционал $H(\bar{n})$ не постулирован, а выведен на основе категорно-функторного метода сравнения математических структур [8]. Само сообщество описано математической структурой множеств из n элементов, разбитых на w непересекающихся классов размером n_i ($n = \sum_{i=1}^w n_i$). Допустимыми преобразованиями для этих объектов являются инъективные, сюръективные, не всюду определенные и не функциональные соответствия (такой тип преобразования адекватно отражает условия эксперимента, а именно, возможность размножения и смерти организмов, отсутствие интродукции и слияния). Логарифм удельного числа допустимых преобразований данного состояния системы, названный обобщенной энтропией, является мерой структурированности состояний системы. Экстремальный принцип, формализуемый задачей (1), 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 [8].)

Величину $\frac{1}{n} H(\bar{n}) = -\sum_{i=1}^w \frac{n_i}{n} \log \frac{n_i}{n}$ экологи применяют как индекс разнообразия видовой структуры сообществ. Таким образом, рассматриваемый экстремальный принцип может интерпретироваться как требование максимального видового разнообразия сообществ.

Для описанной модели имеет место теорема стратификации: все пространство ресурсных факторов $\prod_{k=1}^m L^k$ распадается (стратифицируется) на $2^m - 1$ непересекающихся областей (стратов), каждая из которых соответствует одному из подмножеств множества потребляемых сообществом ресурсов. В страте S^J , где J — непустое подмножество множества ресурсов $\{1, 2, \dots, m\}$, выполняется:

1) решение вариационной задачи $n_i(\bar{L})$, где $\bar{L} \equiv \{L^1, L^2, \dots, L^m\}$, зависят только от тех L^k , для которых $k \in J$;

2) на этом решении нестрогие неравенства $\sum_{i=1}^w q_i^k n_i \leq L^k$ обращаются в строгие равенства для всех $k \in J$ и в строгие неравенства для всех $k \notin J$ [7].

Теорема стратификации влечет редукцию задачи (1) к задачам

$$\begin{cases} H(\bar{n}) \rightarrow \max; \\ \bar{n} = (n_1, \dots, n_w); \\ \sum_{i=1}^w q_i^j n_i = L^j, j \in J; \\ n_i \geq 0, i = \overline{1, w}. \end{cases} \quad (2)$$

формулируемым для любого $J \subset \{1, 2, \dots, m\}$ [7].

Решение задач (2) называется формулой структуры сообщества [7, 9]

$$n_i(\bar{L}^J) = n e^{-\lambda^j q_i^j}$$

где вектора \bar{L}^J , $\bar{\lambda}^J$ и \bar{q}^J имеют компоненты j из набора J , идентифицирующего страт, которому принадлежит вектор \bar{L}^J . Множители Лагранжа $\bar{\lambda}^J$ и полная численность n как функции потребляемых полностью в страте S^J ресурсов \bar{L}^J должны быть получены из алгебраических уравнений

$$\begin{cases} \sum_{i=1}^w e^{-\lambda^j q_i^j} = 1; \\ n \sum_{i=1}^w q_i^j e^{-\lambda^j q_i^j} = L^j, j \in J. \end{cases}$$

Доля диссоцианта в сообществе $\frac{n_i}{n}$ и полная численность клеток всего сообщества n оказываются известными функциями начальных концентраций ресурсов в среде \bar{L}^J . Знание указанной зависимости позволяет предлагать пути направленного управления долями диссоциантов в поликультуре с помощью подбора начального соотношения потребляемых клетками ресурсов. Более точно параметры управления задает теорема о максимуме видовых обилий [5, 10], согласно которой относительные численности видов зависят только от отношений полностью потребляемых сообществом ресурсов среды: относительная численность заданного вида принимает наибольшее значение при отношениях в среде ресурсов, равных отношениям потребностей в них данного вида.

Итак, для определения структуры сообщества на стационарной стадии роста сначала необходимо выяснить, к какому страту принадлежит вектор ресурсов, задающий состав исходной среды, а затем по формуле видовой структуры рассчитать численность групп организмов, образующих смешанную культуру. Пути расчета границ областей лимитирования следуют непосредственно из доказательств теоремы стратификации [7]; конкретные

формулы в частных случаях (в том числе для сообществ, состоящих из двух или трех видов, потребляющих три ресурса) получены в работе [11].

Для экспериментального определения ресурса, ограничивающего рост культуры, применяли так называемый метод добавок. В момент предполагаемого достижения стационарной стадии культуру разделяли и помещали в четыре пробирки. В три из них вносили глюкозу, нитрат или фосфат, а четвертая (без добавок) служила контролем. Культуры оставляли расти еще 4 ч, затем проводили измерение оптической плотности. Если добавление компонента питания в среду приводило к возобновлению деления клеток, то этот ресурс считали лимитирующим. В случае, если внесенные вещества не приводило к росту культуры, считали, что этот фактор не ограничивал развитие сообщества. Сравнение экспериментальных данных и теоретических расчетов показало, что в 75% случаев рост культур диссоциантов возобновлялся после добавки вещества, определенного моделью как лимитирующего [12].

Расчет оптической плотности культуры.

Для модельного определения оптической плотности культуры на стационарной стадии роста бактерий производили следующие расчеты. Сначала находили полную численность сообщества по формуле

$$n = \frac{L^j}{\sum_{i=1}^w q_i' p_i}, \quad j \in J,$$

где L^j — начальное содержание в среде одного из полностью потребляемых сообществом ресурсов, p_i , $i = 1, \dots, w$ — значения относительной численности диссоциантов в смешанной культуре, отыскиваемые по формуле $p_i = e^{-\sum_{k \in J} \lambda_k^i q_k^i}$.

Затем количество клеток каждого диссоцианта (соответствующая доля от общего числа клеток) характеризовали определенной величиной оптической плотности. Для этого использовали коэффициент, полученный при люминесцентном микрокопировании: для R-диссоцианта — 10^{10} кл/мл·ед, для S-диссоцианта — $0,3 \cdot 10^{10}$ кл/мл·ед, для M-диссоцианта — $0,17 \cdot 10^{10}$ кл/мл·ед [13]. Общую оптическую плотность культуры вычисляли как сумму значений оптической плотности диссоциантов, образуемых исследуемое сообщество.

Относительную ошибку ε определения оптической плотности рассчитывали по формуле $\varepsilon = \left| \frac{\text{экс.} - \text{расч.}}{\text{экс.}} \right| \cdot 100\%$, где *экс.* — экспериментальное значение, *расч.* — предсказанное моделью.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В этой работе на основе данных о потребностях псевдомонад в основных питательных компонентах среды в рамках вариационной модели рассчитывали относительную численность диссоциантов и общую плотность культур в стационарной стадии роста в зависимости от начального состава среды. Полученные данные сравнивали с результатами экспериментов.

Диссоцианты *P. aeruginosa* различаются по морфологии колоний: R-диссоциант (rough) имеет шероховатую поверхность колоний, S (smooth) — гладкую и M (mucoid) — слизистую. Одни из первых фенотипических изменений при диссоциативных переходах происходят в клеточной оболочке: капсуле, клеточной стенке, цитоплазматической мембране. Эти различия определяют многие особенности диссоциантов: изменение скорости поступления веществ в клетки, а следовательно, и скорость роста, а также скорости выведения веществ из клетки; изменение устойчивости клеток к действию физических и химических факторов и различия в текучести мембран, которые, в свою очередь, могут повлиять на активность мембраноассоциированных ферментов.

Четыре типа смешанных культур диссоциантов *P. aeruginosa* выращивали на 14 средах (табл. 1). В процессе роста измеряли оптическую плотность (в начале опыта, через 18—22 ч, затем каждые 4—8 ч до наступления стационарной стадии). В предполагаемый момент остановки роста проводили посев для определения состава культуры. Однако не во всех экспериментах удалось выполнить условие достижения стационарной стадии, поэтому часть опытных данных исключили из дальнейшего рассмотрения. Кроме того, в некоторых экспериментах со смесью двух диссоциантов к концу опыта происходило ее замещение поликультурой из трех диссоциантов в результате дальнейшей диссоциации с последующей конкуренцией за ресурсы. Указанные опыты рассматривали как эксперименты со смесью трех диссоциантов.

Проводили также эксперименты с различным процентным составом поликультур на одной среде. Согласно полученным данным, если доля клеток одного из диссоциантов не превышает 70%, то на стационарной стадии роста на одной и той же среде устанавливается одинаковый, с учетом погрешности определения, состав культуры. В данной работе задачу исследования эквивалентности не ставили, начальные соотношения диссоциантов не отличались значительно друг от друга (см. табл. 1), поэтому соответствующие экспериментальные данные не приведены.

Таблица 1

Состав сред (в расчете на углерод, азот и фосфор, мг/мл) и соотношение диссоциантов (%) в культуре в начале опыта

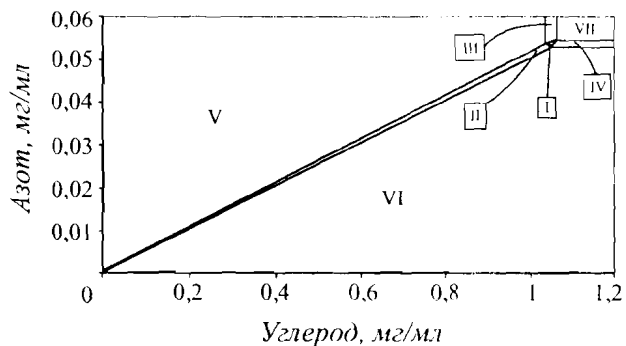
Номер среды	Углерод	Азот	Фосфор	R:S	R:M	S:M	R:S:M
1	0,4	0,035	0,01	52:48	61:39	63:37	37:42:21
2	1,62	0,14	0,04	52:48	58:42	51:49	23:53:24
3	0,4	0,015	0,01	47:53	59:41	71:29	35:42:23
4	1,6	0,06	0,04	47:53	49:51	54:46	27:34:39
5	0,12	0,035	0,01	52:48	61:39	63:37	37:42:21
6	0,48	0,14	0,04	52:48	58:42	51:49	23:53:24
7	0,12	0,015	0,01	47:53	59:41	71:29	35:42:23
8	0,48	0,06	0,04	47:53	49:51	54:46	27:34:39
9	0,78	0,1	0,01	43:57	49:51	54:46	29:45:26
10	3,24	0,4	0,04	43:57	60:40	55:45	32:42:26
11	1,6	0,2	0,01	42:58	59:41	57:43	43:34:23
12	6	0,8	0,04	43:57	60:40	55:45	32:42:26
13	1,2	0,035	0,01	43:57	49:51	54:46	29:45:26
14	4,8	0,14	0,04	42:58	59:41	57:43	43:34:23

Для модельных расчетов использовали определенные ранее значения потребности R-, S- и M-диссоциантов в углероде, азоте и фосфоре (табл. 2).

Таблица 2

Потребность в ресурсах среды ($\cdot 10^{-12}$ мг/кл) диссоциантов культуры *P. aeruginosa* [13]

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	6,0 ± 2,5



Области лимитирования для смешанной культуры трех диссоциантов *P. aeruginosa* (начальное содержание фосфора в среде 0,01 мг/мл): в области I лимитируют все три ресурса; в II — углерод и азот; в III — углерод и фосфор; в IV — азот и фосфор; в V — углерод; в VI — азот; в VII — фосфор

В соответствии с разработанными способами нахождения границ областей лимитирования [11] для каждой опытной среды были определены ресурсы, ограничивающие рост сообщества. В качестве примера на рисунке представлен вид стратификации пространства ресурсов для смешанной культуры, состоящей из трех диссоциантов, в случае, когда начальное содержание фосфора в среде составляет 0,01 мг/мл. Оказалось, что все векторы ресурсов, определяемые начальным составом среды, принадлежат стратам с однофакторным лимитированием (полученные результаты хорошо согласуются с экспериментальными данными [12]).

В области лимитирования одним ресурсом L^k , где $k = C, N$ или P , согласно формуле структуры сообщества, относительные численности на стационарной стадии роста задаются выражениями $\frac{n_i}{n} = e^{-\lambda^k q_i^k}$ ($i = R, S, M$ для культуры, состоящей из трех диссоциантов). Множитель Лагранжа λ^k и полная численность n как функции потребляемого полностью ресурса L^k получены из алгебраических уравнений

$$\begin{cases} e^{-\lambda^k q_R^k} + e^{-\lambda^k q_S^k} + e^{-\lambda^k q_M^k} = 1; \\ n(q_R^k e^{-\lambda^k q_R^k} + q_S^k e^{-\lambda^k q_S^k} + q_M^k e^{-\lambda^k q_M^k}) = L^k. \end{cases}$$

После замены переменных $e^{-\lambda^k} = x_0$ получаем формулы для расчета доли диссоциантов в смешанной культуре на стационарной стадии роста:

$$r = \frac{n_R}{n} = x_0^{q_R^k}, s = \frac{n_S}{n} = x_0^{q_S^k}, m = \frac{n_M}{n} = x_0^{q_M^k},$$

где x_0 — корень уравнения $x^{q_R^k} + x^{q_S^k} + x^{q_M^k} = 1$, $n = n_R + n_S + n_M$. Аналогично, для культуры, состоящей из двух групп организмов, $s = \frac{n_1}{n} = x_0^{q_1^k}$,

$$t = \frac{n_2}{n} = x_0^{q_2^k}, \text{ причем } x_0^{q_1^k} + x_0^{q_2^k} = 1, n = n_1 + n_2 \quad [11]$$

(здесь индексы 1 и 2 обозначают R-, S- или M-диссоциант). Величины потребности q_i^k являются показателями степени.

Приведем пример расчета состава сообщества трех диссоциантов на стационарной стадии роста при культивировании на среде, ограниченной по углероду. Корнем уравнения $x^{129} + x^{409} + x^{525} = 1$ (показатели степени взяты из соответствующего столбца табл. 2) является $x_0 \approx 0,9964$. Доли диссоциантов равны $r = x_0^{129} \approx 0,6256$, $s = x_0^{409} \approx 0,2261$, $m = x_0^{525} \approx 0,1483$ или, округляя и выражая в процентах, $r = 62\%$, $s = 23\%$, $m = 15\%$.

Полученные по модельным расчетам значения относительной численности диссоциантов сравнивали с данными экспериментов. Результаты представлены в табл. 3 (номера сред соответствуют номерам в табл. 1). Здесь необходимо сделать существенное замечание о соотношении теоретических и опытных данных. Из эксперимента по результатам посева известны доли диссоциантов в колониеобразующих единицах, в то время как модель позволяет рассчитывать относительную численность клеток. В рамках данной работы принята следующая гипотеза: на стационарной стадии роста клетки бактерий находятся в одинаковом физиологическом состоянии и доля клеток, способных к образованию колоний (КОЕ), среди всех клеток данного диссоцианта одинакова для всех диссоциантов.

Таким образом, в 29 из 36 наборов данных предсказанный моделью состав поликультур отличается от экспериментального не более, чем на 12% (см. табл. 3). Наибольшее отклонение расчетных значений от опытных составляет 17%. Согласно проведенному анализу чувствительности модели к вариациям параметров [14], полученные различия могут быть объяснены ошибками в значениях потребности, применявшихся в расчетах (см. табл. 2).

В указанных 36 опытах произвели модельный расчет общей оптической плотности культуры на стационарной стадии роста. В табл. 4 приведены экспериментальные и расчетные значения оптической плотности, уровень кислотности среды в тот момент времени, когда была зафиксирована максимальная оптическая плотность и относительная ошибка расчетных данных по сравнению с экспериментальными, а также указан лимитирующий ресурс (начальное содержание в среде именно этого ресурса используется при расчете полной численности). Номера сред соответствуют номерам из табл. 1.

Состав смешанных культур на стационарной стадии роста

Номер среды из табл. 1	Культура	Состав по результатам эксперимента, %	Состав по модельным расчетам, %
1	2	3	4
2	RS	67:33	69:31
	SM	66:34	54:46
3	RS	62:38	65:35
	RM	71:29	74:26
	SM	50:50	60:40
	RSM	43:41:16	60:29:11
5	RS	70:30	69:31
	SM	50:50	54:46
	RSM	67:11:22	62:23:15
	RSM	58:18:24	62:23:15
6	RM	60:40	73:27
	SM	42:58	54:46
7	RS	61:39	69:31
	RM	62:38	73:27
	SM	50:50	54:46
	RSM	62:32:6	62:23:15
8	RM	78:22	73:27
	SM	43:57	54:46
	RSM	68:17:15	62:23:15
9	RS	79:21	69:31
	RM	87:13	73:27
	SM	52:48	54:46
	RSM	75:12:13	62:23:15
10	RSM	68:19:13	62:23:15
11	RS	60:40	72:28
	RM	86:14	78:22
	SM	65:35	57:43
	RSM	60:27:13	68:22:10
12	RS	62:38	72:28
	RM	84:16	78:22
	SM	72:28	57:43
	RSM	63:22:15	68:22:10

Окончание табл. 3

1	2	3	4
13	RS	70:30	65:35
	RM	80:20	74:26
	RSM	45:31:24	60:29:11
14	RM	75:25	74:26

Таблица 4

**Оптическая плотность смешанных культур на стационарной стадии роста
(в нефелометрических единицах, умноженных на 100)**

Номер среды из табл. 1	Лимитирующий ресурс	Культура	pH	Оптическая плотность в эксперименте	Оптическая плотность расчетная	Относительная ошибка расчета, %
1	2	3	4	5	6	7
2	C	RS	6,9	112	128	14
		SM	7,8	142	158	11
3	N	RS	7,5	24	25,4	6
		RM	7,2	25	25	0
		SM	7,5	26	28,7	10
		RSM	7,4	25	26,6	6
5	C	RS	7,4	12	9,7	20
		SM	7,3	10	11,7	17
		RSM	7,2	14	10,7	24
		RSM	7,5	10	10,7	7
6	C	RM	7,3	37	46,4	25
		SM	7	29	45	55
7	C	RS	7,8	15	9,6	36
		RM	7,8	15	11,8	21
		SM	7,8	14	11,7	17
		RSM	8,1	16	10,6	34
8	C	RM	6,8	63	46,4	26
		SM	7,6—8,7	41	45	10
		RSM	7,5	47	43,1	8

1	2	3	4	5	6	7
9	С	RS	8,7	63	63,8	1
		RM	9	58	73	26
		SM	8,6	78	77,9	0,1
		RSM	8,8	68	71,7	5
10	С	RSM	7,9	182	287,2	58
11	Р	RS	8,6	110	90	18
		RM	8,7	101	99,4	2
		SM	7,2	97	93	4
		RSM	8,7	97	92,1	5
12	Р	RS	8,6	215	358,4	67
		RM	8,9	225	395	76
		SM	7,7	225	372,1	65
		RSM	8,4	225	366,1	63
13	N	RS	4,6	54	60	11
		RM	5,3	60	59	2
		RSM	4	74	62	16
14	N	RM	3,4	142	239,9	69

За пределы допустимых значений ошибок, связанных с неточностью определения уровня вещества в среде и данных о потребности, выходят данные, полученные на средах № 6 (культура SM), 10, 12 и 14. Эти несоответствия могут быть объяснены следующими образом. В среде № 6 содержалось, например, в четыре раза больше углерода, чем в среде № 5, поэтому при полном исчерпании этого ресурса на обеих средах достигаемые значения оптической плотности должны различаться также в четыре раза. Однако на среде № 6 измеренный уровень оптической плотности оказался ниже, что позволяет сделать вывод о том, что стационарная стадия в опыте не была зафиксирована. Аналогично, на среде № 10 при полном исчерпании ресурса уровень оптической плотности должен быть выше (исходя из данных для среды

№ 9, где содержание углерода в четыре раза ниже и плотность должна достигнуть значения 272 ед вместо экспериментальных 182). На среде № 14 остановка роста, возможно, была связана не с исчерпанием питательного вещества, а со сдвигом рН в кислую сторону (3,4). Этот факт мог быть причиной того, что данная культура не достигла возможного уровня оптической плотности при использованном содержании азота в среде (142 ед вместо 240 ед), который мог бы быть достигнут исходя из данных для среды № 13, где содержание азота было в четыре раза ниже. На среде № 12 культура также не достигла своего максимально возможного уровня оптической плотности (215—225 ед вместо 388—440, по данным для среды № 11, где содержание фосфора в четыре раза ниже). В данном случае остановка роста произош-

ла по причинам, не связанным с исчерпанием питательных веществ из среды, что подтверждается отсутствием возобновления роста после внесения ресурсов в среду (подробнее опыты с добавками описаны в статье, специально посвященной выявлению ресурсов, лимитирующих рост культур [12]). Проведенный анализ показывает, что вариационная модель адекватно предсказывает значение оптической плотности смешанных культур, а некоторые расхождения экспериментальных и расчетных данных связаны с влиянием внешних причин.

В целом, можно сделать вывод о том, что при определении параметров модели (значений потребности диссоциантов в основных питательных веществах) более точные значения удалось получить для выявления соотношения между ними или для определения их абсолютных величин. Отношения являются определяющими для расчетов границ областей лимитирования и долей группы организмов, составляющих сообщество [7, 10]. И именно для выявления факторов, ограничивающих рост, и предсказания состава сообщества на стационарной стадии развития продемонстрировано наилучшее совпадение модельных расчетов и результатов, полученных в эксперименте.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, Грант 05-04-49238.

Авторы выражают глубокую благодарность В.Н. Максимова и Н.Г. Булгакову за плодотворные обсуждения материалов и помощь в работе.

Получено 18.08.04

ЛИТЕРАТУРА

1. Милько Е.С., Егоров Н.С. Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации. — М.: Изд-во МГУ, 1991. — 142 с.
2. Гарейшица А.З., Шестернина Н.В., Беляев Г.С., Галева А.С. // Нефтепромышленное дело. — 1995. — № 2—3. — С. 23—25.
3. Милько Е.С., Мартышкина Л.П. // Микробиология. — 1996. — Т. 65. — № 5. — С. 352—356.
4. Левич А.П., Максимов В.Н., Булгаков Н.Г. Экспериментальная и теоретическая экология фитопланктона: управление структурой и функциями сообществ. — М.: Изд-во НИЛ, 1997. — 188 с.
5. Levich, A.P. // Ecological Modelling. — 2000. — V. 131. — P. 207—227.
6. Фурсова П.В., Левич А.П. Математическое моделирование в экологии сообществ // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. Обзорная информация. — М.: ВИНТИИ, 2002. — № 9. — 98 с.
7. Левич А.П., Алексеев В.Л., Никулин В.А. // Математическое моделирование. — 1994. — Т. 6. — № 5. — С. 55—76.
8. Левич А.П. Теория множеств, язык теорий категорий и их применение в теоретической биологии. Учебное пособие. — М.: Изд-во МГУ, 1982.
9. Левич А.П. Структура экологических сообществ. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 181 с.
10. Левич А.П., Алексеев В.Л., Рыбакова С.Ю. // Биофизика. — 1993. — Т. 38. — В. 5. — С. 877—885.
11. Фурсова П.В. // Математическое моделирование. 2003. — Т. 15. — № 5. — С. 115—128.
12. Фурсова П.В., Милько Е.С., Ильиных И.А., Левич А.П. // Вестник Моск. ун-та. Серия биология. 2004. — № 1. — С. 19—23.
13. Фурсова П.В., Милько Е.С., Ильиных И.А. и др. // Микробиология. 2004. — Т. 73. — № 1. — С. 45—50.
14. Фурсова П.В. // Изв. АН. Сер. биол. 2003. — № 1. — С. 122—127.

P.V. FURSOVA*, E.S. MIL'KO, I.A. IL'INYKH, and A.P. LEVICH

International Center for Biotechnological Education, Biological Faculty, Moscow State University, 119992, Moscow Russia

e-mail: polina_fursova@mail.ru.

Control of Composition of the *Pseudomonas aeruginosa* Dissociant Population: Experimental Data and Model Accounts

Structure and density of R-, S- and M- *Pseudomonas aeruginosa* dissociant mixed cultures at a stationary stage of development have been studied. The experimental data on a proportion of dissociants were compared to relative abundances calculated according to the variational model of ecological community. In 36 data sets, the computed and experimental data on the structure of polycultures differed from each other no more, than by 17 %, and in 29 of data sets, the deviation did not exceed 12 %. The relative error of the prediction on culture optical density was less than 36 % in 29 of 36 experiments. The reasons for greater differences in others seven cases are specified.

Key words: community structure, community structure control, *Pseudomonas aeruginosa*.

* Author for correspondence.