

ПРОВ 98

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР

Ордена Трудового Красного Знамени
Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского

ПРОВ 2010

Экология морских организмов

Материалы Всесоюзной
научно-технической конференции

Институт биологии
южных морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

№ 30348

КИЕВ «НАУКОВА ДУМКА» 1981

13. Хайлов К.М., Моница Т.Л. Органотрофия у макрофитов как функция плотности их популяций в условиях эксперимента. - Биология моря, Владивосток, 1976, № 6, с. 42 - 51.
14. Хайлов К.М., Бурлакова З.П., Ланская Л.А., Лаврентьев Н.А. О связи органотрофии морских одноклеточных водорослей с плотностью их экспериментальных популяций и индивидуальной массой клеток. - Биология моря, Киев, 1977, вып. 42, с. 61 - 68.
15. Шварц С.С., Пястлова О.А., Добринская Л.А. Рункова Т.Т. Эффект группы в популяциях водных животных и химическая экология. - М. : Наука, 1976. - 142 с.
16. Шилов И.А. Эколого-физиологические основы популяционных отношений у животных. - М. : Изд-во Моск. ун-та, 1977. - 260 с.

УДК 577.4 : 519.2

Б.Н.Беляев

О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ПЛАНИРОВАНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА

В последнее десятилетие теория математических методов планирования эксперимента нашла практическое применение в целом ряде областей науки и техники, особенно в исследованиях технологических процессов. Лишь в биологии и медицине такие работы исчисляются единицами, что прежде всего объясняется сложностью исследуемого объекта, каким являются живые системы. Однако рост технической оснащенности всех научных исследований приводит к росту числа экспериментальных работ в биологии, что в свою очередь настоятельно требует применения математических методов планирования эксперимента и машинной обработки его результатов.

Хотя до настоящего времени еще не сложилось общепринятое единое определение самого понятия "эксперимент", существует его четкое разграничение с понятием "наблюдение". "Наблюдение" - это изучение объекта без вмешательства в его нормальное функционирование, а "эксперимент" - изучение объекта при целенаправленном воздействии на его параметры [1].

При этом подвергается критике идеология классического однофакторного эксперимента, которая связывает понятие "эксперимент" с возможностью создания точно учитываемых условий для воспроизведения изучаемого явления, поскольку любой реальный эксперимент сопровождается наличием неоднородностей [2].

В исследовательской работе экспериментатору наряду с основными, интересующими его факторами приходится иметь дело со множеством второстепенных, действие которых может значительно исказить результаты опытов, что особенно характерно для биологического эксперимента.

Математическая теория эксперимента именно и возникла из понимания того, что принципиально невозможно создать точно учитываемые условия для проведения эксперимента и результат любого эксперимента всегда связан с некоторой неопределенностью [3].

Задачей хорошей организации эксперимента является минимизация неопределенности полученных результатов, и здесь наибольший эффект математическая статистика может принести в том случае, если ее аппарат будет использоваться не только в традиционном варианте - для обработки экспериментальных данных, но уже на первом этапе - при планировании эксперимента.

Планирование эксперимента - это процедура выбора числа и условий проведения опытов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью [4].

Согласно теории планирования эксперимента "наблюдение" должно вестись по плану, учитывающему задачи исследования и возможность восприятия объекта в разных условиях, быть преднамеренным, целенаправленным и систематическим. При соблюдении этих условий оно именуется "пассивным экспериментом".

При планировании "пассивного эксперимента" расположение опытных точек в факторном пространстве ведется на интуитивном уровне по случайному плану. При этом наблюдаемые (измеряемые) факторы могут быть коррелированы с ненаблюдаемыми. Это усложняет дальнейшую математическую обработку и наряду с большим временем сбора информации, необходимой для проявления изучаемых эффектов, является недостатком метода. Но следует заметить, что здесь не накладывается никаких ограничений на факторы.

Планом эксперимента называется таблица координат экспериментальных точек в пространстве независимых переменных.

Поскольку при проведении "пассивного эксперимента" экспериментальные точки случайны, говорить об оптимальности планов не приходится. Здесь речь может идти только об оптимальности стратегии сбора данных и об оптимальности того или иного способа обработки результатов, например, методом главных компонент, факторным, корреляционным или дисперсионным анализом и т.д. [5 - 7].

Активный эксперимент предполагает воздействие на выходные параметры исследуемого объекта.

"Выходным параметром" называют величину, которую можно поставить в соответствие цели эксперимента и характеризовать качественно или количественно, при этом цель должна формулироваться однозначно и непротиворечиво.

Измеряемые величины, непосредственно или косвенно влияющие на выходной параметр, называют "факторами". Фактор считается заданным, если с его названием указана область его определения (качественно или количественно).

Совокупность всех возможных значений факторов, принятых во внимание экспериментатором, называется факторным пространством, размерность которого соответствует числу факторов и зависит от количества и качества априорной информации и опыта экспериментатора.

Изменение значения выходного параметра является реакцией (откликом) на воздействие факторов, которые определяют поведение исследуемой системы. А совокупность его значений при различных сочетаниях уровней факторов образует в n -мерном пространстве n -мерную поверхность, которую называют "поверхностью отклика".

Информация, собранная при проведении "активного" эксперимента с применением аппарата математического планирования, имеет гораздо большую ценность, поскольку планы учитывают цели исследования и методы обработки результатов, что позволяет оптимально использовать факторное пространство, минимизируя число опытов, и оценивать неопределенность результатов.

При этом сокращение числа опытов в 2-8 раз зачастую сопровождается увеличением достоверности информации [1, 3, 8, 9]. Кроме того, при проведении активного эксперимента наблюдаемые регулируемые переменные всегда практически некоррелированы с ненаблюдаемыми.

Однако, гарантируя указанные преимущества, активный эксперимент накладывает ряд жестких требований на исследуемые факторы, основным из которых является возможность фиксирования фактора на нескольких уровнях в пределах допустимой области изменения с точностью, обеспечивающей достоверную дискриминацию уровней.

В случае, если часть факторов управляема, а часть может быть только измерена, прибегают к проведению активно-пассивного эксперимента. Теория активно-пассивного эксперимента до конца не разработана, однако существует ряд работ, в которых даны постановка задачи и анализ возможных путей ее решения [10, 11].

При современной ситуации, сложившейся в мировом рыболовстве, возрастает роль марикультуры как средства сохранения и увеличения биологических запасов шельфа.

Основой всех работ по морскому рыбоводству является искусственное разведение с целью получения жизнестойкой молоди морс-

ких организмов [12]. В связи с этим возникает проблема изучения особенностей развития предполагаемых объектов марикультуры на ранних этапах онтогенеза с целью выявления оптимальных условий их развития. Теоретически такой экологический эксперимент может проводиться по всем трем указанным направлениям (как пассивный, активный и активно-пассивный).

Первый путь общеизвестен. Отдельные экологические наблюдения, в том числе над предполагаемыми объектами марикультуры, ведутся с момента возникновения гидробиологической науки [13]. Здесь можно только говорить о большей целенаправленности и систематизации с целью досконально изучить экологические особенности среды обитания объекта в естественных условиях в период его нереста, инкубации икры, развития личинок на разных стадиях и, что особенно важно, спектры питания.

Следует отметить большую стоимость этого подхода в случае объектов с пелагической икрой, поскольку он потребует комплексных экспедиционных исследований на обширной акватории с густой сетью буйковых станций, оснащенных современной гидрофизической и гидрохимической аппаратурой [14], и регулярными контрольными ловами планктона по всему исследуемому району на всех горизонтах. Для повышения эффективности исследований, очевидно, целесообразно будет развернуть и подводные исследования.

Второй и третий пути нашли воплощение в лабораторных исследованиях, которые представлены в основном однофакторными экспериментами [15].

Однако биологические системы отличаются существенными межфакторными взаимодействиями [16], поэтому отдельные однофакторные эксперименты могут дать в целом искаженную картину.

Таким образом, мы приходим к выводу, что в лабораторных экологических исследованиях должен преобладать активный многофакторный эксперимент. В процессе любого эксперимента можно выделить следующие последовательные этапы: а) постановка задачи (определение цели эксперимента); б) сбор и обработка априорной информации; в) планирование эксперимента; г) собственно эксперимент; д) обработка и анализ результатов.

После окончания эксперимента возможно внесение коррективов в постановку задачи и проведение повторного эксперимента.

В практике экспериментирования выделяют несколько характерных типов задач [3, 4, 17, 18]:

1. Задачей предварительных исследований является выбор, априорное ранжирование и отсеивание факторов, выбор выходных параметров, оценка интервалов варьирования факторов, предварительная оценка кривизны поверхности.

2. Задача отсеивающего эксперимента - уменьшение размерности факторного пространства и предварительное ранжирование факторов по значимости.

3. Задачи оптимизации ставят своей целью минимизацию или максимизацию функции отклика.

4. Целью задач идентификации является построение как можно более простой модели, адекватной процессу.

5. В задачах адаптации решается проблема поддержания процесса (чаще всего технологического) в условиях дрейфа поверхности отклика, которую образно называют "проблемой погони за ускользающим оптимумом" [19].

6. Целью задач типа "состав-свойство" может быть изучение свойств многокомпонентного вещества в границах допустимого изменения состава.

7. При изучении кинетики процесса в условиях одного опыта последовательно во времени несколько раз измеряют отклик и получают функцию, которую аппроксимируют либо полиномом, либо моделями формальной кинетики [20].

8. В сравнительном эксперименте либо решается задача интерполяции для известной модели, либо испытываются несколько альтернативных моделей.

9. В задачах типа "дегустации" решается вопрос ранжирования качественных признаков объектов методом экспертных оценок.

В экологических исследованиях для целей марикультуры из перечисленных девяти типов задач наиболее характерными являются первые четыре типа, из которых три не требуют знаний о механизме процесса и решение их может быть чисто формальным.

Можно заметить, что предварительные исследования обязательны в каждом эксперименте (этап "б"), после чего возможно возвращение к этапу "а".

Этап "в" - планирование эксперимента - при решении задачи идентификации включает выдвижение гипотезы о виде статистической модели, выбор плана эксперимента и метода статистических оценок.

По виду математической модели и методу анализа результатов многофакторного активного эксперимента планы делят на три груп-

пы [17]: 1) планы регрессионного анализа; 2) планы дисперсионного анализа; 3) планы ковариационного анализа.

Все методы анализа используют метод наименьших квадратов и требуют нормального закона распределения выходного параметра, однородности его дисперсии, точности задания уровней факторов, лучшей, чем ошибка воспроизводимости.

Если значения независимых переменных (факторов) принадлежат непрерывному ряду значений из области определения факторов, то используют регрессионные модели, которые являются наиболее простыми:

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i x_i + \sum_{\substack{i=1, j=2 \\ (i < j)}}^n b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^n b_{ii} x_i^2 + \dots, \quad (1)$$

где x_i, x_j - независимые переменные, а b_i, b_{ij} и b_{ii} - коэффициенты регрессии.

Если независимые переменные принимают одно из множества дискретных значений из области определения, то используют модель дисперсионного анализа

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \dots + \alpha_i \beta_j + \alpha_i \gamma_k + \beta_j \gamma_k + \dots + \alpha_i \beta_j \gamma_k + \dots + \varepsilon_{ijk}, \quad (2)$$

где y_{ijk} - результат эксперимента, полученный на i -м уровне фактора α ; j -м уровне фактора β ; k -м уровне фактора γ ; μ - среднее по всему множеству опытов; $\alpha_i, \beta_j, \gamma_k$ - эффекты соответствующих уровней факторов; $\alpha_i \beta_j$ - эффекты взаимодействий; ε_{ijk} - остаточный член (ошибка эксперимента).

Если одни переменные ведут себя как регрессионные, а другие - как дисперсионные, то используют ковариационную модель

$$y = \sum_{i=0}^p b_i x_i + \sum_{j=1}^k \gamma_j x_j + \varepsilon, \quad (3)$$

где x_i - управляемые количественные и качественные переменные; x_j - неуправляемые количественные и качественные переменные; b_i - проекции вектора эффектов; γ_j - проекции вектора коэффициентов регрессии; ε - случайная ошибка.

Планирование эксперимента предполагает поиск рациональной последовательности получения данных о свойствах изучаемых объектов. Планируя экологический эксперимент, необходимо учитывать

особенности, присущие всякому биологическому эксперименту [16, 18, 21 - 23].

Это прежде всего наличие неоднородностей, обусловленных действием неуправляемых факторов (в том числе известных и измеряемых и неизвестных и неизмеряемых), при большом числе которых рекомендуется пользоваться моделями, где влияние управляемых факторов ($x_1, x_2 \dots x_n$) и источников неоднородностей ($x_1, x_2 \dots x_m$) оценивают отдельно [17], данные модели в общем виде будут схожи с ковариационной моделью (3).

По характеру неоднородности могут быть непрерывного или дискретного типа.

Источником дискретного типа неоднородностей могут служить различные методики, аквариумы, корма, а также сами исследуемые объекты, даже в том случае, если для эксперимента взят генетически однородный материал (скажем, икра из одной кладки). Особи, развивающиеся из такого материала, при одинаковых прочих условиях могут проявлять различные темпы роста, давать разное по численности потомство и т.д.

Неучет такой неоднородности может особенно сильно повлиять на выводы по результатам исследований при небольшом числе особей в каждом опыте.

В качестве примера источника неоднородностей непрерывного типа можно привести: 1) изменяющееся во времени качество воды в проточной системе или в лабораторной установке типа "акватрон" с замкнутым циклом (содержание РОВ, гетеротрофов, взвесей); 2) взаимодействие управляемых и неуправляемых факторов (например, увеличение подачи питательных компонентов в систему при микробиологических исследованиях, согласно А.Н.Лисенкову, приводит к более быстрому падению уровня выхода) [18]; 3) изменение свойств посевных культур и питательных сред при культивировании водорослей и микроорганизмов.

Другой особенностью экологических экспериментов является их большая продолжительность. Поэтому здесь нецелесообразно применение ни одного из большой группы численных методов оптимизации (например, метод скользящего симплекса, по координатного спуска, метод оврагов и т.д.), в которых каждый последующий шаг к оптимуму рассчитывается по результатам предыдущего. Их целесообразно применять только при быстротечных опытах, получая выигрыш во времени за счет использования ЭВМ для расчета направления очередного шага.

В.Н.Максимов и В.Д.Федоров [16] для оптимизации биологических процессов предлагают в качестве отсеивающего эксперимента при большом числе факторов использовать метод случайного баланса, затем - ортогональное планирование (планы первого порядка) с последующим движением по градиенту (метод крутого восхождения или метод Бокса-Уилсона).

Однако принять такую стратегию можно лишь для такого исследования, длительность отдельного эксперимента в котором не превышает одной-двух недель и которое не носит сезонного характера. Например, эксперименты, связанные с культивированием микроорганизмов, их штаммов, микроводорослей - из культур или выращиванием листоногих рачков из яиц. Именно такие эксперименты и описаны в указанных работах.

В экологических исследованиях ранних этапов развития рыб, когда эксперимент ведется на материале, выращенном из икры, и может продолжаться один-два месяца и более, такая стратегия, ставшая во многих случаях уже классической (планы первого порядка - движение по градиенту), не подходит по следующим соображениям.

За период нереста практически можно провести всего лишь одну серию экспериментов, и следующий шаг можно будет сделать только через год. При этом налицо будет различие исходного материала.

Если же искусственным путем, например выдерживая производителей при пониженных температурах растянуть сроки нереста и провести два-три последовательных эксперимента, условие неоднородности исходного материала остается. Согласно экспериментальным данным две порции икры, полученные в разное время от одной или разных самок, будут отличаться не только биохимически и гистологически, но и биологически [25 - 27], а икра, полученная в разное время от одной самки бычка-кругляка, не может быть оплодотворена одним и тем же самцом, так как самцы нерестятся только однажды [28].

Таким образом, последовательная стратегия может затянуть эксперимент на долгие годы, при этом источники неоднородностей сохраняются.

Но и для краткосрочных опытов выбор той или иной стратегии должен определяться каждый раз в соответствии с конкретными условиями опыта. Так, при статическом способе культивирования микроорганизмов последовательная тактика оптимизации порождает дрейф качества исходного материала, поэтому целесообразней проведение

одновременно большой серии разных опытов, каждый из которых параллелен в соответствии с требуемой точностью.

При гомогенно-непрерывном (проточном) способе для трех-четырех культиваторов выгодно будет последовательное симплекс-планирование [29], поскольку здесь перед каждым шагом проводится минимальное количество опытов и минимизируется время перестройки системы на новые уровни факторов.

Наличие большого числа культиваторов при проточном методе позволяет проводить параллельно несколько опытов и делать выгодным применение метода крупного восхождения (метод Бокса-Уилсона).

Оптимальность планирования исследований оценивается с помощью критериев, которые делятся на статистические (для оценки плана конкретного эксперимента) и динамические (для оценки стратегии в целом) [3, 4]. Динамические не поддаются формальным (например, численным) оценкам, поэтому выбор стратегии исследований лежит на совести экспериментатора и целиком зависит от его априорной информированности, интуиции и опыта. Статистические критерии делятся на три группы, связанные: а) с точностью оценок свойств коэффициентов; б) с ошибкой в оценке поверхности отклика; в) с удобствами экспериментатора (уменьшение количества опытов, простота вычисления коэффициентов и т.д.).

Учитывая особенности экологического эксперимента и критерии оптимальности планов, для отсеивающего эксперимента и оптимизации из огромного арсенала средств мы рекомендуем использовать регулярные реплики дробного факторного эксперимента (ДФЭ) типа 2^N , насыщенные планы размером $m = 4k$, построенные на основе матриц Адамара (H -матриц) и эквивалентные планам Плэккетта-Бермана, а также сверхнасыщенные планы Бутта и Кокса.

Предложенные планы, при числе опытов не больше 12, позволяют произвести отбор существенных факторов из 24, взятых на подозрение, в случае линейной модели главных эффектов (без существенных взаимодействий) – количественно оценить влияние каждого фактора, выбрать направление градиента отклика и выдать рекомендации для оптимизации процесса.

Примеры планов обработки результатов отсеивающего эксперимента и оптимизации методом крутого восхождения приведены в работах [8, 22, 29].

Еще одной характерной особенностью экологического эксперимента для конкретно выбранной области варьирования факторов яв-

ляется наличие различных степеней зависимости выходного параметра от различных факторов [30 - 33].

При этом важно с точки зрения сокращения числа опытов указать степень зависимости выходного параметра от каждого фактора.

Метод случайного баланса позволяет строить насыщенные планы для отсеивающего эксперимента с разным количеством уровней факторов, результаты которого обрабатываются с помощью диаграмм рассеяния [8, 22, 29].

Хотя последовательная стратегия более характерна для задач оптимизации [34], не меньшее значение она имеет и при решении задач идентификации, что было отмечено на Первом Всесоюзном математическом симпозиуме по моделированию морских экосистем [35]. При этом очень важно, чтобы план первого эксперимента, построенный по нуль-гипотезе для полиномиальной модели степени n , явился бы частью плана для модели степени $n+1$. Такие планы называются композиционными [29, 36].

В задачах идентификации особая ответственность ложится на плечи экспериментатора при выборе модели не только в связи с тем, что она в какой-то мере определяет выбор плана эксперимента и метода обработки результатов, но и потому, что если среди постулированных гипотез не оказалось истинной, то и с помощью эксперимента ее также не удастся найти [29].

Общепринятая стратегия поиска наиболее близкой модели, адекватной процессу, заключается в том, что при полном отсутствии априорной информации о процессе испытывают линейную модель, строя композиционный план эксперимента на основе матриц Адамара. Если она окажется неадекватной, ставят новую серию экспериментов, испытывая квадратичную модель. При этом можно воспользоваться каталогом планов второго порядка [37].

Если же экспериментатору априори известно, что степень влияния факторов различна, целесообразно на базе симметричных планов строить несимметричные факторные планы (НФИ) [2, 38].

В случае источника неопределенностей дискретного типа используют комбинированные планы на базе латинских квадратов. Так, НФИ, являющийся совмещением квадрата $[m \times m]$ с факторным экспериментом 2^n , позволяет исследовать влияние n количественных факторов, варьируемых на двух уровнях, и одного качественного уровня, варьируемого на m уровнях. Совмещают факторные планы типа 2^n и с несколькими ортогональными латинскими квадратами, что д

ет возможность увеличивать число исследуемых качественных факторов в эксперименте.

При наличии источника неопределенностей непрерывного типа (временной дрейф) используют планы с разбиением на блоки [11].

Подводя итог, можно сказать, что из наличного арсенала средств математических методов планирования, даже с учетом особенностей экологического эксперимента, и для задач оптимизации и идентификации применим довольно широкий круг приемов, а стратегия экспериментатора должна тяготеть к проведению как можно большего числа параллельных опытов, чтобы в одном сезоне собрать максимально возможную информацию об исследуемом объекте или процессе.

Что касается методов, предлагаемых для оптимизации биологических процессов, то со стопроцентной гарантией их можно принять только для короткоциклических процессов, из-за того что в течение всего эксперимента уровни факторов остаются постоянными. Для организмов с длительным циклом развития, в течение которого в естественных условиях уровни факторов среды значительно изменяются, истинного оптимального состояния среды может и не оказаться среди сочетания постоянных уровней факторов. В то же время на рыбоводных заводах в большинстве случаев инкубацию икры и развитие личинок проводят в течение 120 суток и более, например, при постоянных температурах [39].

В рыбоводной практике очень важным выходным параметром является процент выживаемости, который может замеряться после каждого этапа развития. Согласно экспериментальным данным изменение сопротивляемости организма к внешним условиям зависит от биотических факторов, однако обязателен учет комбинированного воздействия всех причин [40]. В соответствии с этим в работах [41, 42], где обсуждается модель выживаемости рыб, приводится интегральная величина (фактор неблагоприятия для организма), которая по каждому существенному фактору прямо пропорциональна произведению модуля отклонения уровня фактора (x_i) от его оптимального значения ($\hat{x}_i$) для данной фазы развития (k) на длительность воздействия этого отклонения (τ_k):

$$q_{ik} \sim |x_i - \hat{x}_i| \tau_k \quad (4)$$

Предположив, что на каждой фазе развития для каждого фактора должен быть свой оптимальный уровень, мы должны постараться

определить их оптимальный временной ход, поскольку и отдельные биологические объекты, и исследуемые системы в целом обладают "памятью" т.е. сохраняют последствие, и, следовательно, раз-
личная последовательность воздействия может привести к различным результатам [43].

Из существующих методов планирования эксперимента наиболее подходящими для учета фактора неблагоприятия являются планы, учитывающие разницу терапевтических эффектов, полученную от приема нескольких лекарств в различных последовательностях, или влияние на урожай различного порядка следования культур и способов обработки [44].

Однако число опытов, необходимое по этим планам для решения задачи, равно числу всевозможных ступенчатых кривых, проходящих через всевозможные уровни фактора на каждой фазе:

$$N = p^{n \cdot l}, \quad (5)$$

где n - число факторов, изменяющихся на p -уровнях; l - число фаз.

Деление интересующего нас цикла развития на фазы может быть чисто условным. Их число будет зависеть от объекта исследования и от уровня, на котором мы проводим дифференциацию.

Но даже если ограничить l цифрой 3, то для двух факторов, изменяющихся на трех уровнях, число опытов должно быть равно 729, т.е. практическое применение метода оценки последовательности воздействия в конце всей последовательности ограничивается двумя-тремя факторами. В связи с этим нами была разработана и предложена методика определения оптимального временного хода абиотических факторов, основанная на измерении выходного параметра после каждого воздействия, суть которой в следующем.

Все n факторы варьируются на двух уровнях. Координаты исходных точек эксперимента, число которых определяется формулой $N = p^{n \cdot l}$, задаются по каждому фактору индивидуально: если нам неизвестен наиболее благоприятный уровень фактора для начала эксперимента, то исходный нижний уровень устанавливают на четверть диапазона варьирования выше его нижней границы, а исходный верхний - на четверть ниже верхней границы. В каждую исходную точку помещают 2^n группы рабочих аквариумов. В течение первой фазы развития организма уровням каждого фактора задают противоположные временные градиенты ($\pm$ четверть диапазона варьирования / l ,) так, чтобы к концу первой фазы перекрыть диапазоны варьирования факторов.

В конце фазы развития производят измерения во всех 2^{2n} объемах. Результаты обработки информации служат отправной точкой для планирования эксперимента на следующую фазу. Отбирают объемы с лучшими показателями выходного параметра, а остальные освобождают от объектов и уровни факторов среды переводят в "лучшие" точки факторного пространства так, чтобы в каждой точке оказалось 2^n аквариумов. Рассаживают в них объекты из "лучших" аквариумов и продолжают поиск.

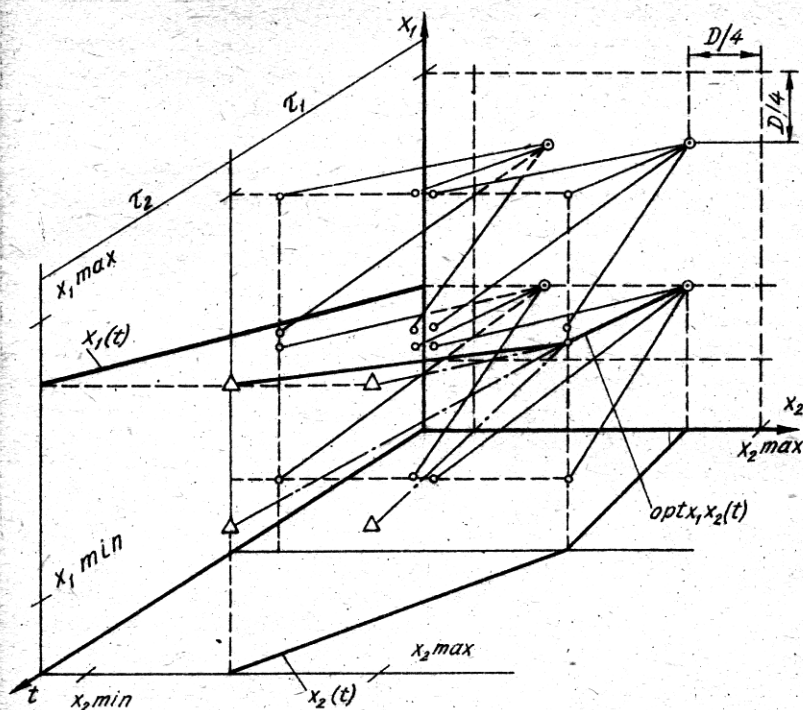
План эксперимента на каждой фазе представляет собой обычный двухуровневый план, где в качестве независимых переменных наряду с факторами взяты их градиенты. Модель, описывающая зависимость выходного параметра на каждой фазе, в общем виде может включать линейные члены от всех факторов с указанием координат исходных точек и интервалов варьирования, члены, отражающие взаимодействия некоторых факторов, а также линейные члены от временных градиентов факторов

$$y_{ik} = b_{0k} + \sum_{i=1}^n b_{ik} x_i + \sum_{\substack{i=1, j=2 \\ (i < j)}}^n b_{ijk} x_i x_j + \sum_{i=1}^n b^{ik} \text{grad } x_i \quad \left| \begin{array}{l} x_{iok} \cdot j_{ik} \end{array} \right. \quad (6)$$

Значимость коэффициентов и адекватность модели проверяется, как обычно, с помощью критериев Стьюдента и Фишера.

Предложенная методика значительно сокращает необходимое количество независимых опытов. В любом случае их будет не больше 2^{2n} , причем уровни каждого фактора в течение фазы пробегает непрерывный ряд значений всего диапазона варьирования с фиксированием на стыках фаз на пяти уровнях. Если мы для сравнения возьмем два фактора, меняющихся на трех уровнях в течение трех фаз, то выигрыш будет - 16 опытов вместо 729 (по формуле 5), а для трех факторов - 64 вместо 19 683.

В результате эксперимента мы получаем ломаную кривую, соответствующую траектории точки в n -мерном факторном пространстве во времени, определяющей оптимальное состояние среды в каждый момент времени: $opt \ x_1, x_2(t)$ на рисунке. Проекция этой кривой на координатные плоскости $(x_i(t))$ могут быть использованы для программы поддержания уровней факторов в опытно-промышленных установках при искусственном выращивании организмов.



Методика определения оптимального временного хода абиотических факторов при выращивании организмов.

При постановке любого многофакторного эксперимента встает вопрос о размерности факторного пространства, поскольку, как видно из формул 5 и 6, каждый лишний фактор увеличивает число независимых опытов в 2 раза. При возрастании n говорят о "проклятии размерности".

Другой крайностью является такая минимизация числа рассматриваемых факторов, при которой мы уже не учтем некоторые из существенных факторов (не зафиксируем их уровни или не будем даже измерять их) и выводы по результатам эксперимента окажутся неверными.

Следует заметить, что на ранних стадиях онтогенеза, когда организм наиболее чувствителен к внешним воздействиям, особенно на этапах эндогенного питания, когда вопрос питания не лимитирует развития, влияние абиотических факторов может стать определяющим.

Какие же из абиотических факторов в первую очередь нужно учитывать в экологическом эксперименте с гидробионтами на организменном уровне?

Это прежде всего такой "неустраняемый" фактор, как температура воды, ее соленость, скорость протока, турбулентность, содержание растворенного кислорода, углекислого газа, pH , освещенность.

Встречается много работ и существует целый класс устройств, с помощью которых исследуют влияние развития электрических, магнитных, электромагнитных и звуковых полей на развитие гидробионтов [45, 46].

В качестве контроля за состоянием среды нужно измерять содержание аммиака, нитритов, нитратов, фосфатов, PO_4 , гетеротрофных бактерий, сероводорода.

Немаловажным фактором, особенно на стадии развития икры, когда обмен со средой происходит через мембранный механизм оболочки, может оказаться концентрация микроэлементов в среде: меди, цинка, марганца, железа, кобальта. Есть устройства для насыщения воды ионами металлов [47].

Существенным пробелом, на наш взгляд, является практическое отсутствие работ (единицы) и отсутствие устройства, специально разработанного для исследования влияния гидростатического давления на развитие гидробионтов. Для гидробионтов, нерест которых происходит на глубине, этот фактор может оказаться существенным на ранних стадиях развития.

В заключение можно сказать, что если такой биотический фактор, как питание (корм), может быть только в недостатке, то для учета слагаемых фактора неблагоприятия q_{ik} почти для каждого абиотического фактора необходимо учитывать как недостаточное, так и избыточное напряжение уровней.

С учетом замечаний об оптимизации процесса выращивания исследуемых объектов экспериментальная установка должна обеспечивать не только фиксирование факторов на заданном уровне, но и задание им временных градиентов или изменение по периодическим законам.

Среди устройств, разработанных в мире для искусственного разведения, выращивания (содержания) и исследования гидробионтов, для проведения активного эксперимента наиболее подходят системы с замкнутым циклом водоснабжения. В системах с открытым и полужамкнутым циклами трудно обеспечить стабильность условий среды, поскольку вода для морских лабораторий и установок марикультуры

туры поступает обычно из мелководной прибрежной зоны и ее качество подвержено случайным воздействиям ветра и стоков.

Независимость условий среды в рабочих объемах для полупрото-точных систем достигается за счет увеличения объемов отстойни-ков и площади фильтров в специально спроектированных и построен-ных цехах-лабораториях [58]. К замкнутой системе подключаются устройства, регенерирующие воду, с тем, чтобы создать искусствен-ную экосистему со сбалансированным потоком веществ. Обязательно здесь должны быть насос, обеспечивающий циркуляцию воды, механи-ческие фильтры, бактерицидные установки, биологические (микроби-альные) фильтры, нитрифицирующие аммиак, наиболее опасный из ме-таболитов, озоноконтактное - пеновзбивающее - устройство, служа-щее для сжигания избытков РОВ, устройства для аэрации, поддержа-ния pH и солености, а также устройства, обеспечивающие регули-рование уровней управляемых факторов, и средства контроля неуп-равляемых факторов.

Прототип такой установки, созданный в ИнБЮМе, описан в ра-ботах [42, 59, 60]. В качестве рабочих объемов в установке ис-пользованы аквариумы, приспособленные для инкубации пелагической икры [61]. Испытания установки показали, что динамическое равно-весие в системе таких компонентов, как нитриты, нитраты, фосфа-ты и гетеротрофные бактерии, наступает на сороковые-шестидесятые сутки [62]. К недостаткам установки можно отнести то, что авто-матически поддерживались только величины освещенности и темпера-туры воды, а из них только освещенность могла изменяться по за-данной программе. Не учитывалось также давление.

Мы надеемся, что перечисленные работы могут послужить ос-новой для совершенствования экспериментальной техники, которая позволит в будущем успешно применять математические методы пла-нирования активного экологического эксперимента с целью оптими-зации процесса выращивания гидробионтов на ранних стадиях раз-вития.

1. Вознесенский В.А. Статистические методы планирования экс-перимента в технико-экономических исследованиях. - М. : Статисти-ка, 1974. - 192 с.

2. Маркова Е.В., Лисенков А.Н. Планирование эксперимента в условиях неоднородностей. - М. : Наука, 1973. - 220 с.

3. Налимов В.В., Голикова Т.И. Логические основания плани-рования эксперимента. - М. : Металлургия, 1976. - 128 с.

4. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. - М. : Наука, 1976. - 280 с.

5. Подвинцев Ю.В., Миронов О.Г. Проблемы математического исследования процессов самоочищения водной среды от загрязнений. - В кн.: Материалы Всесоюз. симпози. по изученности Черного и Средиземного морей, использ. и охране их ресурсов. Киев : Наук. думка, 1973, ч. 4, с. 97 - 101.
6. Сагайдачный А.Ю., Гиляров А.М., Матвеев В.Ф. Исследование пространственного распределения зоопланктона методом главных компонент. - Журн. общ. биологии, 1977, 38, № 2, с. 218 - 227.
7. Гиляров А.М., Матвеев В.Ф., Сагайдачный А.Ю. Исследование распределения пресноводного зоопланктона при помощи корреляционного анализа. - Докл. АН СССР, 1975, 224, № 4, с. 947 - 949.
8. Налимов В.В., Чернова Н.А. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов. - М. : Наука, 1965. - 340 с.
9. Налимов В.В. Теория эксперимента. - М. : Наука, 1971. - 207 с.
10. Адлер Ю.П., Ратнер А.Н., Лещинская Г.Ф. Об активно-пассивном эксперименте. - Науч. тр. Гиредмета, 1969, № 27, с. 16 - 21.
11. Подвинцев Ю.В., Цуканов А.В. Об одном методе активно-пассивного поиска экстремума. - Изв. АН СССР. Сер. техн. кибернетика, 1976, № 1, с. 55 - 59.
12. Зайцев В.П. Современное состояние и перспективы развития марикультурн. - Рыб. хоз., 1975, № 10, с. 18 - 20.
13. Дехник Т.В. Иктиопланктон Черного моря. - Киев : Наук. думка, 1973. - 236 с.
14. Беляев В.И. Обработка и теоретический анализ океанографических наблюдений. - Киев : Наук. думка, 1973. - 296 с.
15. Биологические основы морской аквакультуры / Под ред. В.Н. Грезе. - Киев : Наук. думка, 1975. - вып. 1. 74 с.
16. Максимов В.Н., Федоров В.Д. О математическом планировании биологических экспериментов. - Изв. АН СССР. Серия биол., 1966, № 6, с. 864 - 877.
17. Лисенков А.Н., Маркова Е.В., Адлер Ю.П. О классификации экспериментальных планов. - Информ. материалы Науч. совета по кибернетике АН СССР, 1970, № 8, с. 21 - 35.
18. Лисенков А.Н. Основные принципы и методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов. - Тр. ИПВЗ АМН СССР, 1972, вып. 20, с. 10 - 36.
19. Горский В.Г., Адлер Ю.П. Планирование промышленных экспериментов. - М. : Металлургия, 1974. - 264 с.
20. Рубинштейн Ю.Б., Барский Л.А., Адлер Ю.П. Построение кинетической модели флотационного процесса методами планирования эксперимента. - В кн.: Проблемы планирования эксперимента. М. : Наука, 1969, с. 243 - 246.
21. Федоров В.Д., Максимов В.Н., Хромов В.М. Влияние света и температуры на первичную продукцию некоторых одноклеточных зеленых и диатомовых водорослей. - Физиология растений, 1968, 15, вып. 4, с. 640 - 651.
22. Максимов В.Н., Федоров В.Д. Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов. - М. : Изд-во Моск. ун-та, 1969. - 126 с.
- 23-24. Чирков И.М., Гурина Л.В., Рылкин С.С. Применение методов математического планирования экспериментов в микробиологических исследованиях. - В кн.: Проблемы планирования эксперимента. М. : Наука, 1969, с. 250 - 256.
25. Воробьева Н.К., Таликина М.Г. Результаты анализа созревания самок черноморской камбалы - калкан. - Тр. ВНИРО, 1976, 110, с. 51 - 56.
26. Апекин В.С. Исследование созревания и нереста морских рыб. - Тр. ВНИРО, 1976, 110, с. 5 - 12.

27. Грауман Г.Б. Изменение размеров икры трески *Gadus morhua callarius* в течение нерестового сезона. - Тр. АтлантНИРО, 1969, вып. 21, с. 96 - 101.
28. Куликова Н.И., Фандеева В.Н. О порционности икрOMETания бычка-кругляка (*Gobius Melanostomus Pallas*). - Тр. ВНИРО, 1975, 91, с. 18 - 27.
29. Хартман К., Лейский Э., Шефер В. Планирование экспериментов в исследовании технологических процессов. - М.: Мир, 1977. - 552 с.
30. Резниченко П.Н., Котляревская В.Н., Гулидов М.В. Выхивание икры щуки при постоянных температурах инкубации. - В кн.: Морфолого-экологический анализ развития рыб. М.: Наука, 1967, с. 200 - 213.
31. Дислер Н.Н., Резниченко П.Н., Соин С.Г. Теория экологических групп рыб. - В кн.: Теоретические основы рыбоводства. М.: Наука, 1965, с. 119 - 128.
32. Винберг Г.Г. Взаимосвязь интенсивности обмена и скорости роста у животных. - Биология моря, Киев, 1968, вып. 15, с. 5-15.
33. Сарвино В.С. Об определении температурного оптимума пойкилотермных животных. - Экология, 1977, № 1, с. 14 - 18.
34. Федоров В.В. Теория оптимального эксперимента. - М.: Наука, 1971. - 312 с.
35. Беляев Б.Н. Семинар "Математическое моделирование морских экосистем" в Севастополе 13-17 мая 1974 г. - Океанология, 1975, 10, № 2, с. 368 - 370.
36. Горский В.Г., Бродский В.З. Регрессионный анализ при композиционном планировании второго порядка специального вида. Информ. материалы Науч. совещ. по кибернетике АН СССР, 1970, № 8, с. 35 - 45.
37. Голикова Т.И., Панченко Л.А., Фридман М.З. Каталог планов второго порядка. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1974. - (ч. I - 387 с., ч. II - 384 с.).
38. Лисенков А.Н., Кодкин Г.Х. Планирование и обработка многофакторных экспериментов с использованием несимметричных планов. - Тр. ИВЭ АН СССР, 1972, вып. 20, с. 74 - 98.
39. Смирнов А.И. Инструкция по искусственному разведению тихоокеанских лососей. - М.: Ин-т Рыб. хоз., 1963. - 93 с.
40. Ивлев В.С. Экспериментальная экология питания рыб. - Киев: Наук. думка, 1977. - 272 с.
41. Беляев В.И., Чепурнов О.В. Моделирование выживания рыб на ранних этапах онтогенезу при штучному вирощуванні. - Доп. АН УРСР, Сер. Б, 1976, № 1, с. 68 - 71.
42. Беляев Б.Н., Беляев В.И., Чепурнов А.В. Автоматизированная система поддержания физико-химических условий среды, благоприятных для выращивания морских организмов. - В кн.: Материалы IX Всесоюз. школы "Автоматизация науч. исслед. в химии и хим. технологии". - Баку: Элм, 1977, с. 197 - 201.
43. Налимов В.В. Развитие работ по планированию экспериментов. - Информ. материалы Науч. совета по кибернетике АН СССР, 1970, № 8, с. 5 - 13.
44. Финни Д. Введение в теорию планирования экспериментов. - М.: Наука, 1970. - 288 с.
45. А.с. 599776. (СССР). Устройство для изучения влияния электромагнитных полей на водные организмы / Н.А. Луценко и др. - Опубл. в Б.И., 1978, № 12.
46. А.с. 618061 (СССР). Аквариум для водных организмов / А.Н. Говорун и др. - Опубл. в Б.И., 1978, № 29.

47. А.с. 535929 (СССР). Установка для содержания водных организмов / Н.А.Луценко, В.К.Рыбальченко. - Опуол. в Б.И., 1976, № 43.
48. Шилбурн Дж.Е. Искусственное разведение морских рыб. - М. : Пищ. пром-сть, 1971. - 84 с.
49. Пат. 909514 (ФРГ). Verfahren zur künstlichen Erbrütung von Fischen in strömendem Wasser und Klima. - Anlage zur / Hoffman A. - Опуол. 1954.
50. Пат. 2944513 (США). Apparatus for fish culture. / Kelly D.O. - Опуол. 1960.
51. Пат. 3116712 (США). Closed cycle fish rearing system / Ogden H.S., Ogden S.D. - Опуол. 1964.
52. Пат. 3122126 (США). Fish farming equipment of many fish tanks / Toshiroo Yamada. - Опуол. 1964.
53. Пат. 3678898 (США). Method and apparatus for raising / and harvesting fish / Gross W.R. - Опуол. 1972.
54. Пат. 1351519 (Англ.). Improvements relating to methods and apparatus for rearing fish / Chattaway C.A. - Опуол. 1974.
55. Honn K.W., Chavin W. Prototype design for a closed marine system employing quarternary water processing. - Mar.Biol., 1975, 31, p. 293 - 298.
56. Spote S.H. Aquarium techniques: closed system marine aquariums. Exp. mar. biol. / Ed.: Mariscal R.N., New York, London, Acad. press, 1974, p. 1-19.
57. Пат. 3465718 (США). Tank for culture of marine life / Handman S.L., Rosenberg. - Опуол. 1969.
58. Kinne O. International Helgoland Symposium "Ecosystem research". Opening address. - Helgoländer wiss. Meeresunters., 1977, 30, p. 1-7.
59. Беляев В.И., Чепурнов О.В., Беляев Б.М. Про організацію фундаментальних досліджень у зв'язку з проблемою створення керованих морських господарств аквакультури. - Вісник АН УРСР, 1975, № 1, с. 82 - 88.
60. Чепурнов А.В., Беляев Б.Н. Интенсификация морских экологических исследований с помощью новой экспериментальной техники. - Биология моря, Киев, 1976, 38, с. 67 - 76.
61. А.с. 529821 (СССР). Устройство для инкубации икры и выращивания личинок рыб / Б.Н.Беляев, А.В.Чепурнов. Опуол. в Б.И., 1976, № 36.
62. Чепурнов А.В., Рубцова М.Г., Чепурнова Э.А., Беляев Б.Н. Предварительные результаты испытания лабораторной установки с замкнутой циркуляцией воды. - Гидробиолог. журн., 1978, вып. 6, с. 107 - 108.