Взаимодействия организации биосистем макро/микро гомеорезов биологических систем между собой, с окружающей средой, безусловно, основаны на адаптационных явлениях. Как не привести высказывания Холдейна (Haldane, 1935) о ЗНАЧЕНИИ ИЗУЧЕНИЯ гомеореза биологических систем, чтобы подчеркнуть исключительную важность диагностики адаптационных компонентов «плановых структур» (АПС) в иерархии биологических сообществ: «Активное поддержание нормальной и, при том специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса - значит понять, что такое жизнь!!!». Можно утверждать, что именно консенсусом макро/микро систем с помощью АПС на Земле определяется жизнь вообще! На этой основе в монографии авторами обосновывается зарождение новой междисциплинарной науки «Синергетики гомеорезов биологических систем» использование, которой позволит решить многие проблемы в биологии, медицине, микробиологии, сельском хозяйстве и в других смежных областях. Новой концепции решения междис-циплинарной проблемы адаптационных явлений, ее теоретическим и практическим вопросам посвящена монография.

Королев Александр Михайлович. Работает в НИ лаборатории микробной экологии человека. Автор 50 статей и патентов. Интересы: «Организации адаптационных механизмов биологических систем. Награды: медали бронзовую и серебряную медали «За успехи в народном хозяйстве СССР», «Изобретатель СССР». Участник арктических экспедиций.

978-620-2-05881-0

О адаптационных явлениях

Королев, Можельский, Бунин

Александр Королев
Андрей Николаевич Можельский
Константин.Иванович Бунин

Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов

Методология, проблемы, решение, диагностика, перспективы

LAP LAMBERT Academic Publishing

Александр Королев
Андрей Николаевич Можельский
Константин.Иванович Бунин

Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов

Александр Королев
Андрей Николаевич Можельский
Константин.Иванович Бунин

Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов

Методология, проблемы, решение, диагностика, перспективы

LAP LAMBERT Academic Publishing RU

Imprint
Any brand names and product names mentioned in this book are subject to trademark, brand or patent protection and are trademarks or registered trademarks of their respective holders. The use of brand names, product names, common names, trade names, product descriptions etc. even without a particular marking in this work is in no way to be construed to mean that such names may be regarded as unrestricted in respect of trademark and brand protection legislation and could thus be used by anyone.

Cover image: www.ingimage.com

Publisher:
LAP LAMBERT Academic Publishing
is a trademark of
International Book Market Service Ltd., member of OmniScriptum Publishing Group
17 Meldrum Street, Beau Bassin 71504, Mauritius

Printed at: see last page
ISBN: 978-620-2-05881-0

Copyright © Александр Королев, Андрей Николаевич Можельский, Константин.Иванович Бунин
Copyright © 2017 International Book Market Service Ltd., member of OmniScriptum Publishing Group
All rights reserved. Beau Bassin 2017

«Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов. Методология, проблемы, решение, диагностика, перспективы».

Королев А.М., Можельский А.Н., Бунин К.И.,
Кузнецов С.Ю., Косарева И.А., Василенко С.М.

Оглавление

ОТ ОТВЕТСТВЕННОГО РЕДАКТОРА. СОВЕТНИК РАН АКАДЕМИК В.В. БОРОДЫЧЕВ 7
ОТ ОТВЕТСТВЕННОГО РЕДАКТОРА ЧЛЕН-КОРР. РАЕН, Н.П. ПОВОЛОЦКАЯ; ДОК. МЕД. НАУК Е.Е. УРВАЧЕВА. 10
ВВЕДЕНИЕ. 15
1.0. ПРОБЛЕМЫ В СВЕТЕ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОЙ КОНЦЕПЦИИ АДАПТАЦИОННЫХ ЯВЛЕНИЙ ГОМЕОРЕЗОВ. 23
1.1. Общий взгляд на междисциплинарную проблему адаптационных явлений гомеорезов. 23
1.2. Проблемы в микробиологии и в медицине. 26
1.3. Связь жизни со специфической работой иммунной системы. 28
1.4. Поиск основных причин застоя в науке в целом, биологии и медицине. (Обоснование открытия новой науки). 31
1.5. Анализ проблемы. 35
2.0. ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ЗНАЧЕНИЕ НАУКИ. 43
2.1. Методология научного исследования. 44
2.2. Системный подход. 45
3.0. СХЕМА НАУЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. 53
4.0. ЭКСПЕРИМЕНТ. 79
5.0. КЛАССИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ «КОСВЕННЫХ» МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ. 85
6.0. МНОГОФАКТОРНОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТА. .. 132
6.1. Требования к многофакторному эксперименту «МПЭ». 132
6.2. Протокол эксперимента - лабораторный журнал. 133
6.3. Анкета лабораторного журнала 133
6.4. Формализация планирования эксперимента (пример). 141
6.5. План эксперимента 143
6.6. Обработка результатов экспериментов..... 143
7.0. АВТОМАТИЗАЦИЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ (АНИ) НА БАЗЕ ЭВМ. 149
7.1. Функции ЭВМ в АНИ. 150
7.2. Периоды в развитии работ по АНИ. 153
7.3. Автоматизация научных исследований. 154

7.4. Сопряжение компьютера с внешними устройствами. 154
8.0. О ТИПАХ ИНТЕРФЕЙСОВ. 157
8.1. Критический разбор измерительных комплексов АНИ. 159
8.2. Цифроаналоговые и аналого-цифровые. 160
8.2.1. Платы «ПСД» с USB-интерфейсом. 161
8.2.2. Плата «ПСД» с интерфейсом Ethernet. 163
8.2.3. Платы с интерфейсом PCI. 163
8.2.4. Платы с интерфейсом ISA. 164
8.3. Платы цифрового ввода-вывода. 166
8.3.1. Платы с Wi-Fi сетевым интерфейсом. 166
9.0. ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СИСТЕМ АНИ. 170
9.1. Три задачи программного обеспечения (ПО). 170
9.1.1. LabVIEW 170
9.1.2. MatLab 170
9.1.3. Catman®Easy 172
9.1.4. Easy EasyMath® 172
9.1.5. EasyPlan ® 173
9.1.6. EasyLog®. 173
9.1.7. EasyScript ®, ... 174
9.1.8. EasyScript 174
9.2. Трехуровневая архитектура ПО к «ПСД» и ЦОС. 174
10.0. ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ В ПРАКТИКЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ РАБОТ. 176
10.1. Классификации биолюминесценций. 176
10.2. Спонтанная биохемилюминесценция. 177
10.2.1. Физиологическая биолюминесценция 177
10.2.2. Ультрафиолетовую биолюминесценцию, ... 177
10.2.3. Сверхслабую метаболическую биолюминесценцию 178
10.2.4. Биолюминесценция Владимирова. 179
10.3. Индуцированная биолюминесценция. 179
10.3.1. Замедленная флуоресценция («ЗФ») 180
10.3.2. Импульсно-амплитудно-модулированная флуоресценция… 180
10.4. Термолюминесценция биологических систем. 184
10.5. Фото -, радиохемилюминесценция, ультразвуковое свечение… 184

10.6. Метод замедленной флуоресценции («ЗФ»). 184

11. РАЗРАБОТКА БИОФИЗИЧЕСКОГО АВТОМАТИЗИРОВАННОГО «ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗАТОРА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ» («FLA»)….. 191

11.1. Принцип работы системы («FLA»). 191

11.2. Основные технические характеристики прибора FLA. 195

11.3. Программное обеспечение («ПО») «FLA»..... 197

11.3.1. Дисциплина имен создаваемых файлов FLA..... 198

11.3.2. Структура файла 199

11.3.3. Электронный протокол эксперимента «FLA»..... 199

12.0. ПРИМЕР ОРГАНИЗАЦИИ БИОФИЗИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА В НОВОЙ КОНЦЕПЦИИ «ДИАГНОСТИКИ АДАПТИВНЫХ МЕХАНИЗМОВ ГОМЕОРЕЗА» РАСТЕНИЙ. 202

12.1. Характеристика исследуемого явления: «Структура и организация адаптационных механизмов гомеорезов биологических систем»(«АПС»). 203

12.2. Проблема: Диагностика адаптивных явлений гомеореза с позиции новой концепции «АПС». 203

12.3. Причины застоя по проблеме. 209

12.4. . Формулировка трех рабочих гипотез по проблеме. 217

12.5. Способ выявления и оценки «АПС» в новой концепции «Диагностики механизмов гомеореза» на «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата» «FLA». 217

12.6. Цель экспериментальных исследований. 220

12.7. . Задачи исследования: 223

12.8. . Факторы, определяющие процесс исследования. 226

12.9. Реакции исследуемого гомеореза. 229

12.10. Статистические характеристики временных компонент ЗФ……..... 235

12.11. Кодировка функции исследуемых полиномов. 238

12.1. Функция поверхности отклика исследуемого генотипа. 238

12.2. Модель. 242

12.3. Интерпретация коэффициентов полинома. 250

12.4. Канонический анализ квадратичной модели. 255

13.0. ПРИМЕРЫ ОРГАНИЗАЦИИ БИОФИЗИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА В НОВОЙ КОНЦЕПЦИИ «ДИАГНОСТИКИ АДАПТИВНЫХ МЕХАНИЗМОВ ГОМЕОРЕЗА» МИКРООРГАНИЗМОВ…..... 260

13.1. Общие сведения...... 260

13.2. О факторах и реакциях. 260

13.3. Проблемы эксперимента. 261

13.4. Способы решения проблемы. 262

13.5. Классификация 265

13.5.1. Предварительная обработка *266*

13.6. Заключение по разделу. 292

14.0. РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРИЗИРОВАННОГО «ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОГО ФОТОМЕТРИ-ЧЕСКОГО ДЕТЕКТОРА» («ВПФД»)..... 294

14.1. Общие вопросы. 294

14.2. Описание «ВПФД». 295

14.3. Полифункциональность «ВПФД». 297

14.3.1. ФизИ - пламенно-фотометрический детектор (ПФД)..... 297

14.3.2. ФизИ – озономер. *298*

14.3.3. ФизИ – люминометр. *298*

14.3.4. ФизИ для определения липорастворимых антиоксидантов… *298*

14.3.5. ФизИ для регистрации ЗФ. *299*

14.3.6. ФизИ для оценки качества морепродуктов. *300*

14.4. Основные технические характеристики «ВПФД». 300

14.5. Программное обеспечение («ПО») «ВПФД». 302

14.6. Электроника и схемотехника «ВПФД». 304

14.6.1. Блок «К» *304*

14.6.2. Блок «ПУ» *307*

14.6.3. Диспетчер (выбор) устройств *307*

14.6.4. Блок «БВП» *307*

14.6.5. Интерфейс «И» *308*

15.0. ПРОБЛЕМЫ/ОШИБОКИ ВСТРЕЧАЕМЫЕ ПРИ ОРГАНИЗАЦИИ БИОФИЗИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ НА БАЗЕ ОПТИКИ, КОМПЬЮТЕРОВ И МИКРОПРОЦЕССОРОВ..... 310

15.1. Классификация проблем/ошибок встречаемых при организации биофизических экспериментов. 310

15.1.1. Проблемы/ошибки встречаемые в схемотехнике при конструировании экспериментальных установок. *310*
15.1.2. Ошибки программирования техники эксперимента. *328*
15.1.3. Проблемы/ошибки встречаемые при организации методики – планирования биофизического эксперимента. *330*
16.0. ПРИМЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ «FLA» И *«ВПФД».*..... 331
16.1. Тестирования состояний фотосинтетического аппарата образцов перед диагностикой жароустойчивости растений проводились по реакциям «ИКЗФ» (быстрые компоненты). 332
16.2. Диагностика жароустойчивости растений. 332
16.3. Определение активности полиеновых антибиотиков. 333
16.4. Диагностика гербицидной и ростовой активности. 334
16.5. Имена файлов, создаваемые «FLA», при определении активности полиеновых антибиотиков, гербицидов или ростовых веществ. 336
16.6. Экспериментальная особенность оценки тестирования. 336
16.7. Определение концентрации АТФ. 337
17.0. ЗАКЛЮЧЕНИЕ. 342
18.0. ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА..... 345
ПРИЛОЖ. 1. ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ АББРЕВИАТУР..... 375

От ответственного редактора. Советник РАН академик В.В. Бородычев

Предлагаемая вниманию читателю монография Королев А.М., Бунин К.И., Можельский А.Н., Косарева И.А., Василенко С.М.,Кузнецов С.Ю. «К новой концепции адаптационных явлений в автоматизированном биофизическом эксперименте» посвящена решению проблем в концепции адаптационных явлений - гомеорезов, пожалуй, самых трудных и актуальных не только для научного сообщества, но и конечно для практики. При их решении открылись бы самые разнообразные междисциплинарные возможности не только для понимания глобальных многочисленных научных и практических проблем, но и их решения в биологии, медицине и в смежных науках. Остановимся на некоторых более подробно.

В *медицине:* принципиально новая классификация и диагностика адаптационных плановых структур «АПС» микробных сообществ; необходимость паспортизации микробных сообществ людей; криогенное сохранение микробных сообществ. На этой основе в медицине - новые способы диагностики, лечения и прогнозирования разнообразных болезней.

В *микробиологии* - принципиально *новая классификация и диагностика* «АПС» микробных сообществ и их криогенное сохранение.

В *генетике и селекции* - выведение сортов сельскохозяйственных растений с *новыми адаптивными свойствами* - продовольственная проблема человечества!

В *агрономии и точном сельском хозяйстве* новая концепция позволяет разработать методы диагностики повреждений и скрининг растений с нужными адаптивными свойствами, предназначенными для селекции; решить задачи районирования; выработать принципиально *новые подходы к технологии* возделывания культур, улучшению плодородия почв, провести паспортизацию и криогенное сохранение почвенной микрофлоры.

Авторы провели большую работу по анализу научной и патентно – технической литературы, вскрыли теоретические проблемы и ошибки современных однофакторных – однопарамет-рических методов на примере 130 методов диагностики жароустойчивости рас-тений[1], тем самым показали необходимость

[1] Не побоюсь сказать, что авторы провели не только классификацию, но и по - видимому «инветоризацию» всех разработанных методов диагностики. И пусть простит мой дружеский сарказм - уважаемые авторы и читатели, так как того количества анализа методов мне давно неприходилось видеть.

исследования гомеорезов многофак-торными – многопараметрическими методами в «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Для решения этих проблем авторами были разработана междисциплинарные *гипотеза, модель, теория* об «адаптационных плановых структурах» «АПС» гомеорезов. На основании этого определен научный и обоснованный подход к «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Описана разработанная технология диагностики термоадаптивности АПС на примере генотипов растений в автоматизированном многофакторном биофизическом эксперименте (БЭ).

Следует подчеркнуть понимание авто-рами синтетических знаний не только в биологии, медицине, микробиологии, биофизике, физиологии, но и в теории автоматического регулирования, плани-рования эксперимента, оптики, механики, микропроцессоров, компьютеров, программирования, многомерной статистике синергетики. Авторами разработано два биофизических компьютеризированных прибора: «Фотолюми-несцентный анализатор фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») и «Высокочувствительный полифункциональный фотомет-рический детектор» («ВПФД») с большими возможностями для решения научных и практических задач. Хотелось бы отметить большую корректность повествования для понимания биологами основ автоматизации компьютеризированных флуоресцентных анализаторов в современном биофизическом эксперименте, которые, к сожалению, мало знакомы с этим.

Время идет и прогресс вводит в научные исследования не просто новые приборы, а «умные» автоматизированные комплексы, которые бесспорно делают труд исследователя очень производительным, наглядным, удобным, быстрым, достоверным.

Мне, как специалисту - биологу с большим послужным списком, не приходилось знакомиться с таким интересным материалом, который изложен в дан-ной полезной монографии. Структура книги грамотно преподнесена для биологов, физиологов, биофи-зиков, биохимиков, медиков, где столь подробно описана техника эксперимен-та, её программирование и примеры решения злободневной биологической проблемы в «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». При этом, в монографии дается вводная: как производят плани-рование эксперимента и его

автоматизацию на базе ЭВМ (компьютеров); функции возложенные на ЭВМ; история развития автоматизации БЭ; роль интер-фейсов и их типы; сопряжение ЭВМ с внешними устройствами в БЭ и показан, хотя бы кратко, их выпуск фирмами для нужд экспериментаторов. Кроме того, подробно изложена структура разработки программного обеспечения «ПО» для автоматизированного БЭ.

Так принято, что научная мысль, проверенная экспериментом (и, к сожалению, временем), новые идеи, возникающие на основе анализа и интуиции, пробиваются сквозь дебри несоответствий, неприемлемости междисциплинарных знаний, через препоны авторитетных суждений, постулатов. Новой научной мысли и новым идеям противостоят частоколы корректных и некорректных, часто конкурентных и конъюнктурных концепций, мнений и школ. Но она пробивается через, казалось бы, неопровержимые постулаты и аксиомы, сокрушая авторитетные каноны, покоившиеся годами на будто бы вечных устоях. Поэтому борьба идей, мнений, гипотез, теорий, решений в движении научной мысли вперед, развивается и воплощается в новых методических междисциплинарных (синергетических) многофакторных подходах к организации, автоматизации, компьютеризации биофизического эксперимента. Хочется от души пожелать авторам дальнейших успехов в этом направлении, а монография достойна стать настольной книгой каждого экспериментатора. Конечно, можно согласиться с мнением авторов - «тонкий лед» осознания необходимости «Междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов» и, в целом, новой междисциплинарной науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем», основы которой разработали авторы, крайне - архинеобходимы! Раскрытие междисциплинарных законов взаимодействия организаций биосистем макро/микро гомеорезов между собой, с окружающей средой, безусловно, основаны на адаптационных явлениях и имеют сложную иерархическую структуру, начиная с молекулярного уровня и кончая *организ*менным. Мне первому посчастливилось прочитать этот труд, и поэтому я благословляю эту новую науку. В связи с её междисциплинарностью работы действительно хватит многим специалистам в различных областях. Но она окупится сторицей, так как новая наука позволит решать проще и с малыми затратами различные межотраслевые проблемы. Думаю, что оригинальный подход авторов настоящего издания к решению поставленных задач и изложению материала, вызовет интерес не только у простых читателей, но и в

российских и международных научных сообществах, а также в соответствующих государственных структурах.

Советник РАН академик В.В. Бородычев

От ответственного редактора член-корр. РАЕН, Н.П. Поволоцкая; док. мед. наук Е.Е. Урвачева.

Основная причина возрастающего интереса мировой и научной общественности к адаптационным явлениям гомеорезов заключается в том, что при ее решении открылись бы самые разнообразные междисциплинарные возможности не только для понимания глобальных многочисленных научных и практических проблем, но и их решения в биологии, медицине и в смежных науках. Поэтому предлагаемая вниманию читателя монография, посвящена решению проблем в «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов», пожалуй, самой трудной и актуальной не только для научного сообщества, но и, конечно, для практики.

Взаимодействия организации макро/микро гомеорезов биосистем между собой и с окружающей средой, безусловно, основаны на адаптационных явлениях. Как не привести высказывание Холдейна (Haldane, 1935) о *значении изучения гомеореза* биологических систем, чтобы подчеркнуть исключительную важность диагностики адаптационных компонентов «плановых структур» (АПС) в иерархии биологических сообществ: *«Активное поддержание нормальной и, при том, специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса - значит понять, что такое жизнь!!!»*.

Решение проблем «АПС» в иерархии биологических сообществ позволит:

- *в медицине:* создать принципиально новую классификацию и диагностику адаптационных плановых структур «АПС» микробных сообществ; провести паспортизацию микробных сообществ людей и их криогенное сохранение. На этой основе разработать новые способы диагностики, лечения людей и прогнозирования разнообразных болезней;
- *в микробиологии* – разработать принципиально новую классификацию и диагностику по «АПС» микробных сообществ и их криогенное сохранение;

- *в генетике и селекции* – выведение сортов сельскохозяйственных растений с новыми адаптивными свойствами - продовольственная проблема человечества!
- *в агрономии и точном сельском хозяйстве* новая концепция позволяет разработать новые методы диагностики повреждений и скрининг растений с нужными адаптивными свойствами, предназначенными для селекции; решить задачи районирования; выработать принципиально новые подходы к технологии возделывания культур, улучшению плодородия почв, провести их паспортизацию и криогенное сохранение почвенной микрофлоры.

Нельзя недооценить большую работу, проделанную авторами монографии по анализу научной и патентно – технической литературы, где они вскрыли теоретические проблемы и ошибки современных однофакторных – однопараметрических методов.

Авторы предлагают «Новую междисциплинарную концепцию адаптационных явлений гомеорезов». В этой связи на примере анализа 130 методов диагностики жароустойчивости растений показывают необходимость исследования гомеорезов многофакторными – многопараметрическими методами. «Новая междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов» *разрабатывается* авторами последовательно от междисциплинарных *гипотез, моделей, теории - к законам.* На основании этого определен новый научно обоснованный подход к ее решению. Доходчиво описана разработанная технология диагностики термоадаптивности АПС на примере генотипов растений в автоматизированном многофакторном биофизическом эксперименте (БЭ).

Не будет преувеличением подчеркнуть наличие у авторов синтетических знаний не только по биологии, медицине, микробиологии, биофизике, физиологии, но и по оптике, механике, теории автоматического регулирования, планирования эксперимента, микропроцессорам, компьютерам, программированию, многомерной статистике и синергетике. Для подтверждения практической значимости авторами разработано два биофизических компьютеризированных прибора: «Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») и «Высокочувствительный полифункциональный фотофлуоресцентный детектор» («ВПФД») с большими возможностями для решения научных и практических задач.

Несмотря на большую сложность материала монографии, хотелось бы отметить большую корректность авторов и уважение к читателю при детальном повествовании основ автоматизации компьютеризированных флуоресцентных анализаторов в современном биофизическом эксперименте. Биологи, к сожалению, мало знакомы не только с техникой многофакторного эксперимента, но и со сложными флуоресцентными методами. Поэтому монография учит современным биофизическим методам и создает надежный интеллектуальный каркас для систематизации наших знаний, что позволяет ей быть путеводителем в данной области.

Авторы детально описали используемые флуоресцентные методы, исходя из фундаментальных принципов и предпосылок, успешно охватив впечатляющий диапазон исследований в «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов»! Поэтому можно только приветствовать ясно написанный, вдумчивый и современный труд. Данные, подобные изложенным в книге, можно услышать только на специальных курсах и использовать в качестве справочника.

Время и прогресс жизни диктует и вводит новые веяния в научные исследования. Появляются не просто новые приборы, а «умные» интеллектуальные автоматизированные комплексы, без которых уже не мыслимо проводить исследования. При этом труд исследователя становится более легким, производительным, наглядным, удобным, быстрым, достоверным.

Давно не приходилось знакомиться с такой интересной монографией. Структура ее доходчиво преподнесена для биологов, физиологов, биофизиков, биохимиков, медиков. Это позволяет лучше понять технику эксперимента, её программирование и примеры решения существующих биологических проблем в «Новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Многие новые понятия кратко и просто объясняются на уровне «вводной»: как производят планирование эксперимента и его автоматизацию на базе ЭВМ; функции, возложенные на ЭВМ; история развития автоматизации биологического эксперимента (БЭ); роль интерфейсов и их типы; сопряжение ЭВМ с внешними устройствами в БЭ.

Показан, хотя бы кратко, их выпуск фирмами для нужд экспериментаторов. При этом для начинающего исследователя подробно изложена структура разработки программного обеспечения «ПО» для автоматизированного БЭ.

Думаю, что «Новая междисциплинарная концепция адаптационных явлений

гомеорезов» имеет право на жизнь, а монография станет настольной книгой многих читателей.

Междисциплинарность и объем новой науки огромен и работы действительно хватит многим специалистам.

Безусловно, плановая ее разработка принесет огромную пользу обществу в целом не только в науке, но и в практической деятельности. Не сомневаюсь, что монография, вызовет всеобщий интерес в российских и международных научных сообществах и получит поддержку на государственном уровне.

Кандидат географических наук,
член-корр. РАЕН,
заведующий отделом курортной
биоклиматологии Федерального государственного
бюджетного учреждения «Пятигорский
государственный научно-исследовательский
институт курортологии
Федерального медико-биологического
агентства» Поволоцкая Н.П.

Доктор медицинских наук, главный врач
Ессентукской клиники – филиала
Федерального государственного
бюджетного учреждения «Пятигорский
государственный научно-исследовательский
институт курортологии Федерального
медико-биологического агентства»
Урвачева Е.Е.

ВВЕДЕНИЕ.

Философские и методологические искания резко усиливаются в любой науке, когда она входит в период сомнений в эффективности своего исследовательского инструментария и правильности постановки самих фундаментальных задач, подлежащих решению соединенными усилиями научного сообщества. Так произошло и с нашей проблемой, когда мы посмотрели на нее с других междисциплинарных - синергетических позиций.

Взаимодействия организации биосистем макро/микро гомеорезов, биологических систем между собой, с окружающей средой, безусловно, основаны на *адаптационных явлениях.* Как не привести высказывания Холдейна (Haldane, 1935) о *ЗНАЧЕНИИ ИЗУЧЕНИЯ гомеореза* биологических систем, чтобы подчеркнуть исключительную важность диагностики адаптационных компонентов «плановых структур» (АПС) в иерархии биологических сообществ: «*Активное поддержание нормальной и, при том, специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса - значит понять, что такое жизнь*!!!».

Можно утверждать, что именно консенсусом макро/микросистем с помощью АПС на Земле определяется жизнь вообще!

При использовании концепции «АПС» открываются самые разнообразные междисциплинарные, т.е. синергетические возможности понимания глобальных многочисленных научных и практических проблем в биологии, медицине и в смежных науках.

В *медицине: принципиально новая классификация и диагностика* «АПС» микробных сообществ, их криогенное сохранение и, на этой основе, новые способы диагностики, паспортизация людей по «АПС» (принципиально новое лечение людей и животных, предсказание - прогноз разнообразных болезней).

В *микробиологии - принципиально новая классификация и диагностика* «АПС» микробных сообществ, их криогенное сохранение и, на этой основе, новые способы диагностики и лечения людей, животных, паспортизация микробных сообществ по «АПС» людей и животных (Кузнецов, Королёв, Овечкин, 2002).

В *генетике и селекции:* выведение сортов сельскохозяйственных растений с *новыми адаптивными свойствами, их сохранение и* паспортизация (продовольственная проблема человечества!).

В *агрономии и точном сельском хозяйстве* новая концепция позволяет разработать методы диагностики повреждений и поиск растений с нужными адаптивными свойствами, предназначенными для селекции; решить задачи районирования для конкретных регионов и, на этой основе, разработать принципиально *новые подходы к технологии* возделывания культур; провести паспортизацию по «АПС» и криогенное сохранение почвенной микрофлоры.

Так как концепция АПС междисциплинарная – синергетичная, она пронизывает всю биологию и смежные науки: медицину, микробиологию, вирусологию, физиологию, биохимию, зоологию, растениеводство, почвоведение, океановедение и др. Следует подчеркнуть, что решение концепции АПС в разных областях науки, производства перекликаются между собой в связи с их междисциплинарностью - синергетичностью. На этой основе в книге авторами обосновывается зарождение новой междисциплинарной науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем», использование которой позволит решить многие проблемы в биологии, медицине, микробиологии, сельском хозяйстве и в других смежных областях.

В этой монографии мы показали этапы разработки - междисциплинарную концепцию адаптационных явлений гомеорезов, пожалуй, самую трудную и злободневную, но архинеобходимую. Но, к сожалению, оказалось все не так просто, как хотелось бы! Для объяснения разработки концепции АПС мы начали с разъяснения: исторических, теоретических и методологических вопросов науки, техники эксперимента, что помогло подойти к системному - синергетическому - решению проблемы «междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Только применение многофакторного эксперимента с позиции концепции АПС позволило инструментально решить эту проблему.

Безусловно, дискуссия невозможна без комментариев инструментальных методов исследования АПС (на примере флуоресцентных биофизических автоматизированных компьютеризированных методов) и, конечно, без вскрытия ошибок, встречаемых в этих сложных методах, и поэтому потребовало освещения.

По-видимому - это закон, что при решении проблем возникает больше вопросов, чем изначально пытается решить экспериментатор. Но в этом, очевидно, и есть предназначение науки, которая начинается с вопросов! При этом многие, как бы казалось, второстепенные вопросы вышли из забвения на первый план.

Разработка новой науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем» - колоссально сложный процесс, так как она междисциплинарная. Работы на всех хватит - это и в медицине, и в микробиологии, и в сельском хозяйстве, и в

ветеринарии, орнитологии, океанологии. Глобально – защита окружающей среды нуждается в этой новой науке. Мы думаем, что данная монография, конечно, это только начало, по образному выражению - «тонкий лед» осознания необходимости «Междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов» и, в целом, новой междисциплинарной науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем». Трудностей и проблем у новой науки, как у всего нового, будет, скажем, предостаточно! Так как для разработки технологий согласно новой науке потребуется:

- наличие знаний и специалистов в области биофизики, биохимии, медицины, микробиологии, программирования, владения компьютером с пакетами теории планирования эксперимента, математики, автоматизации эксперимента. (Конечно, это - синергетические - междисциплинарные знания, которые с успехом уже начали преподавать в МГУ на кафедре биофизики, руководимой проф. Рубиным А.Б. Скажем, кадры уже готовятся!);
- взаимного понимания не только биофизиков, биохимиков, биологов, медиков, но и специалистов в области электроники, оптики, математики, автоматического регулирования программирования, приборостроения;
- изменение образа мышления биологов, медиков, биохимиков и физиологов, селекционеров, генетиков и специалистов теории автоматического регулирования;
- глубокого понимания проблем и задач, стоящих перед исследователями;
- изменения *самого менталитета* большинства биологов, в широком смысле этого слова.

Но самая главная проблема из проблем, даже при достаточном финансировании этой науки - это организационная междисциплинарная разобщенность специалистов, которые будут работать даже в одной из областей синергетики гомеорезов биологических систем. Сложно объединить и организовать труд разнообразных специалистов! Отсутствие у руководителей синтетических знаний, нового мышления, думаем, может привести к непониманию или выхолащиванию главной идеи и цели синергетики гомеорезов биологических систем. Следует очень бережно, умно подходить к организации новой науки, от которой можно реально ожидать неслыханных результатов!

Так принято, что научная мысль, проверенная экспериментом и, к сожалению, временем, новые идеи, возникающие на основе анализа и интуиции, пробиваются сквозь дебри несоответствий, неприемлемости междисциплинарных

знаний, через препоны авторитетных суждений, постулатов. Новой научной мысли и новым идеям противостоят частоколы корректных и некорректных, часто конкурентных и конъюнктурных концепций, мнений и школ. Но она пробивается через, казалось бы, неопровержимые постулаты и аксиомы, сокрушая авторитетные каноны, покоившиеся годами на будто бы вечных устоях. Поэтому борьба идей, мнений, гипотез, теорий, решений в движении научной мысли вперед развивается и воплощается в новых методических междисциплинарных (синергетических) многофакторных подходах к организации, автоматизации, компьютеризации биофизического эксперимента.

Надеемся, что наше представление о новой междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов будут с благодарностью восприняты и одобрены читателями и экспериментаторами.

Уверены в правильности «пророчества» известного физика Джона Бернала, утверждающего: «Гораздо труднее увидеть *проблему,* чем найти её решение. Для первого требуется *воображение*, а для второго только умение» (Бернал, 1953). Именно вскрытию *причин - проблем* и обоснованию новой науки, как говорят немцы: «одним выстрелом убить двух вальдшнепов», посвящена книга.

Безусловно, осознаем, что представленная монография «Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов» не претендует на исчерпывающее, законченное представление и решение вопросов по поднятым проблемам. Вместе с этим, понимаем ее важную роль для вдумчивого исследователя – гражданина планеты Земля в развитии у него новых замыслов и революционных синергетических идей на пути решения хотя бы одного из направлений новой науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем».

* * *

Итак, нами предпринята попытка разработать *новую концепцию* организации *многофакторного эксперимента* для диагностики скрытых *адаптационных явлений гомеореза биологических систем («*АПС*»)*. Вначале показана проблема в целом, междисциплинарность которой в медицине и микробиологии аргументирована на множестве примеров. Далее в монографии изложены теоретические и практические основы технологии диагностики адаптационных плановых структур «АПС» в автоматизированном биофизическом многофакторном эксперименте на примере растений и микробных сообществ. Для этого потребова-

лось проанализировать 130 классических методов[2] жароустойчивости растений. Анализ этих методов показал, что они все по своей природе в подавляющем большинстве однофакторные (однопараметрические), за исключением методов, основанных на характеристиках биохимической генетики. Поэтому они не позволяют более полно описать объекты, но, к сожалению, без нашей концепции «АПС» невозможно вскрыть сложность адаптационных механизмов исследуемых генотипов - гомеорезов.

Только *многофакторный* эксперимент делает возможным получить статистическую модель в новой концепции адаптационных плановых структур («АПС»), тем самым повышая «КПД» его эффективности и информативность (см. раздел 11).

Мы знакомим начинающего исследователя с автоматизированным многофакторным экспериментом диагностики АПС на примере растений и микроорганизмов, его программной поддержкой, преимуществами и перспективами (см. раздел 7.0). В связи с этим дается «вводная» о его идеологии и типах интерфейсов и выпускаемой отечественной «периферии[3]» к компьютерам для автоматизированного многофакторного эксперимента (см. раздел 8.0). Обосновывается ведущая роль флуоресцентных биофизических методов в теории и практике диагностики «АПС» в многофакторном автоматизированном эксперименте.

Показана разработка биофизического автоматизированного «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») и, на его основе, пример организации биофизического многофакторного эксперимента в новой концепции: «Диагностика адаптивных механизмов растений» (см. раздел 11.0).

Мы представляем всю сложность, междисциплинарность проблемы. Вскроем причины, почему на современном этапе естествознания с переходом исследования на сложно организованные объекты - системы – гомеорезы прежние методы, концепции классического естествознания становятся неэффективны. В этой связи основная задача биофизического эксперимента (БЭ) состоит в том,

---

[2] Большинство из 130 классических методов диагностики жароустойчивости растений - методы однофакторные. Они могут быть при определенных усилиях экспериментаторов модифицированы, т.е. - переделаны в многофакторные, что позволит исследователям работать с ними в новой концепции «АПС» (см. раздел 11). Соответственно изменится общее название этих методов – диагностика «термоадаптивности» растений.

[3] «Периферия» – жаргон - это устройства сопряжения компьютеров с экспериментальной установкой. О них будет более подробно рассказано в разделе 7.0 и 8.0

чтобы найти совокупность законов, объясняющих поведение, функционирование и развитие всего класса объектов как целого (см. раздел 12). Именно такая организация биофизического эксперимента («ОБЭ») в новой концепции позволяет с помощью математической теории многофакторного планирования эксперимента, автоматизации и программирования на «FLA» и «ВПФД» («Высокочувствительном полифункциональном фотометрическом детекторе») выработать *оптимальный план исследования АПС* – «черного ящика» (гомеореза как объекта исследования). Кроме того, становится возможным разрабатывать или применять с большей *эффективностью* новые флуоресцентные устройства на основе полифункциональных компьютеризированных приборов («ПКП»). «*ОБЭ*» предусматривает не только наиболее быстрый способ оптимизации выходной исследуемой переменной, но и создание математической модели процесса (в новой концепции «АПС»), являющейся исключительно компактным и удобным инструментом для исследования, классификации и, конечно, компьютеризированного управления установкой, на которой проводится БЭ на основе «ПКП». Несколько слов о приборах, взятых в качестве примера.

«FLA» отличается от аналогов компьютеризированным экспрессным анализом индукционных («ИКЗФ»), температурных («ТКЗФ») и световых кинетик замедленной флуоресценции («ЗФ») с детальной регистрацией и анализом временных характеристик ее затухания. Это делает «FLA» универсальным инструментом биофизика, физиолога, медика, генетика, эколога и позволяет использовать его для изучения первичных процессов фотосинтеза и разных способов диагностики растений (см. раздел 13). Например: способ определения морозоустойчивости растений по Джанумову (Джанумов, Бочаров, Вшивцев и сотр.,1976) на «FLA» становится в 8 раз более производительным, даже не говоря о точности, достоверности диагностики с проверкой гетерогенности исследуемой выборки. Кроме того, «FLA» позволяет проводить сложный многофакторный эксперимент. Более детально «FLA» описан в разделе 10.

«ВПФД», как сейчас говорят: «шесть в одном лице», объединяет ряд новых приборов и методик для медицины, биохимии, метеорологии, сельского хозяйства и в других областей (Королев, Овечкин, Исламов и сотр., 2005; Королев, Можельский, 2011; Королев, Можельский, Кузнецов и сотр., 2016). Он становится просто незаменим при решении широкого спектра научных и практических многофакторных задач, где требуется:

- высокочувствительное флюриметрирование,

- управление измерением или экспериментом,
- с одновременным сбором дополнительной информации, поступающей параллельно от других детекторов, например, с газового хроматографа и газоанализатора.

Это существенно повышает информативность многопараметрического многофакторного исследования или производственного контроля и управления экспериментом или технологическим процессом - быстрое принятие решения с наименьшими затратами, что раньше было практически невозможно сделать!

Детектор «ВПФД» - озономер в 1983 году испытан авторами в арктических условиях. Экспонат в 1989 г. награжден Серебряной и Бронзовой медалями ВДНХа. Разработке в 1990 г. был присвоен Государственный регистрационный номер 01870046421/2049. Более детально «ВПФД» описан в разделе 12.

Теоретические вопросы этапов организации многофакторного биофизического эксперимента освещены в разделах 1 - 10.

Практическим и методическим вопросам применения «FLA» и «ВПФД» посвящены разделы 14 и 15.

В монографию специально введен раздел: «Классификация проблем/ошибок, встречаемых при организации биофизических экспериментов с использованием флуоресцентных методов на базе оптики, компьютеров и микропроцессоров», где мы поделись своим опытом с начинающим исследователем о причинах многих ошибок и дали советы, чтобы избежать их (см. раздел 14).

Несмотря на большой объем проделанной работы, многие вопросы так и остались пока неразрешенными, так как требуют развития новой междисциплинарной науки и поэтому затронуты лишь поверхностно.

1.0. Проблемы в свете междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов.

1.1. Общий взгляд на междисциплинарную проблему адаптационных явлений гомеорезов.

Весь окружающий мир биосферы Земли составляет среду обитания человека, животных, растений и различных видов микроорганизмов.

В голландском городе Миддельбурге в 1595 году впервые появился микроскоп. История умалчивает о том, кто был автором этого устройства – за лавры первооткрывателя боролись сразу три мастера-оптика: Ганс Липпершей, Ганс Янссен и его сын Захариас. Впоследствии серьезные усовершенствования в конструкцию микроскопа внесли еще два известных голландских ученых – астроном Христиан Гюйгенс и биолог Антоний Левенгук. Оптический микроскоп, созданный и улучшенный этими людьми, дожил до наших дней. Изменились лишь его внешний облик, число и расположение линз, но принцип остался тем же. Сегодня у оптического микроскопа есть более экзотические «коллеги» – рентгеновский, электронный и атомный микроскопы. Они не просто увеличивают изображение, а сканируют поверхность предмета пучком элементарных частиц и, на основе полученных данных, выстраивают на экране изображение. Изобретение микроскопа открыло мир микробов, в котором, в частности, живет человечество и другие макроорганизмы. В мире микробов и вирусов все мы, как рыба в воде! Это перевернуло мировоззрение человека о жизни как таковой, *но, к глубокому сожалению, данный факт не заставил еще со всей серьезностью считаться с этим миром, который имеет свои законы. Человек в макробиомире* ***обязан*** *соблюдать правила общежития микробиомира и, конечно, изучать их, чтобы быть достойным звания Homo sapiens…!!!*

Биологическая система – гомеорез (человек, животное, птица, рыба, растение) постоянно находится в контакте с огромным сообществом микроорганизмов и вирусов. Человек и макробиосистемы «процеживает» через себя (через легкие - кубометры воздуха, через желудочно-кишечный тракт - напитки, воду, разнообразные продукты) миллионы микроорганизмов и вирусов!!! Есть последние поразительные данные, что на массу среднего человека приходится около от 1,5 до 2,5 кг микробиоптата….!!! И как только человек и макросистемы не гибнут в таком «океане» микроорганизмов и вирусов? Мир микроорганизмов невидим невооруженным глазом – он развивается, эволюционирует, и

много, много раз показывал свои «*острые клыки» человечеству планеты Земля.* Вот только некоторые ужасающие факты! (см. таб.1.0.1).

Таблица 1.0.1

Статистика смертности людей от инфекционных заболеваний

Время эпизодии	Страны	Инфекция	Гибель людей	Больных людей
X-XII век	Европа	Оспа	500.000	-
XII-XIV век	Европа	Проказа	5.000.000	-
1346-1382 г.	Европа, Русь	Чума	20.000.000	-
1898—1963 г	Индия	Чума	12. 662.100	-
1636-1665 г.	Англия	Чума	500.000	-
XIX век	Россия	Чума	1.000.000	-
XV-XVI век	Европа	Сифилис	15.000.000	-
1793-1900 г.	США	Желтая лихорадка	500.000	-
1910-1911 г.	Маньчжурия	Чума	500.000	-
1918-1920 г.	Европа	Грипп (Испанка)	22.000.000	-
1917-1921 г.	Россия	Чума	500.000	-
1924 г.	Китай	Чума	13.000.000	-
1994 г.	Индия	Чума	3.000.000	-
XX век	США, Европа	СПИД	5.000.000	50.000.000
XX век	США, Европа	Туберкулез	10.000.000	100.000.000
XXI век	В мире	Сахарный диабет	Более 30 000 000	-

Авторы монографии приписывают, предполагают относят сахарный диабет к заболеваниям, имеющим «информационную основу», т.е. практически инфекционную.

Поэтому человек для своего выживания изучает мир микробов и вирусов, но многие глобальные вопросы его развития - эволюции, к сожалению, просто не разработаны, а проблемы, которые проросли, требуют не просто насущных новых междисциплинарных подходов, а нового мировоззрения, т.е. новой науки и вот почему:

1. Биологическая эволюция – необратимое и, в известной мере, направленное историческое развитие живой природы, сопровождающиеся изменением:

- генетического состава популяций;
- формированием адаптаций;
- образованием и вымиранием видов,
- преобразованием экосистем и биосферы в целом.

Введя в определение первостепенную роль гомеорезов, как самоорганизующихся элементов различных биосистем, можно утверждать, что эволюция,

развитие происходит, в основном, через метаболизм, составляющих иерархию гомеорезов, физико-химические факторы внешней среды (концентрации ингредиентов пищи - субстрата, газов атмосферы, почвы, температуры, pH, rH, осмоса, электромагнитных колебаний: магнитного поля, видимого света, космических, ультрафиолетовых и инфракрасных лучей.). Значит переработка субстрата или пищи - основные определяющие факторы эволюции.

2. Эволюция гомеорезов биологических систем, в том числе и симбиотической микрофлоры, происходит через изменение адаптации метаболизма к субстрату - потребляемой пище, что приводит к изменению генетического состава популяций, образованию и вымиранию видов и, в конечном итоге, преобразованию экосистем и биосферы в целом.

Проблема эволюции биологических систем сложна, синергетична (энциклопедична - междисциплинарна) и ставит не только перед исследователями, но жителями планеты Земля очень много вопросов не только в различных классических научных дисциплинах (микробиологии, вирусологии, генетике, гистологии, эмбриологии, зоологии, орнитологии, систематики, медицины), а и в других науках, таких как математика, теория систем, биофизика, информатика, теория автоматического регулирования. Но, как показала новая наука, есть много синтетических - синергетических проблем!!! Это связано с тем, что исследователь имеет дело с несколькими сложными системами, находящимися во взаимодействии, со строгими ритмичными законами, охваченных обратными синергетическими связями. Система сложно организованного микробиоптата, например:

- вертикальном спектре (система членистоногие, пойкилотермные, птицы, млекопитающие – человек – микроорганизм – окружающая среда);
- горизонтальном спектрах (отец – мать – плацента – плод – ребенок – взрослый человек – микроорганизм – окружающая среда).
- этапы формирования вирулентности состоят из экологического стресса

как со стороны макроорганизма, так и микроорганизма, гена- и фенотипических модификаций, отбора (естественного или искусственного):

- адаптации системы макроорганизм – микроорганизм - человек;
- окружающей среды – как биосферы;
- человека как окружающей среды (для микробиоптата).
- взаимодействие почвенной микрофлоры и растения на уровне АПС пока остается проблемой из проблем, являющейся одной из основых состаляющих

продуктивности растений и продородия почвы (Белимов, Кунакова, Груздева, 1998).

1.2. Проблемы в микробиологии и в медицине.

Не будет преувеличением отметить, что середина прошлого века для человечества была ознаменована событием большой важности: в армаду медикаментов влилась новая группа антимикробных препаратов - антибиотиков для этиотропного лечения инфекционных заболеваний. Широкая практика использования антибиотиков поначалу привела к снижению тяжести и летальности многих инфекционных болезней. Статистика показала резкое снижение:

- заболеваемости стрептококковой пиодермией и рожистым воспалением;
- глоточных стрептококковых инфекций: тонзиллита, фарингита, скарлатины;
- исчезновение тяжелых последствий глоточных стрептококковых заболеваний, таких как
    - ревматизм;
    - острый диффузный гломерулонефрит.

Микробиологами и иммунологами были разработаны для профилактики дифтерии и раневых инфекций анатоксины, а также ряд высококачественных вакцин против брюшного тифа, кори, коклюша, бруцеллеза, туляремии, чумы, холеры, сибирской язвы, менингококковой инфекции и др.

В номенклатуру признанных антиинфекционных средств вошли специфические иммуноглобулины. Мир узнал и оценил действие лечебных бактериофагов для больных кишечными, урологическими и гнойными инфекциями, не поддающимися терапевтическому воздействию антибиотиками. Были созданы бактерийные препараты – пробиотики, успешно корректирующие нарушения нормальных биоценозов полостей человека. На основании этих достижений многие клиницисты и эпидемиологи («горячие головы») обрели уверенность, что в обозримом будущем проблема бактериальных инфекционных болезней станет объектом истории медицины. Но широкий бесконтрольный доступ населения к применению без правильных врачебных рекомендаций большого ассортимента антибиотиков сделали свое дело! Да и врачи не всегда назначали адекватную антибиотикотерапию. Все это явилось результатом формирования клонов - антибиотико - резистентных патогенных микроорганизмов. Как показал анализ этой трагедии, процесс пошел интенсивно по двум направлениям:

- за счет нарастания количества видов, утративших чувствительность к применяемому антибиотику,

- и за счет увеличения спектра устойчивости к двум и более препаратам.

Результаты превзошли все ожидания! Медицинская статистика показала, что, к примеру, такие инфекции как туберкулез, гонорея, сепсис, пневмококковая пневмония, дизентерия и др. снова оказались в ряду непобежденных! Следует специально отметить - конец прошлого века был «ознаменован»:

- вновь массово проявившимися некоторыми инфекционными болезнями, считавшимися практически исчезнувшими или побежденными. И этому свидетельство, например, небывалый рост заболеваемости дифтерией, преимущественно среди взрослых. Эксперты на основании анализа статистических данных связывают этот «феномен» с нарушением принципов массовой иммунизации *анатоксином* в начале 90-х годов. Как следствие, и не только в России, участились локальные вспышки тонзиллита, фарингита, скарлатины;
- возрождением случаев тяжелых инвазивных форм стрептококковой инфекции, исчезнувших еще в «антибиотическую эру» - некротического миозита, фасциита, синдрома токсического шока с летальным исходом. Это можно объяснить сменой циркулирующих штаммов в результате появления более патогенных клонов и иммунологического прессинга.
- зарегистрированными случаями учащения первичного ревматизма и рецидивов болезни;
- списком инфекционных болезней XX века, пополнившимся рядом новых, ранее неизвестных инфекций.

Тому свидельство, что в 1976 году в Филадельфии среди участников Конгресса ветеранской организации «Американский легион» возникло около 182 случаев респираторной лихорадки и пневмонии неизвестной этиологии с 29 летальными исходами. При исследованиях легочной ткани умерших был выделен возбудитель «болезни легионеров», отнесенный к новому роду Legionella и семейству Legionellaceae. Список новых патогенных микроорганизмов пополнился листериями, хламидиями, возбудителями ряда клещевых боррелиозов, кампилобактериозов[4], иерсиниозов[5], микоплазмозов, представителями семейств риккетсий,

---

[4] Кампилобактериоз - острое инфекционное зооантропонозное заболевание, характеризующееся синдромом общей интоксикации, поражением желудочно-кишечного тракта и возможностью генерализации патологического процесса. К сожалению, на сегодняшний день профилактика кампилобактериоза пока не разработана.

[5] Иерсиниоз - острая антропозоонозная кишечная инфекция, сопровождающаяся токсико-аллергической реакцией, отличающаяся мультиочаговостью.

анаплазм, коксиелл и др. Кроме того, «успехи медицины», к сожалению, привели и к нежелательным последствиям - формированию групп лиц с ослабленной резистентностью, жизнь которых продлевается благодаря достижениям современной медицины: недоношенные дети с малым весом, лица, леченные иммунодепрессантами, облучением, тяжелые хронические, онкологические больные. Новая выявленная инфекция - вторичный иммунодефицит человека (ВИЧ-инфекция) также вносит свою лепту в долю расширения числа лиц с ослабленной иммунологической защитой. Несомненно, распространение наркомании способствует увеличению количества людей с сниженной резистентностью. Такое «благоприятное» стечение обстоятельств привело, в свою очередь, к развитию инфекций, вызываемых условно патогенными или даже считавшимися непатогенными бактериальными видами и штаммами из числа нормальной флоры человека и окружающей среды. Проблема «оппортунистических»[6] инфекций тесно связана с другой современной эпидемиологической проблемой - внутрибольничными инфекциями. Увеличение числа инвазивных вмешательств в совокупности с расширением многокоечной госпитальной сети, с одной стороны, и формированием в стационарах антибиотикорезистентных клонов микроорганизмов, с другой, привело к распространению «местных» резистентных штаммов, вызывающих тяжелые инфекции у ослабленных пациентов. Даже идентификация этиологических агентов при оппортунистических и внутрибольничных инфекциях, порой фенотипически неотличимых от представителей нормальной микрофлоры, по понятным причинам представляет трудности для классических бактериологов и медиков.

1.3. Связь жизни со специфической работой иммунной системы.

Гомеорез в классическом значении этого слова - физиологическое понятие, обозначающее устойчивость состава внутренней среды биосистемы, постоянство компонентов ее состава, а так же баланс ее биофизиологических функций. Основой такой биологической функции, как гомеорез, является способность живых организмов и биологических систем противостоять изменениям среды; при этом организм использует автономные механизмы защиты. Перечислим их:

1. Свойство сохранять гомеостаз – способность живой системы, находящейся в состоянии динамического равновесия с условиями внешней среды. Эта спо-

[6] Эти инфекции получили название «оппортунистических» т. е. присоединившихся к основному заболеванию.

собность неодинакова, так как по мере более высокой организации организма она становится все более независимой от условий внешней среды. Так, например, человек имеет сложные нервные, эндокринные, иммунные механизмы регуляции.

2. Молекулярно-генетический уровень гомеореза обеспечивается процессами редупликации ДНК, репарации на уровне клетки - компенсаторное восстановление ряда органоидов при повышении функции.

3. Иммунная система осуществляет контроль ее генетического постоянства.

4. В системных авторегуляторных механизмах гомеореза действуют междисциплинарные (синергетические) принципы отрицательной обратной связи: при любом возмущающем воздействии - влияние *нервной* и *эндокринной* систем.

5. Стабилизация физиологических показателей осуществляется на основе свойства раздражимости, у высших организмов через инстинкты, условные рефлексы, элементы рассудочной деятельности, абстрактное мышление и т.д.

6. Механизмы гомеореза характеризуются специфическими особенностями обмена вещества, энергии в каждый возрастной период:

- *ювенильный* - механизмы гомеореза не созрели - нарушение физиологических процессов, болезненные процессы;
- *зрелый* - совершенствование обменных процессов. Система восстановления гомеореза обеспечивает компенсацию;
- *старческий* - надежность механизма поддержания гомеореза ослабляется.

7. Сохранение гомеореза обеспечивается адаптивными реакциями организма к окружающим условиям на разных уровнях ее организации: *клеточном* - изменение порога чувствительности и метаболизма, *организменном* - перестройка физиологических функций и поведения.

Бесспорно, что у млекопитающих и у человека, важнейшую роль играют нервные механизмы, гипоталамо- гипофизарная и симпатико-адреналовая системы. Можно привести хороший пример генерализованного ответа на воздействия со стороны окружающей среды, развертывающегося на основе взаимодействия нервной и эндокринной систем – состояние стресса. Физиолого - биохимическая адаптация - совокупность реакций, способствующих приспособлению организма к изменению окружающих условий и направленных на сохранение гомеореза . При действии сильных раздражителей - неспецифический ответ в виде стресса. Реакция стресса имеет *три стадии*:

1) *Тревоги:* рецептор - симпато - адреналовая система - выделение адреналина мозговым веществом надпочечников. В результате чего происходит повышение уровня сахара в крови, усиление сердечных сокращений, повышение артериального давления;

2) *Резистентности* (устойчивого приспособления): адреналин, воздействуя на гипоталамус, вызывает выработку нейрогормона либерина (специфические клетки), являющегося стимулятором передней доли гипофиза, которая начинает выделять адренокортикотропный гормон, усиливающий продукцию гормонов коры надпочечников. В результате повышается устойчивость организма к стрессу (увеличение глюкозы, аминокислот и т. д.);

3) *Истощение* - кора надпочечников не может дать необходимое количество гормона, что может привести к стрессу. Адаптационный синдром является физиологической мерой против возникновения болезни.

При этом первые две стадии соответствуют сохранению состояния гомеореза, а третья означает срыв его работы.

Нервная регуляция осуществляется и координируется центральной нервной системой. Нервные импульсы, поступая в клетки и ткани, вызывают не только возбуждение, но и регулируют (как одна из обратных связей) химические процесссы, обмен биологически активных веществ. Известно в настоящее время более 50 нейрогормонов. Например, гипоталамус вырабатывает вазопрессин, окситоцин, либерины и статины, регулирующие функцию гипофиза. Авторегуляторными системными проявлениями которого, являются сохранение постоянства температуры, артериального давления.

Эндокринные механизм гомеостаза по Б. М. Завадскому - механизм стабилизации, т.е. уравновешивание функциональной активности железы с концентрацией гормона: при высокой концентрации гормона (выше нормы) деятельность железы ослабляется и наоборот. Подобное влияние осуществляется путем действия гормона на продуцирующую его железу. Однотипность регуляции отмечена у ряда желез, которая устанавливается через гипоталамус и переднюю долю гипофиза, особенно при стресс - реакции.

Иммунный гомеорез – это, безусловно, часть общего гомеореза, так как он иерархичен и тем сложен, и поддерживается при помощи иммунной системы, главной задачей которой является не допустить в организм любых «чужаков». К последним могут относиться: возбудители инфекции, инородные тела, чужеродные белки и даже собственные измененные клетки и клетки злокачественной опухоли. Иммунная система чутко отслеживает появление таких элементов

и безжалостно уничтожает, поддерживая тем самым генетическое постоянство внутренней среды. Но бывают и сбои - нападает на «своих» (например, на клетки какого-то органа). В результате возникают аутоиммунные заболевания.

Болезнь является проявлением нарушения *гомеореза*. Все заболевания условно можно разделить на инфекционные и неинфекционные или соматические. Инфекционные заболевания - это результат проникновения в организм возбудителей инфекции (бактерий, вирусов, грибов, простейших). В большинстве случаев нормальная иммунная система справляется с этими заболеваниями, но и здесь не все так просто как кажется!

Неинфекционные заболевания: ишемическая болезнь сердца, гастрит[7], диффузный токсический зоб и др. являются результатом тяжелых физических или психических нагрузок, неправильного образа жизни. В большинстве случаев, эти заболевания сопровождаются нарушениями иммунитета, и поэтому организм не может с ними справиться. В этом случае заболевание становится хроническим.

Несмотря на все, макросистема живет и эволюционно развивается за счет иммунной системы. Работа специфической иммунной системы выражается в том, что в ответ на появление генетически чужеродного организму материала (антигена - АГ) она вырабатывает специфические реактивные клетки (клеточный иммунный ответ) и специфические антитела - АТ (гуморальный иммунный ответ). Это определяет здоровье индивидуума в плане инфекционных заболеваний, его работоспособность, продолжительность жизни, так микроорганизмы живут в человеке. Такой консенсус – баланс, симбиоз определяет общий генезис - законы жизни существования макросистемы, например, человека как такового. Нарушение законов ведет к ухудшению здоровья, снижению работоспособности, падению жизненного тонуса, болезням, эпидемиям, смерти.

1.4. Поиск основных причин застоя в науке в целом, биологии и медицине. (Обоснование открытия новой науки).

Как мы знаем, наука начинается с вопросов. А вопросы по проблемам не задавали, так как не было такого языка, чтобы можно было сформулировать теоретические междисциплинарные – энциклопедические представления, основан-

[7] Не удачный пример, последними исследованиями доказана его инфекционная природа

ные на опыте прошлого! Не было такой науки! Большой конгломерат вопросов по проблеме выделяет среди научных дисциплин новую науку.

Следует кратко перечислить ряд основных проблем, которые сегодня не могут решить современная медицина и биологическая наука в целом:

1. *Проблема трансплантации.*

Проблема трансплантации сложна, многогранна и требует значительных совместных усилий различных специалистов: врачей и инженеров, биофизиков, биохимиков и физиологов. Каждый организм строго индивидуален, поэтому всякая ткань или орган, пересаженные в другой организм, воспринимаются им как чужеродное тело. Эта реакция на чужеродное тело вызывается специфическими веществами - антигенами, находящимися в пересаженной ткани. Именно этой выраженной реакцией несовместимости объясняется частая гибель пересаженного органа. Мы даже не затрагиваем этические проблемы пересадки органов от трупа и проблему исскуственных органов, которые так же злободневны.

Следует кратко отметить сопуствующие проблемы трансплантации, связанные с «Эмбриональной индукцией», «Дифференциацией и интеграцией в развитии».

Эмбриональная индукция - взаимодействие между частями развивающегося организма у многоклеточных беспозвоночных и всех хордовых. Например: если удалить зрительный пузырек, то хрусталик не образуется; если зрительный пузырек имплантировать под эпидермис в какой-либо другой части тела, даже в туловище, в этом месте индуцируется хрусталик.

Дифференцировка. Детерминированные клетки постепенно вступают на путь развития (неспециализированные эмбриональные клетки превращаются в дифференцированные клетки организма). Дифференцированные клетки в отличие от детерминированных обладают специальными морфологическими и функциональными организациями. В них происходят строго определенные биохимические реакции и синтез специальных белков, например: клетки печени – альбумин; клетки эпидермиса кожи – кератин; мышцы – актин, миозин, миелин, миоглобин. Как правило, дифференциация происходит в эмбриональном периоде и приводит к необратимым изменениям полипотентных клеток эмбриона. В связи с этим в 1939 году Томас Морган выдвинул гипотезу: «дифференцировка клеток связана с активностью разных генов одного и того же генома». В настоящее время доказано, что в дифференцированных клетках работает около 10% генов, а остальные неактивны. В силу этого можно утверждать о

функционировании определенных генов в разных типах специализированных клеток. Было доказано специальными опытами по пересадке ядер из клеток кишечника головастика в безъядерную яйцеклетку, что в дифференцированных клетках сохраняется генетический материал и прекращение функционирования определенных генов обратимо. Из яйца лягушки удаляли ядро, а вместо него подсаживали ядро из клетки кишечника головастика. Развития не происходило, но иногда эмбриогенез происходил нормально. Строение взрослой лягушки полностью определялось ядром. На функционирование генов в процессе развития многоклеточного организма оказывают влияние сложные и непрерывные взаимодействия ядра и цитоплазмы и межклеточные взаимодействия. Регуляция дифференцировки происходит на уровне *транскрипции* и на уроне *трансляции*.

Уровни регуляции дифференцировки клеток:

1. На уровне транскрипции: система оперона; участие белков – гистонов, которые образуют комплекс с ДНК. Участки ДНК, покрытые гистоном, неспособны к транскрипции, а участки без гистоновых белков транскрибируются. Поэтому можно утверждать, что белки участвуют в контроле над считываемыми генами. В связи с этим была сформулирована гипотеза дифференциальной активности генов: «Предположение о том, что в разных дифференцированных клетках гены репрессированы (закрыты для считывания в ДНК), и поэтому синтезируются разные виды м-РНК».

2. На уровне трансляции. На ранних стадиях эмбрионального развития весь белковый синтез обеспечивается матрицами, созданными в яйцеклетке до оплодотворения под управлением ее генома. Синтез и-РНК не происходит, меняется характер синтеза белка. У разных животных синтез включается поразному. У амфибий синтез и-РНК - после 10 деления, синтез т-РНК - на стадии бластулы. У человека синтез и-РНК - после 2-го деления. Не все молекулы и-РНК, находящиеся в яйцеклетке одновременно используются для синтеза полипептидов, белков: часть из них некоторое время не активны.

Морфогенез – образование формы или принятие новой формы. Образование формы чаще всего происходит в результате дифференциального роста. В основе морфогенеза лежит организованное движение клеток и групп клеток. В результате перемещения клетки попадают в новую среду. Процесс, конечно же, происходит во времени и пространстве. Дифференцированные клетки не могут существовать самостоятельно, кооперируются с другими клетками, образуя ткани и органы. В образовании органов важно поведение клеток, которое зави-

сит от *состояния клеточных мембран*. Клеточная мембрана играет роль в осуществлении клеточных контактов, адгезии, агрегации. Для формирования органа необходимо присутствие в определенном количестве всех клеток, обладающих общим органным свойством. Раковые клетки не способны к сегрегации и неотделимы от нормальных. Остальные клетки подвержены сегрегации.

2. *Использование антибиотиков и «перспектива»:*

- Применение антибиотиков более катастрофично, чем медленное загрязнение окружающей среды, к которой человек и другие биологические системы успевают адаптироваться, и сбивают с глобального пути эволюции (Козлов, Сивая, Кречикова и сотр..2006; Stratchounski, Kozlov, Appelbaum et. al.,2006). Из-за этого наука развивается в тупиковом направлении (к сожалению, сегодня других ориентиров нет!).

- Экологические проблемы антибиотиков (дисбактериоз, приспособляемость и выращивание «монстров») (Wakamoto et al., 2013; Brauner, Fridman, Gefen, et al.,2016).

- Отсутствует прогнозирование генетических проблем (отделения патологии беременности переполнены!).

- Чем выше социальный уровень развития государства, тем с большими проблемами здоровья нации оно сталкивается.

- Парадоксально, но с развитием фармакологии и технологий в медицине количество больных людей (и детей) не уменьшается, а возрастает! Никто об этом не задумывается! Наука развивается в другом, по-видимому, в тупиковом направлении.

3. «Война с ветряными мельницами» - вирусами и бактериями – главными информационными потоками эволюции человека и других биологических систем:

- Человек, в большинстве случаев, не соблюдает законы «общежития» в океане микроорганизмов, в котором он живет (van Kessel, Hatfull, 2007)

- Встраивание вирусов в геном человека и вызываемые ими неконтролируемые макроорганизмом рост и деление соматических клеток и, как следствие, вирусов (возникновение опухолей), есть не что иное, как защитная реакция (мутация, активация) вирусов на любые информационные изменения окружающей среды, не совместимые с их гомеорезом (вызванные медикаментозными средствами, стрессом, радиацией и т. п.), распознаваемые вирусами как фактор агрессии.

- Выживаемость информации.

4. *Экологические проблемы, связанные с использованием современных биотехнологий:*

- новые технологии: искусственные белки, жиры, синтетические лекарства: перспективы использования полиглюкозидов;
- старые технологии: производство сыра, кисломолочных продуктов, пива, вина, кваса и т.п.

5. *Эффекты генной инженерии:*

- колорадский жук «не жрет» картофель – его программа распознавания образов уже защищает его индивидуум;
- хлопковую совку уничтожали ДДТ, а сейчас она в нем размножается!
- в энтомологии и фитопатологии многие химпрепараты стали практически бездейственны!

6. *Много различных вопросов – не разрешимых ни одной из биологических наук (многие науки ощущают огромный «Фантом Айсберг», но основная подводная часть скрыта и недоступна для полного представления будущих проблем жизни на Земле).*

7. *Иммунодефицит.*

Сложность исследования многих сопряженных процессов, особенно идущих синхронно в одной фазе (фотосинтез и дыхание на свету; фотофосфорелирование и фосфорелирование; эмбриональная индукция, дифференциация и интеграция в развитии и т.д.».

8. и т.д).

1.5. Анализ проблемы.

Следует подчеркнуть, что остаются открытыми много вопросов эволюции биосистем в междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов, среди которых самый острый: «Как же микробные биоценозы влияют на организацию макросистемы и на что конкретно?».

Современные достижения о единстве жизни на молекулярном уровне: механизмы кодирования и обработки генетической информации, катализа и преобразования энергии и др., несмотря на все успехи редукционного подхода при исследовании важнейших эволюционных проблем разнообразия живых организмов, так и не получили ответа. Забегая вперед, следует отметить, что не был определен путь адаптивного видообразования фундаментальных синергетических (плановых) структур «АПС» и функций, который бы позволил, по нашему

убеждению, макро- и микробиосистемам (гомеорезам) освоить всевозможные экологические ниши и породил бы новые жизни с новыми свойствами. Если вопрос зашел о влиянии внешнего воздействия на гомеорезы, следует узнать:

- определяющие механизмы их синергетической адаптации – (иммунологической);
- их характеристики и структуру (в том числе антагонизма и синергизма);
- способы синергетической диагностики;
- виды адаптивных механизмов (иммунологического, биофизического);
- плановые компоненты адаптивных механизмов и управления.

Парадокс вопросов заключается в том, что они практически междисциплинарные – энциклопедические и требуют у исследователя знаний не только смежных биологических дисциплин, но и математики, теории автоматического регулирования, работы на физико-химических приборах, владения математически пакетами на персональном компьютере.

На рис. 1.0.1. показана вся сложность взаимодействия *макро*биосистем и *микро*биосистем иерархии гомеорезов и дисциплины их изучающие, где нет еще пока новой единой синергетической междисциплинарной – энциклопедической науки.

В последние десятилетия получил широкое распространение системный метод изучения, заключающийся в изучении не отдельных предметов и процессов, а всей целостной системы в форме комплексных исследований.

Следует подчеркнуть, что кибернетика и синергетика развиваются в этом русле, изучая важнейшие аспекты динамической устойчивости, самоорганизации и возникновения новых системных качеств.

Поэтому кибернетика отличается от синергетики тем, что всякое нарушение в самоорганизующейся системе через отрицательную обратную связь корректируется управляющим устройством.

Кибернетика и синергетика по генезису своего становления являются науками интегративными, синтезируя в себе ряд других, по отношению к которым они разрабатывают общенаучные теоретические концепции.

Основой их интегративной целостности являются концептуальные ряды предшествующих им частных наук, существовавших до кибернетики и синергетики разрозненно и не нуждавшихся во взаимной выверке своего терминологического и понятийного аппарата.

В синергетике эволюции иерархических гомеорезов биологических систем, в противоположность кибернетике, исследуется природа иерархических механизмов возникновения новых гомеорезов с новыми свойствами (или заданными человеком свойствами) в процессе самоорганизации, а не сохранения и поддержания старых.

Именно поэтому она опирается на принцип положительной обратной связи, когда изменения, возникшие в системе гомеорезов, не подавляются или корректируются, а накапливаются и постепенно приводят к разрушению старых и возникновению новых биологических систем - гомеорезов.

Исследователи практически никакого внимания не уделяли главенствующей роли гомеорезов и их адаптивным характеристикам в процессе эволюции биологических систем.

Именно поэтому эволюцию гомеорезов биологических систем, как определяющие самоорганизующие их звенья *с адаптационными характеристиками гомеорезов,* надо диагностировать в контроле *«с тормозом эволюции жизни», как таковой на Земле,* например из криогенных хранилищ. При этом с точным учетом:

- времени помещения в криогенные хранилища;
- диагностики адаптивных плановых структур гомеорезов в:
    - медицине,
    - ветеринарии,
    - селекции,
    - физиологии растений,
    - агрохимии и др.

Наш метод диагностики плановых структур позволяет определить узлы «бифуркаций» и изменить макро/микроэволюцию системы!!! Поскольку флуктуации представляют собой случайные отклонения системы, т.е. являются случайными факторами самоорганизации, то в критической точке развития систем может существовать несколько путей дальнейшей эволюции, что математически выражают термином «бифуркация», означающем раздвоение или разветвление.

Какой путь эволюции выберет система, в значительной мере зависит от случайностей (например, от флуктуаций), но если путь определен, то дальнейшее подчиняется законам. Таким образом, динамику развития систем следует рас-

сматривать как единое целое двух взаимно дополняющих сторон единого процесса развития - случайности и необходимости:

- внешних физических;
- химических;
- метеорологических;
- астрономических;
- циркадных и др. условий;
- времени пребывания в криобиозе;
- условия выхода из криобиоза (желательно попасть в циркадный ритм);
- возможен парадоксальный эффект или какой - то иной неожиданный новый «эволюционный эффект» - новые непредвиденные свойства гомеорезов;
- новые диагностические синергетические показатели гомеорезов биологических систем.

Так как гомеорезы биологических систем - самоорганизующиеся системы - это сложные открытые системы, неравновесные (находящиеся вдали от точки термодинамического равновесия). Полная энергия ***E*** системы биологических гомеорезов состоит из:

$$\mathbf{E} = \mathbf{F} + (\mathbf{S} * \mathbf{T}) \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (1.0.1)$$

где : *F* – свободная энергия; *S* – деградированная энергия или энтропия, представляющая собой отработанную энергию, которую нельзя использовать для совершения какой-либо работы; *T* - температура по Кельвину

Стремление исследователя решить многие вопросы проблемы в целом, опираясь не на узкий «отраслевой» научный подход, а на проблему в целом, к сожалению, до сего момента не имели успеха! Потребность в новой науке ощущается на массе примеров, которые она способна разрешить:

- возникли представления о роли бактерий при заболеваниях, считавшихся неинфекционными (например, роль хламидии в возникновении атеросклеротической болезни).
- появились знания о некультивируемых формах бактерий, не выявляемых классическими методами.

Накопились факты, свидетельствующие о взаимоотношениях бактериальных клеток внутри их сообществ, способствующих выживанию, устойчивых к действию

антимикробных препаратов и средств иммунной защиты (Aldridge et al., 2012; Brauner, Fridman, Gefen. & Balaban, 2016; Campos, et al., 2014; Chiu, Haynes, 1977; Dar, Hosmane, Arkin,, et al., 2014; Hesper Rego, Rebecca, Audette & Eric, 2017; Kieser & Rubin, 2014; Kieser, et al. 2015; Landgraf, et al., 2012; Legrand, Simonin, Perrot, et al.,1998; Marmiesse, et al., 2004; Mitchison, 2000; Niederweis, et al., 1999; Rubin, 1999; Santi, Dhar, Bousbaine, Wakamoto, et al., 2013; Taheri-Araghi, et al., 2015; Tiberghien, Loor, Ranking 1996 ; van Kessel, Hatfull, 2007; Wakamoto, et al. 2013).

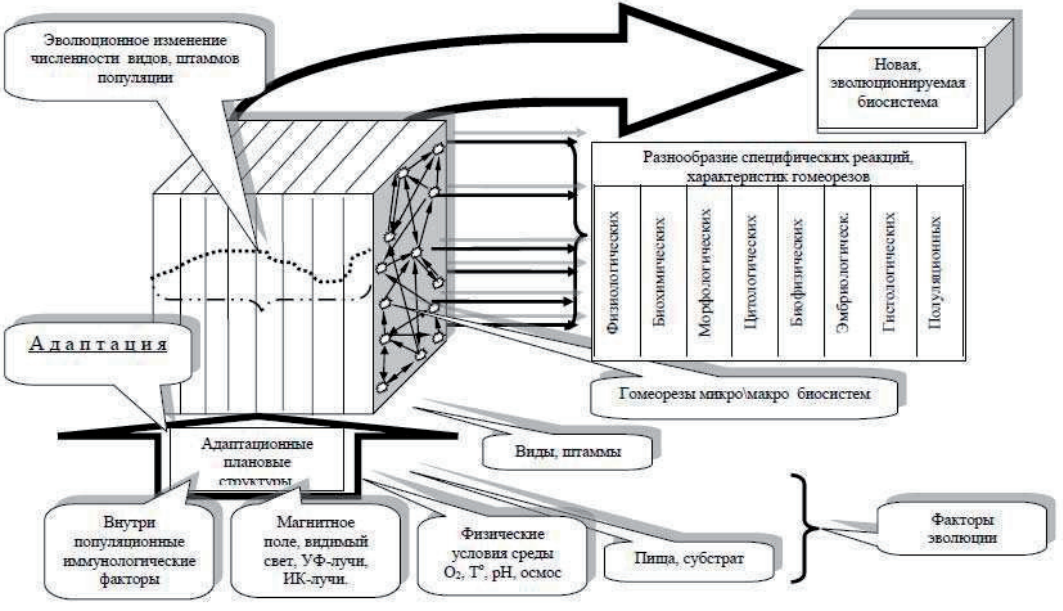


Рис. 1.0.1. Схематическое, синергетическое изображение эволюции иерархии гомеорезов биологических систем

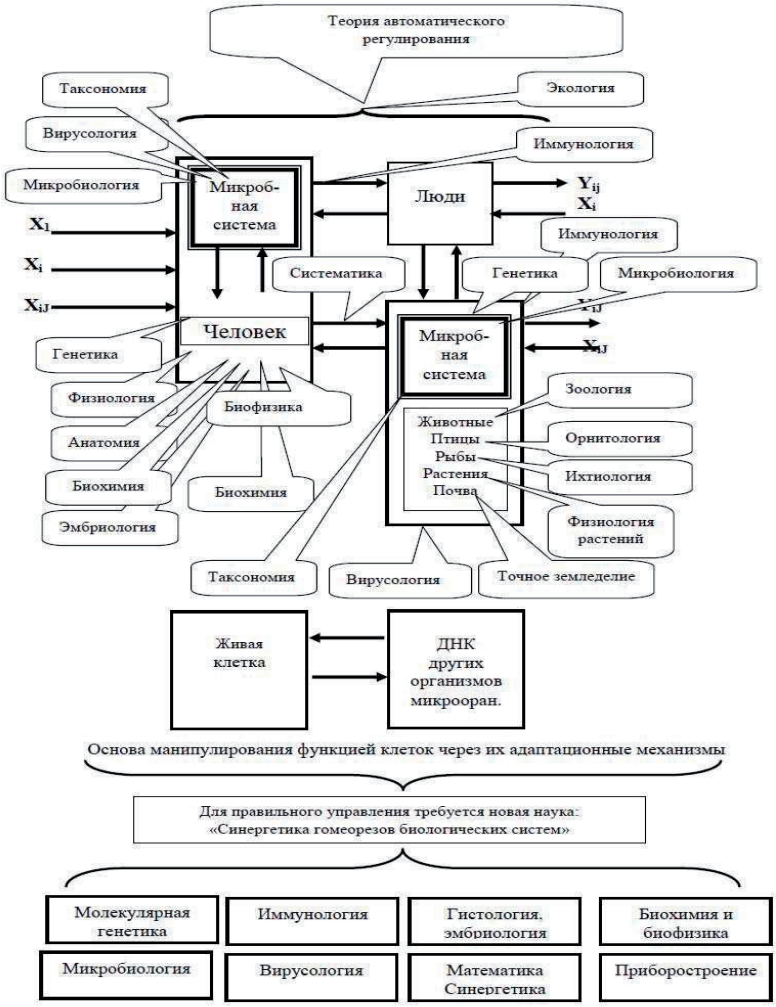


Рис. 1.0.2. Схема сложности взаимодействия макробиосистем и микробиосистем иерархии гомеорезов. Основы правильно манимулирования функцией клеток основаны нх адаптационных механизмах, где X_1, X_i, X_{ij} – где факторы эволюции, $У_1$, $У_i$, $У_{ij}$ - реакции, сигналы – характеристики биосистем.

При этом исследователи действуют интуитивно, на ощупь, так как не имеют твердого фундамента - теории, не говоря о новой предлагаемой концепции и новой науке.

-----X----X----X----

В следующих разделах рассматривается:

- в целом подход к новой концепции диагностики адаптивных механизмов гомеореза;
- методология системно - синергетического исследования;
- еще раз понятие адаптации,
- способы диагностики адаптивных механизмов гомеореза в автоматизированном мнофакторном планируемом эксперименте.

Кроме того, для начинающего исследователя освещаются:

- теоретические и практические вопросы организации многофакторного биофизического эксперимента,
- понятие интерфейса;
- плат сбора, обработки и сопряжения экспериментальной установки с компьютером при автоматизированном эксперименте;
- программное обеспечение, осуществляющее поддержку плат сбора, обработки и сопряжение экспериментальной установки с компьютером;
- анализ ошибок проектирования на примере «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора».

Показан пример организации биофизического эксперимента в новой концепции «диагностики адаптивных механизмов гомеореза» на «FLA».

Весь представленный материал комментируется многочисленными литературными ссылками.

2.0. Определение и значение науки.

Наука – «Наука есть не только знание, но и сознание, т. е. умение пользоваться знанием» - так комментировал это определение наш соотечествикик В.О. Ключевский.

Цель науки - умение пользоваться и добывать нужные знания о мире и его законах в человеческой деятельности.

Задачи науки - установление и объяснение, познание сущности, закономерностей объективного мира, а также раскрытие путей использования новых знаний в повседневной жизни.

Научное исследование - процесс получения новых научных знаний. Следует указать на деление последних на *фундаментальные* и *прикладные*.

Задачи фундаментальных исследований: познание законов, управляющих поведением глобальных структур, таких как элементарные частицы, атом, молекула клетка, галактика и т.д. Может показаться на первый взгляд, что эти исследования не нужны, так как далеки от практики. Но это ошибочные представления, потому что новые принципиальные качественные сдвиги и решения неизвестных крупных проблем невозможны без понимания их сущности. Именно поэтому фундаментальные знания служат базисом для прикладных наук.

Задачи прикладных исследований - конкретны и направлены на разработку тех или иных технологий, или, например, (в нашем случае): *оценку качества* функционирования медико-биологических систем: клетка, микро/макро организм. Эти исследования устанавливают взаимосвязи между явлениями, объясняют их сущность, но взаимосвязи носят не общий, а частный характер. На долю прикладных наук, если говорить глобально, приходятся до 80-90% объема исследований и финансирования.

Испытания стоят практически рядом с научным исследованием и близки, в основном, по характеру, но отличаются, главным образом, целями и задачами. Испытания обычно проводят с целью получения сведений, необходимых для принятия решения о соответствии предмета испытаний заданным требованиям ГОСТов, ТУ, конкретным заданиям и т.д.. Также испытания проводят с научными целями, с целью изучения предмета, цены изделия и т. д. Отдельные виды испытаний имеют исторически сложившиеся названия: химический анализ, органолептический анализ, металлографические исследования, микробиологиче-

ский анализ, гомологическая диагностика, измерение и др. Испытывается - тестируется практически все (приведем лишь некоторые их них): в обучении, психологии, в технике - отдельные машины, системы, механизмы; в микробиологии - новые штаммы микроорганизмов; в пищевой промышленности новые продукты; в сельском хозяйстве - новые сорта сельскохозяйственных культур, выведенные новые породы животных, новые технологические процессы и т.д.

Испытания классифицируют, например: клинические испытания медицинского изделия по определяемым характеристикам: испытания безопасности, эффективности лечения; метрологические испытания; испытания на надёжность и т. п.; по назначению: приёмно-сдаточные испытания; периодические испытания; государственные испытания; клинические испытания и т.п.

Качество испытания определяется достоверностью полученных сведений. Чем выше достоверность, тем выше качество. Для современного уровня развития технологий достаточным является получение результата испытаний с 95 % доверительной вероятностью. Однако в случаях, когда недостоверные результаты испытаний могут привести к значительным рискам, используют более высокие доверительные вероятности (Большой энциклопедический словарь, 1933).

2.1.Методология научного исследования.

Метод (от греч. - путь исследования или познания) - совокупность операций, действий, которые направлены на решение определённой задачи или достижение цели. Совокупность однородных методов принято называть подходом. Совершенствование методов является естественным следствием развития научной мысли.

Методология - это область знания, занимающаяся изучением методов, оценкой их эффективности, сущности и применимости. Методология издревле считалась важнейшей частью философии и поэтому, кто владел *надежным методом*, тот знал ближайший путь к истине. Такой метод может оказаться ценным не только в области научных исследований, но и в области деловой и производственной жизни и практики, в области права, управления, социологии, в международных отношений.

Научный метод - совокупность основных способов получения новых знаний и методов решения задач в рамках конкретной дисциплины: биологии, медицины, химии и т.д., но есть и новый междисциплинарный подход. Метод включает в себя способы исследования феноменов, систематизацию, корректировку

новых и полученных ранее знаний. Важной стороной научного метода, его неотъемлемой частью для любой науки является требование объективности, исключающее субъективное толкование результатов. Не должны приниматься на веру какие-либо утверждения, даже если они исходят от авторитетных учёных. Для обеспечения независимой проверки проводится документирование наблюдений, обеспечивается доступность для других учёных всех исходных данных, методик и результатов исследований. Методы научного познания принято подразделять по широте применимости в процессе научного исследования на следующие группы:

1) общефилософские: *диалектический* и *метафизический*;

2) общенаучные, которые используются в самых различных областях наук, т.е. имеют широкий спектр междисциплинарного применения;

3) методы чисто научные, которые используются только в рамках исследования какой-то конкретной науки или даже конкретного явления.

Существует три уровня познания:

1) *эмпирический*;

2) *теоретический*;

3) *моделирования*.

На эмпирическом уровне используют *наблюдение*, *эксперимент, измерение*. На теоретическом уровне - *идеализацию* и *формализацию*. Метод моделирования можно использовать на обоих уровнях. Элементы структуры научного знания - фактический материал или твердо установленный факт. Научные предположения - изобретение гипотезы. Смена этапов в науке приводит к изменению норм научного познания.

Цель методологии-
создать новые способы и методы для решения проблем современной науки.

2.2.Системный подход.

С переходом на современном этапе естествознания к изучению больших и сложноорганизованных объектов – систем *гомеорезов* - прежние методы классического естествознания становятся неэффективными. Сейчас мир понимается как *динамическая система*, компоненты которой взаимодействуют и приобретают новые качества. Для изучения такой системы выработан системный подход. Основная задача *общей теории систем* состоит в том, чтобы найти сово-

купность законов, объясняющих поведение, функционирование и развитие всего класса объектов как целого.

Системный подход по Триммеру (Триммер, 1949, цит. по Стеси, 1962) представляет - идеализирует (см. ниже) объект исследования - гомеорез в виде *системы* «черный ящик», которая в общем виде может быть описана с помощью схемы, представленной на рис.2.1. Воздействие на систему связано с возмущением ряда законов, т.е. множества внутренних параметров системы (вектор состояния).

2.2.1. Логически существует 5 задач, связанных с такими системами:

Прямая задача: Заданы воздействия, система и законы.

Требуется найти реакцию.

Обратная задача: Заданы реакция, система и законы.

Требуется найти воздействие.

Индуктивная задача: Заданы воздействия, система и реакция.

Требуется найти законы.

Дедуктивная задача (задача идентификации): Заданы воздействия и реакция. Требуется найти систему.

Задача «проектирования»:

Требуется рассчитать систему, удовлетворяющую совокупности условий.

Задача выявления параметров исследуемой биологической системы («БС») «*черный ящик*» связана с решением *дедуктивной задачи*, заключающейся в установлении связи между входом – «***X***» и выходом - «***У***», т.е. между воздействием и реакцией. Переменные функции системы называют так же *фазовыми координатами* или переменными ее состояния (*передаточной функцией*). или же функцией адаптатации (Растригин, 1981) на основе которой основаны множественные методы например жароустойчивости растений см. таб. 5.1. Это позволяет с помощью математической теории эксперимента разработать оптимальный план исследования «*черного ящика*», который предусматривает не только наиболее быстрый способ оптимизации выходной переменной, но и получение математической модели процесса, являющейся исключительно компактным и удобным инструментом для исследования и управления реальным процессом. Во многих случаях модель позволяет также раскрыть механизм процесса, т. е. внутреннее устройство «*черного ящика*», пользуясь классическими аналогиями и математическим анализом. Получение математической модели наглядно ил-

люстрирует **Рис.2.1.** Входная «*X*» и выходная «*У*» – «переменные объекта» могут быть измерены. По результатам опытов находят уравнение связи между ***X*** и У. Задача состоит в том, чтобы значение ***У′***, получаемое по математической модели, было близко к значению У на выходе объекта – системы. Когда разность результатов исследования идентификации системы Z и модели системы Z′ приближается к 0, можно говорить, что гипотеза о исследуемой системе переходит в теорию, а идентификация удалась. Применение математической модели дает возможность выбрать оптимальные параметры процесса; сократить экспериментальные исследования при разработке новых методик и технологических процессов; создать оптимальную схему автоматизации процесса с передачей функций управления ЭВМ компьютерам.

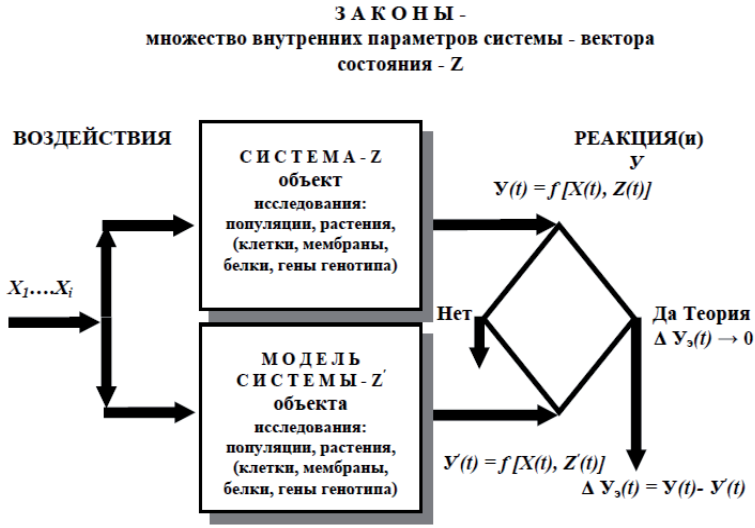


Рис. 2.1. Модель системы в виде «черного ящика».

Вместо *традиционного однофакторного эксперимента,* когда при проведении опытов поочередно варьируется только один фактор и основной заботой исследователя является фиксирование всех других факторов на неизменном уровне, рекомендуется одновременно изменять все исследуемые факторы со-

гласно определенному плану эксперимента. Этим достигается резкое сокращение объема опытов в эксперименте и получение более достоверных зависимостей, учитывающих взаимодействие факторов. Математическая теория эксперимента и ее раздел: «М*ногофакторное планирование эксперимента»* представляю собой новый подход к исследованию, в котором математическим методам отводится активная роль на всех этапах исследования: при формализации априорных сведений, перед постановкой опытов, при планировании эксперимента и обработке его результатов.

Многофакторное планирование эксперимента.

Многофакторное планирование эксперимента дает исследователю математически обоснованную схему логических операций. Изменяются не только мировоззрение, культура и «КПД» проведения эксперимента, но и подход исследователя к эксперименту, позволяющий получить существенно новые результаты, избавить от непредвиденных ошибок, сделать эксперимент несравненно точным («КПД» – коэффициент полезного действия, т.е. эффективность эксперимента).

Известный физик, биофизик, биохимик Джон Бернал отмечал, что часто научные исследования организуются и проводятся настолько хаотично, что их «КПД» может быть оценен величиной порядка 2 – 5%, тогда как *планирование эксперимента* резко увеличивает эту цифру до 70 – 90%. Устраняется *субъективизм* в методах постановки эксперимента и обработки его результатов. Стандартные приемы постановки эксперимента и обработки результатов создают возможность получения сопоставимых результатов различными исследователями в разных научных центрах, объективно и с единых позиций оценивать результаты работы. В дальнейшем все это позволит стандартизировать методику исследования. Развитие *многофакторного планирования эксперимента* оказывает существенное влияние на учение и автоматизацию эксперимента, в том числе и на нашу разработку: компьютерного «*Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов*» *(«FLA»*) и *«Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»).* Описание *«FLA»* используется как иллюстрация исследования «Организации и структуры адаптивных свойств гомеорезов» растений (см. раздел 11).

Дедуктивная задача.

Дедуктивная задача, которую часто называют *задачей идентификации.* При этом она сводится к определению и оценке характеристик системы и на этой

основе к диагностике *адаптации,* (Растригин, 1981), а далее к классификации (см. раздел 11, 13).

На этой основе как мы уже говорили, существует множество методов, например диагностики жароустойчивости и повреждения растений и к диагностике адаптивных механизмов гомеореза микроорганизмов (см. таб.5.1.).

Дедукция необходима также для объяснения наблюдаемых явлений. Ибо, как отмечалось выше, аномальный факт получает объяснение тогда, когда отчет о его наблюдаемых характеристиках *дедуктивно* следует из новой гипотезы и независимо обоснованных начальных условий.

Без дедукции невозможны решающие предсказания, на основании результатов которых гипотеза либо принимается, либо отвергается. Все объясняемые факты тривиально подтверждают объясняющую их гипотезу, но этого подтверждения, как правило, недостаточно для уверенности в ее эмпирической надежности. Исследователь может оказаться, как это нередко бывает, предвзятым в отношении своей гипотезы и игнорировать любые контрпримеры. Для уменьшения сомнений в отношении испытываемой гипотезы, из нее дедуцируют одно или несколько предсказаний, которые относятся к фактам другого рода, чем объясняемые. Если сделанные предсказания подтвердились на опыте, то гипотеза считается подтвержденной в достаточной степени и принимается. Если же хотя бы одно из предсказаний не подтвердилось, гипотеза или отбрасывается или модифицируется для проведения дальнейших испытаний.

Особенности системного подхода заключаются в том, что при исследовании:

- *объекта как системы***,** компоненты этой системы рассматриваются не сами по себе отдельно, а с учетом их места в структуре целого;
- *систем* обязательно предполагается учет внешних условий их существования.

2.2.2. Эволюционно-синергетическая парадигма.

Создание такого подхода стало возможным на базе нового научного направления – синергетики.

Синергетика – это наука о самоорганизации систем, состоящих из множества подсистем самой различной природы.

Другое определение синергетики – кооперация, сотрудничество, взаимодействие различных элементов систем. Движение развития науки, поднятие на новый качественный уровень связывали с научно технической революцией.

2.2.3. Положения из синергетического подхода.

Сложно организованным системам нельзя навязывать пути их развития. Наоборот, следует понять, каким образом способствовать их собственным тенденциям развития. Для сложных систем существует несколько альтернативных путей развития.

Вывод: существуют такие пути развития человека и природы, которые могли бы устроить человека и не наносить вред природе.

Синергетика дает знания о том, как оперировать со сложными системами. Она позволяет раскрыть закономерности протекания быстрых, нелинейных процессов, лежащих в основе качественных преобразований системы.

Структура научного метода содержит три самостоятельных компонента:

- **концептуальный –** представления об одной из возможных форм исследуемого объекта;
- **операционный –** предписания, нормы, правила, принципы, регламентирующие познавательную деятельность субъекта;
- **логический –** правила фиксации результатов взаимодействия объекта и средств познания.

Методы эмпирического и теоретического познания.

Как мы уже говорили, методология выделяет методы эмпирического и теоретического познания (см. таб. 2.1.).

Эмпирический метод познания представляет собой специализированную форму практики, тесно связанную с экспериментом. Теоретическое познание заключается в отражении явлений и происходящих процессов внутренних связей и закономерностей, которые достигаются методами обработки данных, полученных от эмпирических знаний. На теоретическом и эмпирическом уровнях научного познания используются следующие виды научных методов. Методами, которые используются на обоих уровнях, являются:

- *Анализ* – разложение единой системы на составные части и изучение их по отдельности;
- *Синтез* – объединение в единую систему всех полученных результатов проведенного анализа, позволяющее расширить знание, сконструировать нечто новое;
- *Аналогия* – это заключение о сходстве двух предметов в каком-либо признаке на основании установленного их сходства в других признаках;

Таблица 2.1

Виды научных методов.

Научный метод	
Теоретический	Эмпирический
Теория (греч.«рассмотрение, исследование»): • система непротиворечивых, • логически взаимосвязанных утверждений, • обладающая предсказательной силой в отношении какого-либо явления.	Эксперимент (лат. experimentum - проба, опыт) в научном методе - набор действий и наблюдений, выполняемых для проверки (истинности или ложности) гипотезы или научного исследования причинных связей между феноменами. Одно из главных требований к эксперименту - его *воспроизводимость*.
Гипотеза (греч.-«основание», предположение») - недоказанное утверждение, предположение или догадка. Недоказанная или неопровергнутая гипотеза называется открытой проблемой.	Научное исследование - процесс изучения, эксперимента и проверки теории, связанный с получением научных знаний. Виды исследований: • фундаментальное предпринятое главным образом, чтобы производить новые знания независимо от перспектив применении; • прикладное.
Закон - логически или математически сформулированное утверждение, которое описывает соотношения, связи между различными научными понятиями, предложенное в качестве объяснения фактов и признанное на данном этапе научным сообществом.	Наблюдение это целенаправленный процесс восприятия предметов действительности, результаты которого фиксируются в описании. Для получения значимых результатов необходимо многократное наблюдение. Виды наблюдений: • непосредственное наблюдение, которое осуществляется без применения технических средств; • опосредованное, с использованием технических устройств.
Идеализация - создание мысленных предметов и их изменений в соответствии с требуемыми целями проводимого исследования	Измерение - это определение количественных значений, свойств объекта с использованием специальных технических устройств и выбранных единиц измерения.
Формализация – отражение полученных результатов мышления в утверждениях или точных понятиях	
Рефлексия – научная деятельность, направленная на исследование конкретных явлений и самого процесса познания	
Индукция – способ перехода знаний от отдельных элементов процесса к знанию общего процесса	
Дедукция – стремление познания от абстрактного к конкретному, т.е. переход от общих закономерностей к фактическому их проявлению	
Абстрагирование - отвлечение в процессе познания от некоторых свойств объекта с целью углубленного исследования одной определенной его стороны (результат абстрагирования - абстрактные понятия, такие, как цвет, кривизна, красота и т.д.)	

- *Моделирование* – это изучение объекта посредством моделей с переносом полученных знаний на оригинал.

Моделирование подразделяют на:

- *Моделирование* – это изучение объекта посредством моделей с переносом полученных знаний на оригинал.

Моделирование подразделяют на:

- *предметное* - создание моделей уменьшенных копий с определёнными дублирующими оригинальными свойствами;
- *мысленное* - с использованием мысленных образов;
- *математическое* - замена реальной системы на абстрактную, в результате чего задача превращается в математическую, поскольку состоит из набора

конкретных математических объектов. Знаковое или символическое обозначение представляет собой использование формул, чертежей.

- *компьютерное* - моделью является компьютерная программа.

В основе методов познания лежит единство его эмпирической и теоретической сторон. Они взаимосвязаны и обусловливают друг друга. Их разрыв или преимущественное развитие одной за счет другой, закрывает путь к правильному познанию природы - теория становится беспредметной, а опыт – слепым.

3.0.Схема научного исследования.

В биологических, как и в других науках, экспериментально решаются в основном частные задачи.

Так, например: в физиологии, селекции и генетике растений исследуются/диагностируются свойства растений: устойчивость или степень повреждения при воздействии факторов внешней среды (жароустойчивость, засухоустойчивость, морозоустойчивость, теневыносливость, устойчивость к заболеваниям и т.д.) эмпирической и теоретической сторон. Они взаимосвязаны и обусловливают друг друга. Их разрыв или преимущественное развитие одной за счет другой закрывает путь к правильному познанию природы. Теория становится беспредметной, а опыт – слепым.

Для выведения высокоценных и высокопродуктивных сортов сельскохозяйственных культур, оценки действия гербицидов, дефолиантов и активности антибиотиков и ростовых веществ необходимо иметь методы выявления - адаптивных форм растений к факторам окружающей среды и тест - объектов.

Для целей биотестирования исследуется опосредованное свойство реагирования биологических *индикаторов выявлять различные загрязнения*: при техногенных катастрофах (англ. Industrial disaster) радиологическое (например: авария на Чернобыльской АЭС, Россия), авария на АЭС в Фукусиме (Япония) и др.) или химическое загрязнения (например: авария в июле 2000 года в Бразилии в результате катастрофы на нефтеперерабатывающем заводе «Петробрас» и др.), т.е. задачи прикладной науки конкретны и таких задач две.

Первая задача - характеризовать явление, процесс с количественной стороны, например: степень повреждения объекта, по которому судят об исследуемом процессе. Количественные связи, соотношения между изучаемыми явлениями обычно выражаются формулами, графиками, таблицами. К сожалению, классические методы очень трудоемки, малонадежны, не экспрессивны.

Вторая задача - характеризовать явление, процесс не только с количественной, но и с качественной стороны. При этом требуется выявить и объяснить причины, порождающие установившийся механизм действия/воздействия или иные связи. Точнее сказать, установить сущность явлений или процесса.

В настоящее время наука направляет прогресс и управляет им. Для этого требуются методы, основанные на новых биофизических принципах, которые позволяют надежно, точно и быстро решать поставленные задачи.

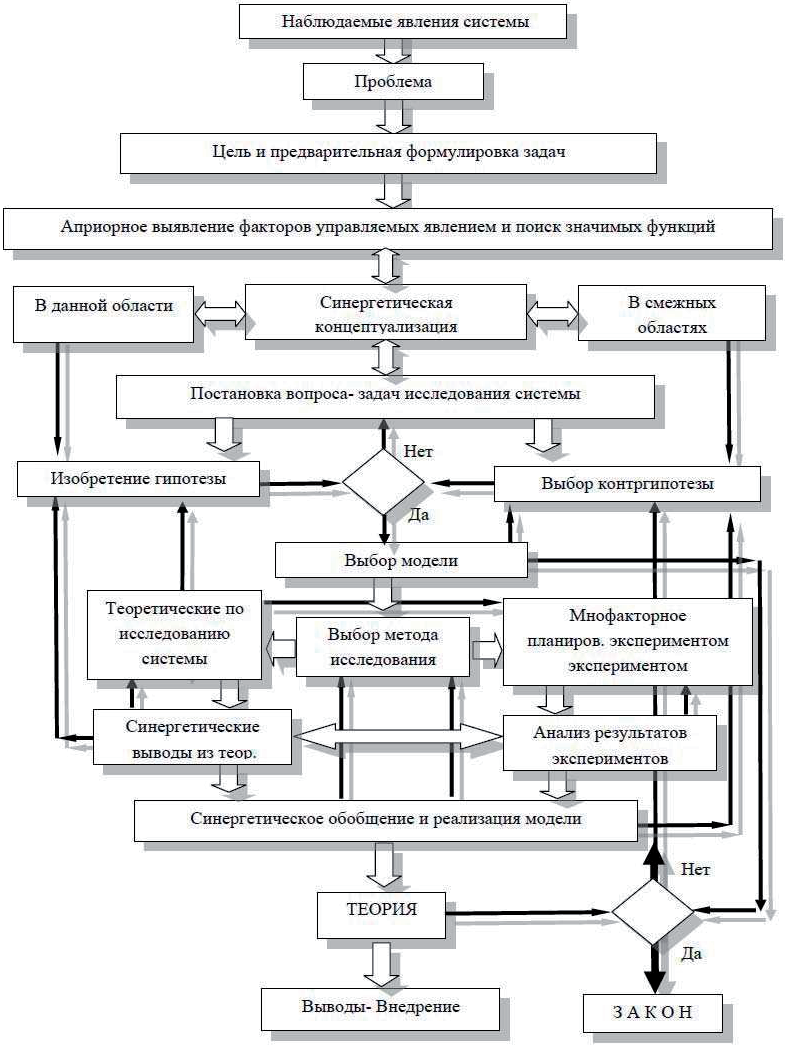


Рис. 3.1. Схема этапов научного исследования.

Следует подчеркнуть, что из двух путей решения задач второй, устанавливающий сущность явления, наиболее плодотворен. Но человек должен принимать решение в каждый конкретный момент, часто не располагая качественными связями.

Поэтому в науке и наших конкретных примерах (диагностики устойчивости растений, биотестирования, оценки активности антибиотиков и ростовых веществ) устанавливаются количественные взаимосвязи на основе многофакторного эксперимента при поиске оптимальных условий.

Решается четвертая задача по Триммеру, т.е. дедукционная (см. раздел. 1.0.). Требуется распознать систему, именно ее место в ряду той или иной устойчивости растений или степень повреждения биотеста, по которому судят о степени техногенного загрязнения или степени активности антибиотика или гербицида.

В наше время в науке широко практикуются всевозможные *формализации.* Естественно, возникает желание выработать общую схему исследования, например: диагностики устойчивости растений, биотестирования, оценки активности антибиотиков и ростовых веществ.

Это позволило бы ускорить научный поиск, повысить его точность, сократить продолжительность и углубить исследования.

К сожалению, к той или иной схеме каждый исследователь идет самостоятельно, так как в литературе пока отсутствует изложение подобных схем, алгоритмов, но тенденция имеется.

Разумеется, единой схемы исследования для всех случаев создать, вероятно, пока еще невозможно, но, по видимому, схема исследования, предложенная нами (*Рис. 3.2.*)**,** поможет начинающему исследователю почерпнуть новое, сэкономить время, предостережет его от многих ошибок.

3.1.Наблюдаемые явления.

Исследование начинается тогда, когда экспериментатор располагает внешне наблюдаемыми явлениями.

Любое научное исследование проводится для того, чтобы преодолеть трудности в процессе познания новых явлений, объяснить ранее неизвестные факты или выявить неполноту старых способов объяснения известных фактов (см. *Рис. 3.1*.). *Проблема* возникает тогда, когда старое знание уже обнаружило

свою несостоятельность, а новое еще не приняло развитой формы, как, например, в разделе 10.

3.2.Проблема в науке и практике.

Проблема в науке - это противоречивая ситуация, требующая своего разрешения. Такая ситуация чаще всего возникает в результате открытия новых фактов, которые не укладываются в рамки прежних теоретических представлений. Правильная постановка и ясная формулировка новых проблем имеют первостепенное значение. Они, если не целиком, то в очень большой степени, определяют стратегию исследования вообще и направление научного поиска в особенности. Не случайно принято считать, что сформулировать научную проблему - значит показать умение отделить главное от второстепенного, выяснить то, что уже известно и что пока неизвестно науке о предмете исследования.

Проблема - это реальное противоречие, требующее своего разрешения, и принимается как категория, означающая нечто неизвестное в науке, которое предстоит открыть, доказать. Определить научную проблему исследования не всегда простая задача. Очень важно обдуманно подходить к формулировке темы исследования, чтобы заявленная тема действительно отражала существующую проблему.

Так, на основании анализа выполняемой работы, выявляются решения частных *подпроблем*, например: *высокая трудоемкость, низкая точность, высокая энергоемкость, большая длительность* диагностики (классической) исследования явления устойчивости растений, биотестирования, оценки активности антибиотиков и ростовых веществ, что существенно влияет на классификационное правило. Все эти *подпроблемы* связаны с центральной проблемой – *проблемой организации эксперимента*. Возможно, здесь может помочь личная интуиция исследователя - экспериментатора, или же информация о проблеме может быть почерпнута и из других источников. Все это предшествует исследованию. Отталкиваясь от наблюдаемого явления, исследователь стремится совершенствовать тот или иной процесс, например: диагностику устойчивости растений, биотестирование радиоактивных и химических веществ, оценивать активность антибиотиков, ростовых веществ и т.д.

Исследование может проводиться на основе глубокого анализа различной специальной информации, частных лабораторий, общие задачи могут быть поставлены перед исследователем академией, министерством и даже правитель-

ством, например, специальные постановления. Наблюдаемые явления могут вызываться многими причинами: появлением новых идей, теорий, методов диагностики, приборов, новых подходов, в частности, синергетических междисциплинарных *гипотез* (*контргипотез*), сочетающих знания физиологии растений, микробиологии водорослей, оптики, электровакуумных приборов, электроники, вычислительной техники, программирования и математики, и, конечно, теории планирования многофакторного эксперимента. И все это для того, чтобы познать существо явления, установить его внутренние связи, чтобы наметить новые, неизвестные еще пути их решения.

Признание факта существования цели.

Это положение может показаться довольно тривиальным, но на практике часто бывает непросто понять, что существует проблема, требующая экспериментальных исследований, и выработать ясную и общепринятую формулировку этой проблемы. Необходимо уточнить все представления о целях эксперимента. Ясная формулировка цели во многих случаях оказывается существенной для ее достижения и лучшего понимания явлений. На основании учета выполненной работы формируются различные проблемы. Возможны личные наблюдения исследователя, но информация может быть почерпнута и из других источников.

Все это предшествует исследованию. Отталкиваясь от наблюдаемого явления, экспериментатор стремится совершенствовать тот или иной процесс, технологию, диагностику с тем, чтобы повысить эффективность исследования, практических действий или отдельных его звеньев. На основе глубокого анализа состояния проблем биологии и медицины общие задачи могут быть поставлены заказчиком и настоящей действительностью. Проблемы могут вызываться многими причинами. Так, различный возраст растений, условия их выращивания, а так же замедление или активация роста микроводорослей, потеря их активности или вымирание и т.д., могут быть обусловлены действием нескольких факторов и их взаимодействием. Конкретно, рост и существование тестируемых растений может происходить в условиях адаптивности и оптимальности по многим причинам. Свой вклад вносит техника эксперимента: ее стабильность, метрологические качества, общая (алгоритмитчная - программная) настройка аппаратуры, совместимость работы узлов интерфейса и компьютера и многое другое. Перед исследователем стоит цель *познать существо явления*. Опираясь на данные наблюдения, исследователь формулирует гипоте-

зу, цель, задачи (бывают случаи и предварительное название темы исследования).

Цель исследования должна быть конкретной.

Безусловно, цель должна быть конкретной т.е. *создание гипотезы*, *модели, метода диагностики, теории, закона*. Перечислять в этой формулировке все цели и показатели нет необходимости. Когда улучшается один показатель, которому отдается предпочтение, только его и указывают. Цель исследования так же может сводиться к улучшению классификационных качеств разрабатываемых методов: диагностики устойчивости растений, биотестирования, оценки активности антибиотиков, ростовых веществ. Цель исследования должна отвечать определенным требованиям, например, с точки зрения термодинамических свойств: адаптивности и оптимальности - либо классификационные критерии качества исследуемых объектов будут разные, а разнообразные методы диагностики устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды, биотестирования, оценка активности антибиотиков, ростовых веществ будут давать не просто большую погрешность, а неверные результаты!

Актуальность цели научного исследования.

Тема цели, как правило, должна быть одна, но может быть и двояка, например: разрабатываемый метод диагностики сможет, по-видимому, так же оценивать свежесть морепродуктов, активность антибиотиков или антиоксидантов и т.д. Актуальность цели должна заключаться в решении жизненно важных вопросов, диктуемых прогрессом, жизнью, практической необходимостью сегодняшнего или завтрашнего дня; совпадать с основными направлениями научно – практического прогресса в биологии и медицине, являясь составной его частью; быть в принципе достижимой; с высоким экономическим, эргономическим, экологическим, социальным или другим эффектом.

3.3.Концептуализация – изучение состояния вопроса.

Выбрав тему, исследователь знакомится с тем, что известно о ней в изучаемой области знаний и в смежных областях. Собираются, изучаются, анализируются известные данные, формируются гипотезы, методы исследования (методы совершенствуются, появляются новые), объекты, использованные при исследовании предмета (появились новые объекты, принципиально отличающиеся от старых и т. д.), обобщается и анализируется история исследования предмета, позволяющая охватить его в развитии.

Все это делается, прежде всего, для того, чтобы предотвратить «изобретение велосипеда». Знакомство с предметом исключает поспешные выводы и неправильные заключения. Часто все оказывается не так просто или не так сложно, как это кажется на первый взгляд.

Знание истории предмета необходимо - оно страхует от дублирования и давно раскритикованных ошибок, а главное, показывает общие тенденции его развития. Информация о состоянии вопроса в смежных областях позволяет узнать более общие (синергетические – междисциплинарные) принципы и методы исследования/диагностики и оценки, которые могут быть основанием для создания более совершенных методов, чем используемые в изучаемой области.

Источники информации: патентная и научная литература, монографии, статьи, журналы, отчеты научно - исследовательских учреждений и др.; практика или личные наблюдения; личные контакты со специалистами, учеными; материалы международных симпозиумов, конгрессов, сообщения в интернете.

По некоторым данным, исследователь не менее четверти информации черпает из непосредственных контактов со специалистами. Следует стремиться поддерживать старые связи и устанавливать новые на конференциях, при личных встречах.

К таким контактам нужно готовиться! Разговор на интересующую тему должен вести и уметь это делать заинтересованный исследователь. С развитием интернета осведомленность научного сотрудника резко повысилась в связи с использованием новых технологий «круглого стола» через Skype.

Литературный обзор, реферат и патентный отчет.

Обязательны в каждом исследовании литературный обзор, реферат и патентный отчет, где в письменной форме излагаются результаты ознакомления с предметом. Отметим, в этом обзоре ссылки на литературные источники и патентная информация обязательны, свои наблюдения допустимы, но результаты личных контактов не приводятся.

Последние важны для понимания предмета, формирования гипотезы/контргипотезы, определения направления поиска, расширения своего научного кругозора. И очень часто для приобретения уверенности в правильном выборе направления исследования и своих действий, что является важнейшим стимулирующим фактором творческого процесса.

Ознакомившись с состоянием дел, исследователь обязан задать себе вопрос (контргипотеза): «Почему надо проводить исследования и нельзя воспользо-

ваться известными положениями других исследователей»? На то есть ряд причин.

Причины, вызывающие необходимость исследования.

Причины, вызывающие необходимость исследования: появление новых объектов для изучения, технологий, способов. Это бывает чаще всего связано с тем, что:

- исследования проведены не в полном объеме, не охватывают все элементы, влияющие на изучаемый показатель;
- при ранее проведенном исследовании допущены принципиальные исходные погрешности, связанные с методическими ошибками: высокая трудоемкость и энергоемкость, низкая точность, большая длительность;
- имеются противоречия в литературе или между результатами исследований и практикой;
- отсутствуют общие методы решения вопроса;
- не существует требуемой испытательной аппаратуры.

Положим, на вопрос об обоснованности исследования дан положительный ответ. Задается еще один вопрос: «Если устранить «белые пятна» - проблемы, противоречия, использовать новые методы и т. д., то будет ли достигнута поставленная цель?». При положительном ответе ведут дальнейшие поиски, т.е. формируется правильная гипотеза и отвергается контргипотеза. После изучения состояния вопроса требуется уточнить тему. Необходимость изучения той или иной темы должна быть аргументирована. Она должна быть актуальной, конкретной, нацеленной на новое решение.

3.4.Постановка вопроса и задачи научного исследования.

Общие положения.

Как уже отмечалось, исследователь наблюдает внешние проявления взаимосвязей, другими словами - внешние факторы, «лежащие» на поверхности явлений. Эти внешние проявления специалист легко замечает. К ранее приведенным примерам можно добавить и другие. При разработке нового метода, основанного на биофизических принципах[8], диагностики устойчивости или степени

[8] Например, метод регистрации замедленной флуоресценции фотосинтезирующих объектов – листа растения.

повреждения при воздействии факторов внешней среды[9], возникают вопросы: что нужно сделать, на что воздействовать или, другими словами, как управлять диагностикой, стоящей перед исследователем. Факторы, влияющие на процесс диагностики, - это результат действующих факторов, из которых одни оказывают небольшое влияние, другие - большее и, наконец, третьи - существенное.

Исследователю важно выявить наиболее существенные факторы, ибо они, в основном, определяют поведение того или иного объекта, обеспечивают те или иные количественные характеристики и показатели, т.е. внешние проявления, а затем установить взаимосвязь между этими факторами и наблюдаемыми характеристиками. Исследователь на основании интуиции, выработанной предшествующими наблюдениями, изучением других, в какой-то мере аналогичных явлений, делает предположение о развитии явления, о характере взаимосвязей. Но такой подход предполагает большой опыт и значительную эрудицию в исследованиях. Начинающий исследователь обычно приступает к изучению литературы, посвященной предварительно сформулированной теме, не только по основному вопросу, но и смежным областям. Это позволяет ему выявить, что уже было изучено, как изучено, что было упущено и почему? Далее он уточняет название темы и определяет предмет исследования.

3.5.Предмет исследования.

Задача исследования заключается, прежде всего, в обнаружении наиболее существенных факторов, определяющих поведение объекта, поиске связей, зависимостей между этими факторами и внешне наблюдаемыми проявлениями наблюдаемыми характеристиками. Определить между, чем следует устанавливать количественную или качественную взаимосвязь - это значит определить *предмет исследования*. Другими словами, предмет исследования есть сущность явления и количественные взаимосвязи, отношение между свойствами вещей - то, на что направлена его научная мысль. Предмет исследования предполагает выявление качественной или количественной взаимосвязи, характеризующей взаимное отношение между свойствами изучаемого объекта, взаимосвязь между воздействием и ответной реакцией и т. д. Выявление предмета исследования - очень важный шаг. Часто от того насколько правильно определен предмет ис-

[9] К внешним факторам можно отнести: воздействия высокой и низкой температуры, низкой освещенности, патогенной микрофлоры, радиологического и химического загрязнения, а так же оценку активности антибиотиков и ростовых веществ с помощью биотестов

следования зависит успех исследования. При упрощенном взгляде определение предмета исследования не представляет трудности, но по сути установить предмет исследования - задача сложная и архисложная для начинающего экспериментатора. Это требует консультации коллег по работе и, конечно, серьезного и продуманного отношения к проблеме, так как одновременно с предметом исследования определяется и объект исследования.

3.6.Объект исследования.

Объект исследования можно определить как законченный элемент, выполняющий определенные функции, например: метод диагностики устойчивости растений, биотестирование радиоактивных и химических веществ, оценка активности антибиотиков и ростовых веществ. Часто можно услышать, что чему должно предшествовать: выбор предмета исследования выбору объекта или наоборот. Однозначно сказать нельзя, но можно сформулировать требования предъявляемые к ним, включающие в себя следующее:

- *Перспективность*. Объект применяется не только в то время, когда проводятся исследования, но и будет применяться в ближайшем будущем. В противном случае полученные закономерности не будут использованы.
- *Доступность*. Под этим понимается, что объект доступен для проведения эксперимента, т.е. не требует дорогостоящего оборудования для снятия характеристик, имеется возможность установить испытательную аппаратуру и легко обслуживать ее и т.д.
- *Типичность*, т. е. объект должен обладать свойствами, характеристиками, часто встречающимися среди других и иметь достаточно широкое распространение.

Постановка вопроса включает :

- анализ априори (известного) о предполагаемом предмете исследования;
- выявление причин – проблем, определяющих неполноту знаний о нем;
- рассмотрение всего с позиции достижения цели.

Это обобщенные выводы - вопросы о предмете, в которых обосновывается необходимость выполнения исследования. Следует подчеркнуть, что этот этап - один из самых трудных и ответственных в организации подготовки экспериментальной работы. «Наука начинается с вопросов» сказал выдающийся теоретик эксперимента Налимов В.В. (Налимов, 1981). В этом, по видимому, заключается «искусство» экспериментатора! Сформулировать вопрос для решения

проблемы, т. е. обосновать и конкретизировать предмет исследования, а затем поставить задачи намного труднее, чем решить их, подчеркивали многие корифеи науки (Бернал,1953). Решение сформулированного вопроса часто является «делом техники», (Бернал,1953), потому что существуют общие методы исследования. Можно привести хороший пример известного физика Д. Бернала, который мог ставить вопросы - будущие проблемы в теории кристаллографии и рентгеноструктурного анализа. Он по сути является отцом молекулярной биологии, внесший огромный вклад в расшифровку пространственной структуры ДНК и белков. Поэтом необходимо использовать опыт предшественников, других научно-исследовательских институтов и «школ», а главное, после этого этапа становится известно, что делать? Прежде всего, необходимо конкретизировать цель исследования:

- *автоматизация* процесса экспериментальной установки для диагностики устойчивости растений с возможностью проведения многофакторного эксперимента;
- *биотестирование радиоактивных и химических веществ загрязненных территорий;*
- *оценка активности антибиотиков и ростовых веществ;*
- *повышение достоверности*, чувствительности, экспрессивности – производительности диагностики ее с высокими метрологическими качествами.

Затем *конкретизир*уется предмет исследования. Определяют, какие явления, процессы, зависимости оно должно охватить. Это перечень тех конкретных взаимосвязей, которые нужно установить и сущность которых нужно раскрыть,

чтобы на их основе сделать практические выводы. Например: Проверка гипотезы: «Использование метода замедленной флуоресценции в автоматизированном процессе для диагностики устойчивости растений; биотестирования радиоактивных и химических веществ; оценки активности антибиотиков и ростовых веществ с возможностью проведения многофакторного эксперимента; повышения достоверности, чувствительности, экспрессивности - производительности, диагностики с высокими метрологическими качествами за счет использования микропроцессоров». Обратим внимание, что эти задачи отличаются от общих задач науки только конкретностью зависимостей и путей реализации результата.

Требования к задачам исследования.

Требования к задачам исследования:

- Лаконичность (конкретность).
- Понимание предмета исследования.
- Ограничение количества задач свидетельствует о неконкретности темы. Авторы книги считают, что не только «…ограничение количества задач свидетельствует о неконкретности темы», но и множество задач, так же может характеризовать ее неконкретность темы исследования.
- Возможность реализации полученных решений.

Поэтому, для анализа известных фактов, выявления предмета исследования и постановки вопроса подготавливают - оформляют, этот материал в виде литературного обзора, реферата, электронной презентации для обсуждения с коллегами по работе и т.д.. Следует подчеркнуть, что экспериментатор - исследователь пишет его прежде всего для установленной организации эксперимента для протокола – лабораторного журнала, т.е. выполнения своих должностных обязанностей.

Лабораторный журнал – является юридическим документом, который показывает объем плановой работы сотрудника, расход химреактивов, амортизацию приборов, холодильников, расход электроэнергии и многое другое. Это письменное изложение в документации позволяет показать уровень понимания предмета, правильность направлений научного поиска данного научного сотрудника. Обзор, реферат, презентация из лабораторного журнала позволяет другим исследователям ознакомиться с состоянием вопроса и оценить, точнее, высказаться об обоснованности направлений научного поиска.

Основные требования к изложению:

- полнота сведений о предмете;
- систематичность изложения с группировкой материала по отдельным вопросам и анализом его, а не изложение содержания отдельных литературных источников;
- конкретность и ясность.

Более детально с планом изложения можно ознакомиться в разделе 5.3 описание первичной документации.

3.7.Гипотеза.

Гипотеза, ее *ц*ели и задачи.

Общие положения. Место гипотезы показано на *Рис. 3.3*. Она предшествует «выбору наиболее общих методов исследования». Исследователь - эксперимен-

татор, как правило, не может наблюдать явления, процессы, происходящие внутри изучаемого объекта. Он только может наблюдать и фиксировать внешние проявления внутренних взаимодействий и взаимосвязей. До последнего времени непосредственное наблюдение было скрыто от экспериментатора. Но прогресс в методах не разрушающего контроля, его автоматизации и компьютеризированной организации уже многофакторного планирования эксперимента «открывает глаза» и «развязывает руки» экспериментатору. В настоящее время существуют и разрабатываются новые методы, позволяющие «заглянуть» ***in vivo*** во внутрь исследуемой биологической системы, например: методы компьютерной ядерно-магнитной томографии, магнитно - резонансной силовой микроскопии и д.р. Вместе с этим перед исследователем стоит задача познать, от чего, от каких факторов зависит, т.е. чем определяются наблюдаемые *явления*. Требуется познать сущность явления. Для этого он должен предположить, как протекает процесс внутри объекта исследования, и проверить правильность этих предположений. Следовательно, для этого высказывают *гипотезу*, которую экспериментально проверяют.

Гипотеза – греч. – основа, предположение - научное предположение, при котором на основе ряда фактов делается вывод о существовании объекта, связи или иной причины явления, причем этот вывод нельзя считать вполне доказанным (Философский словарь, 1963).

На первых этапах исследования предположение, которое служит условным допущением, позволяющим сгруппировать результаты наблюдений и дать им первоначальное объяснение называют «рабочей гипотезой». В научном познании гипотеза - особый прием выдвижения и доказательства предположения о том, что происходит за пределами эксперимента – здесь применим термин «научное предположение». Безусловно, гипотеза должна отвечать определенным требованиям (Encyclopedia Americana, 1944; Oxfod English Dictionary, 1958).

Требования к научным гипотезам включают следующее:

- *Согласованность* со всем накопленным научным опытом для объяснения факта, для которого выдвигается гипотеза. Необходимо отметить, что «факт» это объективное событие, наблюдаемое явление. Факты порой выдвигают и мнимые, т.е. не научные. Например: бытовало в биологии в России мнение и даже приводились данные об отсутствии наследственности и изменчивости, т.е. отрицалась генетика, но это было явно субъективно, ошибочно, подтасовано. Физиолог К. А. Тимирязев, придавая динамическую роль гипотезе, отмечал:

«… что правильно было бы сказать, что гипотеза должна быть в согласии со всеми известными фактами, и позволяет обнаружить несостоятельность того, что неверно признается за факты и находится в противоречии с ней».

- *Информативность гипотезы* - способность объяснять широкий круг явлений. Часто такую гипотезу называют универсальной и поэтому она более ценна для науки.
- *Экспериментальная проверяемость гипотезы и модели*. Наука строится на принципиально проверяемых гипотезах, но есть и исключения. Невозможность проверить гипотезу на данном отрезке времени, хотя это не означает, что она непроверяема.
- *Согласованность гипотезы* с известными законами природы, теориями, парадигмами.
- Простота гипотезы определяет малые исходные допущений, выведение следствий из гипотез желательно прямым путем при использовании простых алгоритмов для ее проверки. Простота гипотезы во многих случаях вытекает из таланта экспериментатора, позволяющего объективно оценить структуры мира, единства различных явлений, подчинения их некоторым общим законам. При этом простота гипотезы так же оценивается с общепринятой научной точки зрения, а не с точки зрения вычислений. В простой гипотезе вычисления, как правило, могут быть очень сложными. Например: принцип эквивалентности массы и энергии был впервые сформулирован в своей окончательной форме при построении специальной теории относительности Альбертом Эйнштейном. Им было показано, что для свободно движущейся частицы, а также свободного тела и вообще любой замкнутой системы частиц, характерны следующие соотношения:

$$E^2 - \overrightarrow{p^2}c^2 = m^2c^4$$

$$\overrightarrow{p} = \frac{E\,\vec{v}}{c^2}$$

где E, $\overrightarrow{p}$, $\vec{v}$, m - энергия, импульс, скорость и инвариантная масса системы или частицы, соответственно, c - скорость света в вакууме.

В некоторых случаях вместо понятия «простота» употребляется термин «изящность» гипотезы. *логичность гипотезы*. В связи с тем, что *гипотеза* -

главный методологический инструмент исследования, она организует процесс научного поиска, определяет его логику, путь разработки.

Гипотеза придает исследованию целенаправленность, указывая кротчайший путь к достижению цели. Поэтому наука единодушна в необходимости *гипотезы*. В зависимости от того, что ищет исследователь, имея только предварительное решение - гипотеза в данном случае и является таким решением, можно решить заданную задачу. При ошибочно выдвинутой гипотезе в процессе исследования, по мере накопления экспериментальной информации, она безусловно улучшится или в крайнем случае, будет заменена новой, более совершенной. Бывают случаи, когда гипотеза рождается из идеи, при еще не выбранном *предмет* и *объекте* исследования.

3.8.Контргипотеза.

Появление гипотез может показаться непредсказуемо в процессе экспериментальных исследований, поэтому одни гипотезы отвергаются и выдвигаются новые. Как показывает практика, нужны *контргипотезы*, так как исследователь – экспериментатор, может привязаться к одной «как единственному первенцу» потеряв при этом непредвзятость. «…*errare humanumest*… лат.-…человеку свойственно ошибаться…».

Для создания правильных гипотез трудно предоставить готовые рецепты и поэтому только противопоставление (формулировка контргипотезы) может дать определенную оценку, конечно, проверенную в смежных областях научных знаний. Но контргипотизой могут быть и старые знания, которые с успехом служили до новой гипотезы (Словарь иностранных слов. 1964)

Интуиция и гипотеза.

Благодаря *интуиции* ученые выдвигают те или иные гипотезы (контргипотезы). Интуитивные знания преобразуются в гипотезу. Но как это делается, какие функции выполняет интуиция?

В науке до сих пор не только однозначного, но и достаточно ясного ответа нет. Часто, а может быть и всегда в основе гипотезы лежит аналогия и, конечно, научная интуиция.

Формы гипотез.

Имеется три формы гипотез, которые используются при исследованиях:

1. *Как предположение о сущности явления*, о том, что изучаемый процесс можно *свести к известному в той или иной теории, процессу*?

Например: процесс фотосинтеза в растении является практически основным источником энергии АТФ. Метод замедленной флуоресценции («ЗФ») по сути дела является чутким измерителем скорости синтеза АТФ. Поэтому устойчивость к факторам внешней среды механизма первичных процессов фотосинтеза растений, определяемого по регистрации «ЗФ», может являться основным свойством их генотипа и стать диагностическим признаком при разработке методов диагностики устойчивости растений (жаро-, морозо-, соле-, тене-, газо-, фитоустойчивости), биотестирования радиоактивных и химических веществ; оценки активности антибиотиков и ростовых веществ.

2. *Как предположение о количественной связи между показателями и параметрами*. Например: интенсивность L замедленной флуоресценции («ЗФ») пропорциональна вероятности нахождения реакционных центров в состоянии P+QA-:

$$L = Nk^{*}\varphi \left[P^{+} Q_{A}^{-} \right] \qquad \textbf{(3.1)}$$

где N – концентрация реакционных центров, k^*- константа скорости излучения «ЗФ»; φ – квантовый выход изучаемой дезактивации состояния P^*, квадратные скобки характеризуют вероятность данного состояния, Q_A - открытые реакционный центры, когда эффективно происходит отток электронов.

3. *Предположение о факторах (причинах), определяющих явление – процесс.* Например, при диагностике устойчивости[10] растений (жаро-, морозо-, соле-, тене-, газо-, фитоустойчивости), биотестирования радиоактивных и химических веществ; оценки активности антибиотиков и ростовых веществ. Физику излучения процесса можно условно свести к скорости рекомендации, ведущей к образованию «ЗФ»:

$$L = Nk^{*}\varphi \left[P^{+} Q_{A}^{-} \right] G \exp\left(-\frac{\Delta E - F\psi M}{RT} \right) \qquad \textbf{(3.2)}$$

где N – концентрация реакционных центров, k^*- константа скорости изучения «ЗФ»; φ – квантовый выход изучаемой дезактивации состояния P^*, квадратные скобки характеризуют вероятность данного состояния, Q_A - открытые реакционные центры, когда эффективно происходит отток электронов, G – собственный индивидуальный компонент, определяющий то или иное свойство генотипа, ΔE – энергия активации в отсутствие поля, F- число Фарадея.

[10] Адаптивности.

Гипотезу следует четко формулировать и излагать в письменном виде в лабораторном журнале или протоколе - программе автоматизированного эксперимента (Жданов, 1973). Это позволяет использовать большие возможности программного обеспечения компьютера, применяя большое множество пакетов статистической обработки результатов эксперимента. Весьма полезно представлять ее в виде классификаций, предполагаемого графика, зависимости или тенденции развития явления. В этом случае гипотезу легче подвергнуть анализу и критике.

3.9.Превращение гипотезы в теорию.

С накоплением доказательной базы предполагаемой сущности явления, гипотеза переходит в теорию. Основные пути превращения:

- из всякой гипотезы вытекают те или иные следствия;
- путем эксперимента;
- основании опыта исследователь располагает фактами;
- сопоставление фактов со следствием.

Существует множество способов проверки гипотезы, но наиболее эффективный путь заключается в предсказаний неизвестных свойств, характеристик исследуемых объектов на основе предположения. Периодический закон элементов, который выдвинул Д. И. Менделеева оставался гипотезой, а не законом, хотя выводы и следствие демонстрировали очень много фактов совпадения. Был предсказан элемент ***гелий*** и его место в таблице, что совпало с его характеристиками. Это открытие - предсказание дало возможность гипотетический периодический закон элементов Д. И. Менделееву, перевести в разряд теории.

Не заурядность этого случая заключалась в том, что предсказывает обычно один экспериментатор, а открывает другой. Безусловно, высокая объективность определила эффективность этого пути. При разработке методов диагностики устойчивости растений, биотестирования радиоактивных и химических веществ, оценки активности антибиотиков и ростовых веществ чаще всего поступают так. Высказывают предположение о том, к какому виду взаимодействия относится изучаемый вопрос. Например: при изучении первичных процессов фотосинтеза с помощью регистрации «ЗФ» для целей диагностики, разработки методов устойчивости предполагают дезактивацию «ЗФ» под действием температуры, осмотических веществ, газов, радиоактивных излучений, химических

веществ, антибиотиков и ростовых веществ и на основании анализа делают определенные выводы, т.е., устанавливают следствия.

Затем проводят эксперимент, в результате которого накапливаются факты. Если факты достаточно близко совпадают со следствиями, то гипотеза верна и она становится теорией. Если же устанавливают количественные связи, то высказывают предположение о виде зависимости и на основании эксперимента определяют соответствующие коэффициенты в уравнениях. Сопоставляют экспериментальные графики и коэффициенты модели с теоретическими, определяя между ними меру схожести. Но если экспериментальные данные не совпадают с гипотезой или схожесть уравнений теоретических и экспериментальных низка, то гипотезу заменяют новой (Философская энциклопедия, 1970).

Выбор наиболее общего метода исследования.

Перед исследователем наступает весьма ответственный момент – проблема выбора наиболее общего метода исследования, в корне определяющего успех исследования. Вследствие этого необходимо, прежде всего, ознакомиться с основными методами исследования. Из-за того, что этих методов много, начинающий исследователь не может детально изучить их все и поэтому эту работу рекомендуется разделить на несколько этапов:

- Принципиальное ознакомление с методами на основании аналогии поставленной задаче с уже решенными тем или иным методом и выбор из них наиболее подходящих.
- Обстоятельное изучение метода, т. е. изучаются не только основные принципы метода, но и техника, технология его применения, а также его эффективность (точность, производительность, трудоемкость и т.д).

В приведенном рис. 2.1 применяется один из трех общих методов:

- теоретические исследования с сопоставлением с результатами эксперимента;
- проведение обычного однофакторного эксперимента;
- эксперимент, (организованный особым оптимальным нетрадиционным образом) - многофакторный эксперимент.

Безусловно, *эксперимент* занимает центральное место в науке. И диллема выбора типа эксперимента всегда злободневна.

Однако возникает вопрос: «Насколько *эффективно* он проводится?». Как мы выше говорили, известный физик Джон Бернал, например, отмечал, что научные исследования (однофакторные эксперименты) организуются и проводятся

настолько хаотично, что коэффициент полезного действия может быть оценен величиной порядка 2%.

Для того, чтобы повысить эффективность исследований, требуется нечто новое, например: построение математической теории планирования многофакторного эксперимента, структура которой будет изложена ниже. Поэтому выбор, конечно же, за многофакторным экспериментом, который с успехом используется в разработанных нами компьютеризированных приборах: «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата (*«FLA»)*» и в «Высокочувствительном полифункциональном фотометрическом детекторе (*«ВПФД»*)».

3.10. **Программа** исследования.

Организация исследования включает перечень задач являющихся основной частью общей программы любого исследования.

Программа исследования включает в себя следующие вопросы: задачи исследования, перечень объектов, характеристики условий. Как правило, она входит в структуру лабораторного журнала (см. раздел 4.2), где указывается и объем работ, потребность в оборудовании и т. д.

Однако на данном этапе, вряд ли можно сделать это достаточно точно, но определить их хотя бы ориентировочно не мешает. Судя по многим исследованиям, обычно этого не делают, а все эти данные сводят в лабораторном журнале, который затем в отчете об исследовании может и не фигурировать. Часто в отчетах общая программа не выделяется в отдельный пункт, так как предполагается, что она уже освещена в постановке вопроса, конкретизации темы и в задачах исследования. Когда известно, какие задачи решать, возникает вопрос о том, как их решать, т. е. вопрос об общей методике исследования.

3.11. Методика исследования

Методика исследования **-** совокупность способов и технологии решения задач исследования. Общая методика – организация исследования относится ко всему исследованию в целом и содержит центральные - главные способы и приемы, проходящие через все исследование и определяющие его. При каждом исследовании разрабатываются и частные методики проведения отдельных опытов, решения отдельных частных задач, необходимых для решения общих. Они разрабатываются и указываются в соответствующих частях исследования.

Отметим еще раз, что научный уровень исследования определяется не только предметом исследования, но и его методом.

Великий ученый И. П. Павлов, например, говорил, что *«...все дело в хорошем методе... при плохом методе и гениальный человек будет работать впустую и не получит ценных, точных данных!»*.

Разработку общей методики можно представить следующим образом:

- Делают заключение о теоретическом или экспериментальном направлении исследования. В области биофизики предпочитают экспериментально-теоретические исследования, хотя часто, к сожалению, по объективным причинам (сложность явлений, отсутствие математического аппарата) или по субъективным (слабая математическая подготовка) ограничиваются чисто экспериментальными.
- Обосновывают методы, которые будут использованы в теоретической части и в экспериментальной.
- В некоторых случаях здесь же решают вопросы частных, на первый взгляд, методик и новых методических подходов. Этим определяется ход и результат исследования в целом.

Например, решается вопрос об ***оптимальном (адаптивном)*** определении временных действий факторов в условиях проведения опытов (в основном они интересуют исследователя - биофизика).

Включение их не противоречит одному условию: они относятся к исследованию в целом, но не нашли, положим, отражения в формулировках задач исследования. Решив эти вопросы, исследователь составляет схему исследования.

Предпосылки для разработки общей методики:

- задачи экспериментальных исследований;
- гипотезы определяют множество суперпозиций, в том числе методы измерений при решении поставленных задач;
- литературные данные о методах и способах теоретического и экспериментального решения подобных задач о методах, приборах, методах обработки экспериментальных данных и т. д.;
- материально-техническое обеспечение:
- наличие компьютеров,
- приборов,

- программного обеспечения позволяют моделировать процессы, выполнить обработку экспериментальных данных;
- подготовка исследователя, его субъективные предпочтения (известно, например, что Эдисон и Тесла предпочитали эксперимент теории);
- сроки исследования - короткие сроки потребуют использования экспресс методов, обеспечивающих выполнение эксперимента в эти сроки.

Основные требования к общей методике:

- решение методических вопросов следует проводить с точки зрения многофакторного планирования эксперимента;
- материально – техническое, приборное, программное обеспечение для решения в соответствие с поставленными задачам;
- простота; ясность; доступность с позиции понимания методики, аппаратуры;
- возможность использования метода, где он раньше был испытан – опробован.

Следует заметить, что использование методов многофакторного планирования, открывает новые методические горизонты в экспериментальных исследованиях (Налимов, 1981).

Теоретические исследования

при изучении конкретных и смежных вопросов (например: устойчивости растений) направлены на то, чтобы свести поставленную задачу к более общей, изученной в фундаментальных науках. Это дает возможность разработать полифункциональную автоматизированную компьютеризированную установку с специальным программным обеспечением, включающую: компьютер со специальным интерфейсом контролером к которому подключен АЦП (аналого-цифровой преобразователь), ЦАП (цифроаналоговый преобразователь), реле; прецизионно-программное устройство линейного регулирования температуры исследуемых образцов в термокамере.

В ней находится вращающаяся кассета с исследуемыми образцами.

В установке имеется осветительный блок для возбуждения замедленной флуоресценции («ЗФ») зеленых листьев растений или микроводорослей – тест объектов; оптико-механическую аппарату - фосфороскоп - устройство, позволяющее выделять и регистрировать «ЗФ»; ФЭУ - фотоэлектронный умножитель. Контроллер, так же снабжен программируемым усилителем для регистрации замедленной флуоресценции процессов фотосинтеза зеленых листьев рас-

тений или микроводорослей, по которой осуществляют диагностику устойчивости растений, биотестирование радиоактивных и химических веществ, оценку активности антибиотиков и ростовых веществ и т. д.

Данная разработка позволяет воспользоваться математическим/программным аппаратом теоретически общим для этих наук, с помощью которого осуществляется многофакторное планирование эксперимента.

Теоретические исследования не только подтверждаются экспериментом, но в значительной степени направляют его по правильному пути эксперимент, дают возможность исследователю не слепо, а сознательно выбрать наиболее существенные факторы.

Теоретическое исследование - это изобретение (абдукция) гипотезы, доведение ее до предполагаемых зависимостей, в конечном итоге до математической модели. Важный элемент теоретического исследования – конкретизация терминов и понятий. В силу разных причин и обстоятельств они по разному понимаются в различных отраслях знаний.

Можно заключить по определению теоретических разработок, что они не только являются аналитическим формульным решением вопроса, но в ряде случаев выступают и как чисто логические рассуждения. Тем не менее все они реализую следующие этапы:

- абстрактного мышления и идеализацию явления;
- выделение и рассмотрение главных факторов и взаимосвязей, а так же их антагонизм или синергизм;
- выведение общих закономерностей и игнорирование второстепенных.

*Идеализация явления***.** Является одним из важнейших шагов теоретического исследования. Способность к идеализации явления, т. е. к выявлению главного, основного звена элемента – системы (например: гомеореза), объекта исследования. Упрощение - уход хотя бы на время от второстепенных звеньев - основное качество исследователя - экспериментатора.

При теоретических разработках, с нашей точки зрения, полезен и плодотворен обобщенный системный подход по Тримеру, который мы привели ранее (см. раздел 1.3). Новейший философский словарь // Сост. и гл. н. ред. Грицанов А.А. 3-е изд., испр. - Мн.: «Книжный Дом», 2003,1280 с.

Использование *индуктивной* (от частного к общему) и *дедуктивной* (движение от общего к частному) задач помогают изучению конкретных явлений оправляющихся от общих научных положений и закономерностей. При этом ин-

дукционный и дедукционный взгляд на проблему не исключают друг друга, а только дополняют и позволяют построить математическую модель исследуемого процесса.

Таким образом, особенность идеализации заключается в применении:

- принципов строго доказательства, используемых в математике и логике;
- аргументированных выводов из ряда принятых положений.

3.12. Математическая модель.

Одним из основоположников нелинейной науки можно считать Анри Пуанкаре. На заре нашего века он высказал мысль: «В будущем удастся предсказать новые явления природы, исходя из самых общих представлений о математических моделях, описывающих изучаемые объекты». Практически сегодня мы стали свидетелями того, как это пророчество сбывается.

Можно констатировать, что в настоящее время из всех методов исследования наиболее широко в науке распространено моделирование. Модель в общих чертах похожа на объект, а деталями, они, конечно, различаются.

Идеализируя исследуемое явление, мы выделяем главные его характеристики и закладываем их в модель. Поэтому в теоретических исследованиях удобно рассматривать чаще всего математические модели.

Математическая модель - система уравнений, описывающих поведение идеализированного объекта. Она связывает между собой входные воздействия (температуру, скорость ее изменения, освещенность и т. д.), параметры объекта (различный его генотип, массу, состав популяции микроорганизмов и т. д.) и выходные показатели (интенсивность замедленной флуоресценции, ее температурные кривые, индукционные зависимости и т. д.).

Как правило (см. раздел 1.0.: «Логические задачи по Тримеру»), они связывают между собой ряд факторов, определяющих объект. Разумеется, что неидеализированный объект с его многочисленными взаимосвязями главных и второстепенных факторов представить крайне трудно, думаем вряд ли вообще возможно, поэтому наука всегда имеет дело с моделью.

Разработан ряд синергетических методов, облегчающих создание математических моделей и их анализ (биофизики, иммунологии, цитологии, термодинамики и др.). Общие математические модели с успехом используются для решения некоторых важных, часто встречающихся задач (в выше указанных науках) или соответствующих им явлений (модель системы массового обслуживания,

модель динамической системы в виде уравнений Лагранжа, модели теории катастроф, модели теории «игр» и т. п.). Разработка математической модели и ее анализ имеет несколько этапов:

- определяют задачу, которую нужно решить;
- определяют (теоретически) класс задачи;
- определяют общий метод ее решения;
- приступают к решению задачи.

Одно явления может описываться несколькими видами моделей. Поэтому вид модели зависит от следующих факторов: конкретной практической задачи, сложности описываемого явления, опыта – взглядов исследователя и т.д.

Можно выделить два подхода к составлению математической модели: *познавательный и описательный*.

Первый подход предусматривает раскрытие сущности явления.

Второй же - чисто количественные взаимосвязи, которые используются при исследовании сложных явлений.

Математические модели - познавательные и описательные, необходимо разделить: *на динамические и статистические.*

Динамические модели - это модели аппарата дифференциальных уравнений, где значения функции точно определяются значением аргументов. Эти модели, как правило, получают с использованием методов и законов классических наук, методов аналогии и линейного программирования и т.п.

Статистические модели – это модели, в основу которых положена общая теория вероятностей и ее отраслей, теория случайных функций и ее прикладной метод - статистическая динамика, статистическое моделирование, теория массового обслуживания, теория планирования эксперимента и т.п.

Динамические и статистические модели имеют широкое применение при исследованиях в области биофизики, биологии, биохимии и медицины.

Вследствие этого, все большее внимание при подготовке студентов, аспирантов уделяется *теории вероятностей.* Следует заметить, что усвоение ее затруднено, так как требует развитого *абстрактного мышления*, наличие которого, между прочим, является необходимой чертой хорошего исследователя. Безусловно, значение математической модели велико, но не следует его переоценивать.

Требования к математической модели следующие:
модель должна достаточно точно описывать объект, быть емкой - содержательной, достоверно объяснять (по возможности) множество уже известных фактов;

- предсказывать новые явления и в какой-то мере их развитие, выдвигать новые проблемы, о которых ранее не подозревали;
- модель должна быть простой, не громоздкой - доступной для понимания, изящной - иметь краткое аналитическое выражение;

Без сомнения математические модели предпочтительнее строить в виде дифференциальных, а не интегральных уравнений. В дифференциальном виде, конечно, лучше понимается сущность явления, но «право на жизнь» имеет и интегральная форма математической модели.

Отличается ли гипотеза от математической модели?

Возникает интересный и естественный вопрос: отличается ли гипотеза от математической модели? Гипотеза, как отмечалось выше, есть научное предположение, например: о сущности явления, процесса - предположение о главном. Ошибочная гипотеза заменяется новой и так до тех пор, пока не будет найдена, если правильная, то правдоподобная. В результате правильная гипотеза всегда одна. Если она представлена в математической форме (при известных входящих в константах), то становится *законом.* Тогда чем же отличается закон от математической модели? В связи свышесказанным, математических моделей, описывающих данное явление, может быть несколько и каждая из них имеет право на самостоятельное существование. При этом одна модель не исключает существование других. Математическая модель только приближается к закону, при условии «высокого качества модели», т.е. с высокой степенью точности аппроксимации - описания исследуемого явления. Известно, когда подтверждается гипотеза, то возникает новая теория, а ее совпадение с моделью рождает ***закон*.**

Значение теоретических разработок.

Теоретические разработки, как правило, позволяют объяснить сущность явления и зависимости на основании известных законов, делая возможным получить ответ на вопрос, почему это так, а не иначе.

Теоретические разработки делают более надежными научные знания. При этом исследователь, кроме всего, получает экономический выигрыш, так как получает план решения задачи с меньшими затратами труда и средств. Факты,

которые имеют к ним отношение, тоже вещь весомая, и следствия из других законов, теорий и гипотез, особенно когда они подтверждают эмпирические обобщения.

Велико значение теоретических разработок в постановке эксперимента. Подтверждая это, академик Бусленко (Бусленко, 1979), пишет: «Математическая модель становится неотъемлемым элементом исследования, без построения которой невозможно осуществить планирование эксперимента, его проведение и обработку результатов».

Следует отметить, *теория* систематизирует, объединяет знания о явлении, делает их более объективными, расширяет, углубляет и уточняет их научное знание.

К тому же, в теории как бы очищаются и исправляются отдельные гипотезы, некоторые из которых превращаются в законы. И наконец, теория способствует переходу от абстрактного или общего знания к конкретному.

4.0.Эксперимент.

Определение эксперимента.

Эксперимент - научно поставленный опыт. Научная обоснованность его постановки определяется: исследованием явлений при активном воздействии на объект с точки зрения решения задач исследования, которая определяется гипотезой или теорией и заранее обосновывается в программах и методиках. Следует подчеркнуть, что без активной роли исследователя эксперимент становится наблюдением. При этом фиксируют результаты этих воздействий, а условия проведения контролируют. В этом особенность и ограниченность эксперимента, так как реальные условия, фактические воздействия всегда будут отличаться от первоначальных условий. Но в этом и сила эксперимента, поскольку искусственно можно задавать разнообразные воздействия и наблюдать их результат.

Всегда ли теоретические разработки должны предшествовать эксперименту? Такой вопрос часто возникает не только у начинающего исследователя. Как видно из представленной схемы (Рис. 3.1..) не всегда. Если изучается очень сложное явление - новый вопросы, где одновременно во взаимосочетаниях воздействуют несколько факторов на объект исследования, или, наконец, когда нужно установить только количественные взаимосвязи, использовать которые предполагается непродолжительное время, да и часто в небольших масштабах, то теоретические разработки не обязательно должны предшествовать эксперименту (Философский словарь., 1963). Значение эксперимента в исследовании очень велико. Он выступает в роли критерия истины для гипотез, теорий, моделей во всех прикладных исследованиях.

4.1.Функции эксперимента в исследовании.

В эксперименте создается искусственная среда, позволяющая анализировать явление в созданных заданных условиях. Функции эксперимента сводятся к следующему:

- построение *гипотез, контргипотез, моделей, классификаций* и, конечно, их уточнение - поисковый эксперимент;
- проверка гипотез, моделей, теорий и классификаций;
- установление количественных соотношений между факторами, определяющими искомое явление, исследуемый объект;

- установление количественных значений нелинейности действия факторов;
- установление взаимодействия действия факторов, т.е. синергизма и антагонизма;
- определение последовательности действия факторов;
- прогноз – получение поверхности отклика;
- сопоставление многих фактов – выработка определенных утверждений;
- построение теорий;
- открытие законов природы на основании уточнения и проверки моделей и гипотез;
- построение классификаций. Этот пункт может быть и первым в функциях эксперимента[11] (Любищев, 1982).

Требования к эксперименту.

Следует перечислить требования к эксперименту: *наличие контроля, воспроизводимость, достоверность.*

- *наличие контроля* – архи - крайне необходимо, как для ориентира при сравнении исследуемых явлений и объектов до и после воздействий уже известными изученными факторами разной напряженности;
- *воспроизводимость* - возможность достоверного повторения – дублирования эксперимента в тех же условиях другими исследователями с получением результата, отклоняющегося в пределах его известной ошибки в сравнении с ранее полученными;
- *достоверность* - неотъемлемая черта эксперимента. Получаемые экспериментальные величины нестабильны, они варьируют по разным причинам. В связи с этим, недопустимо малое число опытов и замеров, что приводит к ошибке. Необходимое число опытов может определяться с помощью математической статистики - теории ошибок. Не может быть речи о достоверности эксперимента, если он тщательно не продуман, не спланирован, т.е. не обоснован всесторонне.

Обработка опытных данных и анализ решений.

В ходе обработки опытных данных предполагается использование методов математической статистики, которые позволяют в соответствии программой

[11] Любищев А.А., говорил, что классификация является «α» и «ω» любого исследования.

исследования, отраженной в лабораторном журнале, определить искомые значения исследуемых явлений и объектов:

- средние значения;
- статистические дисперсии;
- коэффициенты вариации и другие характеристики измеренных величин;
- исключить промахи.

При использовании методов многофакторного планирования (см. раздел 5.0) т.е. при планировании эксперимента по специальному плану устанавливают

полиномные виды зависимостей и определяют их коэффициенты:

- главных эффектов - оптимальные значения параметров;
- эффектов нелинейности;
- эффектов их взаимодействия, т.е. антагонизма или синергизма;
- ошибки аппроксимации вышеназванных параметров;

после обработки множества опытных данных анализируют получение решения на предмет классификации[12], которая является основой основ любой науки, во имя чего и проводят эксперимент. При этом используют методы многомерной статистики - включающие принципы распознавания образов, такие, как факторный, дискриминантный и кластерный анализ. (Стьюпер, Брюггер, Джурс, 1982),

4.2.Анализ полученных опытных данных.

Анализ полученных опытных данных также очень ответственный период. Начинающие исследователи – экспериментаторы, к сожалению, не придают этому периоду исследования должного значения. Способы анализа экспериментальных данных разнообразны, перечислим некоторые из них:

- сравнение полученных решений с гипотезой и определение меры схожести между ними;
- сопоставление полученных результатов с другими аналогичными данными не только в данной области, но и в смежных.

При анализе важно не только получить экстремальное значение функции, но и проследить ее поведение в областях, прилегающих к оптимальному значению

[12] Любищев А.А. (Любищев ,1982) утверждал, что классификация является «**α**» и «**ω**» любого исследования.

критерия. Если изменения функции в названных областях незначительны, то предоставляется возможность выбирать значения критерия оптимальности с учетом других показателей, а иногда и заменить критерий. Если получены аналитические зависимости, то важно объяснить поведение функции, руководствуясь сущностью явления - физической, технической, экономической. Как было ранее отмечено, иногда приходится прибегать к одно - или многофакторному эксперименту. В этом случае важно попытаться полученные аналитические зависимости свести к рациональному виду, т. е. к виду, аналогичному полученному на основе общих законов.

Поэтому при анализе важно не только установить достоверность полученных зависимостей, но и определить границы теоретической и фактической их применимости. Дело в том, что в теоретических исследованиях возможен ряд допущений, эксперименты проводят в определенных условиях, статистической обработке подвергают какой-нибудь определенный материал, и поэтому нельзя распространять решения беспредельно, надо установить диапазон их распространения. Исследуемую зависимость следует представлять в виде графиков или моделей в одинаковом масштабе. Это позволяет изучаемое явление сравнивать с общей схемой и определять характерные точки развития явлений. Необходимо также установить изменение критерия зависимости от параметра при разном значении фактора, которому придают различные конкретные значения.

Теоретические обобщения.

Иногда проведенное исследование вместе с ранее полученными или известными данными позволяет сделать теоретические обобщения, т. е. получить закономерности, распространяемые на более широкий круг явлений или объектов по сравнению с тем, который охватывал предмет исследования.

Часто исследователь путем обобщений делает выводы о применимости того или иного метода к кругу задач более широкому, чем решались в исследовании. Здесь действует важный методологический принцип: «…все, что допускается хорошей теорией в конечном счете существует в природе!».

Однако в большинстве случаев теоретические обобщения (и обобщения вообще) в современных прикладных исследованиях теряются как отдельный этап исследования. Исследователь старается, выполнив такие обобщения, отразить их в формулировке темы, т. е. расширить предмет исследования. В этом случае обобщения являются просто элементом теоретической части работы.

Такой подход в целом не следует считать правильным. Он ориентирует на неопределенность предмета исследования в процессе его выполнения. С другой стороны, без такого изменения формулировки тема не несет в себе полной информации о содержании работы. В этом случае выбирают оптимальный или компромиссный вариант.

Экономическая эффективность исследования.

Для оценки степени достижения цели исследования определяют эффективность тех или иных рекомендаций, предложений. Методы и техника этих расчетов представляются сложными, а часто и спорными. Разработаны некоторые стандартные, общие методы экономической оценки, ими, прежде всего, и надо пользоваться. Эти методы не лишены недостатков, но они уже опробованы, уточнены и позволяют во многих случаях сопоставить эффективность разных технологий, методик и др., одинаково учитывая и влияющие факторы, и степень их влияния.

Следует оценить пригодность этих стандартных методик для конкретно решаемой задачи. Если нет готовой методики оценки, ее следует разработать с участием экономистов. При этом оценку можно проводить по ряду показателей: затратам средств, производительности труда, материалоемкости, фондоотдаче, расходу дефицитных материалов и т. д. Если представляется возможным свести все показатели к одному, то легко выбрать решение. Когда этого сделать нельзя, следует принимать *компромиссные* решения.

Выводы исследования.

На основании всех данных исследования делают выводы и дают рекомендации. Выводы - краткое изложение полученных результатов. Они включают в себя следующее:

- ответы на поставленные в исследовании задачи;
- решение дополнительных вопросов: это может быть вывод о применимости того или иного метода исследования;
- о влиянии дополнительных факторов, и т. д.
- ответы классификационного характера.

Выводы по этим пунктам носят, в основном, научный характер. Они включают результаты:

- которые могут быть использованы на практике;
- оценку экономической эффективности;

- данные о месте, объеме и целесообразности внедрения результатов, с указанием подтверждающего это документа, и пояснения о том, где еще возможно внедрение и в каком виде (методика расчета, методы исследования, оптимальные параметры объекта, конструкция и т. д.);
- указание о дальнейших направлениях исследований и ожидаемых результатах.
- включение только новых данных по теме, побочным вопросам и вопросам практического значения;
- тщательность и конкретность, краткость формулировки, без перегрузки числами;
- обоснованность, причем о том, что не исследовалось.

5.0.Классификация и анализ «косвенных» методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

5.1.Общие положения.

Классификация различных объектов (в нашем случае методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений), явлений, свойств и т.п. широко используется в мировой и отечественной практике для сбора, систематизации, обработки и представления необходимой информации.

Можно сказать, что классификация это основа систематизации методов, которая, в свою очередь, является первым этапом работ по унификации и стандартизации.

Основными способами классификации - систематизации методов являются иерархический[13] и фасетный. Иерархический метод классификации характеризуется тем, что исходное множество объектов последовательно разделяется на множества классификационные группировки, а те, в свою очередь на множества и т.д.

Множества методов разделяется на классы, группы, виды и т.п. по основным признакам, характеризующим эти объекты по принципу от общего к частному, т.е. каждая группировка в соответствии с выбранным признаком основанием деления делится на несколько других группировок, каждая из которых по другому признаку делится еще на несколько подчиненных группировок, и т.д. Таким образом, между классификационными группировками методов устанавливается отношение подчинения иерархии.

Построение иерархической классификации объектов, как правило, происходит в такой последовательности определяется множество объектов, которое необходимо классифицировать для решения конкретных задач выделяют основные признаки свойства, показатели и т.д. по которым множество будет разделяться на подмножества выбирается порядок следования признаков уровень

[13] Нами рассматривается только иерархический метод так он удовлетворяет большинству запросов биологов, заключающиеся в ее логичности, последовательности и хорошей приспособленности для ручной обработки информации.

деления и их количество. При построении иерархической классификации необходимо соблюдать наиболее важные правила разделение множества на подмножества на каждом уровне производится только по одному признаку деления получаемые в результате деления группировки на каждом уровне относятся только к одной вышестоящей группировке и не пересекаются, т.е. не повторяются разделение множества осуществляется без пропусков очередного или добавления промежуточного уровня деления классификация производится таким образом, чтобы сумма образованных подмножеств составляла делимое множество. Разработанная нами иерархическая классификация включает более 130-и «косвенных» методов исследования жароустойчивости и повреждения растений. Поиск методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений производился в патентной и научно-исследовательской отечественной и зарубежной литературе (см. таб. 5.1.)..

Эти методы нами сгруппированы в таблицу по принципу исследования жароустойчивости и повреждения растений на основе анализа: морфологических, физиологических, биофизических, биохимических признаков, характеристик биохимической генетики; дистанционного зондирования с воздуха и орбиты спутника Земли.

Вся таблица разделена на графы – столбцы, в которых даны названия методов, указано, какое свойство живой системы положено в принцип метода и изменение какого параметра или характеристики является критерием метода. Кроме того в таблице есть графы, где приведены исследуемые объекты, используемое в работах оборудование, дана литературная ссылка на первоисточники.

5.2.Морфологические методы диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

К морфологическим методам относятся: диагностика жароустойчивости по степени ксероморфности структуры, иннервации, количеству устьиц, величине клеток и межклетников, соответствующего развития палисадной и губчатой паренхимы и величине воскового налета листьев и т. д. Так, уже давно обнаружена положительная корреляция между мелкоклеточностью, большим числом жилок и устьиц на единицу поверхности и жароустойчивостью растений (Колкунов В.В.,1907). К этому классу можно отнести метод, в котором показателем жароустойчивости служит толщина листа (Cormak R.J,1950). Однако такие соответствия наблюдаются не всегда, поэтому эти методы для исследования жа-

роустойчивости растений ненадежны и вследствие этого сейчас не применяются (Генкель П.А.,1956).

Широкое распространение получил метод исследования жароустойчивости растений, основанный на изменении вязкости протоплазмы. Было установлено П.А. Генкелем и сотр., что свойство вязкости в большей степени обусловлено повышенной вязкостью протоплазмы. Следует отметить, что метод исследования жароустойчивости имеет две модификации в зависимости от способа определения вязкости при дифференцирующих температурах:

1) по скорости смещения хлоропластов в клетках прогретых листьев исследуемых растений (Генкель П.А. и сотр.,1950);

2) по скорости перехода вогнутого плазмолиза клетки в выпуклый (Генкель П.А. и сотр.,1951).

Для осуществления метода требуется центрифуга, микроскоп, ультратермостат, секундомер, краситель нейтральный красный и набор растворов сахарозы с различным осмотическим давлением. Данные модификации метода разработаны для яровой пшеницы, картофеля и подсолнечника. Следует отметить метод исследования жароустойчивости растений, критерием в котором является время сохранения движения протоплазмы клеток эпидермиса листа в зависимости от температуры повреждающего нагрева (Александров В.Я., 1952-1956). По мнению автора, за этой характеристикой скрывается важное свойство белковых макромолекул - их конформационноная гибкость. Это свойство, по справедливым словам Кошланда (Koshland,1964), - ключевая черта клеточного метаболизма. Метод дает информацию о состоянии каждой клетки, а т.к. в определенном интервале температур движение протоплазмы подавляется обратимо, то по его восстановлению удобно судить о репаративной способности клеток. К достоинствам метода следует отнести то, что для наблюдения за движением протоплазмы не требуются срезы, так как известен факт сдвига жароустойчивости растений, вызванный при раневом раздражении (Фельдман Н.А. 1960). Недостаток этого метода заключается в том, что движение протоплазмы удается наблюдать не во всех тканях. Имеются виды растений, у которых оно прекращается в определенное время вегетации или происходит слишком медленно и непостоянно, или вообще не обнаруживается. Для осуществления метода требуется: микроскоп, ультратермостат, шприц для инфильтрации листа и силиконовое масло. Метод разработан для диких злаков, пшеницы, проса, традесканции и различных видов луков.

Ломагин Л.Г. и сотр. (1966) впервые применили явление фототаксиса («**ФТ**») для оценки жароустойчивости растительных клеток. Явление «ФТ» заключается в изменении поглощенного света вследствие ориентации хлоропластов клеток в зависимости от интенсивности освещенности. Ввиду того, что показателем пропорциональности скорости изменения интенсивности света во времени может служить скорость фотосинтетического транспорта электронов (Рубин А.Б.,1975), подавление «ФТ» под действием высокой температуры характеризует степень повреждения клеток. Большое преимущество данного метода в том, что он позволяет судить о состоянии клеток паренхимы листа, тогда как большинство цитофизиологических методов дают информацию только об эпидермисе листа. Недостатком метода является то, что не у всех растений фототаксис хлоропластов выражен достаточно четко. Для осуществления метода требуется устройство для регистрации светопропускания, ультратермостат, источники света 100 и 2500 люкс и секундомер. Метод разработан для традесканции, но, по-видимому, может быть применен и для других растений с хорошим фототаксисом.

Последние достижения в области лазерной сканирующей доплеровской спектроскопии (Посудин Ю.И., 1983) и оптико-структурного машинного анализа (ОСМА) изображений биологических объектов открыли новые возможности в исследовании жароустойчивости растений. По мнению академика М. Франка, «...внедрение автоматической микроскопии в ближайшее время создаст такой переворот в биологии, который будет иметь не меньшее значение, чем появление собственно светового микроскопа, поскольку, развивая машинные методы изучения микрообъектов, мы не только повышаем неизмеримо производительность труда, не только объективизируем и систематизируем наблюдения, но и получаем информацию о ненаблюдаемых ранее явлениях, связанных со статистикой больших чисел и количественным анализом разных сторон процесса (Богданов К.М. и сотр.,1984).

5.3.Физиологические методы диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

К числу физиологических методов можно отнести диагностику жароустойчивости по изменению газообмена (фотосинтез и дыхание), скорости роста и т.д. Жароустойчивость растений можно исследовать по их фотосинтезу и дыханию с помощью инфракрасных (Павленко В.А.,1965; Быков О.Д. и сотр.,1970;

Корж Б.В.,1970), кондуктометрических (Вознесенский В.Л. и сотр.,1965; Иванов О.В.,1971; Королев А.М., 1974) и других газоанализаторов.

Удобна диагностика жароустойчивости по включению радиоактивного ^{14}C (Тарчевский И.А., 1964) или стабильного ^{13}C (Лазева Г.С. и сотр.,1976) изотопа углерода в виде углекислоты, так как для этого достаточна минутная экспозиция. При этом возможно изучение метаболизма по стабильному ^{13}C и радиоактивному ^{14}C углероду вместе с со стабильной меткой по азоту ^{15}N органических соединений (методика спектрально-изотопного метода позволяет совместное определение ^{13}C и ^{15}N). Использование же манометрических методов (по Варбургу) определения фотосинтеза и дыхания для исследования жароустойчивости (Александров В.Я.,1952,1972; Лютова М.И.,1958) требует длительных экспозиций и результат действия температуры искажается репарацией и деструктивным последействием (Александров В.Я.,1975). Для осуществления метода по включению ^{14}C требуется установка радиометрического определения интенсивности фотосинтеза (Быков О.Д. и сотр.,1973), а по включению ^{13}C и ^{15}N - установка спектрально-изотопного состава (Лазеева Г.С. и сотр.,1976). Метод разработан для традесканции, злаковых и бобовых.

Одним из отправных пунктов в изучении жароустойчивости растений служит выявление связи температуры воздуха и состояния тканей растений, показателем которой является температурный градиент «лист – воздух» (Радченко С.И.,1965, 1967, 1972, 1975; Славик Б.,1974; Бабушкин Л.Н. и сотр.,1975), характеризующий эффективность использования энергии системой растения (Альтергот В.Ф. и джр.,1975). В условиях оптимальной температуры воздуха температурный градиент «лист-воздух» у жароустойчивых растений более отрицательный, чем у менее устойчивых. Для осуществления метода требуется дифференциальный электротермометр и коллорифер. Метод разработан для пшеницы и овощных.

Болховский З.В.(1955), Альтергот В.Ф. и сотр. (1976) используют, как общую характеристику термоадаптативности растений, направленность окислительно-восстановительных процессов в тканях растений при тепловом стрессе. В этом методе показателем жароустойчивости является степень нарушения суммы иодредуцирующих соединений. Метод разработан для плодовых и злаков. Для осуществления метода требуются приборы и материалы в зависимости от способа определения направленности окислительно-восстановительных процессов (например: редокс - индикаторы).

Шахбазов В.Г. (1963,1964) предложил метод исследования жароустойчивости, основанный на ультратермостатировании (прогревании) семян кукурузы, арбуза и огурца. Метод дает возможность характеризовать температурную реакцию на начальном этапе прорастания семян. Чем больше всхожесть и энергия прорастания семян, подвергшихся действию высоких температур, тем устойчивее сорт. Волкова А.М. и сотр. (1976) модифицировали этот метод применительно для диагностики жароустойчивости пшеницы и ячменя. Для осуществления метода требуется: ультратермостат, растильня, фильтровальная бумага, вода и чашки Петри.

Бабушкин Л.Н. и сотр. (1975) предложили способ исследования жароустойчивости растений, основанный на определении температуры открывания устьиц в темноте. Для осуществления метода требуется микроскоп, ультратермостат и потометр. Метод разработан для злаков.

Среди множества физиологических реакций при исследовании жароустойчивости растений, особый интерес представляют методы непосредственного теплового нарушения водообмена:

- водоудерживающая способность по Ничипоровичу А.А. (1928);
- общая оводненность - высушиванием при +50 градусах;
- состояние воды в листе - динамические характеристики по Гусеву Н.А. (1960);
- интенсивность транспирации по Иванову Н.Н. (1946), Иванову О.В. (1973).

Гусев Н.А. (1960) разработал метод исследования жароустойчивости растений, основанный на выделении условно свободной воды из высечек листа при действии 30% -ным раствором сахарозы. Оставшаяся в них вода считается связанной. Различия в соотношении указанных величин дифференцируют сорта по степени их жароустойчивости. Для осуществления метода требуется 30% раствор сахарозы, ультратермостат, секундомер.

5.4.Биофизические методы диагностики жароустойчивости и повреждений растений.

В последние годы успешно используются биофизические методы. К ним можно отнести диагностику жароустойчивости растений по изменению их электрических, оптических и других параметров. В сложной многокомпонентной саморегулирующей системе растения все биохимические реакции, обу-

славливающие энергетику, должны быть согласованы между собой и протекать с одинаковой или пропорциональной скоростью. Этот принцип лежит в основе биофизических методов исследования жароустойчивости растений. У последних имеется температурная зона, ограничивающая возможности существования, за пределами которой поддержание координации многих биохимических реакций становится невозможным: отдельные реакции отстают или опережают другие. Следствием этого нарушения является обезвоживание «депо»,т.е. накопление промежуточных продуктов реакций обмена веществ. Данные высокоактивные продукты «депо» вызывают интоксикацию организма. В результате мембраны клеток интенсивно окисляются и снижают свои функции, что проявляется в изменении биофизических характеристик, определяющихся экспериментально.

Гасанов Р.А. и сотр. (1963) разработали метод исследования жароустойчивости по положению температурного максимума сверхслабой хемилюминесценции корешков растений. Интенсивность этой реакции, по мнению авторов, связана с рекомбинацией перекисных радикалов в фосфоролипидных фракциях клеток растений. Для более жароустойчивых растений значение температурного максимума свечения больше, чем для менее жароустойчивых. К достоинствам метода следует отнести то, что он характеризует состояние мембран и структурно-функциональные изменения в них во время реакции на внешние условия; при этом получаемая информация не перекрывается информацией из других каналов. Данный метод может быть дополнен характеристиками метода электронного парамагнитного резонанса (Ингрем,1972), который позволяет обнаружить и идентифицировать устойчивые радикалы в данной системе. Для осуществления метода требуется квантометрическая установка (Маренков В.С.,1974; Тарусов Б.Н.,1978) и электронное устройство программного регулирования температуры исследуемого образца (Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1976). Метод разработан для бобовых, зерновых, пасленовых.

Клипсон Н.А. и сотр.,(1965); Доскоч Я.Е. и сотр.(1976) предложили метод определения жароустойчивости, основанный на регистрации изменения мощности антиокислительной системы растений, которая определяется по ослаблению уровня интенсивности электрохемилюминесценции модельной системы под действием веществ, выделенных из растений. Уровень свечения находится в обратной зависимости от жароустойчивости исследуемого образца. Для осуществления метода требуется квантометрическая установка (Королев А.М. и

сотр., 2005) с электрохемилюминесцентной ячейкой и ультратермостат. Метод разработан для злаков, бобовых и овощных.

Доскоч Я.Е. и сотр. (1976) предложил метод исследования жароустойчивости, основанный на контроле за образованием «депо», возникших в клетках липидных токсических соединений. При осуществлении метода регистрируется время 50% гидролиза эритроцитов (тест - объект) под действием выделенных токсических липидных веществ. У более жароустойчивых растений под действием теплового стресса время образования токсических веществ меньше, чем у менее жароустойчивых. Достоинство метода заключается в возможности контроля накопления возникших в клетках при экстремальных воздействиях липидных токсических соединений, что делает его универсальным и для определения устойчивости к различным неблагоприятным факторам, в том числе, и к действующим совместно. Для осуществления метода требуется: ультратермостат, фотоколориметр с самописцем и эритроциты кролика. Метод разработан для пшеницы и, по-видимому, может быть использован для исследования других культур.

Водяной В.Я. и сотр., (1972) предложили метод определения жароустойчивости растений по изменению активной и реактивной составляющей нестационарного импеданса биологических объектов, характеризующего структурные изменения в мембранах, лежащие в основе ионной проницаемости при генерации биопотенциалов. За критерий жароустойчивости в нем принимаются значения температур резкого изменения составляющих нестационарного импеданса. Для осуществления метода требуется установка для регистрации нестационарного импеданса и электронное устройство программного регулирования температуры исследуемого образца (Маренков,1974; Королев,1976). Метод разработан для традесканции и, вероятно, может быть использован для исследования других культур.

Гунар И.И. и сотр., (1961) разработали метод исследования жароустойчивости растений, основанный на регистрации ответной биоэлектрической реакции (ОБЭР), возникающей после кратковременного нагрева корней исследуемого растения в питательном растворе. Величина ОБЭР находится в обратной зависимости от термоадаптивности исследуемого растения. Для осуществления метода требуются неполяризованные хлорсеребряные электроды, или электрометрический усилитель, самописец, ультратермостат, питательный раствор. Метод разработан для кукурузы, зерновых и овощных культур.

Килаев Б.Н. (1976) разработал метод исследования жароустойчивости растений, основаный на регистрации электрической поляризации, возникающей в результате накопления электрически заряженных ионов клеточных мембран при пропускании через ткани постоянного низкочастотного тока. При тепловом повреждении происходит падение электрической поляризации, причем у жароустойчивых сортов растений в меньшей степени, чем у не жароустойчивых. К достоинствам метода следует отнести большую производительность. Для осуществления метода требуется установка для регистрации электрической поляризации (Лудин В.М. и сотр.,1978) и электронное устройство программного регулирования температуры (Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1976). Метод разработан для злаков.

Тарусов Б.Н. (1938) разработал метод оценки физиологического состояния биологического объекта по крутизне дисперсии его электропроводности, определяемой через отношение величины сопротивления, измеряемого на низкой частоте, к величине сопротивления на высокой частоте. Этот метод позволяет определять по данному критерию жароустойчивость растений. Причем, чем больше повреждение клеток тканей растения, тем меньше это отношение и жароустойчивость растения. Для осуществления метода требуется измерительный мост электрохимических исследований типа: Р568 или Р5021 или 10-7 или «Тангенс-2м» или ТТ-105(Венгрия) для измерения сопротивления или проводимости на 2-х частотах: 104 -106 Гц или установка «Микропроцессорный анализаторов импеданса растительных объектов («RUSLAN») (Королев А.М., 2009). К достоинствам метода следует отнести возможность исследования устойчивости растений к другим видам стрессоров. Спиров В.В. и сотр.(1974); Поляков Н.И. и сотр. (1971); Быков Р.Е. и сотр.(1976); Розенталь и сотр.,(1963) разработали метод, основанный на спектронефелометрии отдельных участков живой клетки, которая открывает большие возможности для расшифровки механизма паранекроза, так как именно помутнение протоплазмы (Насонов и сотр.,1940) является его ранним физико-химическим проявлением.

Ткачук К.С. и сотр.(1974) разработали метод исследования жароустойчивости растений, основанный на спектрофотометрии, т.е. регистрации изменения оптических свойств листьев. Регистрируется смещение максимума поглощения хлорофилла «А», обуславливающего, по-видимому, денатурацию белков хлоропластов (Годнев Т.Н. и сотр.,1960). Большие возможности, по-видимому, этот метод будет иметь при применении спектровизора, типа СПВ-2, для скоро-

стной спектрофотометрии (1200 спектров в сек в диапазоне от 400 - 700 нм.), позволяющего снимать температурную кинетику спектров поглощения (Ефименко Е.Н. и сотр.,1977).

Кикнадзе Г.С.(1960,1965); Мельникова В.В.(1960); Барабальчку К.А. (1970); Noack (1927); Egle (1944) показали возможность исследования жароустойчивости растений по изменению индукционной вспышки флуоресценции (ИВФ) листьев. За критерий жароустойчивости принимают значения температур резкого увеличения ИВФ, что характеризует нарушение электронно - транспортных реакций фотосинтетического аппарата исследуемых листьев. Для осуществления метода требуется люминесцентный микроскоп с устройством количественной регистрации флуоресценции и ультратермостат. Метод разработан для традесканции, кукурузы, проса и пшеницы.

Удовенко Г.В. и сотр.(1976,1977); Шрайбер У. и сотр.,(1976) установили возможность определения жароустойчивости растений по изменению температурной кинетики флуоресценции их листьев. За критерий жароустойчивости в этом методе принимаются значения температур максимальной флуоресценции или же начало ее изменения. Для осуществления метода требуется установка для регистрации температурной кинетики флуоресценции. Метод разработан для водорослей, традесканции, пшениц и бобовых.

Хебер Г., (1969); Зотиков А.А. и сотр.(1973), проанализировав влияние различных факторов, в том числе и температур, на поляризацию флуоресценции листьев, показали возможность исследования жароустойчивости растений по этому показателю. За критерий жароустойчивости растений принимаются значения температур резкого изменения коэффициента поляризации флуоресценция исследуемых листьев растений. К достоинствам метода следует отнести возможность получения дополнительной информации о конформационных изменениях в структуре фотосинтетического аппарата исследуемого растения. Метод разработан для традесканции, но, по-видимому, может быть применим и для других видов растений.

Китлаев П.Я и сотр.,(1967); Голодрига П.Я и сотр.(1967) разработали способ исследования жароустойчивости растений, основанный на определении температур максимального послесвечения листьев исследуемых растений. Процесс послесвечения связан со светоиндуцированным электронным, протонным транспортом и фотофосфорелированием. Возможность интактного изучения исследуемых растений делает этот метод чрезвычайно перспективным в селек-

ции и генетике растений. Метод отличает высокая специфичность и воспроизводимость. Для его осуществления требуется установка для регистрации короткоживущих компонент замедленной флуоресценции и электронное устройство программного регулирования температуры исследуемого образца (Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1976, 1977). Метод разработан для бобовых, зерновых, плодовых, овощных, водорослей.

Аксенов С.И. и сотр.(1971); Самуилов Ф.Д.и сотр.(1976); Николаев Г.М. и сотр., (1977) установили возможность исследования жароустойчивости растений методом ядерно-парамагнитного резонанса, по регистрации спин - спиновой и спин-решеточной релаксации, характеризующих состояние воды в растении (подтверждая положение о высокой степени упорядоченности внутриклеточной воды). Для осуществления метода требуется ядерно-парамагнитный эхоспектрометор и установка программного регулирования температуры образца (Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1976,1977). Метод разработан для пшениц, мхов и лишайников.

Максимов Н.А. (1940,1949) разработал, а Васильева Н.Г. (1953), Олейникова Т.В.(1964), Углов П.Д.(1967) модифицировали статический метод определения жароустойчивости растений, основанный на регистрации выхода электролитов (Беликов П.С. и сотр.,1959) и флуоресцирующих компонентов (Шаповалова А.А.,1970). Установлено, что у жароустойчивых сортов растений выход веществ через 2 - 4 часа меньше, чем у менее жароустойчивых. Для осуществления метода требуется: проточный кондуктометр, интерферометр, флуориметр, а так же ультратермостат. Метод разработан для зерновых, плодовых и овощных.

Ивакин А.П. (1976) предложил метод исследования жароустойчивости растений, основанный на регистрации изменений электропроводности их тканей по переменному тока, характеризующих степень повреждения биологических мембран под действием высоких температур. Установлено, что у жароустойчивых растений сопротивление тканей переменному току при действии высокой температуры всегда значительно выше, чем у менее жароустойчивых. Для осуществления метода требуется кондуктометр и ультратермостат. Метод разработан для томатов и картофеля.

Китлаев Б.Н. и сотр.(1976) предложил метод исследования жароустойчивости растений основанный на регистрации изменения электропроводности тканей при постоянном токе и оптимальных поляризационных процессах в клетках и

электродах. За критерий жароустойчивости принимается значение температур 50 % - ного изменения электропроводности. Для осуществления метода требуется установка для регистрации электропроводности тканей при постоянном токе и электронное устройство программного регулирования температуры исследуемого образца (Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1976, 1977). Метод разработан для пшеницы.

5.5.Биохимические методы диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

К этой группе относится наибольшее число методов диагностики жароустойчивости растений. В основе биохимических методов лежит определение изменений при действии температуры, скоростей реакций, активностей в клетках тканей растений, например: кинетина, пролина, абсцизовой кислоты, различных белков, ферментов, сульфгидридных групп, а так же определение термоустойчивости ферментов и т.д.

При определении изменений вышеназванных соединений или термоустойчивости белков и ферментов используются по возможности классические биохимические приемы и оборудование или современные физико-химические методы с применением фотоэлектронной, ультрафиолетовой, инфракрасной спектроскопии, ядерного магнитного резонанса и электронного парамагнитного резонанса, спектрофлюореметрии, кулоно/амперметрии, газожидкостной хроматографии, электрофореза или же автоматические биохимические линии, сочетающие в себе все выше перечисленные методы для массовых анализов (Сиггна С., 1974).

5.6.Диагностика жароустойчивости и повреждения растений на основе характеристик биохимической генетики.

Последние достижения в области биохимической генетики растений открыли новые возможности в диагностике жароустойчивости растений.

Известно, что по ряду белков растений наблюдается значительный генетический детерминированный полиморфизм.

Использование этого явления в селекции послужило открытием множественного аллелизма генов и полигенных локусов, контролирующих синтез этих белков. Комплексное использование гибридологического, моносомного и транслакационного анализов с современными методами разделения белков по-

зволило установить сопряженность генетически дерминированного уровня термоадаптивности с вариантами белков или блоков белков (Viera da Silva et.a.,1969э; Me Cown B.H. et. al.,1969; Конарев В.Г.,1975; Cuellar R.E.et al.,1978; Созинов А.А.,1980).

5.7.Методы дистанционного зондирования с воздуха и орбиты спутника Земли состояния сельскохозяйственных и растительных ресурсов и выдавать различные рекомендации и прогнозы, в том числе по диагностике жароустойчивости растений.

Современное развитие аэрокосмической техники, которое как в фокусе концентрирует достижения в разных областях науки и техники (оптики, электроники, биологии, вычислительной техники, программировании) дает возможность проводить дистанционное зондирование с воздуха и орбиты состояния сельскохозяйственных и растительных ресурсов, характеризовать их по уровню устойчивости к стрессорам, предоставлять рекомендации и прогнозы (CroxtonR.J., Johnson J.H.,1966; Myers V.I. et. al.,1966; Edwars G.J.,et. al.,1975; Edwars G.J.,et. al.,1975; Avian Systems, 1995).

Таблица 5.1

Классификация методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

№	Название метода, литературная справка	Изучаемые характеристики растений	Критерий жароустойчивости жизненной функции	Исследуемый объект – растения.	Оборудование - приборы для реализации метода, литературная справка.
	1	2	3	4	5
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАНЫ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИКАХ					
1.	Метод вискозиметрии (Генкель П.А. и сотр.,1950)	Вязкость протоплазмы	Скорость смещения хлоропластов	Пшеница. Подсолнечник. Картофель	Центрифуга, типа ЦУП-1. Микроскоп. Ультратермостат. Секундомер.
2.	Метод вискозиметрии (Генкель П.А. и сотр.,1951)	Вязкость протоплазмы	Время перехода вогнутого плазмолиза в выпуклый	Пшеница. Подсолнечник. Картофель.	Микроскоп. Секундомер. Ультратермостат. Термостолик. (Барская Е.И.,1973)
3.	Метод Колкунова (Колкунов В.В.,1907; 1926)	Ксероморфность структуры тканей	Количество клеток, жилок и устьиц на единицу поверхности листа	Подсолнечник.	Микроскоп. Камера Горяева. Ультратермостат.
4.	Метод Кормака (Cormack R,1950)	Ксероморфность структуры тканей	Количество клеток, жилок и устьиц на единицу поверхности листа. Степень опушения растения, толщина листа.	Подсолнечник. Пшеница	Микроскоп. Камера Горяева. Штангенциркуль. Ультратермостат.

5.	Метод оптико - структурного машинного анализа изображений (Турсунов Х.З.,1982).	Статистические характеристики изображения микроструктур.	Статистические модели. Программы распознавания образов.	Хлопчатник.	Микроскоп - фотометр МЦФУ-1. Статистический анализатор «Протва – С».Ультратермостат.
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАННЫЕ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИКАХ					
№	1	2	3	4	5
6.	Метод движения протоплазмы (Александров, В.Я., 1952, 1955,1956,1975,1985).	Движение сферосом в протоплазме	Максимальная температура 5- минутного нагрева, останавливающая движение сферосом.	Дикие и культурные- Злаки. Традесканция.	Микроскоп с окуляром микрометром. Ультратермостат. Секундомер. Термостолик (Барская Е.И.,1973)
7.	Метод фототаксиса (Ломагин А.Г.,1966,1967)	Фототаксис	Степень подавления положительного и отрицательного фототаксиса при дифференцирующих температурах	Хлопчатник Пшеница Ячмень. Кукуруза. Капуста. Картофель.	Светоустановке. Люксметр. Ультратермостат. Секундомер.
8.	Метод выхода антоцианов (Александров В.Я.,1955).	Выход антоцианов	Максимальная температура 5 минутного нагрева, выхода антоцианов.	Традесканция. Свекла	Спектрофотометр или фотоколориметр (проточный). Ультратермостат. Секундомер.

№	1	2	3	4	5
9.	Метод температурного градиента (Радченко С.И., 1965,1967,1972; Бабушкин Л.Н. и сотр.,1975)	Разность температур «Лист – воздух»	Значение температур нарушения отрицательного температурного градиента лист - воздух.	Злаки	Дифференциальный Электротермометр. Ультратермостат Секундомер.
10.	Метод по регистрации фотосинтеза (Бриллант,1949; Лютова М.И.,1958; Тарчевский И.А.,1964)	Газообмен по $^{16}O_2$, $^{12}CO_2$, $^{14}CO_2$	Значение температур изменения скорости выделения $^{16}O_2$ ассимиляции $^{12}CO_2$, и $^{14}CO_2$ степени ингибирования степени газообменов	Злаки. Бобы. Декоратив-ные растения.	Прибор Варбурга (Семихатова О.А. и сотр.,1965; Королев А.М.,1972;1974; 2008). Газоанализаторы (Павленко В.А.,1965). (Быков О.Д. и сотр., 1973).
11.	Метод Гаастра, модификация Лайск А., Оя В. (Лайск А., Оя В.,1971)	Сопротивление мезофилла.	Температура или степень нарушения соответствия между сопротивлением диффузии CO_2 со стороны устьиц и мезофилла	Кукуруза. Сахарная свекла. Картофель. Подсолнеч-ник.	Установка изменения скорости газообмена CO_2 и измерения сопротивления диффузии CO_2 со стороны устьиц и мезофилла (Лайск А., Оя В.,1971)
12.	Метод регистрации фотосинтеза (Кошкин В.А. и сотр., 1975)	Газообмен по углекислоте $^{12}CO_2$, $^{14}CO_2$,	Потенциальная интенсивность фотосинтеза при оптимальных сочетаниях температуры и освещенности листа	Пшеница	Установка изменения скорости газообмена $^{14}CO_2$ (Быков О.Д. и сотр., 1973); (Королев А.М.,.2008)

№	1	2	3	4	5
13.	Метод регистрации фотосинтеза и дыхания на свету (Корж В.,1976,1980; Thomas D.A., et. al., 1982; Goyal A.,1987)	Фотосинтез, дыхание и дыхание на свету	Интенсивность видимого и истинного фотосинтеза, фото и темнового дыхания, «П» – всплеск при дифферециирующих температурах	Злаки Кукуруза.	Установка изменения скорости газообмена CO_2 (Корж Б.В.,1970) Ультратермостат.
14.	Метод ингибирования реакции Хилла, (Володарский Н.И.и сотр.,1973; Gerwick B.C.et al, 1977).	Реакция Хилла	Степень ингибирования реакции Хилла при дифференцирующих температурах	Бобы Подсолнеч-ник. Пшеница.	Кларковский и платиновый электроды. Ультратермостат. Катодный вольтметр. Самописец (Bttchey R.B.et al.,1973; Зеленский М.И. и сотр., 1973; 1975; 1979; 1980).
15.	Метод ингибирования фосфорилирования (Володарский Н.И. и сотр.,1973; Gerwick B.C. et al, 1977).	Фосфорилирование	Степень подавления фосфорилирования при дифференцирующих температурах	Бобы Подсолнеч-ник.. Пшеница.	pH - метр или спектрофото-метр. Ультратермостат. Самописец. (Bttchey R.B. et al.,1973; Зеленский М. И. и сотр, 1973; 1973; 1975; 1980).
16.	Метод ингибирования дыхания (Александров В.Я,1955; Королев А.М.,1978)	Газообмен	Температура или степень нарушения дыхания при дифферинцирующих температурах	Бобы Пшеница	Ультратермостат. Прибор Варбурга. (Королев А.М.,.2008) Газовый хроматограф (Королев А.М.,1978)

№	1	2	3	4	5
17.	Метод стимулирования дыхания ДНФ (Александров В.Я, и сотр.,1972)	Газообмен	Температура или степень нарушения дыхания и окислительного фосфорилирования (стимулирующее действие на дыхание 2,4-динитрофенола (ДНФ)).	Традесканция.	Прибор Варбурга. Манометрический многоканальный компютерезированных газоанализатор для динамических измерений «ALLA». (Королев А.М.,.2008)
18.	Метод фототаксиса (Ломагин А.Г.,1967)	Фототаксис	Степень подавления положительного и отрицательного фототаксиса при дифференцирующих температурах	Хлопчатник. Пшеница. Ячмень. Кукуруза Картофель	Светоустановка. Люксметр. Ультратермостат. Секундомер.
19.	Метод регистрации окислительно-восстановительных процессов (Guthrie I.D.,1937; Болховский З.В.,1955).	Уровень окислительно - восстановительных. процессов	Степень подавления иодредуцирующей способности при дифференцирующих температурах	Злаки	Редокс – индикаторы. Ультратермостат. Секундомер.
20.	Метод термотестирования (Шахбазов В.Г. и сотр.,1963)	Прорастание и всхожесть семян	Процент прорастания и всхожести семян при их дифференцирующем прогреве.	Пшеница. Кукуруза. Ячмень. Соя. Огурец.	Термостат. Кюветы Растильня. Секундомер
21.	Метод термотестирования (Волкова А.М., сотр. 1976).	Рост проростков	Интенсивность роста проростков после прогрева или во время его действия.	Озимая пшеница. Яровая пшеница.	Ультратермостат. Секундомер. Линейка.

№	1	2	3	4	5
22.	Метод ауксанографии (Макроносов А.Г.,1955; Шевелуха С.,1968)	Рост полевых культур	Температура или степень резкого изменения интенсив-ности ростовых процессов.	Огурец. Кукуруза Картофель Капуста	Ультратермостат. Секундомер. Ауксанограф.
23.	Метод ауксанографии (Туркин Н.И.,1971)	Рост колеоптелей, проростков и плодов	Температура или степень резкого изменения интенсивности ростовых процессов.	Все культуры.	Ультратермостат. Секундомер. Механотрон-ный ауксанограф (Туркин Н.И.,1971).
24.	Метод термотестирования (Вильямс Т.В. и сотр.,1967; Levitt J.et.al., 1960).	Количество растений	Процент сохранившихся растений после тестирующего прогрева	Кукуруза	Термостат. Кюветы. Растильня. Секундомер. Теплица или фитотрон.
25.	Метод учета коллойдно-связанной воды (Потов В.А.,1936; Думановский А.В.,1948; Маринчик .И.,1957; Окунцев М.М., и сотр.,1952; Извозчиков В.П., и сотр.,1968; Балашов Е.В.,1989)	Коллойдно-связанная вода.	Количество связанной воды на навеску растительного материала или то же в динамике отсасывания воды из тканей.	Пшеница. Томаты. Плодовые. Земляника.	Рефрактометр. Секундомер. Электронные весы (Иванов О.В.,1973). Термографические весы (Пасечный П.,1978) или лучше дериватограф.
26.	Метод оценки водоудерживающей способности (Ничипорович А.А.,1926,1928; Иванов О.В.,1973; Пасичный П.,1978)	Состояние воды	Температура или степень резкого изменения водоудерживающей способности	Пшеница Кукуруза Плодовые Овощные	Электронные весы. (Иванов О.В.,1973). Ультратермостат. Планиметр. Хим. посуда. 30% раствор сахарозы.

№	1	2	3	4	5
27.	Метод регистрации свободной и связанной воды (Гусев Н.А.,1960).	Степень упорядоченности воды	Количество внутриклеточной воды выделенной из листьев при воздействии 30% раствором сахарозы.	Пшеница Томаты Плодовые Земляника.	30% раствор сахарозы. Хим. Посуда. Секундомер. Электронные весы. Ультратермостат. Мерная хим. посуда.
28.	Метод динамических характеристик воды (Гусев Н.А.,1960; 1966).	Состояние воды	Процентное изменение фракционного состава воды с различной степенью связанности после дифференцирующего температурного прогрева.	Пшеница. Томат. Плодовые. Земляника	Ультратермостат. Набор водоотнимающих растворов сахарозы и т.д.. Мерная хим., посуда. Секундомер.
29.	Метод транспирации (Иванов Н.Н.,1946; (Иванов О.В.,1973)	Количество воды выделенное в единицу времени	Температура или степень резкого нарушения обратной зависимости между интенсив-ностью транспирации и водоудерживающей способностью.	Пшеница. Кукуруза. Плодовые. Овощные.	Электронные весы. (Иванов О.В.,1973). Транспирометр. (Ваганов А.П., и сотр.,1977) Ультратермостат. Планиметр.
30.	Метод транспирации (Viera da Silva,1967)	Процентное количество воды, выделенное в единицу времени	Температура или степень нарушения интенсивности транспирации.	Хлопчатник.	Инфракрасный газоанализатор. Ультратермостатируемая листовая камера.
31.	Метод транспирации (Балашов Е.В.,1989)	Процентное количество воды выделенное в единицу времени	Температура или степень нарушения интенсивности транспирации	Ячмень	Транспирометр на основе гигристора Агрофизического НИИ. Ультратермостат.

32.	Метод открытия устьиц (Бабушкин Л.Н.,1975)	Открытие устьиц	Температура открытия устьиц в темноте.	Злаковые. Плодовые.	Микроскоп. Ультратермостат. Потометор. Секундомер.
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАНЫЕ НА БИОФИЗИЧЕСКИХ ПРИНЦИПАХ.					
№	1	2	3	4	5
33.	Метод сверхслабой хемилюминесценции (Гасанов Р.А., и сотр.,1963; Тарусов Б.Н.,1966; Батуева Р.А. и сотр.,1974)	Уровень свободно-радикального окисления.	Определение температуры резкой вспышки сверхслабой хемилюминесценции – «Пики гибели».	Бобовые. Злаковые. Плодовые. Пасленовые.	Квантометрическая установка. Ультратермостат. (Маренков В.С.,1974).
34.	Метод прижизненной привитой сополимеризации (Тарусов Б.Н. и сотр.,1961; Козлов Ю.П., и сотр.,1966)	Уровень свободно-радикального окисления	Увеличение количества полимера - метки с «меченым» мономером по ^{1}H или ^{14}C	Бобовые и др.культуры.	Сцинтилляционная установка. «Меченый» мономер ^{1}H,^{14}C. Ультратермостат.
35.	Метод определения антиокислительной системы (Клипсон Н.А.и сотр.,1965; Доскоч Я.Е. и сотр.,1976)	«Мощность» антиокислительной системы	Время 50% ослабления электрохемилюминесценции модельной системы под воздействием веществ перекисной природы, выделяемых из растений.	Бобовые. Злаковые.	Квантометрическая установка с электрохемилюминесцент-ной ячейкой и системой ввода пробы. (Королев А.М.,2006)
36.	Метод фотоколориметрического контроля (Доскоч Я.Е. и сотр.,1976).	Возникновение липидных токсических продуктов.	Время 50% гемолиза эритроцитов (в тест – объекте) под действием липидных перекисей выделенных из растительных липидов	Злаковые. Овощные. Плодовые.	Фотоэлектроколориметр или спектрофотометр. Самописец. Секундомер. Ультратермостат. Тест – объект эритроциты кролика или барана

№	1	2	3	4	5
37.	Метод послесвечения - замедленной флуоресцен-ции-(«ЗФ») (Королев А.М.,1979).	Показатель конфирмационной гибкости структуры фотосинтетическо-го аппарата	Сдвиг температурного максимума «ЗФ» (ΔТМЗФ) при изменении скорости нагрева от V=2^{O} до 10° мин$^{-1}$	Пшеницы. Овощные.	Установка для регистрации послесвечения-(«ЗФ») (Королев А.М.,1977).
38.	Метод проницаемости растительных мембран для электролитов (Dexter S.T., 1932; Максимов Н.А. и сотр., 1939; Васильева Н.Г., 1953; ОлейниковаТ.В.,1964; Приходько Н.В.,1977).	Выход электролитов	Изменение удельной электро-проводности водных настоев листьев после дифференцирующего температурного прогрева	Злаковые. Овощные. Плодовые	Кондуктометр (Иванов .В.,1969); Ультратермостат. Секундомер. Электронное устройство программного регулирова-ния температуры (Королев А.М.,1976).
39.	Метод проницаемости растительных мембран (Шаповалов А.А.,1970).	Выход флуоресци-рующих компонен-тов фенольной природы.	Температура максимального выхода флуоресцирующих компонентов фенольной природы.	Злаки.	Спектрофлюориметор с проточной кюветой. Перестальчический насос. Ультратермостат
40.	Метод проницаемости растительных мембран (Беликов И.С. и сотр.,1959; Гусев Н.А.,1971).	Выход водорастворимых веществ.	Длительность и величина первой волны выделения водорастворимых веществ после дифференцирующего температурного прогрева.	Злаки.	Интерферометр. Ультратермостат. Секундомер.

№	1	2	3	4	5
41.	Метод ЗФ (Китлаев Б.Н. и сотр., 1967; 1969; Королев А.М., 1973-1980;1982; 1993; 1981; Савин В.Н. и сотр.,1977а, 1977б; Стадник С.А.и сотр.,1977).	Высоко-энергетическое состояние мембран хлоропластов.	Определение температуры, при которых возникают максимумы послесвечения – замедленной флуоресценции.	Все культу-ры.	Установка для регистрации ЗФ листьев. Секундомер. (Джанумов Д.А.и сотр.,1971; Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1977).
42.	Метод послесвечения (Рубин .А.Б, Маркарова Е.Н. и сотр., 1974)	Зондирование формирования протонного градиента на мембране	Значение температур максимальной скорости распада протонного градиента в темноте под действием дифференци-рующего температурного прогрева	Хлопчатник Пшеница. Овощные.	Установка для регистрации ЗФ листьев. Электронное устройство программного регу-лирования температуры (Коро-лев А.М.,1977; Джанумов Д.А. и сотр.,1971; Маренков В.С.,1974).
43.	Метод послесвечения-Замедленной (ЗФ) флуоресценции (Джанумов Д.А. и сотр.,1971; Маренков В.С.,1974; Ортаидзе Т.В.,1977).	Высокоэнергети-ческое состояние мембран хлоропластов	Изменение уровня стационарности при обратном переходе от экстремального температурного воздействия к старым оптимальным условиям.	Злаки Цитрусовые.	Установка для регистрации ЗФ. Электронное устройство программного регулирова-ния температуры. (Джанумов Д.А. и отр.,1971; Маренков В.С.,1974; Королев А.М.,1977- 1982; 1993; 1999; 2003; 2005; 2006; 2010).

№	1	2	3	4	5
44.	Метод замедленной флуоресценции («ЗФ») (Моторин Д.Н.и сотр.,1978).	Высокоэнергетическое состояние мембран хлоропластов	Значение температур максимальной скорости фотосинтетического транспорта электронов по соотношению $I_Б/I_М$ (Моторин Д.Н.и сотр.,1978)	Бобовые	Установка для регистрации ЗФ Джанумов Д.А. и сотр.,1971; Маренков В.С.,1974; Осциллограф. Фотокамера. Электронное устройство программного регулирования температуры (Королев А.М.,1977)
45.	Метод замедленной флуоресценции «ЗФ» (Королев А.М.,1978).	Показатель компартментальности фотосинтетического аппарата	Форма температурной кинетики замедленной флуоресценции характеризующая коэффициентом «К» (Королев А.М., 1978).	Злаковые Овощные.	Установка для регистрации «ЗФ» (Королев А.М., 1976, 1977).
46.	Метод послесвечения-замедленной- («ЗФ») флуоресценции (Королев А.М.,1979).	Показатель метаболической активности структуры фотосинтетического аппарата	Характеристика температурной кривой при различной скорости нагрева, при $V=2^{O}$ и 10° мин $^{-1}$	Пшеницы. Овощные	Установка для «ЗФ» (Королев А.М.,1977). Устройство программного регулирования температуры (Королев А.М.,1976)
47.	Метод «ЗФ» (Волкова А.М., Королев А.М.,1979).	Высокоэнергетическое состояние мембран хлоропластов	Степень ингибирования «ЗФ» (медленных компонент) листьев при дифферециирующих температурах	Пшеницы.	Установка для «ЗФ» (медленных компонент) (Королев А.М.,1977).

№	1	2	3	4	5
48.	Метод флуоресценции (Noack K.,1927; Egle,1944; Мелникова В.В.,1960; Кикнадзе,1960,1965; Барабальчук К.А.,1970	Нарушение электронтранс-портной цепи фотосинтеза.	Значение температур изменения индукционной вспышки флуоресценции.	Злаки. Бобовые. Кукуруза.	Установка для регистрации флуоресценции (Wehry E.L., 1976; Бербер Г. и сотр.,1974; Агроскин Л.С.и сотр.,1977; Карнаухов В.П., 1978; Карапетян Н.В.и сотр.,1971).
49.	Метод микрофлюориметрии (Китаев О.И.,1981)	Регистрация сканограмм флуоресценции	Оценка степени сходства и различия между генотипами на основе спектров флуоресценции, амплитуд, индукции.	Плодовые	Микроспектрофлюори-метрическая установка. Самописец. Ультратермостат (Китаев О.И., 1981).
50.	Метод флуоресценции (Туроверов К.К. и сотр.,1970)	Денатурация белка.	Значение температур или степень изменения стационарного уровня флуоресценции листьев после диффенции-риющего прогрева.	Злаковые. Бобовые	Установка для регистрации флуоресценции (Агроскин Л.С. и сотр.,1977; Карнаухов В.П., 1978; Карапетян Н.В. и сотр.,1971; Григорьев Ю.С. и сотр.,1973).
51.	Метод флуоресценции (Удовенко Г.В. и сотр.,1977; Сулейманов А.Ш., 1976).	Регистрация спектров флуоресценции	Степень изменения амплитуд в спектрах флуоресценции листьев после их прогрева.	Злаковые. Бобовые. Виноград.	Спектрофлуориметр, Ультратермостат.
52.	Метод флуоресценции (Schreiber U. et.al.,1983)	Регистрация индукционной кинетики флуоресценции.	Значение индукционных показателей флуоресценции листьев при диффенциريющих температурах.	Плодовые. Злаков. Бобовы Посленовые.	Установка для регистрации флуоресценции (Королев А.М.,1981; Schreiber U. et.al.,1983).

№	1	2	3	4	5
53.	Способ определения генотипической специфичности растений (Осипов А.В. и сотр., 1980)	Регистрация спектров флуоресценции	Оценка степени сходства и различия между генотипами на основе точек «калибровки и точек отсчета».	Плодовые Злаковые. Бобовые. Посленовые.	Спектрофлуориметр. Самописец
54.	Метод импульсно- амплитудной модуляции флуоресценции (Schreiber U.et.al.,1987; Rinderle U., et al.,1988;).	Регистрация индукционной кривой (кинетики) флуоресценции.	Степень или температура максимального ингибирования F_O (характеризует степень «открытости» реакционных центров 2 фотосистемы).	Салат. Бобовые. Злаковые.	Установка для регистрация индукционной кривой им-пульсно- амплитудной модуля-ции флуоресценции (Королев А.М.,1981; Schreiber U. et. al.,1983).
55.	Метод микрополяризационной флуоресценции (Зотиков А.А.и сотр.,1973; Васин Ю.А.и сотр.,1977)	Коэффициент поляризации флуоресценции.	Значения температур максимального изменения коэффициента поляризации флуоресценции.	Бобовые.	Поляризационный микроспектрофлуориметр (Папаян Г.В. и сотр.,1974).
56.	Метод нефелометрии (Packer L.,1963)	Светоиндуцирован-ные изменения светорассеивания хлоропластов.	Температурный диапазон обратимого сокращения и набухания хлоропластов под действием света.	Нут. Злаковые. Бобовые.	Прецизионный фотоиндуцированный нефелометр. Самописец. (Packer L.,1963).
57.	Метод спектрофотомерии (ГодневТ.Н.и сотр.,1960: Ткачук К.С. и сотр., 1974; Тарчевский И.А.,1964).	Оптическая плотность, как функция длины волны.	Степень смещения максимума поглощения хлорофилла в коротковолновую часть спектра.	Хлоропласты шпината.	Спектрофотометр типа: СФ-16, СФ-26, СФ-18, Хитачи -340 и т.д. Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
58.	Метод производной спектрофотомерии (Сааков В.С., 1974, 1976, 1987, 1988, 1996)	Производная спектра поглощения интактных листьев.	Анализ производных спектров поглощения интактных листьев после дифференцирующего температурного воздействия.	Злаки. Овощные.	Спектрофотометр типа: СФ-10, СФ-14, СФ-18, Хитачи -340 и сотр. Специализированный аналоговый процессор. (Сааков В.С. и сотр.,1987).
59.	Метод фотометрирования статолитного крахмала (Генкель П.А.и сотр.,1970)	Гидролиз статолитного крахмала.	Температура резкого изменения в оптической области, характерной для статолитного крахмала.	Злаки Двухдольные	Спектрофотометр типа: СФ-16, СФ-26, СФ-18, Хитачи -340 и т.д. Ультратермостат.
60.	Метод скоростной спектрофотомерии (Ефимов Е.И.и сотр.,1977).	Скоростное снятие спектров оптической плотности (1200 спектров в сек. как функция температуры)	Определение температуры изменения спектра листа при его таймерной съемке.	Бобовые	Скоростной спектрофотометр типа СПВ -2, ультратермостат.
61.	Делькометрический метод (Седых Н.В.,1971).	Состояние воды	Степень снижения комплекса образовательной реакционной способности белков	Пшеницы	Установка для делькометрических измерений, ультратермостат.
62.	Комплексная методика прогнозирования устойчивости повреждающим агентом (Кринкер М.С. и сотр.,1981)	Структурная упорядоченность и стахикометрический состав.	Изменение частотной зависимости комплексной диэлектрической проницаемости и спектрального максимума пропускания.	Пшеницы	Куметр. Генераторное устройство с низкочастотным смесителем. Скоростной спектрофотометр, ультратермостат Кринкер М.С. и сотр.,1981)

№	1	2	3	4	5
63.	Метод ядерно - парамагнитного резонанса (Аксенцев А.М.и сотр., 1971; Шматько И.Г.и сотр.,1978; Николаев Г.М.и сотр.,1977; Jacobson G.,1954; Jardetzhky Chr.D,1957; Odebland I.,1960; 1965; Whipple H.E.,1965).	Состояние воды, степень упорядоченности.	Изменение спин-спиновой -T_2 и спин-решеточной релаксации -T_1, ширина линии химического сдвига воды.	Злаки	Эхо – спектрометр ядерно – парамагнитного резонанса (ЯМР). Ультратермостат. Устройство программного регулирования температуры (Королев А.М.,1976)
64.	Метод зондирования ионного гомеостаза клеток (ИГК) диагностики засухоустойчивости растений (Бузукашвили Э.Л. и сотр.,1981)	Зондирование генетически детерминированных особенностей ИГК	Существует связь между ИГК и характером состояния воды в тканях и степенью засухоустойчивостью растений	Широкий спектр гененическо-го разнообразия растений	Спектрометор ядерно - парамагнитного резонанса (ЯМР).Иономер с ионселективнымми электродами. Ультратермостат.
65.	Метод электропроводности растительной ткани (Тарусов Б.Н.и сотр.,1976).	Электропроводность растительной ткани при оптимальных поляризационных процессах.	Разница электропроводности между сортами - стандартами по жароустойчивости при дифференцирующих температурах.	Злаки. Бобовые.	Кондуктометр. Термокамера или фитотрон (Тарусов Б.Н. и сотр.,1976).
66.	Метод спиновых зондов для оценки термоустойчивости (Ратушняк Ю.М.с отр.,1981)	Состояние липидной области мембран.	1 - зонд: эффективные коэффициенты распределения спиновых зондов;	Пшеницы. Бобовые.	ЭПР –Элетроннопарамаг-нитный резонансный спектрометр. Компьютер. Ультратермостат.
67.	-------- // ---------	Состояние	2 – зонд: значения	Пшеницы.	-------- // ---------
68.	-------- // ---------	липидной области мембран.	3 –зонд изменения микровязкости	Бобовые.	-------- // ---------
69.	-------- // ---------	липидной области мембран.	4 – зонд изменение упорядоченности	Бобовые	-------- // ---------

№	1	2	3	4	5
70.	Метод нестационарного импеданса (Водяной В.Я. и сотр., 1972).	Структурные изменения в мембранах, лежащие в основе изменения ионной проницаемости при генерации биопотенциалов.	Степень изменения активной и реактивной составляющих нестационарного импеданса.	Бобовые.	Установка для делькометрических измерений. Ультратермостат.
71.	Метод резонансных спектров молекул связанной воды (Клюкина Л.К. и сотр.,1977)	Тангенс угла диэлектрических потерь при соответствии частоты внешнего поля частоте перехода молекул воды из связанного состояния в свободное в процессе десорбции, при действии температуры.	Величина значения энергии активации (Е) и времени жизни молекул связанной воды (Илькун Г.М. и сотр.,1981)	Пшеницы. Бобовые.	Куметр, типа: «Тесла ВМ-220» - Диапозон частот 20 -220 мГц. Ультратермостат. лучше устройство программного регулирования температуры (Королев А.М.,1976)
72.	Метод импеданса (Ивакин А.П. 1976)	Полное сопротивление тканей	Степень изменения импеданса листа после действия температуры.	Томаты.	Мост переменного тока Р -556. Ультратермостат. Секундомер.
73.	Метод продольного рассеивания света (Бородюк Н.Я. и сотр., 1978; Рвачев В.П., 1978; Оселедченко Т.А. и сотр.,1981)	Структурные изменения	Степень изменения индикатрисы рассеивания	Ульва. Элодея. Каретр	Газовый лазер ЛГ-126. Гониометр с фоторегистратором. Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
74.	Метод импеданса (Тарусов Б.Н.,1938; Тарусов Б.Н. и др 1968 Мелещенко С.Н. 1969. Лобов А.И., Рутковский И.В., 1971; Осипов А.В. 1973; Должников В.И., Жуков Ю.А., 1976.; Королев А.М., 1979; Козорезов В.П., Погорезова Р.Ф.,1981. Олейник К.В., Скварко К.А. 1981.)	Полно сопротивление-импеданс тканей растений.	Степень изменения отношения сопротивления измеряемого на низкой частоте к сопротивлению - на высокой частоте.	Разные растительные объекты.	Мост переменного тока. Генератор. Микропроцессорный анализатор импеданса растительных объектов (RUSLAN) (Королев А.М., 2009) Ультратермостат.
75.	Метод амплитудно-частотного импеданса тканей растений (Королев А.М.,1979)	Дисперсия импеданса тканей.	Температура 50% изменения дисперсии импеданса тканей при изменении скорости нагрева 2^0 и 10^0 мин$^{-1}$.	Пшеница.	Анализатор амплитудно-частотных характеристик, типа: Х1-36 или аппаратура фирмы «Брюль и Къер». Электронное программное устройство регулирования температуры. (Королев А.М.,1976).
76.	Способ регистрации фотоэлектрической активности листа (ОселедченкоТ.А.и сотр.,1981)	Фотоиндуцированная экстраклеточная ответная разность потенциалов.	Степень изменения фотоиндуцированной ответной разности потенциалов листа под действием термообработки.	Злаки. Бобовые. Декоративные.	Хлорсеребряные электроды. Самописец с большим входным сопротивлением. Ультратермотат. Осветитель с светофильтрами.

№	1	2	3	4	5
77.	Метод смешанного отражения (Кувалдин Э.В., Сурин В.Г.,1998)	Коэффициент смешанного отражения листьев в отдельных спектральных интервалах в видимой и инфракрасной области спектра.	Температура изменения коэффициента отражения в разных частях спектра - индекс *виталитета.*	С/х культуры.	Специализированный фотометр для измерения патологических и физиологических измерений в растениях (Кувалдин Э.В., Сурин В.Г. 1998)
78.	Метод нарушения энергетики дыхания (Жолкевич В.Н. и сотр.,1982)	Нарушения превращения аккумулирования энергии в работу.	Температура нарушения пропорциональности между скоростью выделения и потребления кислорода.	Пшеницы	Микрокалориметр Кальве (Франция.); прибор Варбурга (Королев А.М.,.2008) или электрод Кларка США); можно использовать газовый хроматограф настроенный на кислород и углекислоту.
79.	Метод ответной биоэлектрической реакции (Гунар И.И.и сотр.,1959; Стадник С.А.и сотр.1977; ПетрушенкоВ.В.1981).	Структурные изменения в мембранах, лежащие в основе ионной проницаемости при генерации биопотенциалов.	Степень изменения ответной биоэлектрической реакции при кратковременном нагреве корней питательным раствором.	Томаты Пшеница. Кукуруза Бобовые	Хлорсеребрянные Электроды. Милливольтметр с большим входным сопротивлением. Самописец. Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
80.	Метод лазерной доплеровской спектроскопии (Посудин Ю.И.,1983)	Доплеровские характеристики изображения	Статистические модели.	Бобовые	Лазерный доплеровский микроспектрофотометор на базе микроскопа (Посудин Ю.И.,1983). Ультратермостат или Электронное программное устройство регулирования температуры. (Королев А.М.,1976).
81.	Метод потенциала покоя (Зубкус О.П. и сотр.,1973).	Структурные изменения в мембранах лежащие в основе ионной проницаемости при генерации биопотенциалов.	Значения температур, при которых возникают максимумы потенциала покоя.	Злаки.	Хлорсеребряные электроды. Милливольтметр с большим входным сопротивлением. Самописец. Электронное устройство линейного изменения температуры образца (ЭУЛТ), (Королев А.М.,1976).
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАННЫЕ НА ДИСТАНЦИОННОМ ЗОНДИРОВАНИИ ЦИФРОВЫХ ВИДЕОХАРАКТЕРИСТИКАХ С ВОЗДУХА И ОРБИТЫ СПУТНИКА ЗЕМЛИ.					
№	1	2	3	4	5
82.	Метод инфракрасной цветной фотографии (CroxtonR.J. et.al.,1966)	Цветояркостные характеристики мезофилла листа	Цифровой анализ изображений с помощью компьютера	Цитрусовые.	Фотокамера: Wild Super-AviogonII фирмы Wild Heerbrug.

№	1	2	3	4	5
83.	Метод инфракрасной цветной фотографии и инфракрасного радиометра (Myers V.I. et. al.,1966)	Цветояркостные характеристики мезофилл листа	Цифровой анализ изображений с помощью компьютера. Сканирование радиометрической информации в диапазоне 5 - 15 мкм	Хлопчатник.	Фотокамера Wild Super-Aviogon II фирмы Wild Heerbrugg Ltd. Тепловизор с компьютером.
84.	Метод многоспектральных сканеров (Edwars G.J.,et.al.,1975; Avian Systems, 1995).	Цветояркостные характеристики мезофилла листа	Сканирование спектральной и радиометрической информации в диапазонах λ = 250 - 600 нм., λ = 0,6 – 5 мкм λ = 5 - 15 мкм с самолетов, ракет, спутников и космических кораблей.	Пшеница. Цитрусовые.	Многоспектральное космическое оборудование: SO-65, ЭРТС-1(2,А,В), Лэндсэт – 2 (Edwars G.J.,et. al.,1975); Тепловизор с компьютером. Программое обеспечение анализа изображений (Avian Systems, 1995).
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАНЫЕ НА БИОХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИКАХ					
№	1	2	3	4	5
85.	Метод по уровню кинетика (Libbert E.,1974); (Кринкер М.С. и сотр.,1981)	Содержание кинетина	Степень изменения количества кинетина в листьях при дифференцирующих температурах.	Бобовые	Спектрофотометр. Химреактивы. Электронное устройство линейного изменения температуры образца (ЭУЛТ), (Королев А.М.,1976).
86.	Метод по уровню пролина (Старцев А.В.,1964; Шматько И.Г.и р.,1968;1976; Стаценко А.П; Бутылкин Ф.А. 1999)	Содержание пролина	Степень изменения накопления пролина в листьях при дифференцирующих температурах.	Пшеницы.	. Спектрофотометр. Химреактивы. Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
87.	Метод по уровню абсцизовой кислоты (Rasmussen K.,1976; Веселов В.А. и сотр.,2011).	Содержание абсцизовой кислоты	Степень изменения количества абсцизовой кислоты в листьях при дифференцирующих температурах	Злаки Бобовые.	Спектрофотометр. Химреактивы. Ультратермостат.
88.	Метод уровня нуклеиновых кислот (Кожушко Н.Н. и сотр.,1975)	Содержание нуклеиновых кислот	Степень изменения количества нуклеиновых кислот в листьях после прогрева.	Пшеница	Спектрофотометр. Химреактивы. Ультратермостат.
89.	Метод уровня синтетических процессов (Сисакян Н.М.,1940; Генкель И.А.и сотр.,1950)	Уровень синтетических процессов	Значение температур нарушения синтетических процессов или их уровня.	Злаки	Дозиметрическая сцинциляционная аппаратура. Ультратермостат.
90.	Метод по уровню синтеза белка (Сатарова Н.А.,1971).	Уровень синтеза белка	Степень изменения включения в разные белки ^{14}C ,^{1}H ,^{15}N после дифференцирующего прогрева.	Злаки.	Дозиметрическая сцинциляционная аппаратура. Автография. Электронный микроскоп. Ультратермостат
91.	Метод по уровню синтеза белка (Stutte C.A.,Todd .W.,1967)	Уровень синтеза белка	Степень изменения фракции белков с молекулярным весом >100000 и возрастания низкомолекулярных белков после дифференцирующего прогрева	Пшеница.	Гельфильтрация или электрофорез. Денситометр, ультратермостат.
92.	Метод стабильности хлорофилла (Kolovereas S.A.,1958; Boyed B.J.,Walker M.J., 1972)	Стабильность хлорофилла	Количество зеленых пигментов после погружения в горячую воду (+55^{0}, 30 мин.)	Сосна Пшеница Яблоня	Ультратермостат. Фотоколориметр. Секундомер.

№	1	2	3	4	5
93.	Метод хлорофилл-белково-липидной пробы (Лютова М.И.,1963).	Прочность хлорофилл - белково-липидной связи	Значение дифференцирующей температуры или степень экстракции хлорофилла петролейным эфиром в результате деструкции белков.	Злаки.	Спектрофотометр или фотоколориметр, химреактивы, ультратермостат.
94.	Метод нарушения синтеза пигментов (Ивакин А.П.,1976; Шматько И.Г. и сотр.,1976)	Синтез хлорофиллов «А», «Б».	Значение температур нарушения синтеза хлорофиллов «А», «Б».	Злаковые Бобовые.	Спектрофотометр или фотоколориметр, химреактивы, Ультратермостат.
95.	Метод уровня сульфидных групп SH/SS (Анев В.Н. и сотр.,1976)	Содержание сульфидных групп SH/SS.	Значение температуры, при которой происходит резкое снижение содержания сульфидных групп /SH/.	Бобовые.	Установка для амперометрического или флуоресцентного МАФ (меркурацетата флуоресцеина) титрования (Фрайфелдер Д,1980).Ультратермостат.
96.	Метод Хлебниковой (ХлебниковаН.А.,1932).	Коагуляция водорастворимых белков.	Значение температур, при которых появляются хлопья коагулирующего белка.	Злаки. Бобовые	Ультратермостат. Проточный фотоколориметр с термостатируемой кюветой.
97.	Метод по извлечению водорастворимых белков (Щерабакова А.М. и сотр.,1969; 1971).	Коагуляция белка	Значение температур, при которых происходит резкое снижение извлечения водорастворимых белков .	Пшеница	Проточный фотоколориметр. Самописец. Ультратермостат.
98.	Метод Мацкова (Мацков Ф.Ф.,1936).	Коагуляция белка	Значение температур, при которых происходит образование бурых пятен после обработки 0,2N соляной кислотой, в результате чего образуется феофитин.	Пшеница	Ультратермостат, 0,2N соляная кислота. Секундомер.

№	1	2	3	4	5
99.	Метод плазмолиза (Генкель П.А и сотр.1950)	Коагуляция белка	Значение температур, при которых происходит нарушение плазмолиза.	Пшеница	Микроскоп. Набор осмотических растворов. Ультратермостат.
100.	Метод тетразольного теста (Щербакова А.М., 1969)	Коагуляция дегидраз	Значение температур, при которых происходит изменение поглощения экстракта из листьев при $\lambda = 277$ и $\lambda = 422$ нм.	Пшениц	Микроскоп. Наборы химических реактивов, растворов. Секундомер. Ультратермостат.
101.	Метод термоустойчивости ферродоксина (Фельдман Н.Л. и отр.,1973)	Активность и коагуляция ферродоксина	Значение температур, при которых происходит изменение поглощения экстракта.	Белоцветник	Наборы хим.реактивов, хим. посуда, установка для электрофореза, ультра-термостат, спектрофотометр.
102.	Метод термоустойчивости хлорофиллазы (Шматько И.Г. и сотр.,1976)	Активность хлорофиллазы	Значение температур, при которых происходит повышение гидролитической активности хлорофиллазы.	Злаки.	Наборы хим.реактивов. Хим. посуда, установка для электро-фореза. Ультратермостат, спетрофототометор.
103.	Метод жароустойчивости (Шматько И.Г. и сотр.,1986)	Аминокислотный «статус», наруше-ние структуры аминокислот	Коффициент нарушения структуры аминокислот при дифферциирующих температурах	Пшеница	Аминоанализатор. Наборы хим.реактивов. Химическая посуда. Установка для элек-трофореза. Ультратермостат.
104.	Метод термоустойчивости АТФазы. (Фельдман Н.Л. и сотр.,1966)	Активность АТФазы.	Значение температур, при ко-торых происходят изменения активности АТФазы.	Фасоль Горох. Белоцветник.	Наборы хим.реактивов. Хим. посуда. Установка для электрофореза. Денситометр. Спектрофотометр Ультратермостат

№	1	2	3	4	5
105.	Метод термоустойчивости малатдегидразы (Kinbacher E.J. 1967)	Активность малатдегидразы	Значение температур, при которых происходят изменения поглощения в области λ= 330 нм. (пропорциональное изменению активности).	Фасоль	Наборы хим. реактивов. Хим.посуда. Установка для электрофореза. Спектрофотометр. Электронное устройство линейного изменения температуры образца (ЭУЛТ), (Королев А.М.,1976).
106.	Метод термоустойчивости кислой фосфатазы (Фельдман Н.Л. и сотр.,1966)	Активность кислой фосфатазы.	Значение температур, при которых происходят изменения поглощения в характерной области (пропорциональное изменению активности).	Горох. Белоцветник.	Наборы хим.реактивов. Хим. посуда. Установка для электрофореза. Ультратермостат. Денситометр. Спектрофотметр.
107.	Метод белков хлоропластов (Самиева Х.С., Марфина К.Г..1981)	Электрофоретический анализ белков хлоропластов	Значение предельных температур, сохранения разных по относительной молекулярной массы белковых фракций	Пшеница	Наборы хим.реактивов. Хим. посуда. Установка для электрофореза.Денситометр или спектрофотометр. Ультратермостат
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ОСНОВАНЫЕ НА ПРИНЦИПАХ БИОХИМИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ					
№	1	2	3	4	5
108.	Метод контроля транскрипции ферментов (Viera da Silva et.al.,1967).	Генетический детерминированный полиморфизм	Индекс контроля транскрипции ферментов при дифференцирующих температурах	Хлопчатник.	Набор хим. реактивов для иммунохимии и электрофореза. Гидролизатор. Прибор для электрофореза. Денситометр.Спектрофотометр. Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
109.	Метод контроля изоферментного состава (Me Cown B.H. et. al.,1969)	Генетический детерминированный полиморфизм	Богатый изоферметный спектр характеризует более термоадаптаивные генотипы. (при дифференцирующих температурах)	Пшеницы. Бобовые.	Набор хим. реактивов, электрофореза и иммунохимии. Гидролизатор. Прибор для электрофореза. Денситометр. Спектрофотометр. Ультратермостат.
110.	Метод определения степени солюбилизации ферментов (Viera da Silva et.a.,1969).	Генетический детерминированный полиморфизм	Степень солюбилизации ферментов при дифференцирующих температурах	Хлопчатник .	Набор хим. реактивов. Гидролизатор. Прибор для электрофореза или иммунохимии, денситометр, спектрофотометр .
111.	Метод определения активности генома (Сердюк Л.С., Конарев В.Г.,1970)	Структурное состояние ДНК в ядре	Флуоресцентный цитохимический анализ в сочетании с обработкой препаратов РНК-азой, ПАСКом	Пшеница	Микроскоп – спетрофлуориметр. Набор хим. реактивов: РНК-азой, ПАСКом и т.д.
112.	Геномный анализ (Сатарова Н.А.,1971,1974)	«Емкость» генома	Чем больше емкость генома – тем лучше реализация адаптивных возможностей	Пшеница	Набор хим. реактивов. Гидролизатор. Прибор для электрофореза и иммунохимии. Денситометр. Спектрофотометр
113.	Метод белковых маркеров - геномный анализ (Конарев В.Г.,1974; Гаврилюк И.П.,1975)	Генетический детерминированный полиморфизм (специфическая структура спектра глиадина)	В качестве белковых маркеров - маркеры спектра белков глиадина	Пшеница.	Набор хим. реактивов. Гидролизатор. Прибор для электрофореза и иммунохимии. Денситометр. Спектрофотометр .

№	1	2	3	4	5
114.	Метод Созинова – геномный анализ (Созинова А.А 1980)	Генетический детерминированный полиморфизм. (специфическая структура белков и белковых блоков)	Комплексное использование гибридологического моносомного и транслакационного анализа с современнымии методами разделения белков и белковых блоков .	Пшеница	Набор хим. реактивов. Гидролизатор. Прибор для электрофореза и иммунохимии. Денситометр, спектрофотометр.
115.	Метод анализа высокоразрешающих профилей Термической денатурации реассоциированных повторяющихся последовательностей ДНК (CuellarR.E.et al.,1978).	Генетический детерминированный полиморфизм (специфическая структура повторяющихся последовательностей ДНК)	Геномное картирование ДНК.	Горох	Набор хим. реактивов. Спектрофотометор для снятия термических профилей плавления ДНК. Компьютер + прибор для анализа профилей методом высших производных (Сааков В.С.,1976,1987, 2010).
ИНФОРМАЦИОННО - МАТЕМАТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАК МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЖАРОУСТОЙЧИВОСТИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ					
№	1	2	3	4	5
116.	Метод Иогансена (Иогансен В.,1933; Перфильев .В.,1969)	Коэффициент *асимметрии*	В благоприятных условиях *асимметрия* отрицательная, а в неблагоприятной - положительная	Злаки. Плодовые.	Компьютер. Мат.обес.пакеты типа: STATGRAPHICS, фирм. STSC, Inc., США; или BMDP, разработанный фирмой Health Sciences Computing Faclity Dep. of Biomathematics School of Medici ne University of California, Los Angeles, США; или – STADIA.

№	1	2	3	4	5
117.	Метод экологической приспособляемости (Wricke G.,1962),	Отношение *общей суммы квадратов отклонений* к доле этой величины, которая вызвана температурным фактором	Чем больше значение данного коэффициента, тем неблагоприятнее условия для данной исследуемой системы.	Все культуры	Компьютер пентиум. Математическое. обеспечение пакеты типа: STATGRAPHICS.
118.	Метод коэффициентов Вариации (Гафизов М.Г., 1970; Шустер В. и сотр.,1968; Момонов Л.,1974,1978);	Коэффициент *вариации*	С увеличением неблагоприятного влияния внешней среды коэффициент вариации увеличивается	Все культуры	Компьютер пентиум. Мат. обес. пакеты типа BMDP, STADIA, разработана Кулаичевым А.П. в России.
119.	Метод информационной энтропии и аналогов (Бриллюн Л.,1960; Ветцель Е.С.,1969; Антомонов Ю.Г.,1977; Свережев Ю.М. и сотр.,1972),	Информационная энтропии и аналогов	С увеличением неблаприятного влияния сред коэффициент *энтропии* и аналогов, увеличивается	Все культуры	Компьютер пентиум. Мат.обес.пакеты типа: STADIA, разработана Кулаичевым А.П. в России
120.	Метод потерь реализуемой генетической информации (Ким Г.Г.,1976).	Потеря реализуемой генетической информации	Снижение коэффиента. *Спирмена* при стрессе.	Все культуры	Компьютер пентиум. Мат. обес. Ппакеты типа: STATGRAPHICS или-STADIA, разработанного Кулаичевым А.П. в России
121.	Метод Турсунова (Турсунов Х.З.,1982)	Анализ изображений микроструктуры	Статистические характеристики изображений микроструктуры.	Хлопчатник.	Микроскоп-фотометор МЦФУ-1. Статистический анализатор «Протва – С». Ультратермостат.

№	1	2	3	4	5
122.	Системный подход к проблеме устойчивости растений (Урманцев Ю.А.,1979)	Концептуальный подход к проблеме устойчивости	Коэффициенты полиномной модели	Пшеница	Компьютер. Статистические пакеты типа: BMDP, «Statgraf», STADIA, разработанного Кулаичевым А.П. в России
123.	Многофакторное планирование эксперимента при диагностике устойчивости растений (Галкин В.И.и сотр.,1976; Галкин В.И. и сотр.,1978;)	Многофакторное планирование эксперимента	Коэффициенты полиномной модели потенциальной интенсивности фотосинтеза растений	Свекла Пшеница	Компьютер пентиум. Мат. обес. пакеты типа:STATGRAPHICS, фирм. STSC, Inc., США; или BMDP, разработанный фирмой Health Sciences Computing Faclity Dep. of Biomathematics School of Medici ne University of California,Los Angeles, США ;или – STADIA.
124.	Многометрический информационный анализ (Ланин М.И. и сотр.,1978)	Применение многометрического информационного анализа для исследования сопряженности качественных признаков	Анализ исследования *сопряженности* качественных признаков	Пшеницы Свекла Овощные	Компьютер пентиум. Мат.обес.пакеты типа: STATGRAPHICS, фирм. STSC, Inc., США; или BMDP, или – STADIA разработана Кулаичевым А.П. в России
125.	Оценка засухоустойчивости растений по комплексу признаков (Фалькова Т.В.,1981)	Анализ различных физиологических характеристик	Статистическая модель	Полукустарники. Травы.	Компьютер. Стат/ пакеты типа: «Statgraf» или STADIA разработана Кулаичевым А.П. в России

№	1	2	3	4	5
126.	Способ диагностики компонентов термоадаптивности и теневыносливостирастений (Королев А.М. 1980, 1993)	Многофакторное планирование эксперимента	Коэффициенты полиномной модели полученные методом замедленной флуоресценции	Пшеница	«Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» «FLA» (Королев, 1993).
127.	Оценка по комплексу физиологических признаков (Яблонский Е.А.,1981)	Алгоритм дисперсионного анализа различных характеристик	Тип морфогенеза и ростовых процессов	Плодовые	В зависимости от исследуемых физиологических, функций, параметров, характеристик.
128.	Комплексная оценка засухоустойчивости растений. (Осипов Ю.Ф.,1988)	Многофакторное планирование эксперимента	Коэффициенты полиномной модели морфологических признаков	Горох. Злаки.	Компьютер. Статистические пакеты типа: «Statgraf»
129.	Производная спектрофотометрии и факторный анализ как способ оценки устойчивости растений (Сааков В.С.,1989; 2010)	Многофакторное планирование эксперимента	Коэффициенты полиномной модели полученные методом производной спектрофотометрии (Сааков В.С.,1987; 2010)	Рис Пшеница	Компьютер. Стат. пакеты типа: «Statgraf». Спектрофотометор типа: «Spektrokom» ГДР. Электронное устройство линейного изменения температуры образца, (Королев А.М., 1976).
130.	Анализ взаимосвязи водообеспеченности питания и аминокислотного состава пшеницы (Шматько И.Г.,1986)	Многофакторное планирование эксперимента	Коэффициенты полиномной модели полученные методом биохимии белков	Пшеница	Компьютер. Статистические пакеты Типа: Statgraf». Аминокислотный анализатор «Хитачи»

№	1	2	3	4	5
131.	Диагностика термоадаптации растений (Королев А.М. и сотр., 1990; Королев А.М., Можельский А.Н., Кузнецов С.Ю. и сотр.2016).	Многофакторное планирование эксперимента с процедурой на период стресса «расширять» либо «сужения» факторного пространства	Коэффициенты многопараметрической оптимальной полиномной модели с процедурой распознания образов	Пшеница, овощные	«Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» «FLA» (Королев А.М., 1993). Мат.обес.пакеты типа: STATGRAPHICS, или BMDP США ; или - STADIA, разработаны Кулаичевым А.П. в России

5.8.Требования, предъявляемые к методам исследования жароустойчивости и повреждения растений.

Следует перечислить совокупность требований, предъявляемых к данным методам:

- прежде всего, должны быть достоверны и
- надежны результаты оценки.

Успешное решение этого требования определяется:

- хорошим знанием методологии метода,
- правильным проведением эксперимента,
- применяемыми средствами измерений, а так же измерительной культурой эксперимента;
- большое значение имеет высокая производительность применяемых методов;
- сохранением в живом виде исследуемого растения для получения семенной продукции, например, при использовании метода индивидуального отбора растений, когда в селекционной - генетической работе имеется лишь ограниченное их количество. Таких методов до настоящей работы по патентной и научно-исследовательской литературе не было (Королев А.М., 1977).
- в основе диагностики должен лежать не субъективно - глазомерный учет, а *количественная инструментальная многофакторная оценка* в виду того, что уровни жароустойчивости различных сортов одной культуры различаются, как правило, незначительно.

5.9.Анализ - проблемы в методологии современных «косвенных» методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений.

Анализ, как и любой анализ, позволяет понять, хорошие и плохие стороны рассматриваемых 130 методов. В данном случает это речь идет о современных «косвенных» методах диагностики жароустойчивости и повреждения растений. Наш анализ начинается с понятия «жароустойчивость растений!

Понятие: «жароустойчивость растений», в основе которой лежит «адаптивность», оказалось сложнее, чем думали и оценивали поначалу. Выяснилось, что явления «адаптивности» являются не просто сложными, а архисложными, так как по своей природе они междисциплинарны – синергетичны и буквально пронизывает всю нашу жизнь!

Оно вобрало в себя всю суть жизни и знания не только физиологии растений, но и синтетические знания: теорию автоматического регулирования, многофакторное планирование эксперимента, математику, биофизику, микробиологию, вирусологию, медицину, генетику, селекцию, теорию систем и т.п.

«Языковой барьер» - междисциплинарный барьер и по сей день мешает решить проблему. Сложности рассматриваемого *явления* должны соответствовать сложностям методов исследования. В связи с этим сложную систему явления «адаптивности» гомеореза, например: растений, нельзя исследовать и оценивать однофакторными методами – и это очевидно!

К большому сожалению, следует отметить, что в основе всех вышеприведенных 130 «косвенных» методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений лежат как раз методы однофакторные – однопараметрические, а значит - малоинформативные, которые, можно сказать, фрагментарно выхватывают случайную часть диагностируемого явления. Поэтому этим методам присущи недостатки, которые, как атавизм, достались по наследству с неразвитостью многофакторного планирования в данной области. И это закономерно, т.к. является «болезнями» научного роста. Можно привести много парадоксальных конъюнктурных фактов подтверждения старым тенденциям, не только в науке и производстве.

В частности, Федеральный институт промышленной собственности (Институт патентной экспертизы) СССР и России продолжает регистрировать однофакторные - однопараметрические способы и устройства для их осуществления, «зная», что они заведомо малоинформативны, а, значит, не позволяют достоверно описывать явления адаптивности.

Исключение из вышеприведенных 130 методов, составляют методы основаные на принципах биохимической генетики и информационно - математических показателей. Высокая информативность этих методов состоит в том, что они многопараметрические и о поэтому более полно описываю исследуемый геном.

Преимущество предлагаемого многофакторного исследования заключается в том, что данный подход показывает *реальную* работу авторегуляторных механизмов АПС, а подход основанный принципах биохимической генетики и информационно - математических показателях показывает лишь потенциальные возможности генома исследуемых гомеорезов. Поэтому только многопараметрическое – многофакторное исследование с новой междисциплинарной кон-

цепций «Адаптивных механизмов биологических систем», на примере диагностики адаптационных плановых структур «АПС» гомеорезов растений, позволяют решить проблему, т.е. оценить гомеорез маркерами математического полинома:

- *эффектам главных исследуемых факторов;*
- *эффектам нелинейности;*
- *эффектам синергизма, антагонизма;*
- *достоверности эксперимента;*
- *адекватности модели.*

Такое большое количество маркеров в матрице исследуемого гомеореза растения позволяет более подробно идентифицировать гомеорез, как генотип (Королев, **У**довенко, 1981а;1981б; Королев, Кондратенко, 1982; Василенко, Королев, 1990; Королев,1993; Королев А.М., Можельский А.Н., Кузнецов С.Ю. и сотр.,2016).

В чем же причины застоя по данной проблеме?

Корни, конечно же, обусловливаются неполнотой теоретического обоснования явления, отсутствием смежных знаний, в силу консервативности - конъюнктурности, связанной с разобщенностью исследования по проблеме. Только синергетический - системный – междисциплинарный поход к проблеме, т.е. «интеллектуальный штурм», позволит решить проблему.

В связи с этим следующий основной этап нашей работы заключался в демонстрации:

- теоретических и практических технологий организации биофизического многофакторного эксперимента в соответствии с новой междисциплинарной концепцией: «Адаптивных механизмов биологических систем», на примере диагностики адаптационных плановых структур («АПС») гомеорезов растений;
- *многофакторного эксперимента* по четким задачам разработанных гипотез, моделей, теорий, позволяющих раскрыть скрытые *адаптационные явления специфики гомеорезов* «АПС» на примере исследуемых растений;
- диагностики «АПС» в автоматизированном биофизическом многофакторном эксперименте:
- представления об автоматизированном эксперименте научных исследований,
- о его преимуществах,
- перспективах;

- «вводная» о понятии и типах интерфейсов;
- их программной поддержке.

Для начинающего исследователя, мало знакомого со схемотехникой, вычислительной техникой и программированием:

- дается история развития работ по автоматизации научных исследований;
- показано сопряжение компьютера с экспериментальными установками, приборами, на которых проводится эксперимент;
- дается понятие - «вводная» о платах сбора данных (***data acquisition boards*** **или ПСД**);
- дается достаточно обширная справка о выпускаемых российскими фирмами **ПСД**;
- их программной поддержке;
- высказывается ведущая роль флуоресцентных биофизических методов в практике диагностики «АПС» в многофакторном автоматизированном эксперименте;
- показан пример разработки биофизического автоматизированного «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» - «FLA» и «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» - «ВПФД» с организацией биофизического многофакторного эксперимента в новой концепции: «Диагностики адаптивных механизмов растений»;
- показана классификация проблем/ошибок, встречаемых при организации биофизических экспериментов с использованием флуоресцентных методов на базе оптики, компьютеров и микропроцессоров;
- даны примеры применения «FLA» и «ВПФД».

Но все по порядку.

6.0.Многофакторное планирование эксперимента.

6.1.Требования к многофакторному эксперименту «МПЭ».

В связи с тем, что *многофакторный* эксперимент по проверке теории, гипотезы, модели и проводят по плану, можно говорить о требованиях к плану эксперимента:

- *воспроизводимость* означает возможность повторения эксперимента в тех же условиях другими исследователями с получением результата, отклоняющегося от ранее полученного, в пределах его известной ошибки и надежности;
- *наличие* контроля предполагает, что новые явления и воздействия будут воспроизводиться одновременно с явлениями и воздействиями уже известными, изученными, установившимися в одинаковых условиях. Часто слово «эксперимент» употребляют не совсем верно, потому что отсутствует контроль (при этом не учитываются адаптивные и оптимальные свойства объекта, которые чрезвычайно важны!);
- *достоверность* - неотъемлемая черта эксперимента. Замеряемые величины нестабильны, они варьируют. Поэтому малое число опытов и замеров приведет к ошибке. Но при большом числе опытов можно получить ненадежный, ошибочный результат, если обработать результат неправильно. Для получения достоверных, надежных результатов надо провести необходимое число опытов, а результаты обработать методами математической статистики с использованием теории ошибок. Не может быть речи о достоверности эксперимента, если он не продуман, не обоснован всесторонне;
- *ортогональность* означает, что все оценки плана эксперимента получаются независимо;
- *робастность* предусматривает разработку малочувствительных планов к возможному изменению модели хотя бы в пределах некоторого их класса или группы;
- *ротатабельность* указывает, что, полученное с помощью этого плана уравнение регрессии, обладает свойством зависимости дисперсии оценки модели только от длинны радиуса, проведенного из центра эксперимента;
- *униформальность* – критерий требующий, чтобы дисперсия оценки модели эксперимента в некоторых областях вокруг центра эксперимента была практически постоянной;

- *насыщенность* предполагает стратегию: число измерений равно числу неизвестных параметров, т.е. планы с меньшим числом измерений не позволяют найти единичную оценку всех параметров;
- *композиционность* – разделенность эксперимента на несколько этапов, от простых моделей к сложным.

В отличие от наиболее распространенного *однофакторного* метода исследования, когда изучается действие каждого фактора в отдельности, существуют методы, позволяющие при исследовании сложных процессов выполнять эксперименты так, чтобы варьировать все факторы сразу – *многофакторное* планирование. Это способствует повышению эффективности эксперимента и выражающейся в том, что интересующие экспериментатора параметры определяются со значительно меньшей ошибкой, чем при традиционных методах исследования. При этом с повышением числа факторов повышается точность эксперимента. В этом случае существенную роль играет *планирование экспериментального* исследования. Без преувеличения можно констатировать, что применение многофакторного планирования в биофизических исследованиях открывает новую эру в современных синергетических (междисциплинарных) экспериментах, пример которого мы представляем в разделе 11.0: «Междисциплинарная концепция адаптационных явлений гомеорезов».

6.2.Протокол эксперимента - лабораторный журнал.

Общие положения. Протокол эксперимента или документация - лабораторный журнал («ЛЖ») является необходимым и обязательным атрибутом многофакторного исследования, в особых случаях - юридическим документом. Он позволяет детально и последовательно рассказать о проведении эксперимента. «ЛЖ» должен быть пронумерован, прошит капроновой ниткой, опечатан. Каждый протокол эксперимента подписывается руководителем отдела и исполнителем. «ЛЖ» не допускает исправлений, подтирок. Любое исправление заверяется руководителем отдела. «ЛЖ», конечно же, существует в автоматизированном эксперименте и в электронном виде. Структура его такова:

6.3.Анкета лабораторного журнала

Анкета лабораторного журнала или протокола эксперимента состоит, как правило, из следующих разделов:

- **Постановка цели исследования……..**

- **Формулировка задачи исследования……**
- **Программа исследования……**
- **Параметры, характеризующие процесс: реакции «У» -** критерии качества гомеорезов биосистемы……

Рассмотрим реакции «***У***» исследуемых гомеорезов биологических систем. По свойствам их можно разделить на три типа: *интегрирующие (а), инерционные (б)* и *колебательные (в)*. Обычно рассматриваются и сравниваются реакции при стандартном возмущении - скачкообразном входном сигнале. Будем обозначать через «*Х*» входное воздействие на исследуемую систему, а через *«У»* - выходную координату звеньев.

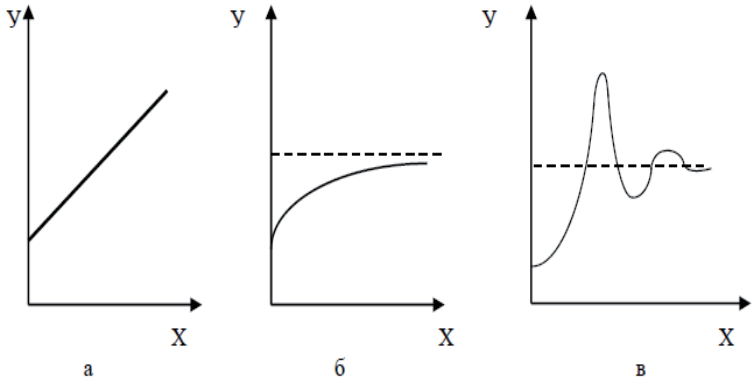


Рис. 6.1..Реакции гомеорезов биологических систем.

На *рис*.. изображена реакция гомеорезов этих 3-х типов в ответ на единичное скачкообразное входное воздействие. Видно, что выходная координата интегрирующего звена изменяется по закону прямой линии (рис.6.1.а). Выход инерционного звена характеризуется плавным подходом по экспоненте к установившемуся значению (рис.6.1.б). Колебательное звено характеризуется колебаниями выходной координаты относительно установившегося значения (рис.. в).

Переходные функции. Изменения выходной координаты гомеорезов при единичном входном воздействии называются *переходными функциями.* К наиболее распространенным критериям качества *переходных функций,* исследуемых авторегуляторных механизмов гомеорезов биологических систем, относятся, см. т**аб**.6.1; **рис. 6.2.**

Таблица 6.1.

Критерии качества *переходных функций* исследуемых авторегуляторных механизмов гомеорезов биологических систем

№	Критерии качества	Ед.измер.
1	Время переходного процесса	$t_{рег}$
2	Время установления, перерегулирования	t
3	Число и частота колебаний исследуемой реакции в течение переходного процесса - колебательность	N
4	Время запаздывания ответа на изменение условий, как при воздействии, так и при его устранении	$t_{зап}$
5	Особенности кинетики возврата в исходное состояние после устранения воздействия	t
6	Напряженность (на пример), температуры или доз, начиная с которой процесс не возвращается на исходный уровень, несмотря на прекращение воздействия	T^0
7	Порог чувствительности по отношению температурному воздействию, вызывающему 50 % или 100 % ингибирование или стимулирование (т.е. нулевой метод оценки)-пробит- метод	T^0
8	Метод разности в амплитуде реакций исследуемых систем на одинаковое температурное воздействие	**ΔA**

Статистические и информационные показатели.

К числу характеристик, используемых при исследовании гомеорезов биологических систем, следует отнести двухфазную ответную реакцию, а также некоторые общие статистические и информационные показатели, такие, как *коэффициент асимметрии* (Иогансен ,1933; Перфильев, 1969). Согласно авторам, вероятность осуществления биологическими системами присущих им потенциальных возможностей близка к 50 %, что находит свое отражение в симметричной кривой распределения. При действии неблагоприятных, в частности, температурных факторов значение этой вероятности снижается, и, в результате,

получается *асимметричное распределение с положительным знаком коэффициента асимметрии.* В благоприятных условиях действия температурного фактора эта вероятность повышается, и *асимметрия становится отрицательной.* Очень часто переход исследуемой системы из одного состояния в другое нелинеен и происходит по сигмовидной кривой, что свидетельствует о ее *кооперативности* (Конев и сотр., 1970,1972). Здесь проявляется принцип биокибернетики: «*Степень разнообразия сохраняющихся реакций убывает с ростом их быстродействия*» (Ляпунов,1964). *Кооперативность* имеет огромное значение в работе ряда биологических механизмов *гомеорезов* на всех уровнях биологической организации: клеточном и молекулярном, органном и организменном. Суть ее состоит в том, что при наличии нескольких или многих реагируемых единиц, взаимосвязанных между собой, реакция первой единицы облегчает ответ второй, реакция второй - ответ третьей и т. д. При условии, когда реакция одной единицы не влияет на реакционную способность других единиц, т.е. при отсутствии кооперативности, функция будет представлена гиперболой (рис...). При наличии кооперативности эта зависимость имеет вид ***«S»*** - образной кривой. Значение показателя кооперативности системы определяют по тангенсу угла кривой «доза – эффект» в координатах Хилла (Рис..). Очень интересным является так называемый *коэффициент экологической приспособляемости* (Врике,1962), характеризующий отношение общей суммы квадратов отклонения к той доле этой величины, которая вызвана температурным фактором. Чем больше значение данного коэффициента, тем неблагоприятнее условия для данной исследуемой системы - гомеореза.

Широкое распространение при исследовании термоадаптации гомеорезов находят показатели:

- *коэффициентов вариации* (Гафизов, 1970; Момонов, 1974,1978; Шустер и сотр., 1968;);
- *информационной энтропии и аналогов* (Антомонов, 1977; Бриллюэн ,1960; Ветцель, 1969; Свережев. и сотр., 1972);
- *потерь реализуемой генетической информации* (Ким,1976).

Как видно из вышеизложенного, переходный процесс исследуемой системы при температурном воздействии полностью характеризует ее динамику, и поэтому его характеристики широко используются при исследовании термоадаптации растений (Генкель,1950, 1952, 1955, 1967, 1968, 1971, 1975; Сааков,1971, 1973, 1974 Тарусов и сотр., 1978; Ортаидзе и сотр., 1977; Удовенко, 1976).

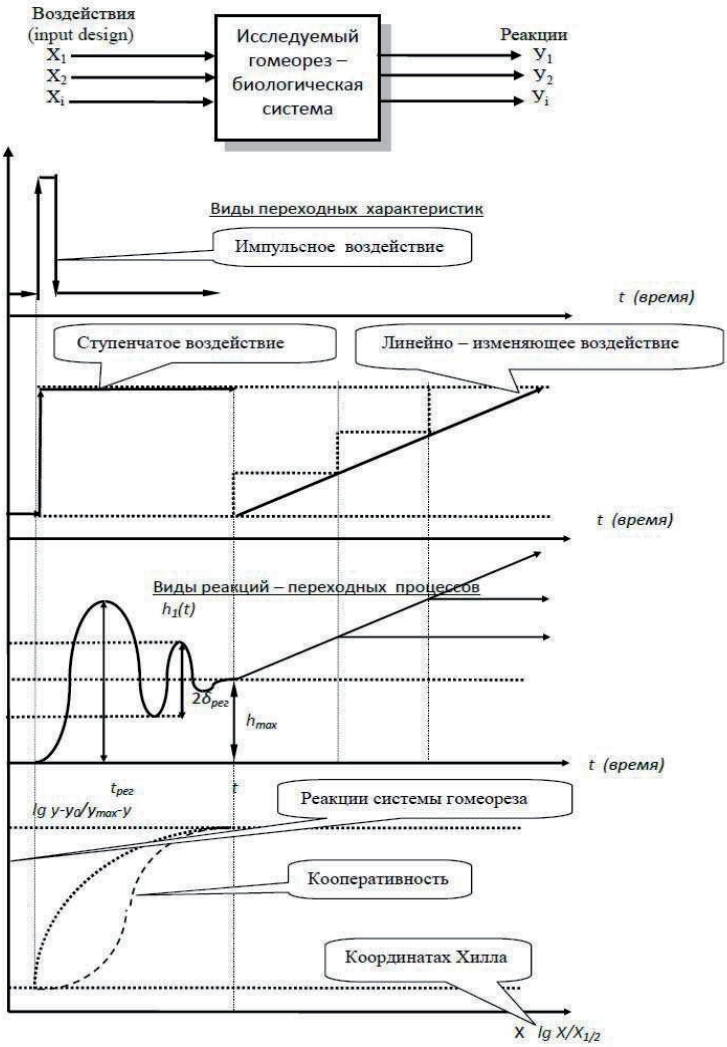
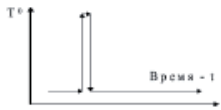
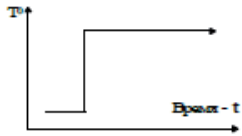
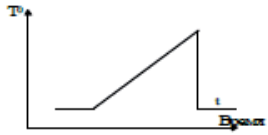
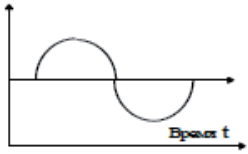
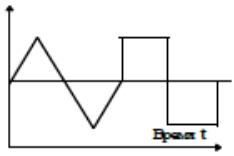


Рис. 6.2. Характеристика входных и выходных воздействий гомеорезов исследуемых биологических систем

Таблица 6.2.

Основные типы тестирующих воздействий, используемых при исследовании биологических систем.

Виды и формы входных воздействий на исследуемый «Черный ящик»			Авторы, использующие данную функцию
Виды входных воздействий	Форма функции	Форма, функции воздействия	
1	2	3	4
ПЕРЕХОДНЫЕ	ИМПУЛЬСНАЯ		Гунар и сотр., 1959,1961, 1970; Джанумов и сотр.,1971; Стадник и сотр., 1977
	СТУПЕНЧАТАЯ		Максимов и сотр.,1939; Олейникова, 1964; Голодрига и сотр., 1967; Генкель и др., 1950, 1951; Александров 1952, 1955, 1956.
	ЛИНЕЙНАЯ		Китлаев и сотр., 1967; Джанумов и сотр., 1971; Веселовский и др., 1972; Королев, 1979; 1979; 1989; 1990; 1993.
ПЕРИОДИЧЕСКИЕ	СИНУСОИДАЛЬНАЯ		Королев , Удовенко.,1981
	ТРЕУГОЛЬНАЯ ИЛИ ПРЯМОУГОЛЬНАЯ		
СТАТИСТИЧЕСКИЕ	СЛУЧАЙНЫЕ ИЛИ ПСЕВДОСЛУЧАЙНЫЕ		

Часто очень полезным является рассмотрение *частотной характеристики* звена. К понятию частотной характеристики приводит анализ выхода звена при воздействии на вход так называемого гармонического возмущения. В этом случае амплитуда и фаза незатухающего входного колебания, характерная для данного входного сигнала, проходя через звено, изменяется по амплитуде и фазе. Различают так же амплитудно-частотные и фазо-частотные характеристики (Королев и сотр., 1981, 1983).

Способы «получения» реакции гомеореза

Способы «получения» реакции гомеореза биологических систем можно разделить на: *индуцированные* и *неиндуцированные*. Например: сверхслабая хемилюминесценция - неиндуцированная реакция; послесвечение (замедленная флуоресценция - «ЗФ») - индуцированная.

Реакции гомеореза.

Характеристики гомеореза биологической системы («БС») на воздействие следует подразделять на *статические* и *динамические.*

Статические характеристики гомеореза «БС» представляют зависимость между входной величиной - (Х) и выходной - (У) в установившимся режиме,

при котором сумма действующих сил и моментов на биологическую систему равна нулю, т.е. после затухания переходного процесса:

$$У = \boldsymbol{f}(\boldsymbol{X_1}, \boldsymbol{X_2}, \ldots\ldots \boldsymbol{X_i}) \qquad (6.1)$$

Динамические характеристики гомеореза «БС» определяют характер перехода системы *У* из одного состояния в другое при резком изменении температуры – Т или другого входа/ов (Х):

$$У = f\,(t) \qquad (6.2)$$

где: *t* – время.

Реакции гомеореза «БС» на температурное воздействие отражают изменение жизненных функций на различных уровнях ее организации. И поэтому такие исследования базируются на междисциплинарных знаниях *физиологии, морфологии, биофизики, биохимии, статистики, информатики, кибернетики и т.п.* Это определяет разнообразие используемых методов и сложность исследо-

вания качества работы *авторегуляторных* механизмов, характеризующих адаптационные реакции гомеорезов «БС» на тестирующие воздействия.

- **Факторы, определяющие процесс:** x_1, x_2, x_i……
- **Выбор тестирующих входных факторов явлением……**
- **Типы входных тестирующих воздействий факторов явлением……**
- **Список факторов, включаемых в реальный эксперимент……**
- **Выбор технологии……**
- **Необходимые анализы……**
- **Описание экспериментальной установки……**
- **Влияние: x_1 -……x_2 -……..x_3 - ……....**
- **Уровни факторов и интервалы варьирования……..**
- **Матрица планирования и результаты эксперимента……....**
- **Учет априорной информации……**
- **Результаты, достигнутые при изучении аналогичных процессов…**
- **Результаты (литер. и собственные) о ошибке эксперимента……..**
- **Взаимодействия факторов……..…**

Таблица 6.3

Список факторов реального эксперимента (пример)

№ фактора	Фактор	Размер.	Область определения	Точность	Примечание
1	Температура	град	Реактора	+\- 0,1 градуса	Специальный термометр
2	Интенсивность света	килолюкс	Осветителя	+\- %	Галогеновая лампа

- **Подготовка экспериментов включает следующие этапы:**
- **Планирование эксперимента…….……**
- **При этом необходимое число опытов……**
- **Уровни факторов удобно задавать в относительных единицах**
- **План эксперимента……**
- **Обработка результатов экспериментов включает следующие этапы:**
- **Определение среднее значение параметра оптимизации…..……**

- **Проверка воспроизводимости…….**
- **Критерий *Кохрена*……..**
- **Устанавливается вид анализ. функции или мат. модель…….**
- **Свободный член…….**
- **Линейные эффекты……**
- **Эффекты взаимодействия…….**
- **Проверка значимость коэффициентов математической модели.**
- **Дисперсии оценок коэффициентов…….**
- **Экспериментальное значение коэффициента Стьюдента……**
- **Проверяется адекватность модели……**
- **Экспериментальное значение F-критерия……**
- **Действия при неадекватности модели возможны следующие.....**
- **Матрица планирования и результаты эксперимента……**
- **Учет априорной информации…….**
- **Взаимодействия факторов……..……...…**
- **Обработка результатов эксперимента……..…**

Таблица 6.4

Уровни факторов и интервалы варьирования (пример).

Факторы	Уровни			Наименование факторов	Единицы размерности
	Мин -1	Сред 0	Мак+1		
X_1	20	30	40	Темпер.	град
X_2	1	3	5	Протонофоры	10^{-5}М
X_3	1000	5000	10000	Освещен.	Кил. люкс

6.4. Формализация планирования эксперимента (пример).

Формализация планирования эксперимента - это постановка опытов по некоторой заранее составленной схеме, обладающей оптимальными свойствами (см. таб. 6.5.).

Пример планирования эксперимента. Разработка таких схем при изучении сложных явлений представляет собой сложную математическую задачу. При планировании эксперимента, как было указано выше, должны быть определены:

- матрица планирования опытов;
- необходимое число опытов;
- последовательность проведения эксперимента;
- математическая *модель для описания эксперимента.*

При составлении плана проведения экспериментального исследования для каждого фактора X выбирается определенное число уровней варьирования. Поэтому необходимое число опытов определяется числом возможных комбинаций уровней варьирования независимых переменных, а также количеством повторных опытов. В большинстве случаев планирование экспериментов осуществляется по схеме *полнофакторного эксперимента*. Она предусматривает одновременное варьирование всех исследуемых факторов на двух уровнях:

- *верхнем*, имеющем максимальное значение рассматриваемого фактора;
- *нижнем*, соответствующем минимальному значению фактора.

Определение необходимого числа опытов. При этом необходимое число опытов определяется по формуле:

$$N = 2 * k \qquad (6.3)$$

где k - число рассматриваемых факторов.

Уровни факторов удобно задавать в относительных или кодированных величинах. Верхний уровень фактора равен – (+1) , нижний – (- 1), средний или основной – (0). В общем случае кодированное значение фактора определяется по формуле:

$$x_i = \frac{\tilde{x}_i - \tilde{x}_{i0}}{\Delta\tilde{x}_i} \qquad (6.4)$$

где i - номер рассматриваемого фактора; x_i – (+1) или (-1) - кодированное значение факторов; $\tilde{x}_i$ - натуральное значение i-го фактора; $\Delta\tilde{x}_i$ - интервал варьирования i-го фактора в натуральном выражении; $\tilde{x}_i$ - натуральное значение основного уровня i-го фактора.

В планируемом эксперименте важную роль играет последовательность выполнения опытов.

В целях усреднения эффектов от неконтролируемых переменных, сопутствующих любому экспериментальному исследованию, отдельные опыты следует проводить *в случайной последовательности.* Случайная последовательность проведения эксперимента может быть определена с помощью таблиц случайных чисел.

6.5.План эксперимента

План эксперимента удобно задавать таблицей, называемой матрицей планирования эксперимента, включающей в себя последовательность проведения опытов, значения факторов и эффектов их взаимодействий, а также значения исследуемой функции, называемой *параметром оптимизации*.

Таблица 6.5

Матрица планирования 2^3.

Опыты	План эксперимента Факторы и их уровни			Порядок варьирования факторов воздействия								Параметра реакции Повтор		Среднее
№	X_1	X_2	X_3	X_0	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	Y_1	Y_2	Y_3
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+			
2	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-			
3	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-			
4	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
5	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-			
6	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+			
7	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+			
8	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-			

Матрица планирования полнофакторного эксперимента - таб.6.5.. В таблице и в дальнейшем -применяем сокращенное обозначение уровней факторов: обозначаем (+) –верхний уровень и (-) – нижний уровень.

6.6.Обработка результатов экспериментов.

Обработка результатов экспериментов заключается в статистическом анализе и включает следующие этапы:

Среднее значение параметра оптимизации $\bar{y}$

Среднее значение параметра оптимизации $\bar{y}$ (таб. 6.5.) в каждой строке матрицы планирования рассчитывается по формуле:

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^{n} y_n}{n} \qquad (6.5)$$

где: n - число параллельных опытов в каждой строке матрицы планирования;

y_u - значение параметра оптимизации в i - ом параллельном опыте.

Проверка воспроизводимости результатов

Проверка воспроизводимости результатов сводится к проверке гипотезы об однородности построчных дисперсий S^2_j, найденных по результатам опытов. Построчные дисперсии рассчитываются по формуле:

$$S_j^2 = \frac{\sum_{n-1}^{n} (y_q - y)}{n-1} \qquad (6.6)$$

где j - номер строки матрицы планирования.

Критерия Кохрена.

Критерия *Кохрена*, т. е. отношение максимальной S^2_{jmax} из N дисперсий к сумме всех дисперсий:

$$\delta = \frac{S^2_{j\max}}{\sum_{j=1}^{n} S_j^2} \qquad (6.7)$$

Гипотеза об однородности дисперсий подтверждается, если вычисленное значение критерия не превышает критического значения, определенного по соответствующим таблицам.

Устанавливается вид анализируемой функции.

Устанавливается вид анализируемой функции или математическая модель объекта исследования. При этом руководствуются физическими представлениями о самом объекте или результатами предыдущих исследований.

Модель в виде полинома (квадрика).

Параметр оптимизации представляют результатом разложения полинома в ряд Тейлора, т.е. используют модель в виде полинома. В простейшем случае для полнофакторного эксперимента типа 2^3 выбирают полином первого порядка:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 \qquad (6.8)$$

- Многочлен 2 порядка (квадрика):

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{11} x_1^2 + b_{22}^2 + b_{12} x_1 x_2 \qquad (6.9)$$

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 b_3 + b_{12} x_1 x_2 + b_{13} x_1 x_3 + b_{23} x_2 x_3 + b_{123} x_1 x_2 x_3 \qquad (6.10)$$

где: x_1, x_2, x_3 - кодированные значения факторов; b_1, b_2, b_3 - коэффициенты, показывающие степень влияния каждого фактора на функцию отклика;

b_{12}, b_{13}, b_{23}, b_{123} - коэффициенты, показывающие степень влияния взаимодействия соответствующих факторов на функцию отклика.

Сводный член b_0 вычисляется по формуле:

$$b_0 = \frac{\sum_{j=1}^{n} \overline{y}_j}{n} \qquad (6.11)$$

Линейные эффекты.

Коэффициенты уравнения (5.12), характеризующие линейные эффекты, рассчитываются по формуле:

$$b_j = \frac{\sum_{j=1}^{n} x_{ij} \overline{y}_j}{n} \qquad (6.12)$$

Эффекты взаимодействия

Коэффициенты уравнения (5.13; 5.14), характеризующие эффекты взаимодействия, определяются по формулам:

$$b_{il} = \frac{\sum_{j=1}^{n} x_{ij} x_{li} \overline{y}_j}{n} \qquad (6.13)$$

$$b_{ilk} = \frac{\sum_{j=1}^{n} x_{ij} x_{li} x_{ik} \overline{y}_j}{n} \qquad (6.14)$$

где ***i, l, k*** - номера факторов.

Проверяется значимость коэффициентов

Проверяется значимость коэффициентов *полученной математической модели* по *t*-критерию Стьюдента. С этой целью рассчитывается дисперсия параметра оптимизации S^2 {y}по формуле:

$$S^2 = \{y\} = \frac{\sum_{j}^{n} S_j^2}{n} \qquad (6.15)$$

Дисперсии оценок коэффициентов.

Для плана полного факторного эксперимента типа 2^3 дисперсии оценок коэффициентов b_0, b_i, b_{il}, b_{ilk} одинаковы и определяются по формуле:

$$S_{b_i}^2 = \frac{S^2\{y\}}{n} \qquad (6.16)$$

где S^2_{bi} - дисперсия коэффициентов уравнения регрессии.

Экспериментальное значение критерия Стьюдента равно:

$$t = \frac{|b_i|}{S_{b_i}} \qquad (6.17)$$

где b_i - абсолютное значение оценки проверяемого коэффициента.

Коэффициент считают значимым, если вычисленное значение критерия больше, чем критическое значение, выбираемое по таблицам распределения Стьюдента. В автоматизированном эксперименте табличные значения входят в программу. Статистически незначимые коэффициенты исключаются из уравнения регрессии.

Проверяется адекватность модели.

Проверяется адекватность модели, т. е. пригодность полученной модели для описания реального объекта исследования по отношению дисперсий адекватности и параметра оптимизации $S^2\{y\}$. Дисперсия адекватности S^2_{AA} рассчитывается по формуле:

$$S^2_{\grave{A}\grave{A}} = \frac{n\sum_{j=1}^{n}(\bar{y}_j - \hat{y}_j)^2}{n-m} \qquad (6.18)$$

где $\hat{y}_j$ - построчные значения параметра оптимизации, вычисленные по окончательному виду математической модели; m - число членов уравнения регрессии, оставшихся после проверки значимости коэффициентов b_i ; AA – построчные буквы обозначают анализируемый массив

Экспериментальное значение F-критерия

Экспериментальное значение F-критерия (критерия Фишера) равно:

$$F = \frac{S^2_{\grave{a}\grave{a}}}{S^2\{y\}} \qquad (6.19)$$

Модель считают адекватной, если вычисленное значение F меньше критического, определенного по таблицам F - распределения.

При неадекватности модели возможны следующие действия:

- усложнение модели до квадратичной и выше;
- изменение - «достройка» плана;
- преобразование переменных;
- изменение интервалов варьирования.

7.0.Автоматизация научных исследований (АНИ) на базе ЭВМ.

Общие вопросы.

Автоматизация научных исследований (АНИ) - выполнение с помощью компьютеризированных систем (программно-управляемых автоматизированных систем) тех этапов научного исследования, которые поддаются алгоритмизации и программированию. АНИ с использованием средств вычислительной техники направлена:

- на экспрессивность эксперимента;
- применение новых методов проведения научных исследований;
- повышение эффективности и качества труда исследователя - биофизика.

Возникновение проблемы АНИ в широком смысле является логическим результатом развития науки в современных условиях. Изучение все более сложных взаимосвязей и процессов в природе ставит задачи:

- повышения чувствительности и точности измерений;
- скорости регистрации;
- резкого увеличения числа регулируемых, контролируемых и измеряемых параметров;
- реализации динамического диапазона этих измерений.

Данные задачи составляют одну из важнейших проблем информатики - интеллектуального инструментального измерения современного научного исследования: сложность обработки, отражения, хранения и интерпретации информации. Проблемы растут как снежный ком: *от формализации и математического анализа модели исследуемого явления, до конца исследования, определенной на основе полученных в результате измерений данных*. Все это характерно и свойственно для развития биофизических методов исследования.

При этом биологические системы отличаются большой сложностью. Зачастую требуют длительной и трудоемкой подготовки к эксперименту. Их свойства весьма чувствительны к изменению условий окружающей среды, а сами объекты имеют ограниченный срок жизни. Все это потребовало разработки методов исследования, которые позволяют проводить их на объектах ***in vivo*.** Тем не менее, хотя совершенствование методов исследования биофизических процессов на основе традиционных подходов и продолжает играть важную роль, но само по себе оно уже не в состоянии обеспечить необходимого повышения чувствительности и точности анализа. В области флуоресцентных методов это

обусловлено ограничениями, связанными с низким соотношением сигнал/шум, необходимостью обеспечения прижизненных условий для образца в ходе измерения, сложной взаимосвязью, получаемой в эксперименте информации, с механизмами соответствующих биофизических процессов.

7.1.Функции ЭВМ в АНИ.

На ЭВМ могут быть возложены следующие функции**:**

- контроль параметров и управление экспериментальной установкой;
- непрерывный контроль состояния и
- регулирование воздействий на изучаемый объект как по заранее заданной схеме - плану многофакторного эксперимента, так и в зависимости от получаемых в ходе эксперимента результатов;
- проведение измерений;
- сбор, накопление и хранение данных и их обработка;
- обобщение и оперативное отображение хода исследования;
- документирование полученных данных;
- их архивизация.

ЭВМ управляет экспериментальной установкой для биофизических исследований по специальной программе через интерфейс (рис.7.1).. По команде ЭВМ данные с исследуемого объекта от специальных датчиков поступают в виде электрических сигналов на контроллер или измерительную компьютерезированную аппаратуру - интерфейс: коммутатор, усилитель, АЦП (аналогоцифровые преобразователи - преобразователи аналоговой информации в цифровую), образующих канал измерения. Информация от АЦП поступает в микроконтроллер, который управляет программируемым усилителем, АЦП, ЦАПом (ЦАП служит для преобразования цифровой информации в аналоговую). Далее через интерфейс (сопрягающее устройство с ЭВМ) информация поступает в ЭВМ - компьютер, где она обрабатывается по специальной программе в формирующиеся соответствующие файлы. Обработка данных и управление исследуемым объектом производится по специальной программе, в том числе по протоколу эксперимента или лабораторному журналу ЭВМ. Контроллер экспериментальной установки, работает в режиме *квитирования* - режим синхронного обмена с подтверждением готовности.

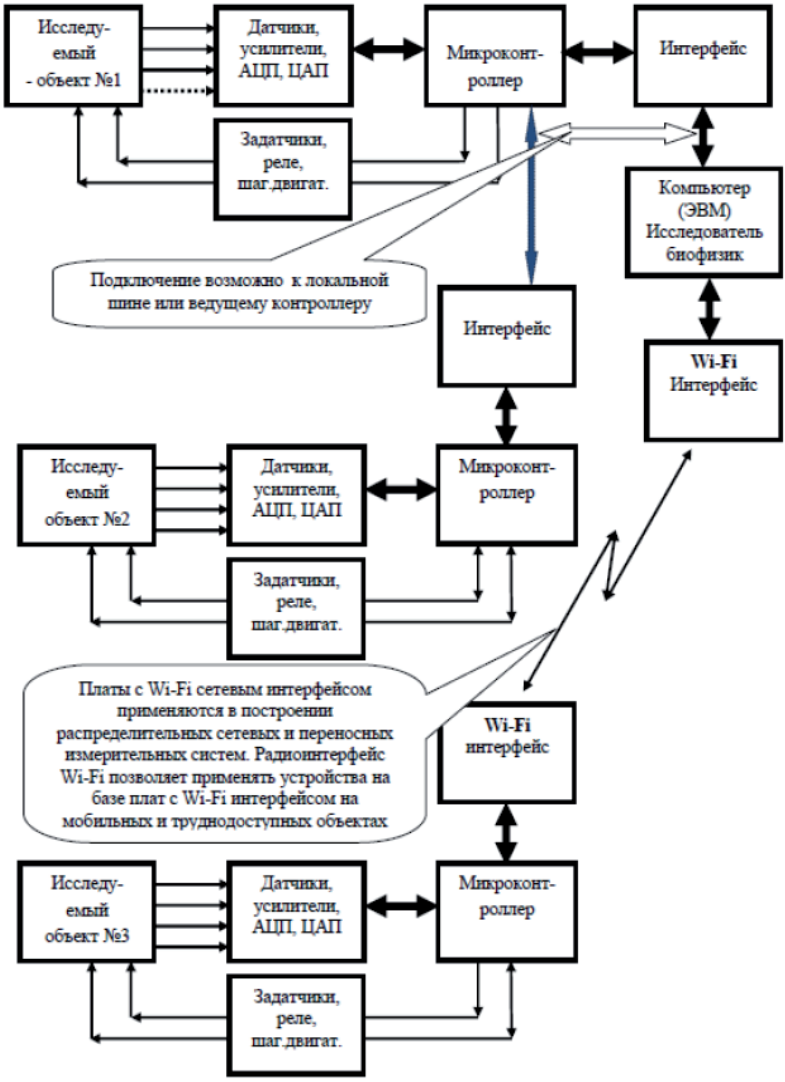


Рис. 7.1. Варианты структур автоматизированных экспериментальных установок для биофизических исследований.

В зависимости от квитирования, ЭВМ через интерфейс по программе управляет контроллером - экспериментальной установкой и производит (вкратце):

- включение соответствующего канала коммутатора для считывания данных с определенного датчика;
- настройку программируемого усилителя;
- включение соответствующего канала коммутатора для включения АЦП и ЦАП;
- формирование кода «управляющего слова» в регистре для ЦАП;
- включение соответствующего ЦАП + счетчика;
- выключение ЦАП по счетчику или изменение кода «управляющего слова» в регистре для ЦАП;
- выполнение предварительной статистической обработки поступающих данных;
- управление контроллеромии , ПСД и отправкой данных в ЭВМ через интерфейс;
- отправку данных в ЭВМ через интерфейс;
- формирование общего сигнала «ГОТОВ» и т. д

Хотя другие этапы исследования (формулирование цели исследования, выбор и теоретический анализ модели исследуемого явления или процесса, интерпретация полученных данных) не могут быть полностью поручены ЭВМ, но машина может значительно ускорить и углубить их проведение, выдавая нужную информацию и помогая представить результаты исследования в наиболее удобной для анализа форме. Первый и сравнительно простой эффект автоматизации биофизических исследований состоит в увеличении чувствительности и точности эксперимента, скорости съема и обработки результатов измерении, в увеличении скорости и точности управления установкой и исследуемым объектом и, в итоге, в более быстром получении большого объема данных. Сюда же следует отнести и существенное увеличение производительности, и снижение трудоемкости при автоматизации долгосрочных рутинных экспериментов, повышение эффективности и комплексное использование дорогостоящих экспериментальных установок.

Однако принципиальным является возникновение качественно новых следствий автоматизации научных исследований. Они заключаются в том, что включение в эксперимент ЭВМ дает возможность использовать в процессе исследования высокоэффективные методы численного анализа. Это, в свою оче-

редь, позволяет изучать гораздо более сложные явления и, что наиболее важно, ставить такие эксперименты и развивать такие методы исследования, которые без ЭВМ принципиально невозможны.

7.2.Периоды в развитии работ по АНИ.

Первый период работ по автоматизации заключался в решении ряда отдельных и важных вопросов использования средств автоматизации или вычислительной техники в биофизическом эксперименте. К ним относятся проблемы: повышения отношения сигнал/шум, предварительной обработки, частотной фильтрации, коррекции регистрируемых сигналов, которые решались не на основе использования вычислительной техники, а путем создания специализированных цифровых аппаратных средств (это и накопители, и анализаторы сигналов; устройства с дополнительной электрической или магнитной записью; аналоговые вычислительные машины). В настоящее время все эти работы представляют в основном исторический интерес. Полезным результатом этого направления, несомненно, следует считать создание большого числа экспериментальных приборов с встроенными микропроцессорами, которые по жестко «зашитым» в память программам обеспечивают проведение экспериментов по определенным заранее, запрограммированным, методическим вариантам съема и математической обработки данных.

Второй этап развития работ по автоматизации научных исследований характеризуется созданием автоматизированных комплексов. В них экспериментальное оборудование, устройства сопряжения и ЭВМ составляют единое целое. Кроме того, на этом этапе были разработаны унифицированные средства сопряжения ЭВМ и экспериментальной установки (в первую очередь, в стандарте ***КАМАК*** **и** ***МЭК***). Однако, по настоящему массовое развитие это направление получило с началом серийного производства профессиональных персональных ЭВМ - компьютеров и все возрастающим промышленным выпуском унифицированных средств сопряжения с объектом.

Третий этап - это создание многомашинных систем, направленных на комплексное автоматизированное решение задач научных исследований выделенного класса. Особенностью создания систем такого уровня является стремление объединить в органически единое целое совокупность автоматизированных на основе ЭВМ научно-исследовательских установок в лаборатории, а также программные математические и методические средства.

7.3.Автоматизация научных исследований.

Автоматизация научных исследований сформировалась к настоящему времени в достаточно мощное самостоятельное научно-техническое направление, перед которым стоит комплекс научных и научно-технических проблем:

- изучение процесса проведения исследований в различных областях науки;
- анализ получаемой в ходе исследований информации, процедур ее преобразования и представления;
- исследование и развитие базы аппаратных и программных средств и типовых структур, строящихся из этих средств, функционально отвечающих этапам процесса получения, преобразования и представления информации в ходе исследования;
- исследование и разработка качественно новых методов проведения исследований, базирующихся на активном использовании интегрированных автоматизированных систем, которые обеспечивают в едином цикле моделирование исследуемых явлений и процессов, управление экспериментом, обработку данных измерений и их сопоставление результатов измерений и т. д.

7.4.Сопряжение компьютера с внешними устройствами.

Как мы говорили в предыдущем разделе, массовое развитие создания автоматизированных комплексов получило с началом серийного производства микро-ЭВМ, мало уступающих мини-ЭВМ по возможностям; с разработкой и массовым промышленным выпуском профессиональных персональных ЭВМ (компьютеров), а так же все возрастающим промышленным выпуском унифицированных средств сопряжения с объектом. В чем же причина широкого использования персональных компьютеров (ПК) в автоматизированном эксперименте? Современный ПК обладает большой вычислительной мощностью, ресурсами хранения и предоставления информации. Единственное, что не может сделать ПК, измерить и обработать аналоговый сигнал. Для решения этой проблемы существуют аналого-цифровые преобразователи (АЦП) и цифро-аналоговые преобразователи (ЦАП), встроенные в микроконтроллеры, которые могут по сигналам ЭВМ включать с помощью реле различные устройства (рис.7.1).

В последние годы активно развивается еще одно направление - платы сбора данных (***data acquisition boards*** **или ПСД**) для ПК, в которых широко исполь-

зуют АЦП. Кроме того, у большинства ПСД уже есть все необходимые аналоговые входные устройства.

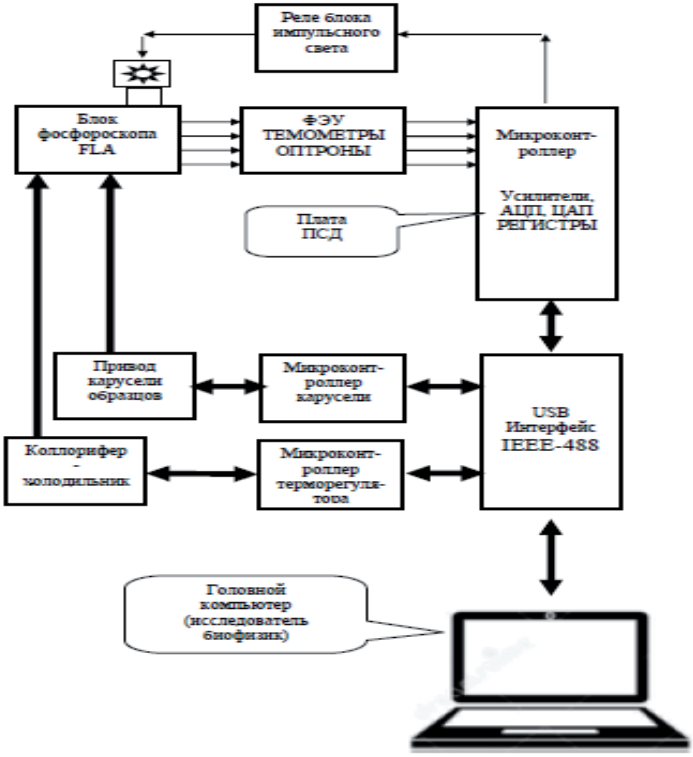


Рис. 7.2. Автоматизированную экспериментальную установку для биофизических исследований, типа FLA (Королев, 1993)

ПСД могут в понятной для ПК форме преобразовать и ввести в него информацию от первичных преобразователей сигналов - датчиков с экспериментальной установки. Существует распространенный протокол передачи сигналов в компьютер - IEEE-488 (КОП). Если оснастить компьютер КОП интерфейсом, то можно переправлять данные от ПСД (измерительных приборов) прямо в компьютер и обратно на ЦАП, исполнительные реле и т.д. Компьютер с ПСД и ин-

терфейсом IEEE-488 реализует автоматизированную экспериментальную установку для биофизических исследований. (рис. 7.2.)

Радиоинтерфейс на базе платы с **Wi-Fi** сетевым интерфейсом делает, можно сказать, чудеса!(рис.7.1). Применяется в построении распределительных сетевых и переносных измерительных систем АНИ и позволяет применять устройства на базе мобильных и труднодоступных исследуемых объектов, что облегчает труд исследователей, делает его более продуктивным (см. раздел 7.0). Таким образом, объединение - совмещение возможностей быстрой цифровой регистрации и обработки (управления) результатов исследования делает систему измерений на базе ПК с ПСД основным инструментом автоматизированного эксперимента в разных областях биологии, биофизики. Теперь ПК с ПСД обладает набором функций, который ещё несколько лет назад могла реализовать только стойка большого множества дорогостоящих приборов.

8.0. О типах интерфейсов.

Интерфейс – это совокупность программных и аппаратных средств доступа ЭВМ к внешним устройствам: контроллерам, ПСД, вспомогательным программным средствам и т.д. таб.7.1. К персональному компьютеру устройства сопряжения (УС) могут быть подключены одним из стандартных внешних *интерфейсов*:

- **PCI-*X*** (англ. Peripheral component interconnect, дословно - взаимосвязь периферийных компонентов) — шина ввода-вывода для подключения периферийных устройств к материнской плате компьютера через системную магистраль или шину, канал - эти термины равнозначны;
- **через** параллельный интерфейс ***Centronics*;**
- **через** последовательный интерфейс ***RS – 232*** **(V-24)**;
- **SPI** (англ. *Serial Peripheral Interface, SPI bus)* - последовательный синхронный стандарт передачи данных в режиме полного дуплекса;
- **I²C** - последовательная шина данных для связи интегральных схем, использующая две двунаправленные линии связи (***SDA*** и ***SCL***);
- **ISA** (от англ. Industry Standard Architecture) 16-разрядная шина ввода-вывода IBM PC-совместимых компьютеров; ***Ethernet*** (от англ. ***Ether*** – «эфир» и ***Network*** - «сеть, цепь») - семейство технологий пакетной передачи данных для компьютерных сетей;
- Wireless **-** радиоинтерфейс **(*Wi-Fi),*** позволяющий применять устройства на базе плат с *Wi-Fi* интерфейсом на мобильных и труднодоступных объектах;
- через универсальный ***USB*** – *Universal Bus*.

Вот сведения об основных, *на наш взгляд*, современных интерфейсах (таб. 7.1). Каждый из указанных интерфейсов имеет свои преимущества и недостатки. Выбор одного из них - важнейший шаг в самом начале процесса проектирования УС.

Время идет - техника совершенствуется. Теперь для решения задач автоматизации или измерения надо только оснастить компьютер ***«ПСД»*** **(***платой сбора данных***)** и воспользоваться соответствующим программным обеспечением. При этом потребность в самих стационарных приборах отпадает.

К сожалению, программное обеспечение платы ***«ПСД»*** следует «вручную привязывать» к программному обеспечению экспериментальной установки. Например: программу «дружественного интерфейса «FLA»» - на языке C^{++} или

Delphi или с помощью модуля EasyScript® базового программного обеспечения Catman®Easy.

Таблица 8.1

Типы устройств интерфейсов

Характерис. интерфейса.	PCI-X	Getronics	RS-232	Ethernet	SPI	I²C	ISA	USB		
								USB 2.0	On-The-Go	Wi-Fi
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Скорость обмена	4096 Мб/с	100 Кб/с	Низкая	280Мб/с	< 2 Мб/с	2Мб/с	16 Мб/с	480 Мб/с	5Гб/с	480 Мб/с
Длина лин. связи с ЭВМ	нет	До 2 м.	До 15м	до 5 м	До 3 м	До 5 м	До 5 м	До 5 м	До 5 м	>70 км
Слож/ УС	Малая	Любая	Любая	Любая	Малая	Малая	Любая	Малая	Любая	Сред.
Слож. интерф.	Мал-сред.	Мал-сред.	Сред-высок.	Сред-высок.	Малая	Малая	Малая	Малая	Малая	Высок.
Допол. конструк.	Не нужен	Нужен	Не нужен	Нужен.	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Нужен
Внешний источник питания	Не нужен	Нужен	Нужен	Нужен	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Не нужен	Нужен
Формат и разряд данных	64 бит	8 разяд.	Послед.	64 бит	32 бит	32 бит	32 бит	32 бит	32 бит	32 - 64 бит
УС подкл. к ЭВМ	6	1	2	1	8	40		127	16	

Выбор же PCI в качестве основной системной магистрали объясняется тем, что она является наиболее распространенной. Разъемы (слоты) PCI имеются как в допотопных IBM PC XT, так и в новейших Pentium - компьютерах. Конечно же, 64-разрядные интерфейсы обеспечивают большую скорость обмена и более высокую гибкость, но, научившись проектировать УС для PCI-X, разработчик легко сможет освоить как упомянутые магистрали, так и все те, которые появятся в будущем.

Конечно же, здесь не рассматривается задача подключения к персональному компьютеру внешних устройств, имеющих стандартные интерфейсы Centronics и RS-232C (в этом случае УС представляет собой самый обычный, соответствующим образом распаянный кабель и никакого проектирования не требуется). Новые приборы состоят: из компьютера, наличие которого сегодня является необходимым условием качественных и быстрых измерений, и одной - двух «ПСД». Компьютерные измерительные приборы функционально заменяют стандартные измерители: вольтметры, самописцы, осциллографы, магнитографы, спектроанализаторы. Эти устройства позволяют не только автоматизировать и ускорить процесс измерения, но и сделать его исключительно удобным для пользователя. Они могут в большинстве конкретных случаев эффективно заменить существующий парк измерительных приборов. Например, осциллограф, цифровой запоминающий осциллограф, спектроанализатор и вольтметр можно получить на базе одной платы. Необходимо изменять только программное обеспечение.

Таким образом, устройства на основе компьютера предлагают не просто повторение стандартных измерительных функций обычных приборов, но обладают *гибкостью* для расширения их функций, наиболее полно и оптимально удовлетворяющих требованиям конкретной решаемой задачи. Если сравнивать возможности компьютерных и стационарных приборов, можно выделить основные преимущества: настраиваемый пользовательский интерфейс, удобный оператору; возможность реализации динамического диапазона усилителей и АЦП, ЦАП; богатейшие возможности по представлению информации; возможность адаптации к условиям измерения; учет статистики предыдущих измерений. Кроме того, они позволяют выполнять работу в реальном времени для быстропротекающих процессов, при этом размеры записи сигналов практически не ограничены. Становится возможным расширяемый специализированный анализ и быстрый отклик на изменения условий в процессе управления или измерения. Язык интерфейса можно оперативно изменить на нужный.

8.1.Критический разбор измерительных комплексов АНИ.

Сейчас «ПСД» выпускает множество зарубежных и российских фирм. На примере российской фирмы ЗАО «Руднев-Шиляев» проведем критический разбор измерительных комплексов автоматизированного мониторинга быстропро-

текающих процессов с использованием всей мощи ПК с тем, чтобы начинающему исследователю легко было ориентироваться в их многообразии.

Безусловно, последнее слово остается за исследователем - экспериментатором биохимиком, биофизиком, так как конкретных (специфических) рекомендаций, мы, конечно, не сможем дать вследствие сложности и специфики проведения автоматизированного эксперимента.

Следует отметить, что исследователь - экспериментатор биохимик, биофизик, должен обязательно работать совместно с математиком, программистом и схемотехником или же сам быть незаурядным разносторонним специалистом.

Нехватка или отсутствие того или иного специалиста является привычным бичом организации нашего биофизико - химического исследования в широком смысле этого слова. ЗАО «Руднев-Шиляев» разработало и представило на международный рынок ***«ПСД»*** с нормированными метрологическими характеристиками. Вся номенклатура выпускаемой продукции подвергается тщательной предпродажной поверке. Каждое изделие, плата АЦП или ЦАП сопровождается индивидуальным метрологическим паспортом согласно ГОСТу 24736-81 «Преобразователи интегральные.

8.2.Цифроаналоговые и аналого-цифровые.

Основные параметры.» и ГОСТу 8.009-84 «Нормирование и использование метрологических характеристик средств измерений». ЗАО «Руднев-Шиляев» использует разнообразные методики, в том числе, и оригинальные, разработанные специалистами Центра для калибровки АЦП каналов в реальных условиях их применения по динамическим параметрам: *отношение сигнал/шум*, *коэффициент гармонических искажений*, *реальный динамический диапазон* и число *эффективных разрядов в зависимости от частоты* входного воздействия на АЦП. Знания этих характеристик позволяют более корректно решать задачу применения АЦП в реальных условиях и дают возможность до эксперимента оценить погрешности, вносимые всеми аналого-цифровыми каналами в конечный результат измерения. Характеристики такого прибора: динамический и частотный диапазоны, чувствительность, разрешение и многое другое определяются выбранными ***«ПСД»*** - платами сбора данных.

Таблица 8.2

Платы ПСД сбора данных с USB интерфейсом

Плата	Характеристики ПДС
1	2
ЛА И24 USB	АЦП дельта-сигма 24 разрядный; 4 синхронных дифференциальных каналов; частота дискретизации 6.25, 12.5, 400, 800 Гц; Uвх.=+/-2,5В,+/-1,25В;+/-78,125мВ; +/-39,0625мВ; входной ток 0,5мкА при Ку = 1;0,5 нА при Ку >1; цифровой порт ТТЛ – 8 ввод/вывод с защелкой; питание от USB; Сертификат RU. C. 34. 010.A № 30572
ЛА 50USB	АЦП 10 разрядов; 16 однополосных/8 дифференциальных каналов; максимальная. частота. дискретизации 500 кГц;. Uвх.=+/-5В; Ку=1, 5, 10, 50; 16 цифровых линий; 8 ввод/вывод с защелкой; питание от USB; Сертификат RU. C. 34. 010.A № 30572.
ЛА 20USB	АЦП 12 разрядов; 32 однополосных/8 дифференциальных каналов; максимальная. частота дискретизации 50 кГц;. Uвх.=+/-10В..+/-0,05В; программируемый коэффициент усиления на канал отдельно Ку. = 1, 2,…40, 100, 200; Rвх. >5 Мом; цифровой порт – 8 ввод/вывод с защелкой.
ЛА 2USB 12	АЦП 12 разряд; 32 однополосных/16 дифференциальных каналов; максимальная. частота 500 кГц;. Uвх.=+/-10В..+/-0,05В; программируемый .коэффициент усиления на канал отдельно Ку = 1, 2,…40, 100, 200; Rвх>5 Мом; ЦАП 12 бит; 10 мкс.; Uвх.=+/-5В, 8 ввод/вывод с защелкой; Сертификат RU. C. 34. 010.A № 31913.
ЛА 2USB 14	АЦП 12 разряд; 32 однополосных/16 дифференциальных каналов; максимальная частота 400 кГц;. Uвх.=+/-10В..+/-0,05В; программируемый коэффициент усиления на канал Ку = 1, 40, 100, 200; Rвх>5 Мом; ЦАП 12 бит; 10 мкс.; Uвх=+/-5В, цифр. порт 8 ввод/вывод с защелкой; Сертификат RU. C. 34. 010.A № 31913.
Лан10-2USB 14	АЦП 12 разрядов; 2 синхронных канала; максимальная частота дискретизации синхронного канала; 80/100; 40/50…1,25/1,5 МГц;. Uвх.=+/-2В; 1В;..+/-0,4В; +/-0,2В; синхронизация внешняя или от любого канала по уровню или по фронту; 512Кслов на канал; интерфейс USB 2.0.

Платы ***«ПСД»*** по назначению можно разбить на несколько групп:

1) измерительные - АЦП и ЦАП,

2) цифровые – ТТЛ - совместимые платы и

3) дополнительные согласующие устройства.

«ПСД» могут быть с гальванической развязкой или без неё.

Платы «ПСД» подразделяются по типу интерфейса: ***USB, PCI, ISA, Ethernet, Wi-Fi.*** Приведем перечень основной продукции ЗАО «Руднев-Шиляев».

8.2.1. Платы «ПСД» с USB-интерфейсом.

Общие замечания.

Платы с USB-интерфейсом используются в построении переносных измерительных систем на базе компьютера. Устройства, основанные на платах с USB-интерфейсом, можно подсоединить к порту USB любого компьютера: ноутбука, портативного, промышленного или обычного офисного, не открывая крышки корпуса и не думая об источнике питания.

Осциллографы.

В зависимости от поставленной задачи вы подбираете для вашего ПК необходимый набор устройств, которые будут её решать вместе с вами. Например: ультрабыстрые платы (УП) позволят превратить ваш ПК в цифровой запоминающий осциллограф, обрабатывающий периодические сигналы в полосе от 0 до 2 ГГц. УП позволяют совместно с ПК реализовать цифровой запоминающий осциллограф USB с максимальной частотой дискретизации 1ГГц. Платы ЛА-н1USB; ЛА-н1USB-У позволяют в полосе до 2ГГц реализовывать виртуальные вольтметры, осциллографы, спектроанализаторы. (см. таб. 8.3.).

Таблица 8.3

Цифровой запоминающий осциллограф USB

Плата	Характеристики устройства
1	2
ЛА-н4USB	Цифровой запоминающий осциллограф USB АЦП 8 разрядов; 2 синхронных канала; макс. частота дискретизации 250 МГц; одноканальный режим 500 МГц; защита по входу ±150В; диапазоны ±25В; ±12,5В; ±5В; ±2,5В, ±1,25; ±0,625;±0,25;±0,125; Rвх =1 МОм; полоса 100 МГц; 2 Мб ОЗУ; USB 2.0
ЛА-н1USB	Внешнее USB устройство с функцией осциллографа для мониторинга в различных областях науки, техники и производ. АЦП 8 разрядов; 2 синхронных канала; максимальная частота дискретиз.1ГГц; одноканал/ режим 2ГГц; ОЗУ- 8Мбайт; Rвх 1Мом/50 Ом (перекл. программ.). При Rвх 1МОм: диапазоны от ± 25В до ± 0,125В, полоса 100 МГц, защита по входу ± 150 В.
ЛА-н1USB-У	Внешнее USB устройство с функцией осциллографа. АЦП 8 разрядов., 2 синхронных канала, максимальная частота дискрет. 1 ГГц, ОЗУ до 4 Мб, Rвх 50 Ом, диапазон ±1, полоса пропус. 300 МГц, защ. по входу ±2,5В, USB 2.0
ЛА-н2USB-12	Внеш. прецез. устрой. сбора аналог. и цифров. инфор. с USB портом. АЦП 12 разряд.; 2 канал.; макс. частот дискретизации 500 МГц; ОЗУ 2 Мслова на канал; Rвх= 50 Ом; диапазон ±1 В; полоса от 30 МГц до 1ГГц; USB 2.0
ЛА-н2USB-14	Внеш. прецез. устройство сбора аналог. и цифр. инфор. с USB портом. АЦП 14 разрядов; 2 канала; макс. частота дискр. 400 МГц; ОЗУ 2 Мслова на канал; Rвх= 50 Ом; диапазон ±1 В; полоса от 30 МГц до 500 МГц; USB 2.0

Программная часть виртуального осциллографа состоит из пользовательского интерфейса, позволяющего легко воспользоваться всеми аппаратными возможностями платы. Меняя коэффициент усиления, смещение, частоту дискретизации и т. д., вы быстро настроите параметры осциллографа на свой сигнал. Кроме того, ПК предоставляет широкие возможности для мониторинга обработки сигнала: режим «лупы» и измерительного курсора, функции интерполяции, фильтрации, накопления и т. д.

8.2.2. Плата «ПСД» с интерфейсом Ethernet.

Платы с портом *Ethernet* применяются в построении переносных прецизионных измерительных систем, а порт *Ethernet* позволяет эффективно использовать существующую инфраструктуру локальных сетей.

8.2.3. Платы с интерфейсом PCI.

Платы являются универсальными измерительными устройствами, на базе которых можно построить осциллографы, вольтметры, анализаторы спектра и регистраторы быстропротекающих процессов, а интерфейс PCI в платах обеспечивает высокую скорость передачи данных, что улучшает качество работы с информацией.

Таблица 8.4

Плата ЦАП и цифрового синтеза сигналов на USB

Плата	Характеристики устройства
1	2
ГСПФ-053	Генератор сигналов произвол. и спец. формы. одноканал; DC, синусоидальный сигнал от 0,023 Гц до 10МГц; Кги от 0,05%; импульсный до 10МГц фронт не более 25 нс выброс не более 5%; Uвых =±5В при 50 Ом; ±10В при 1 МОм; ЦАП 14 разр.;1 канал; время установления 45 нс; отключаемый ФНЧ 10 МГц; буфер. память 256 кСлов. Сертификат RU.C.35.010A №18433.

Таблица 8.5

Плата ПДС с интерфейсом *Etherne*.

Плата	Характеристика интерфейса
1	2
ЛА-5	Внешнее прецизионное устройство сбора аналоговой и цифровой информации с USB интерфейс. и Ethernet портом. АЦП 12 разряд.; 16 однопол./8 дифференциальных каналов; макс. част. дискретиз. 16 кГц; Uвх.= ±10В±0.05В; прогр. коэф. усил. на канал отдельно 1, 2,…40, 100, 200; Rвх. > 5 МОм; групповая гальваническая развязка 1,5 кВ; ЦАП 12 разрядов; 2 канала; вых. напр. ±10В; память 32 МБ; 16 ТТЛ вх.; Ethernet 10/100 Мбит/с; 10/100 Base-T (вит. пара UTP-5) – базовая модель

Применение: системы радиомониторинга; стендовые прочностные испытания; ультразвуковая диагностика; лидар (световая локация); прецизионный вольтметр; контроль акустического излучения; анализ радиолокационных сигналов, физико-химические и биофизические исследования.

8.2.4. Платы с интерфейсом ISA.

Это высококачественные платы для мониторинга в различных областях науки, техники и производства. Применение: автоматизированные системы управления производством; экология и санитария; обучающие системы; мониторинг медленноменяющихся процессов; техническая диагностика и контроль действующих механизмов на производстве; полевые и стендовые испытания; контроль качества; в качестве аналогового и цифрового самописца; биохимия; биофизика; агрофизика.

Таблица 8.6

Платы «ПСД» с интерфейсом PCI

Плата	Характеристики устройства
1	2
ЛА-2М5PCI	АЦП 12 разрядов; 32 однополюсных/16 дифференциальных каналов; частота дискретизации 400 кГц; Ux.= +/- 10В +/- 0,05В; программируемый коэффициент усиления на канал на групп 1,2…40,100, 200; Rx >5 Мом; гальваническая развязка 1,5 кВ.
ЛА-1,5PCI	АЦП 12 разрядов; 32 однополюсных/16 дифференциальных каналов; частота дискретизации 500 кГц; Ux.= +/- 10В +/- 0,05В; программируемый коэффициент усиления на канал на группу каналов 1,2…40,100, 200; Память FIFO 2 КСлов; запуск внешнего от таймера. Программируемый Bus-master; 3 канала счетчик/таймер; цифровой порт: 8/8 – вывод – ввод.
ЛА-1,5PCI 14	АЦП 14 разрядов; 32 однополюсных/16 дифференциальных каналов; частота дискретизации 400 кГц; Ux= +/- 10В +/- 0,05В; программируемый коэффициент усиления на канал на группу каналов 1,2…40,100, 200; Память FIFO 2 КСлов; запуск от внешнего таймера. Программируемый Bus-master; 3 канала счетчик/таймер; цифровой порт: 8/8 – вывод – ввод.

Таблица 8.7

Платы «ПСД» цифрового ввода/вывода, цифрового синтеза сигналов с интерфейсом PCI

Плата	Характеристики платы с PCI-интерфейсом
1	2
ЛА-48ДPCI	Устр. циф. ввод./вывод. на 48 раз. 48 ТТЛ циф. лин.; прогр. как 6 байтовых портов; интерфейс PCI
ГСПФ-052	Генератор сигналов произвольной и специал. формы. ЦАП 14 разр.;1 канал; время установления 45 нс; отключаемый ФНЧ 10 МГц; буферная память 256 кСлов; генер. сигналов произвольной формы; одноканал.; DC, синус. сиг.от 0,023 Гц до 10МГц; имп. до 10 МГц фронт не более 25 нс выброс не более 5%; Uвых=±5В при 50 Ом; ±10В при 1 МОм.

Таблица 8.8

Платы цифрового ввода/вывода с цифровым интерфейсом ISA

Плата	Характеристики платы с ISA-интерфейсом
1	2
ЛА-24Д	Плата для передачи и приема цифровой информации со стендового оборудования или вычислительных устройств. Цифровой ввод/вывод; 24 ТТЛ цифровых линии.
ЛА-96Д	Плата для передачи и приема цифровой информации со стендового оборудования или вычислительных устройств. Цифровой ввод/вывод; 96 ТТЛ цифровых линии; 3 канала таймера; кварц. генератор 10 МГц..
ЛА-ТМР	Плата для создания устройств управления и контроля временных параметров: счетчик событий, генератор импульсов, генератор прямоугольных импульсов, частометр и периодиметр. 6 каналов счетчиков/таймеров; 16цифровых линий; 8 ввод 8 вывод; кварц. генератор 10 МГц..

Таблица 8.9

Платы ЦАП и цифрового синтеза сигналов на ISA-16

Плата	Характеристики платы с ISA-интерфейсом
1	2
ЛА-ЦАП15	Плата для автоматизации технологических процессов, требующих аналогового управления. ЦАП 12 разрядов; 2 канала; 15 мкс; ±10В, ±5В, 0-10В; 3 канала счётчика/таймера; 16 цифровых линий – 8 ввода, 8 – вывода; гальваническая развязка 400В

Генераторы сигналов.

Измерительные платы ГСПФ – 051; ГСПФ-052; ГСПФ-053, позволяют превратить ПК в функциональный генератор и генератор монохроматического гармонического сигнала одновременно. Частотный диапазон: синусоидальный сигнал от 0,023 Гц до 10 МГц; импульсный до 10 МГц с фронтом не более 25 нс и выбросом не более 5%; (см. таб. 8.4.).

8.3.Платы цифрового ввода-вывода.

Цифровые ТТЛ (совместимые «ПСД») позволяют получать ПК информацию от стендового оборудования и периферийных цифровых устройств и передавать управляющие ТТЛ сигналы на внешние к ПК устройства. Плата ЛА-48ДРСІ имеет один 48-разрядный цифровой порт и возможность внешнего управляемого и независимого от порта прерывания.

Таблица 8.10

Генераторы сигналов на шине ISA

Плата	Характеристики платы с ISA-интерфейсом
1	2
ГСПФ-051	Генератор сигналов произвольной и специальной формы на шине ISA. ЦАП 14 разрядов;1 канал; время установления 45 нс; отключаемый ФНЧ 10 МГц; буферная память 256кСлов; генератор сигналов произвольной формы; одноканальный; DC, синусоидальный сигнал от 0,023 Гц до 10МГц; импульсный до 10МГц фронт не более 25 нс выброс не более 5%; Uвых=±5В при 50 Ом; ±10В при 1 МОм

8.3.1. Платы с Wi-Fi сетевым интерфейсом.

Платы с Wi-Fi сетевым интерфейсом применяются в построении распределительных сетевых и переносных измерительных систем. Радиоинтерфейс Wi-Fi позволяет применять устройства на базе плат с Wi-Fi интерфейсом на мобильных и труднодоступных объектах.

Таблица 8.11

Платы с Wi-Fi сетевым интерфейсом

Платы	**Характеристики устройства Wi-Fi**
1	2
ЛА-5 (Wi-Fi)	АЦП 12 разрядов; 16 однопол./8 дифференциальных каналов; макс. частота дискретизации 16 кГц; U вх.= ±10В…±0.05В; прогр. коэф. усил. на канал отдельно 1, 2,…40, 100, 200; Rвх. > 5 МОм; групповая гальваническая развязка 1,5 кВ; ЦАП 12 разрядов; 2 канала; вых. напр. ±10В; память 32МБ; 16 ТТЛ вх.; Радиоинтерфейс Wi-Fi (IEEE 802.11b, диапазон частот 2412 – 2472 МГц)

Спектроанализаторы.

Спектроанализаторы виртуальные (со специальным программным обеспечением) дополнительно позволят вам анализировать сигнал в частотной области с различными оконными функциями, вычислить отношение сигнал/шум и коэффициент гармонических искажений. Используя свои вычислительные ресурсы, ПК быстро обновляет данные на экране так, что вы видите уже обработанный сигнал в масштабе времени максимально приближенному к реальному.

Если необходимо разгрузить компьютер и ускорить процесс обработки, можно воспользоваться «ПСД» с внешней цифровой шиной (ВЦШ). В этом случае все задачи по обработке и передаче данных берёт на себя плата *цифровой обработки сигналов* (ЦОС). Обмен с «ПСД» идёт по быстрой ВЦШ. Цифровой сигнальный процессор обрабатывает данные с производительностью 40 млн. операций в секунду с плавающей точкой и ПК отображает уже готовый результат. Конструкцией плат предусмотрена возможность синхронной работы до восьми «ПСД» в информационно-измерительной системе или до 256 каналов. Она может содержать одну или несколько плат ЦОС, что значительно расширяет круг решаемых задач.

Рассмотрим подробнее сравнительные характеристики наиболее распространённых цифровых запоминающих осциллографов и виртуального измерительного прибора с использованием «ПСД» ЛА-н10.

Фирмы не производят «ПСД» с аналого-цифровым и цифро-аналоговым каналом одновременно. Тому есть несколько важных причин.

Во-первых, если в ЦОС канал используется для управления внешним сильноточным устройством, то соединение земляных проводов АЦ и ЦА каналов приведёт к существенному ухудшению характеристик АЦ канала «ПСД», который может при этом использоваться для измерения слабых сигналов.

Во-вторых, ЦАП, как синтезатор сигналов, может применятся в качестве тестового генератора для калибровки других внешних устройств с анализом результатов АЦП «ПСД», на котором находятся АЦП и ЦАП одновременно. При этом зачастую образуется кольцо обратной связи через провод земли с условиями выполнения баланса фаз и амплитуд, что опасно возможностью самовозбуждения системы или, что ещё хуже, возбуждения только при определённых условиях калибровки. Для этих двух случаев радикальным средством от помех и самовозбуждения является гальваническая развязка АЦ и ЦА каналов друг от друга. Реализовать это на одной стандартной плате с приемлемыми параметрами для подавляющего числа задач не удавалось ещё никому. К тому же, в-

третьих, если вы используете ЦА канал для калибровки АЦП, то необходимым условием является на порядок более высокая точность ЦАП по отношению к калибруемому устройству и большие функциональные возможности (память и т. д.). Разрешить все эти противоречия возможно единственным образом: создать независимые ЦАП и АЦП устройства.

9.0. Программное обеспечение систем АНИ.

9.1. Три задачи программного обеспечения (ПО).

Неотъемлемым элементом системы автоматизации является ПО. Оно решает три основные задачи:

1. Взаимодействие с аппаратными средствами; например: драйвера контроллеров, АЦП, ЦАП, «ПСД».
2. Взаимодействие с пользователем; например: протокол «по меню» «FLA»: протокол эксперимента, протокол результатов, View, Tuning, Show, ForSG и др. (см. рис.9.1.).
3. Реализация логики работы, присущей данной конкретной установке; например: включение и отключение возбуждения реле, двигателя фосфороскопа, шагового двигателя привода кассеты с образцами (карусели), калорифера, программное регулирование температуры калорифера на «FLA» и т.д.

Для небольших, «настольных» установок, как «FLA» и «ВПФД» (см. ниже), все три функции обычно выполняются единой программой, которая и реализует графический интерфейс пользователя, взаимодействует с аппаратурой и содержит некую специфичную для конкретной установки схемотехнику (управление рабочим циклом экспериментальной установки, обратные связи, слежение за различными параметрами и устройствами и т.п.). Существует большое количество готовых программных пакетов для решения подобных задач. Самыми известными из них являются LabVIEW, LabWindows/CVI от National Instruments, Catman®Easy.

9.1.1. LabVIEW

Эти пакеты отличаются используемым языком программирования: в ***LabVIEW*** применяется визуальное конструирование программы из «кубиков» (язык G-); в ***CVI*** используется более традиционный подвид языка Си$^{++}$.

9.1.2. MatLab

Часто управляющее ПО для небольших установок создаётся на основе пакетов численного анализа таких, как ***MatLab***, поскольку эти пакеты содержат мощный математический аппарат, средства для организации пользовательского интерфейса, а, главное, они знакомы многим специалистам в области программирования (см. http://en.wikipedia.org/wiki/Comparison of numerical analysis software.)

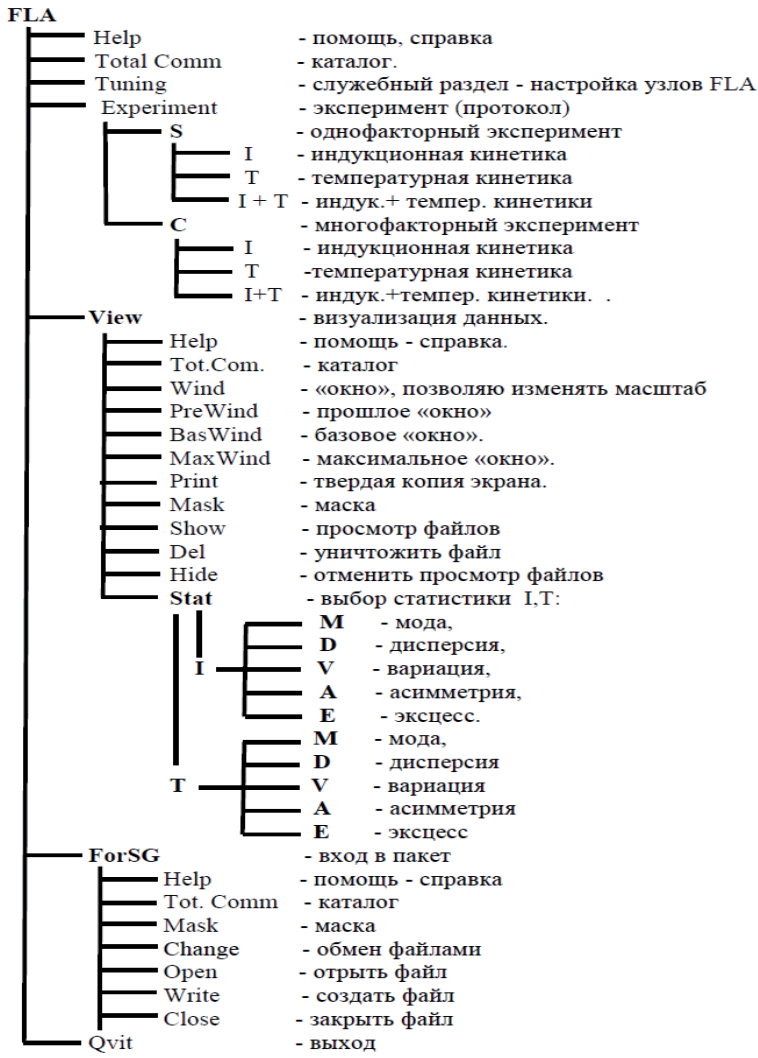


Рис. 9.1. Графическое изображение древа «Меню» - дружеского интерфейса «FLA»

9.1.3. Catman®Easy

ПО позволяет более быстро и просто решать различные измерительные задачи, которые можно с успехом использовать в биофизическом эксперименте. Благодаря интуитивно понятному интерфейсу пользователя, запуск измерения осуществляется несколькими нажатиями кнопки мыши. Воспользуйтесь упрощенной конфигурацией усилителя с помощью TEDS (электронного паспорта датчика) или базы датчиков с возможностью добавления собственных датчиков и вы можете сразу приступать к измерениям. Множество опций графического анализа и различные возможности экспорта делают Catman®Easy надёжным и незаменимым инструментом для всех специалистов, работающих в области измерений. Данное ПО предназначено для работы с измерительными усилителями HBM: QuantumX, MGCplus, espresso DAQ, CANHEAD, eDAQ, eDAQlite, MGCsplit, Spider8 и PMX. Catman®Easy - базовое программное обеспечение. Благодаря Catman®Easy проводить специализированные измерения стало просто:

- настройка усилителя посредством TEDS (электронный паспорт датчика) или базы данных датчиков;
- варианты графического отображения (цифровой индикатор, аналоговая шкала, электронный индикатор, ленточная диаграмма, текст и светодиоды, табличный объект, фоновая картинка);
- возможность экспорта графиков результатов измерения в различные форматы (например, Word, Excel);
- виртуальные каналы для вычислений в режиме реального времени (алгебраические операции, в том числе дифференцирование и интегрирование;
- отслеживание предельных значений и событий);
- анализ графических данных и регистрация;
- видеоанализ (синхронизация измерений и видеоданных);
- экспорт данных в форматы Excel, ASCII, DIAdem, nSoft; работа с системами MGCplus, MGCsplit,Spider8.

9.1.4. Easy EasyMath®

Оператор-пользователь - биофизик может расширить возможности программы ***Catman®Easy*** путем приобретения дополнительных модулей. Например: ***EasyMath®*** **-** дополнительный модуль для:

- *математических* вычислений;
- подтверждения достоверности результатов испытания;

- независимых вычислений по каналам (алгебраические вычисления, в том числе дифференцирование и интегрирование);
- частотного анализа (спектрального анализа);
- фильтрации среднего значения с плавающей запятой;
- анализа напряженного состояния датчиков;
- исследования участков кривых;
- генерации последовательных данных.

Используется дополнительный модуль *Auto-Se-quence*® для:

- автоматизации повторяющихся измерений или этапов анализа;
- графического определения индивидуальных измерительных циклов;
- автоматизированного анализа данных;
- управления измерительными циклами в испытательных установках;
- работы с циклами вручную или автоматически; например:
- перед каждым измерением или после него,
- после каждого считывания измерительных данных и т.п.

9.1.5. EasyPlan ®

Дополнительный модуль ***EasyPlan®*** применим для:

- автономной настройки и позволяет с легкостью произвести предварительную конфигурацию системы под конкретную измерительную задачу без необходимости подключения усилителя к ПК: подготовка измерений даже без подключения усилителя;
- полная настройка параметров измерительной задачи в автономном режиме.

9.1.6. EasyLog®.

В качестве дополнительного модуля иногда рекомендуется для:

- записи измерительных данных на карту памяти или жёсткий диск (в сочетании с усилителями *MGCplus*) в автономном режиме;
- настройки канала и параметров измерения на ПК; загрузки конфигурации в *MGCplus* нажатием одной кнопки;
- автономного измерения на карте памяти *MGCplus*;
- параллельного измерения (накопитель большой емкости для измерительных данных на карте памяти);
- экспорта в другие форматы.

9.1.7. EasyScript ®,

как дополнительный модуль, предназначен для:

- создания скриптов для измерительных задач пользователей, например, в случае самостоятельной разработки специализированных измерений или этапов анализа, производя, таким образом, интеграцию новых функций в *Catman®AP*

9.1.8. EasyScript

базируется на стандарте Microsoft VBA: интеграция индивидуальных алгоритмов, например:

- математических функций или фильтров экспорта;
- программирование специальных измерительных циклов для испытательных установок;
- разработка пользовательских интерфейсов с помощью современных языков программирования: Java; JavaScript; C#; PHP; C++ ; Python; C; SQL; Ruby; Objective-C; Per l; NET; R. Основные, на наш взгляд, языки (*Errare humnum est* - от лат. человеку свойственно ошибаться) - VBA (Visual Basic for Applications), Паскаль - Delfi и Си++.

Для больших же установок подход с единой программой, совмещающей в себе все три функции, невозможный по ряду причин:

1). Большое количество аппаратуры и размеры установки делают невозможным обслуживание всей электроники одним компьютером и одной программой;

2). Объем кода становится столь велик, что совместить всё в одной программе едва ли возможно;

3). Разным программам (управляющим, расчетным) может потребоваться доступ к одной и той же «ПСД» и ЦОС, причем одновременно. Также зачастую программе управления одной подсистемой требуются данные от «ПСД», ЦОС, относящихся к другой подсистеме. Поэтому на всех крупных установках используются системы управления, построенные по так называемой «трехуровневой архитектуре».

9.2.Трехуровневая архитектура ПО к «ПСД» и ЦОС.

Самый верхний уровень представлен прикладными программами. В англоязычной литературе он обычно именуется «***human interface layer***», «***presentation layer***» или «***supervisory layer***».

Средний уровень («***control laye***») является связующим, обеспечивая передачу данных между прикладными программами и аппаратурой, решая также боль-

шое количество служебных задач. Фактически, средний уровень – это как бы «программная шина данных».

Нижний уровень – уровень аппаратуры «***device interface layer», «field layer»*** – состоит из устройств и их драйверов.

Основными достоинствами трехуровневой архитектуры являются:

- *разграничение функций* - каждый уровень решает четко определенную задачу;
- *распределенность* - подобные системы всегда реализуются по модели клиент всегда реализуются по модели клиент - сервер;
- *разрешение конфликтов* - для разработки систем управления, имеющих трёхуровневую архитектуру, наибольшее распространение получил комплекс программных пакетов EPICS, TANGO, TINE, DOOCS, созданный в Аригонской лаборатории США и поддерживаемый сейчас содружеством множества институтов (Лорд, Гирогосиан, Уэллетт, 1987).

10.0. Флуоресцентные методы в практике биофизических работ.

Особенности биофизических методов.

В последнее время показано, что конформационная активность ферментов и структурная устойчивость мембран носит генерализованный характер, когда локальные перестройки макромолекулы отражаются на функции целостной надмолекулярной структуры (Конев и сотр., 1970). Это подтверждает высокую значимость мембранных систем клеток растений в адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды и, тем самым, обосновывает важную роль биофизических методов в их исследовании. Характерной чертой биофизических методов, отличающих их от других, является то, что изучение свойств биологических объектов и их физико-химических адаптационных механизмов проводится на целостных объектах. При этом сам метод не вносит в эти механизмы каких-либо возмущений, что ликвидирует вероятность обнаружения субстратов и процессов, которые проявляются вследствие препаративной обработки образца, т.е. уменьшается вероятность изучения артефактов (Веселовский и сотр., 1974; Веселовский, Тарусов, 1978). Изыскание явлений для разработки таких необычных высокочувствительных методов уже давно стояли перед наукой. И только квантовая биология совместно с биофизикой смогли сконцентрировать эти знания и открыть возможность углубленного изучения биологической роли возбужденных электронных состояний, миграции энергии, свободнорадикального окисления в норме и патологии, метаболического свечения, открытого Тарусовым и сотр. (Тарусов и сотр., 1961).

10.1. Классификации биолюминесценций.

Вопросы изучения свечения требуют создания классификации. Это особенно важно, чтобы определить, какое место занимает открытое явление в кругу подобных, ранее известных явлений *биолюминесценции.*

- *Биолюминесценция* - (*Википедия* - интернет) способность живых организмов светиться, достигаемая самостоятельно или с помощью симбионтов. Название происходит от греч. *βίος*, «жизнь» и лат. *Lumen* - «свет». Свет продуцируется у более высоко развитых организмов в специальных светящихся органах (например, в фотофорах рыб), у одноклеточных эукариот - в особых органоидах, а у бактерий - в цитоплазме. Биолюминесценция основывается на химических процессах, при которых освобождающаяся энергия выделяется в форме

света. С термодинамической точки зрения ***биолюминесценция*** является одним из видов хемилюминесценции.

Все виды *биолюминесценции* можно разделить на два класса: ***с****понтанную и индуцированную*.

10.2. Спонтанная биохемилюминесценция.

Спонтанная биохемилюминесценция в свою очередь, подразделяется на: *физиологическую, ультрафиолетовую, сверхслабую метаболическую биолюминесценцию, биолюминесценцию под воздействием ионов двухвалентного железа.*

10.2.1. Физиологическая биолюминесценция

Физиологическую (экзотическую), которая впервые была описана еще Аристотелем. Научно обоснованное изучение физиологической биолюминесценции стало возможным после того, как Бойль установил, что для свечения необходим кислород. Великий Дюбуа обнаружил два других необходимых компонента: субстрат - люциферин и специфический фермент - люциферазу (Данилов, Егоров, 1990).

10.2.2. Ультрафиолетовую биолюминесценцию,

проявляющуюся в трех эффектах:

- ***стимулирующем*** - пусковым по отношению к клеточному делению. *Митогенетическое излучение* было обнаружено в 1923 г. Гурвичем А.Г. по его способности стимулировать клеточное деление. Он определил его спектральный диапазон, находящийся в области 190 – 320 нм. (Гавриш, 2003).
- ***испускании, так называемого, «некробиологического излучения»*** обнаружено Лепешкиным В.В. в 1934 г. Развивая идею о важнейшей роли липопротеиновых комплексов - основных структур клеток, Лепешкин В.В. высказал гипотезу о том, что распад этого комплекса при гибели клеток должен сопровождаться испусканием излучения, и ее экспериментально подтвердил. Он первый сделал попытку инструментально, с помощью высокочувствительных фотопластин зарегистрировать это излучение (Журавлев,2011).
- ***информационном организующем действии***, проявляющемся в **«*зеркальном* цитопатическом эффекте»**, обнаруженном 15 февраля 1966 г. Казначеевым, Михайловой, Шуриным - открытие № 122 (Казначеев, Михайлова, Шурин, 1966). Установлено дистанционное взаимодействие клеток двух тканевых культур (в двух инкубаторах), одна из которых подвергалась действию экс-

тремального агента (ДНК - или РНК-содержащий вирус, двуххлористая ртуть, УФ - облучение).

10.2.3. Сверхслабую метаболическую биолюминесценцию

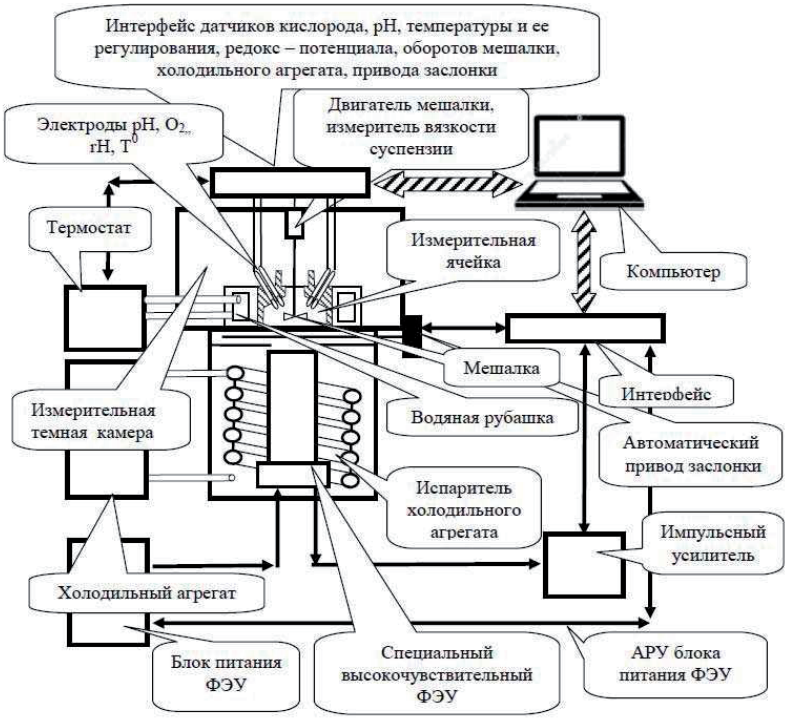


Рис. 10.1. Схема установки для одновременного квантометрического измерения сверхслабой хемилюминесценции, температуры, парциального давления кислорода, pH, редокс потенциала и вязкости объекта исследования (по Тарусову, Веселовскому, 1978).

Эффект взаимодействия пораженной ткани и интактной культуры, размещенных в изолированных инкубаторах при сохранении оптического контакта в виде кварцевых пластинок, фиксировался по морфологическим проявлениям. При соблюдении ряда условий в интактной культуре в 74 - 78% случаев разви-

вался зеркальный цитопатический эффект, морфология которого копировала морфологические критерии действия примененных агентов.

Сверхслабую хемилюминесценцию живых организмов и биосубстратов в видимой и инфракрасной областях спектра обнаружили в 1954 г. итальянские исследователи Колли и Фацини (Colli, Facchini,1954) у растений и в 1961 г. Тарусов и сотр., (Тарусов и сотр., 1961) у млекопитающих (*Рис.10.1.*). Это свечение является универсальным для всех тканей растений и животных. В ряде случаев уже установлена корреляция между интенсивностью обмена или степенью его нарушения (рак, яды, перегрев, переохлаждение и т. п.) и интенсивностью свечения при действии абиотических факторов, что дает возможность получать информацию о роли квантовых явлений в процессах метаболизма. Свечение клеточных органелл – митохондрий было открыто в 1964 г. Ю. А. Владимировым (Владимиров, Львова,1964).

10.2.4. Биолюминесценция Владимирова.

Биолюминесценцию под воздействием ионов двухвалентного железа. Открытие было сделано в 1968 г. Ю. А. Владимировым (Владимиров, Суслова, Оленев и сотр., 1964). Российскими исследователями найдены различия в интенсивности сверхслабого свечения нормальных и опухолевых тканей, раковых и туберкулезных животных, у животных в норме и при лучевом поражении. Кроме того, сверхслабое свечение с успехом используется на практике для целей диагностики жароустойчивости, солеустойчивости, морозоустойчивости, холодоустойчивости и газоустойчивости растений, что указывает на перспективность и необходимость исследования данного явления, а так же изучения его механизма.

10.3. Индуцированная биолюминесценция.

Общие положения.

При воздействии физических факторов (ультрафиолетовое излучение, ионизирующая радиация, ультразвук, радиоволны различного диапазона и др.) интенсивность сверхслабого свечения биологических объектов значимо увеличивается. Превышение интенсивности свечения тканей организма и биосубстратов после воздействия физического фактора над его спонтанным сверхслабым свечением относится к *индуцированной биохемилюминесценции*.

При этом следует подчеркнуть, что индуцированная биохемилюминесценция отличается от люминесценции, флуоресценции, фосфоресценции, по крайней мере, по двум критериям:

а) интервалу времени послесвечения более 10 сек., которого вполне достаточно, чтобы прекратилась самая длительная физическая люминесценция (с триплетных уровней);

б) исчезновению или резкому ослаблению замедленная флуоресценция («ЗФ»), что в отсутствие кислорода является прямым доказательством наличия биохемилюминесценции.

К индуцированной биохемилюминесценции относятся: замедленная флуоресценция («ЗФ»), импульсно-амплитудно-модулированная флуоресценция, термолюминесценция биологических систем, фото -, радиохемилюминесценция и ультразвуковое свечение.

10.3.1. Замедленная флуоресценция («ЗФ»)

«ЗФ» – (ранее называлась послесвечение), открытая Стреллером и Арнольдом в 1951 г. (Arnold, Strehler,1951) на фотосинтезирующих организмах. Она возникает после освещения органелл, содержащих хлорофилл. Энергию фотосинтетической биолюминесценции поставляют реакции фотопродуктов, образовавшихся в процессе освещения, т. е. обратные фотохимические реакции.

10.3.2. Импульсно-амплитудно-модулированная флуоресценция.

Фотосинтез, т.е. процесс синтеза углеводов из воды и CO_2 под воздействием света в фотосинтезирующих организмах - ключевой процесс жизни. Поколения биологов изучали фотосинтез посредством манометрии Варбурга и позже - с помощью газоанализаторов, хроматографов, масспектрометров и кислородных электродов. Однако, с развитием теории и систем измерения флуоресценции хлоропластов, существенно прогрессировавших в последние десятилетия, и сопутствующим упрощением подготовки исследуемого образца для измерения газового обмена все в большей степени отходят на второй план измерения газообмена. Доминирующими становятся оптические методы, так называемые импульсные амплитудно-модулирующие флуориметры «ИАМ», введенные в практику Шрайбером (Schreiber et al, 1983, 1986-1988) в университете Вюрцбурга (Германия) и практически параллельно разработанные Королевым А.М. в СССР (Королев,1981; Королев, Можельский, 2011). В настоящее время появились новые флуориметры: английский мультифункциональный анализатор эффек-

тивности растений M-PEA-2 (Hansatech Instruments Ltd.); чешский портативный флуориметр PAR-FluorPen FP 100 MAX-LM и AquaPen-C AP-C 100 и сотр.

«ИАМ» - приборы, завоевавшие в короткое время мировой рынок и признание, производятся в настоящее время фирмой Walz в Эффельтрихе (Германия). Не будет преувеличением сказать, что внедрение в практику биофизики, биохимии, молекулярной биологии, биотехнологии, генной инженерии, охраны окружающей среды, генетики, сельского хозяйства, агрофизики, физиологии растений, культуры клеток и т. д. метода (ИАМ) является столпом современной мировой науки, основанного на достижениях оптико-электронного и компьютерного приборостроения.

Сущность метода ИАМ заключается в том, что, например: исследуемый фотосинтезирующий объект (лист растения, суспензия хлоропластов и водорослей) освещают интенсивным действующим светом от лампы накаливания 3-4*10^{-3} Вт/см^2 или от лампы - вспышки стробоскопической с энергией импульса 5 Дж, $\tau \approx 1$ мкс, индуцирующей фотосинтетический процесс. Слабый по интенсивности измеряющий свет (голубой $\lambda \sim 400$ нм), возбуждающий флуоресценцию *Fo*, позволяет следить за кинетикой закрытых РЦ вследствие восстановления первичного акцептора электронов этого процесса *Fm*. Уровень флуоресценции *Fo* характеризует степень «открытости» всех реакционных центров (РЦ) фотосистемы 2 (ФС2) и представляет излучение молекул возбужденного хлорофилла «А», имеющее место до того, как энергия смигрировала в РЦ, когда первый стабильный акцептор QA окислен (Рубин, 2000). Такие переходные индукционные кривые выхода флуоресценции обусловлены изменяющейся ее частью и называются переменной флуоресценцией $Fv= Fm - Fo$ (ПФ) (Schreiber,1983). Поэтому «ИАМ» позволяет зондировать in vivo уникальные процессы, как, например: состояние РЦ, эффективность разделения зарядов в реакционных центрах на фотосинтетической мембране, различные флуоресцентные кинетические процессы, и использовать данный метод исследования первичных процессов фотосинтеза, диагностики устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды, а так же для мониторинга окружающей среды с помощь тест - объектов.

Рассмотрим принцип работы прибора по регистрации импульсной амплитудно-модулированной флуоресценции, для чего обратимся к схеме (см. рис.10.2.). Для получения надежного сигнала флуоресценции возбуждающее излучение флуоресценции модулируется. Для этого используется генератор, который пи-

тает и модулирует голубой светодиод, генерирующий измерительный свет («ИС»). Промодулированный «ИС» поступает через светофильтр на образец. «ИС» возбуждает в нем флуоресценцию F_o, регистрируется через светофильтр и объектив фотоэлектронным умножителем (ФЭУ), сигнал с которого усиливается. Далее сигнал поступает в синхронный детектор (СД), работающий в режиме «захвата» (*Capture* - по зарубежной терминологии) - синхронного детектирования, т.е. фазочувствительного демодулятора (ФЧД). СД и ФЧД позволяют регистрировать только промодулированное излучение флуоресценции.

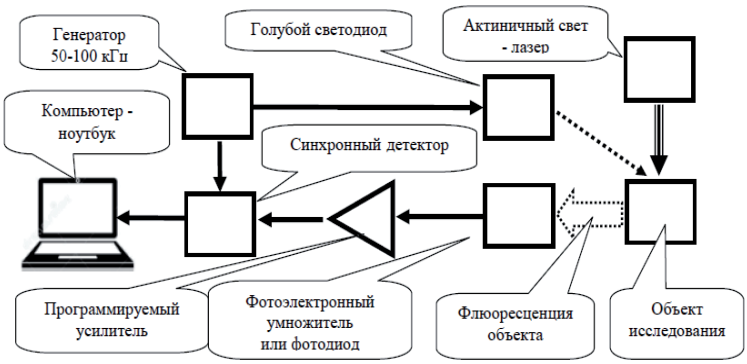


Рис. 10.2. Приципиальная блок - схема прибора регистрации импульсно – амплитудной модулированной флуоресценции.

Такая регистрация дает возможность получить максимальное отношение сигнал/шум, что обеспечивает высокую чувствительность регистрации флуоресценции даже при дневном освещении, когда интенсивность излучения исследуемого объекта близка к уровню сигнала, незначительно отличающегося от уровня шумов. Конечно, сейчас уровень вычислительной техники позволяет обойтись без синхронных детекторов и ФЧД, используя все возможности современного программирования и контроллеров. Существует простое и четкое соотношение между флуоресценцией хлорофилла и эффективностью преобразования энергии в фотосинтезе: 100% полученной световой энергии = флуоресценция + фотохимия + тепло или для краткости: $\boldsymbol{E = Pf + P + D = 1}$ (***D*** - диссипация или тепло). В этом уравнении три неизвестных, среди которых особый

интерес представляет фотохимия ***P***, т.е. преобразование энергии света в биохимический биофизический эквивалент. Если мы сможем определить ***Pf*** (флуоресценцию) и ***D*** (диссипацию), то можно вы числить значение P (фотохимию). Именно это можно получить с помощью «ИАМ» флуориметра. Более точно ***Pf*** регистрируется с помощью двухволнового «ИАМ» флуориметра, блок – схема, которого представлена на рис. 10.3.

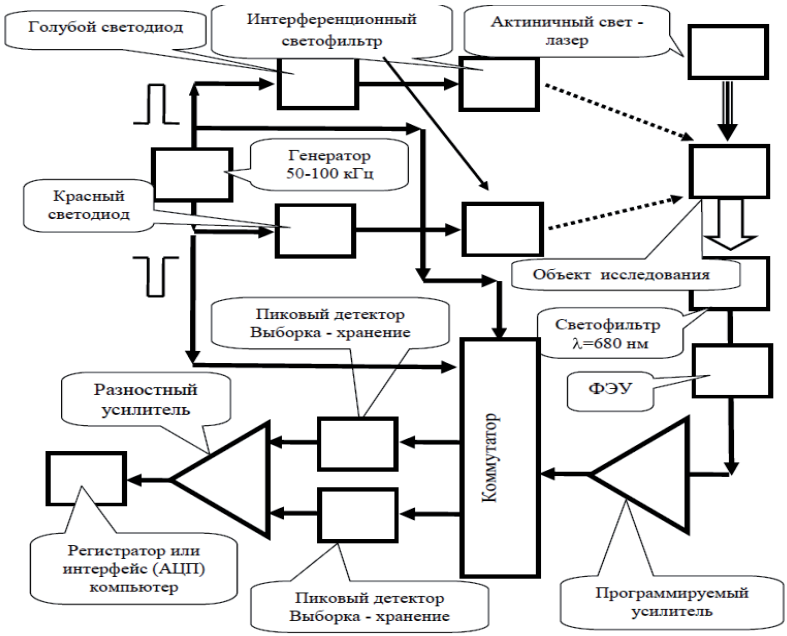


Рис. 10.3 Принципиальная блок- схема прибора регистрации импульсно - амплитудно-модулированной двухволновой флуоресценции.

Мультифункциональные анализаторы.

Достижения в разработке высококачественных светофильтров, детекторов излучения, свето- и фотодиодов определили прогресс оптического приборостроения, в результате которого в настоящее время разработаны мульти-

функциональные анализаторы M-PEA-2 (Multifunctional Plant Efficiency Analyzer, Hansatech Instruments Ltd., Великобритания), которые позволяют регистрировать сигналы быстрой и замедленной флуоресценции фотосинтезирующих объектов каждые 10 мкс в интервале регистрации 0–0,3 мс; каждые 100 мкс – 0,3-3 мс; каждую 1 мс – 3–30 мс; каждые 10 мс – 30–300 мс; каждые 0,1 с – 0,3–3 с; каждую 1 с – 3–30 с, далее сигналы регистрируются каждые 10 с. (Goltsev et al., 2009).

Свойства приборов «ИАМ», как одно- или двухволнового, и появившегося мультифункционального анализатора чрезвычайно ценны для научных и практических исследований: процессов фотосинтеза; разработки методов диагностики устойчивости автотрофных клеток высших и низших растений к абиотическим факторам внешней среды (низких и высоких температур; засухи; засоления; гербицидов; ионизирующего излучения), а также мониторинга окружающей среды с помощью тест - объектов.

10.4. Термолюминесценция биологических систем.

Термолюминесценция свечение, возникающее после нагревания в предварительно освещенном биосубстрате, которая представляет собой либо биохемилюминесценцию, сопровождающую часть обратных фотохимических реакций с более высоким активационным барьером, для преодоления которого и необходимо или нагревание, или термовысвечивание, аналогичное термовысвечиванию кристалло-фосфоров и предполагающее наличие у биологических объектов полупроводниковых свойств. Это явление было обнаружено в 1957 г. Арнольдом и Жервуд на высушенных хлоропластах (Шварц, 1968).

10.5. Фото -, радиохемилюминесценция, ультразвуковое свечение

хемилюминесценция, возникающая в тканях живых организмов и в биосубстратах после воздействия на них света, ионизирующей радиации, ультразвука (Журавлев, 2011).

10.6. Метод замедленной флуоресценции («ЗФ»).

Общие сведения.

Метод «ЗФ» широко известен не только при изучении механизмов фотосинтеза, но и при исследовании устойчивости растений к экстремальным факторам внешней среды (действию температур, обезвоживанию, засолению), а также

при определении активности гербицидов и антибиотиков (Arnold, Strehler, 1951; Голодрига и сотр., 1967; Arnold, Azzi, 1968; Clayton, 1969; Быков, Королев, 1980; Джанумов, 1971; Конев, 1972; Королев, 1977, 1980, 2005, 2006, 2011; Королев, Конев, Терешин, 1979; Королев, Конев, Туркевич и сотр.,1980 ; Корота В.В., 1978; Королев, Удовенко, 1981; Королев, Можельский, 2011; Литвин, Шувалов 1966; 1973; Мочалкин, Озолина, 1972; Рубин, 2000; Тарусов, Веселовский, 1976; 1978; Ушаков, 1955).

Характеристики замедленной флуоресценции («ЗФ»).

Историческая справка о методе.

«ЗФ» зеленых растений была открыта Арнольдом и Стреллером в 1951(Arnold, Strehler, 1951). «ЗФ» - результат фотовозбуждения пигментного комплекса и отражает электрохимическую активность мембранных систем тилакойдов хлоропластов. Тесная связь «ЗФ» с активностью фотосинтетического аппарата, его важная роль в отражении жизнедеятельности растений позволили использовать «ЗФ», как наиболее информативный и мощный инструмент в биофизических исследованиях с точки зрения обнаружения ранних изменений - нарушений в растительной интактной клетке или листе растения (*in vivo*). Она характеризует энергетику автотрофного процесса усвоения углекислоты, развившегося в процессе эволюции и дает важную информацию о механизмах переноса электрона в первичных процессах фотосинтеза (Рубин, 2000).

Физико-химическая природа «ЗФ».

Источником энергии «ЗФ», таким образом, являются обратные реакции рекомбинации первичных продуктов фотосинтеза, что подтверждается данными об отсутствии «ЗФ» у мутантов растений и фотосинтезирующих бактерий с поврежденными реакционными центрами фотосистем (Clayton, 1965).

Связь фотосинтеза и «ЗФ».

Изучение спектральных, световых и температурных кривых, а также воздействий ингибиторов фотосинтеза показало, что процесс «ЗФ» связан с реакциями механизма фотосинтеза и зависит от функционирования реакционных центров (Arnold, Strehler, 1951; Литвин, Шувалов, 1973; Литвин и сотр., 1973;).

«ЗФ», электронный транспорт, фотофосфорилирование.

Спектр «ЗФ» совпадает со спектром флуоресценции хлорофилла «А», а спектр действия «ЗФ» - со спектром действия фотосинтеза (Arnold, Azzi, 1968). Работами Azzi., Bertsch, Davidson (1962); Bertsch, Clayton (1965); Clayton, (1965); Литвина, Шувалова (1966; 1973; 1973); Смита, Хенеуолта (1972); Руби-

на (2000). Было установлено, что время жизни возбужденного состояния хлорофилла на несколько порядков меньше времени жизни «ЗФ» и в интервале затухания 10^3 - 10^{-4} сек. состоит из ряда кинетических компонент, что указывает на несколько процессов вторичного возбуждения молекул хлорофилла (Литвин, Шувалов, 1968; 1969). Был обнаружен эффект тушения долгоживущих (0,5 сек и более) компонент свечения дальним красным светом, который позволил сделать предположение об участии 2-ой фотосистемы в генерации этих компонет (Goedheer, Vegt, 1962). Берч с сотрудниками (Azzi, Bertsch,1962) исследовал два мутанта *Scenedesmus obliguus* с поврежденными реакционными центрами 1-ой и 2-ой фотосистемы. У последнего мутанта «ЗФ» не была обнаружена, что указывает на связь «ЗФ» зеленых растений с 2-ой фотосистемой. В частности, показано (Itoh, et.al., 1971), что быстрая компонента индукционной кривой «ЗФ» связана с электронно-транспортными реакциями, тогда как медленная - отражает накопление высокоэнергетического интермедиатора фотофосфорелирования. По мнению исследователей (Wraigt et. al., 1971) индукция миллисекундного компонента отражает установление электрохимического потенциала на мембране тилакоида хлоропласта. Причем быстрая фаза представляет рост разности электрических потенциалов, а медленная - становление протонного градиента *pH*. Результаты работ показывают (Itoh, et.al.,1971), что стационарный уровень «ЗФ» миллисекундного компонента отражает скорость образования предшественника АТФ. Эти же авторы, исследуя кинетику «ЗФ», наблюдали изменения протонного градиента («ПГ») на мембранах хлоропластов интактных объектов. Было обнаружено, что полиеновые антибиотики ингибируют (Королев, Конев и сотр,1981), а фитогормоны стимулируют «ПГ» на мембранах хлоропластов (Королев, Кондратенко и сотр., 1989), на основе чего были разработаны высокочувствительные методы определения биологической активности полиеновых антибиотиков и фитогармонов (Королев, Конев и сотр., 1981).

Способы регистрации «ЗФ».

Для регистрации «ЗФ» фотосинтезирующих объектов служит фосфороскоп (***Ф***), представляющий собой механическое устройство, при помощи которого постоянный поток света преобразуется в отдельные вспышки, разделяющие процесс возбуждения и регистрации «ЗФ». ***«Ф»*** позволяет защитить ФЭУ от мощной вспышки - засветки. ФЭУ - фотоэлектронный умножитель - электровакуумный прибор для регистрации сверхслабых свечений. По техническим условиям эксплуатации ФЭУ не выносит мощных засветок светом, т.к. теряет

чувствительность (или даже выходит из строя), резко снижая свой динамический диапазон работы. Существует большое множество типов «***Ф***», но мы рассмотрим лишь четыре.

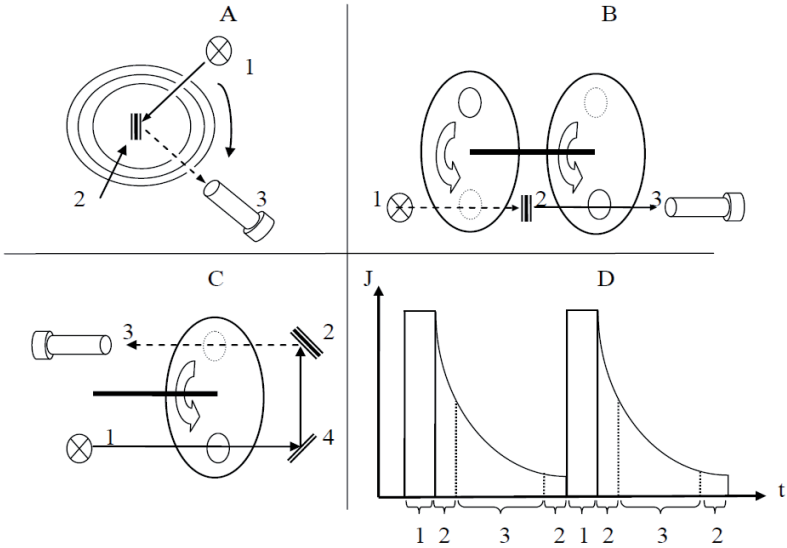


Рис. 10.4. Конструкции - схемы разных типов фосфороскопов, где А – фосфороскоп из трех коаксиальных цилиндров; В - двухдисковый фосфороскоп; С - однодисковый фосфороскоп; 1 - осветитель - источник возбуждения «ЗФ», 2 - объект исследования, 3 - ФЭУ - фотоэлектронный умножитель - регистратор «ЗФ», 4 – зеркало; D - последовательность (фазы) работы фосфороскопа во времени: 1 - возбуждение «ЗФ», 2 - интервал между возбуждением и началом регистрации «ЗФ», 3 - кинетика регистрации «ЗФ». В координатах: по оси ординат - интенсивность «ЗФ»; по оси абсцисс - время.

*Первый тип «**Ф**»:* - цилиндрический, который состоит из двух цилиндров, вставленных друг в друга и имеющих окна для возбуждения и регистрации «ЗФ». Объект исследования располагается в центре внутреннего цилиндра. Поворотом внутреннего цилиндра вокруг своей оси его окно попеременно устанавливают напротив ФЭУ то для возбуждения «ЗФ», то для ее регистрации (рис. 10.4. А.).

Второй тип ***«Ф»*** - система из двух вращающихся на одной оси дисков (рис.10.4.В.). Объект располагается между ними. Диски вращаются в специальных полостях корпуса ***«Ф»***. Полости корпуса имеют окна: на одной стенке окно для входа возбуждающего света, на противоположной - окно для измерения «ЗФ» образца ФЭУ. Окна перекрываются вращающимися дисками с отверстиями, совмещающимися с окнами камеры (Рис.10.4.С).

Третий тип ***«Ф»*** имеет один вращающийся диск. Он располагается в полости, которые имеют два окна: для входа возбуждающего света и выхода «ЗФ» на ФЭУ. При вращении диск фосфороскопа, имеющий обычно несколько нечетных отверстий, поочередно закрывает и открывает входное и выходное окна. «***Ф»*** снабжен зеркалом для поворота луча возбуждения «ЗФ» на объект.

Четвертый тип ***«Ф»*** - струйный (проточный), в котором ферментер с исследуемой суспензией фотосинтезирующих клеток (например: Хлореллы) облучается светом. Далее суспензия по светонепроницаемым трубкам прокачивается насосом через измерительную ячейку (в течение 0,5 - 1 сек. после освещения) перед ФЭУ для регистрации «ЗФ» и с помощью перистальтического насоса вновь возвращается в ферментер. Скорость потока суспензии клеток и расстояние от места освещения до ФЭУ определяют временные характеристики «ЗФ». (Рис.10.5.).

«Ф» позволяет осветить объект исследования мощным пучком света в сотые доли секунды, прервать свет и всего в нескольких сантиметрах от места возбуждения «ЗФ» через выходное окно начать регистрировать затухающую «ЗФ». Причем затухающая «ЗФ» может быть меньше возбуждающего света на 10 - 20 порядков (регистрация слабых потоков «ЗФ» не простая задача даже для специалистов - оптиков, работающих в области регистрации слабых свечений). Чтобы исключить попадание возбуждающего света на ФЭУ через полость в корпусе, где вращается диск или цилиндр, все детали ***«Ф»*** «чернят», а зазоры между вращающимися частями и стенками делают предельно малыми (0,1 - 0,3 мм). ***«Ф»*** при своей кажущейся простоте являются сложными, не стандартными в изготовлении прецизионными оптико-механическими приборами. При облучении объекта (входное окно открыто, выходное закрыто) «ЗФ» достигает максимума, но в этот момент не может быть зарегистрирована. «ЗФ» от объекта начинает попадать на ФЭУ через некоторый темновой промежуток (***«ТП»***) - в этот момент и входное и выходное окна закрыты. После прекращения облучения - входное окно закрыто, выходное открыто. Затем выходное окно закрыва-

ется и через ***«ТП»*** начинается повторное облучение. Процесс многократно повторяется. Временные характеристики описанных фосфороскопов зависят от параметров: геометрии и скорости их вращения.

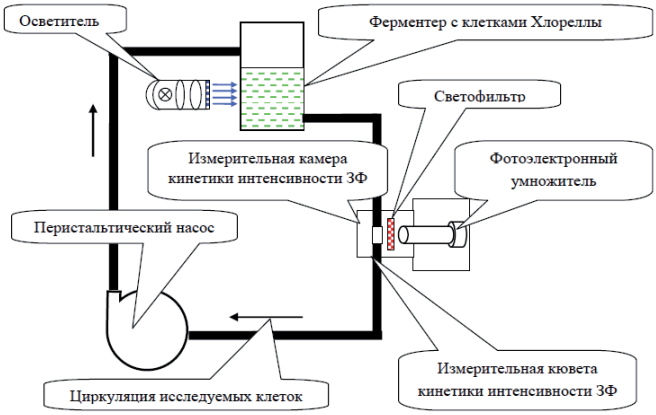


Рис. 10.5. Проточная конструкция установки для регистрации медленных компонент («время жизни «ЗФ» ≈1 сек») «ЗФ» исследуемых клеток Хлореллы.

Связь «ЗФ» и флуоресценции.

Установлено, что «ЗФ» и флуоресценция испускается с одного и того же возбужденного уровня молекулы хлорофилла (Azzi, et.al.,1962). Разница между «ЗФ» и флуоресценцией состоит в способе возбуждения молекулы пигмента: для флуоресценции синглетный уровень молекулы заполняется при прямом поглощении квантов света, а для «ЗФ» - за счет энергии, выделяемой в темновых реакциях.

Использование «ЗФ» для диагностики функционального состояния фотосинтетических клеток.

Высокая информативность «ЗФ» и ее связь со структурно - функциональными изменениями в хлоропластах во время превращения в них энергии квантов света в энергию химических связей, позволяет использовать ее как мощный ин-

струмент для исследования реактивных перестроек в хлоропластах под действием абиотических и биотических факторов внешней среды.

С помощью регистрации «ЗФ» были исследованы реакции растений на действие: высоких и низких температур; радиоактивного излучения; газов; засоления; водного дефицита; гербицидов; антибиотиков; ростовых веществ; заболевание фитоинфекцией; совместимость подвоя и привоя.

Возможность быстрого определения характеристик «ЗФ» интактных объектов делают этот метод перспективным для глубокого изучения механизмов фотосинтеза, мониторинга загрянения окружвщей среды.

Такая возможность оценки исходного материала имеет первостепенное значение для нужд интродукции, селекции и генетики растений. (Arnold, Strehler, 1951; Ушаков, 1958; Голодрига и сотр.,1967; Литвин, Шувалов, 1969; Мочалкин, Озолина, 1972; Saakov 1975, 1988, 1990, 1993,1996; Веселовский и сотр., 1976; Джанумов и сотр., 1976; Сааков 1976, 1993; Королев, 1977; Тарусов, Веселовский, 1978; Волкова, Королев, 1979; Королев и сотр., 1979, 1980, 1981, 1989, 2005, 2011; Королев, Удовенко, 1981; Королев, 1983; Королев, Можельский, 2011).

11. Разработка биофизического автоматизированного «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов»[14] («FLA»).

Оперативное регистрирование «ЗФ» составляет основу современных экспресс - методов оценки устойчивости растений. О несомненных успехах решения прикладных проблем физиологии, биофизики и генетики в вопросах устойчивости растительных и животных клеток к действию абиотических факторов среды обитания свидетельствуют материалы российских и международных конференций (Всесоюзное совещание «Люминесцентные методы исследования в сельском хозяйстве и перерабатывающей промышленности», Минск, 1985; Всесоюзное совещание: «Биохемилюминесценция в медицине и сельском хозяйстве», Ташкент, 1986; 1-ый Международный симпозиум «Photoemission from biological systems», Вроцлав, 1986).

Кроме того материалы и практический методический опыт показывают перспективность этого метода (Голодрига, Китлаев, Тарусов, 1967; Веселовский, Джанумов, 1971, 1976; Королев, 1977; Тарусов, Веселовский, 1978; Королев 1980; Королев, Конев и сотр., 1980; Королев, Удовенко1981; Королев, Кондратенко и сотр., 1989; 2006; Королев, Можельский, 2011).

Но для более успешного использования метода замедленной флуоресценции для диагностики адаптивных механизмов гомеорезов биологических систем – генотипов растений и диагностики состояния растений требуются биофизические высокопроизводительные автоматизированные системы регистрации «ЗФ» с возможностью проведения многофакторного эксперимента (Василенко,1990; Василенко, Королев, 1990; http://adweb.desy. de/mst/ tine/), т.е. средства автоматизации эксперимента на базе микро-ЭВМ (микроконтроллеров), совместимых с персональными компьютерами.

11.1. Принцип работы системы («FLA»).

Принцип работы системы (*«FLA»*) основан на сочетании фотоэлектронной, компьютерной, фосфороскопической техники, позволяющей разделить возбуждающий луч света «ЗФ» и регистрацию световых потоков излучения исследуе-

[14] Прибор FLA разработан под руководством проф., док. биол. наук Быкова О.Д. и канд. тех. наук Гутта В.В. Пользуюсь случаем выразить им свою искреннюю благодарность.

мых образцов при программируемом заданном линейном их нагреве, управляемом компьютером через контроллер.

Рис. 11.1. Принципиальная схема двухдискового фосфороскопа «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» (*«FLA»*) (Королев, 1993)

В *«FLA»* были использованы следующие экспериментальные приборы: двухдисковый фосфороскоп; галогеновая лампа - КГМ - 200 или лампа - вспышка ИСШ-100; светофильтры; электродвигатель - привод фосфороскопа; шаговый двигатель - привод карусельного стола, на котором находится *оригинальная* кассета для исследуемых образцов; фотоэлектронный умножитель (ФЭУ) ФЭУ-79; высоковольтный блок питания ФЭУ; контроллер с 8/10 разрядным АЦП для регистрации сигнала с ФЭУ; карусельный стол под кассету для образцов; калорифер прецизионного программируемого термостата от -10^0 до $+60^0$.

Фосфороскоп «FLA» состоит из двух вращающихся на одной оси дисков, помещенных в специальные полости и относиться к типу Б фосфороскопов (рис. 10.4. Б). Вращение фосфороскопа синхронизируется с контроллером (с программой *«FLA»*) с помощью специальных оптопар (см. рис.11.1). Пространство между дисками образует термокамеру программируемого прецизионного калорифера (см. рис. 11.1), где на оси дисков фосфороскопа находится «карусель» - держатель кассеты для образцов. Характерное отличие оригинальной кассеты для образцов - в кассете над каждой ячейкой для образца устанавливается заданный по протоколу эксперимента нейтральный ослабляющий светофильтр (для снятия световых зависимостей «ИКЗФ» и «ТКЗФ»). Кассеты для образцов имеют подковообразную форму с разрезом от периферии к центру и вставляются в термокамеру на «карусель» «FLA». План - шайба и втулка карусели, на которую «садится» кассета для образцов, располагается на подшипниках соосно[15] на валу, соединяющем два диска фосфороскопа. Таким образом, вал фосфороскопа выполняет две функции: привода вращения и соосного удержания вращающей карусели. На верхней части соосной втулки карусели находится редуктор угловой передачи, на который по валу от шагового двигателя передается вращение. Шаговый двигатель управляется от контроллера по программе с компьютера. Для повышения точности позиционирования кассета для образцов синхронизируется оптронной парой, как и фосфороскоп (см. рис.11.1.). Термокамера внутри имеет в верхней и нижней стенках два диаметрально противоположно расположенных окна. Верхнее окно - для входа возбуждающего света, нижнее - для измерения «ЗФ» образца (с помощью ФЭУ который расположен напротив нижнего окна), находящегося в кассете для образцов на «карусели». (Привод «карусели» осуществляется с помощью шагового двигателя, который управляется программируемым контроллером и синхронизируется оптопарами см. рис.11.1). Окна термокамеры перекрываются дисками с специально предусмотренными окнами, совмещающимися с окнами камеры, в которой находится вращающаяся «карусель» с кассетой для исследуемых образцов. Окна в дисках имеют разные размеры. В первом диске (см. рис.11.1), перерывающем возбуждающий луч «ЗФ», - два диаметрально противоположных окна. Во втором диске (см. рис.11.1), закрывающем ФЭУ, имеется два сек-

[15] Как на соосных винтах в вертолетах типа «Ка» или у самолетов Ту-114 (Ту-95) российского производства.

тора – широкие прорези, разделенные промежутком. Окна термокамеры попеременно открываются.

Характеристики фосфороскопа представлены в разделе: «Основные технические характеристики «FLA»» (см. раздел 10.). Сигнал от ФЭУ подается в компьютер через программируемый усилитель и АЦП в контроллер[16]. Синхронизация открытия окна для регистрации «ЗФ» и сигнала из кассеты от исследуемого образца осуществляется с помощью оптронных пар (светодиод - фотодиод). Следует отметить, что попытки создать подобный *аналоговый* высокопроизводительный прибор предпринимались и раннее, но не увенчались успехом (Федулов, 1988). И только благодаря использованию нами цифровой измерительной вычислительной техники - компьютеров, электроники на основе микропроцессоров, АЦП, программируемых усилителей[17], точной механики и оптики (двухдискового фосфороскопа с оригинальной кассетой для образцов «карусельного» типа, находящейся в прецизионном программируемом калорифере), оригинального программного обеспечения, драйверов - вспомогательных программ (на основании остроумных алгоритмов[18] автоматической оптимизации измерения) удалось создать новый цифровой высокоточный компьютерный «Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») (Королев, 1993). Кроме того, «FLA» снабжен программами *многофакторного планирования,* распознавания образов (типа *Statgrapics*) для классификации исследуемого материала (Стьюпер и сотр., 1982).

«FLA» обладает следующими преимуществами (в сравнении с *аналоговым* – не цифровым, выше указанным прототипом: прибором (Федулов, 1988)): новой реализаций динамического и временного диапазона регистрации «ЗФ» с помощью автоматической оптимизации питания ФЭУ; управлением блоком питания ФЭУ через ЦАП; программируемыми усилителями и АЦП; большой светосилой конструкции фосфороскопа; оригинальной кассетой [19] для образцов; авто-

---

[16] Схематехника контроллера не приводится, так как она практически аналогична по схемотехнике и параметрам в разработанном нами «Высокочувствительном полифункциональном фотометрическом детекторе *ВПФД*)» см. раздел 14.

[17] программируемые усилители, управляемые контролером, резко расширяют динамический диапазон регистрации ЗФ как прибора «FLA» и «ВПФД».

[18] В частности автоматическая оптимизация питания ФЭУ, управляемая контроллером через ЦАП высоковольтным блоком питания ФЭУ(см. рис. 14.2,14.3)

[19] Ослабляющие светофильтры находятся в небольшом отдалении над образцами, что не нарушает температурный режим многофакторного эксперимента.

матической адаптацией ПО «FLA» к новым условиям эксперимента; удобным оператору настраиваемым пользовательским интерфейсом, возможностью управления «FLA» в проводимом многофакторном эксперименте и анализе экспериментальных данных; богатейшими возможностями по представлению сервисной информации; расширенным специализированным анализом с оригинальным методическим подходом. При этом размеры записи сигналов в реальном времени практически не ограничены (Королев и сотр., 1990).

11.2. Основные технические характеристики прибора FLA.

Основные технические характеристики прибора FLA:

- количество исследуемых образцов
в сменных кассетах[20], шт…….……...…….… 10 - 24
- возможность работы: с высечками листьев, суспензиями водорослей;
- возбуждение «ЗФ»:
  - гелий-неоновым лазером, нм…….…….….628
  - лампой КГМ -300 СЗС-22Е Вт/м^2……..…….…...20
  - импульсной лампой ИСШ-100-3:
    - длительность импульса, сек……....10^{-6}
    - энергия, Дж……. …….……5
- ослабление возбуждающего света, %…...…10, 15, 25, 40, 50, 65, 75, 90
- регистрация «ЗФ», нм.....680
- время возбуждения «ЗФ», мс……..……...…….0,7
- время регистрации:
  - «ЗФ», мс……..…….……...…1 -.10
  - индукции ЗФ образцов, мин……..….……3 – 5
- температурной кинетики ЗФ образцов, мин.……4 - 8
- АЦП 8/10 разрядов, время преобразования, мкс……...…….……1
- фотоэлектронный умножитель……..…… ФЭУ -79
- скорость изменения температуры образцов, град/мин……...…..….5 - 10

[20]Программная настройка под заданную кассету по количеству исследуемых образцов согласно плана эксперимента осуществляется в служебном раделе Tuning протокола дружеского интерфейса FLA (см. рис. 9.1)

- температура образцов задается в интервале, град……..…-10 ... +60
- скорость линейного изменения температуры град./мин……...…5 – 10
- точность регулирования температуры +/- град..…….…….……..0,1
- FLA использует стационарный компьютер или ноутбук и три однокристальных микроконтроллера[21]: один - AT89C51, и два - ATmega8A-PU:
  - первый микроконтроллер, типа - AT89C51используется для сбора данных и управления различными реле и «сбора» сигналов оптронов фосфороскопа, синхронизации карусели кассеты образцов, контроля дверцы термокамеры, вкл. питания ФЭУ и т.п.;
  - второй микроконтроллер, типа ATmega8A-PU для управления привода шагового двигателя «карусели» для кассеты образцов;
  - третий микроконтроллер, типа ATmega8A-PU для управления терморегулирования камеры калорифера.

Все три микроконтроллера управляются через интерфейс локальная шина RS -232 от стационарного компьютера (см. рис. 12.4; рис.12.2; рис. 12.3; рис.13.7; рис.138).

ПО «FLA» позволяет проводить одно- и многофакторный эксперимент. Последний проводится с использованием образцов растений, выращенных и обработанных пользователем-экспериментатором по специальному плану из пакета, например: «*Statgraf*» или др.

Такой эксперимент на «FLA» позволяет с помощью многочленов оценить регистрируемые характеристики индукционных, температурных и световых кинетик исследуемых образцов:

- *гипотеза классификации исследуемых образцов генотипов;*
- *эффекты главных исследуемых факторов;*
- *эффекты нелинейности*;
- *эффекты синергизма, антагонизма;*
- *достоверность эксперимента;*
- *адекватность модели;*
- *прогнозировать дальнейшие исследования;*

---

[21]Использовались также анологичные схемные решения микроконтроллеров для регулировки энергии импусной лампы – вспышки и поэтому из –за экономи места не рассматриваются.

- *классификация исследуемых образцов генотипов.*

В связи сказанным «FLA» является эффективным инструментом не только классификации исследуемых генотипов по адаптивным компонентам (плановым структурам) фотосинтетического аппарата растительных объектов, но и их специфических, функциональных, генетических особенностей организации зондируемых механизмов (снятие - обработка статистических характеристик индукционных, температурных, световых и временных кинетик ЗФ) в планируемом многофакторном эксперименте по специальной программе управляющего ноутбука «FLA» или стационарного компьютера.

11.3. Программное обеспечение («ПО») «FLA».

ПО «FLA» включает: операционную систему под Windows, пакет типа *«Statgraf»* и специальное программное обеспечение управляющей программы ***«FLA»***, в которое входит: «дружеский интерфейс» (рис.8.1.), протокол эксперимента, драйверы АЦП, ЦАП, регистра, программируемого усилителя и т.д. ПО «FLA» построено по принципу выбора пользователем режима по «меню» и состоит из ряда независимых программ, каждая из которых реализует определенный подход к проведению *многофакторного эксперимента*.

Это позволяет исследователю работать с FLA без предварительной подготовки в области программирования и использования ЭВМ - компьютеров. Управляющая программа («УП») дает возможность сформировать на экране дисплея управляющего компьютера виртуальную «переднюю панель стационарного измерительного устройства», которая становится его панелью управления. В процессе работы ее можно многократно реконфигурировать (вид, рамки, цвет). Пользователь - исследователь на «FLA» активизирует объект графической панели (на экране компьютера) с помощью «мыши», клавиатуры. «УП» делает возможным:

- на экране компьютера автоматически формировать файлы с точной датой и временем проведения эксперимента;
- задавать протокол эксперимента (варианты одно- или многофакторного эксперимента);
- количество факторов;
- номер образца по каталогу;
- текущий исследуемый номер;

- напоминания (например: о гетерогенности выборки в кассете и какой образец не укладывается в генеральную совокупность, о необходимости установки соответствующих ослабителей возбуждающего ЗФ света на кассете для образца и т. д);
- указывать число повторностей - дублирующих опытов;
- пределы измерений;
- задавать температурный режим (изотермический или же режим программирования температуры);
- скорость изменения температуры;
- режимы работы индукционных или температурных кинетик;
- сохранять *методики* и *планы исследования*;
- задать в режиме ***Show*** представление результатов в графической форме, например: «обработки» одного из выбранных образцов в кассете, регистрации индукционной или температурной кинетики ЗФ;
- рассматривать ***on laine*** графики временных кинетик ЗФ (1, 10, 1\10 mc) и ее статистические характеристики (моду, дисперсию, вариацию, эксцесс, асимметрию, достоверность);
- сформировать протокол результатов эксперимента, который можно многократно реконфигурировать и транслировать с помощью *программ конверторов* в ***Office*** и другие программы.

В режиме ***Tuning*** проводят настройку и проверку ***on laine*** различных параметров ***«FLA»*,** например: формирование сигнала «готов»; разрешение открыть дверцу термокамеры калорифера; блокировку заслонки ФЭУ (во избежание его выхода из строя); напряжение ФЭУ; скорость вращения фосфороскопа; включение света возбуждения ЗФ; включение заслонки открытия света возбуждения ЗФ; синхронизацию лампы вспышки; синхронизацию окон фосфороскопа и скорости вращения кассеты; скорость нарастания температуры; скорость вентилятора калорифера и т.д.

11.3.1. Дисциплина имен создаваемых файлов FLA.

Имена файлов «FLA» создаются автоматически: формируются в программе *«Experiment»* при заполнении протокола эксперимента биофизиком (пользователем «FLA»). Может существовать три типа файлов в зависимости от регистрируемых кинетик ЗФ: индукционных («ИКЗФ»), температурных («ТКЗФ»), а также типа эксперимента: одно- или многофакторного. Примеры имен файлов,

которые создает «FLA»: **SI774701.»FLA».06.07.16** или **3IT774703.FLA.06.07.16**. или **3IT(7747)03.FLA.06.07.16**.

Первый символ - ***S*** - однофакторный эксперимент или ***2…9, A,B,C, D, E,F*** - многофакторный эксперимент (цифра, например: ***4*** вместо ***S***, означает число факторов, например: ***4*** или 2…9, A,B, C, D, E, F- (цифры и буквы служат для шифровки файлов в шестнадцатиразрядном коде. Это более компактно, занимает меньше разрядов в имени файла).

Второй символ или третий: - ***I*** - индукционная кинетика («ИКЗФ») или ***T*** – индукционная («ИКЗФ») + температурная кинетика («ТКЗФ»).

Следующие четыре символа - номер образца.

Далее два символа - текущий номер исследуемого образца.

Последние три символа - расширение «FLA» (файлы принадлежат прибору «FLA») и дата проведения эксперимента.

11.3.2. Структура файла

Файл одно- или многофакторного эксперимента состоит из ≈ 400 отсчетов по ≈ 800 выборок индукционной или температурной кинетики по двум временным компонентам ЗФ - 1, 10 мс и их соотношению 1/10 мс. Всего: 3 х 400 х 800 = 960.000 отсчетов, по которым вычисляется пять статистических показателей: ***M*** - мода; ***D*** - дисперсия; ***V*** - вариация; ***A*** - асимметрия; ***E*** - эксцесс. Пользователь имеет доступ к любой статистике, компоненте данного файла. Через директиву ***Маск*** в ***For SG*** исследователь - пользователь ***«FLA»*** может сформировать заданные файлы для обработки в пакете, например: *«Statgraphics»*.

11.3.3. Электронный протокол эксперимента «FLA».

Электронный протокол эксперимента является одной из подпрограмм управляющей программы ***«FLA»***, графического изображения древа «Меню» - дружеского интерфейса, которое представлено на рис. 7.1. Протокол эксперимента, как уже говорилось, является необходимым и обязательным атрибутом многофакторного исследования, в особых случаях - юридическим документом. Мы в общих чертах расскажем: как нужно готовиться к эксперименту; как реализовать матрицу планирования; как формализовать сведения об объекте и многое другое. Воспользуемся электронным протоколом экспериментальных установок: «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата» (*«FLA»*) и автоматизированного компьютеризированного «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» (*«ВПФД»*). Названные установки - приборы предназначенны для диагностики адаптивности, ус-

тойчивости и повреждения растений; биотестирования по влиянию радиоактивных и химических веществ; оценки активности антибиотиков и ростовых веществ по биотестам, приведенной ниже. К проведению опытов необходимо тщательно подготовиться, проверить и прокалибровать ***«FLA»*** или ***«ВПФД»***, подготовить исследуемый материал, заполнить протокол эксперимента. Электронный протокол оформляют в соответствии с выбранной методикой предстоящего исследования и планом эксперимента. Настраивают прибор и программу (***«FLA»*** и ***«ВПФД»***) на работу по заданной матрице предстоящего планируемого эксперимента и анализа его данных. Сервис, разработанного нами «дружественного интерфейса»[22] протокола ***«FLA»*** и ***«ВПФД»,*** предусматривает таблицу, в которой пользователь - исследователь задает параметры эксперимента в соответствующих графах[23]. Для экономии места мы не будем повторять анкету электронного лабораторного журнала - протокола эксперимента, которая аналогична представленной в разделе 5.

[22] Интерфейс – это совокупность аппаратных и программных средств, но в данном случае - это сервис - окно программной поддержки - настройки «железа» *FLA* и *УВФП* на соответствующий эксперимент – опыт.

[23] Следует поставить или снять в интерфейсе протокола «галочки» соответственно условиям эксперимента.

12.0. Пример организации биофизического эксперимента в новой концепции «диагностики адаптивных механизмов гомеореза» растений.

Общие вопросы.

Прогресс в настоящее время ставит перед биологией различные насущные задачи по изучению: не только отдельных фрагментов жизненных функций, но пытается осознать и научиться управлять общими синергетическими (междисциплинарные) связи, регулирующие физико-химические процессы, протекающие в живых клетках и организмах и создающие *стройную авторегуляторную систему гомеореза,* зависящую от структуры его адаптационных механизмов, которые, в конечном итоге, определяют авторегуляторные границы существования жизни. Постановка таких задач стала возможной в виду бурного развития физики, биохимии, математики, приборостроения, юридических и др. наук. В частности, идеи *гомеореза (принцип гомеореза)* стали плодотворны. Он стали даже применятся в системном подходе при изучении правовых явлений. «Право» - элемент одного из гомеостатических процессов, целью которого является установление стабильных отношений в обществе. В данном случае, «*гомеостаз*» рассматривается как метод синергетики, который может быть применен к изучению права, как элемента гомеостатического процесса (Литвинова, 2012). Немаловажная роль в этом принадлежит даже не кибернетике, а скорее синергетике, методы которой (например, системный междисциплинарный - синергитический подход) направлены на анализ и раскрытие механизмов сложных авторегуляторных систем гомеореза различных иерархий. Однако даже системный междисциплинарный подход для исследования подобной структуры не может строиться только на гипотетических, даже очень остроумных (описанных ниже) гипотезах. Безусловно данный подход нуждается в информации о реальном протекании адаптационных физико-химических процессов в живых неповрежденных *гомеорезах* клеток ***in vivo*** при исследуемых стрессовых условиях. Такую информацию могут дать только биофизические методы, которые регистрируют работу – реакций *гомеореза* исследуемой «БС», и при этом необходимо быть уверенным, что сам метод не вносит в эти изменения каких-либо возмущений в исследуемый *гомеорез*. Одним из таких методов, как мы уже говорили, является метод замедленной флуоресценции (ЗФ) (Королев, 1973; 1980; Венедиктов и сотр.,1978; Королев, Можельский, Кузнецов и сотр., 2016), на ос-

новании которого была разработана экспериментальная биофизическая компьютеризированная установка «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата» (***FLA***).

12.1. Характеристика исследуемого явления: «Структура и организация адаптационных механизмов гомеорезов биологических систем»(«АПС»).

Термин «*адаптация*» имеет очень широкое значение. В этом можно убедиться, рассматривая адаптацию на уровне иерархии реакции *гомеореза*, начиная с метаболизма клеточных органелл, популяций клеток, отдельных тканей и даже на уровне эволюционных процессов. Адаптационные изменения *гомеореза* связанны с накоплением соответствующих *генетических изменений*. Вместе с тем, происходят более быстрые процессы, которые называются *модификациями*.

Способность к адаптационным модификациям расширяет возможности генотипа успешно приспосабливаться к условиям обитания, к чему относится результат, происходящих на уровне транскрипции и трансляции генов, а также активных перестроек мембран и поэтому контролируются генотипом (Инге - Вечтомов, 1976; 1977) и морфогенезом. Такая способность обеспечивается гетерогенностью белковых молекул и молекулярным отбором их форм, не теряющих активности в «крайних» условиях, к которым адаптируется организм.

К адаптивным механизмам гомеорезов относятся так же *адаптационные репарационные процессы*, которые необходимы для сохранения целости индивида. Работа всех перечисленных механизмов распространяется на явления более высоких уровней организации, например: у растений - вплоть до морфогенеза.

Морфогенез нами рассматривается и определяется, не только как образование новых пространственных форм генотипов при онтогенезе, но и специфических «адаптивных компонентов - плановых структур» («АПС») гомеорезов, которые определяют их разнообразную адаптацию и, тем самым, самоорганизацию в эволюционном развитии. Термин «Адаптационные компоненты или плановые структуры гомеорезов» («АПС») был предложен Королевым, Быковым и Василенко (Быков, Королев, 1980; Василенко, Королев, 1990.).

12.2. Проблема: Диагностика адаптивных явлений гомореза с позиции новой концепции «АПС».

Американский физиолог Кеннон (Cannon,1932) предложил термин гомеостаз. Гомеостаз - саморегуляция, способность открытой системы сохранять постоян-

ство своего внутреннего состояния посредством скоординированных реакций, направленных на поддержание динамического равновесия.

Как указывал Уодингтон (Уодингтон, 1970), понятие гомеостаза не достаточно – не полное, так как жизненные явления имеют динамический характер.

Гомеостаз выражается в виде беспрерывно совершающихся колебаний функциональных процессов «БС» для достижения равновесия. Когда в процессе такого поиска гомеостаз достигает *адаптивности*[24], в нем начинается «рысканье», так как установить, что max ***dh/dτ*** (см. рис. ….) достигнут, нельзя, не отойдя от него и «рысканье» продолжается (Милсум,1968). Именно эту закономерность равновесия ость достоверно отражают «ИКЗФ» и «ТКЗФ» с «временем жизни» ЗФ***: 1*** mc., ***10*** mc., ***1\10*** mc и их статистические характеристики: ***M*** – мода, ***D*** –дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – асимметрия, ***E*** – эксцесс, ***t*** - критерий достоверности. Существенна не стабилизация состояния, а стабилизация потоков и поэтому Уодингтон вводит понятие ***гомеорез***, означающее наличие стационарного состояния или стационарной траектории на *фазовом портрете* открытой «БС».

Как не привести высказывания Холдейна о *ЗНАЧЕНИИ ИЗУЧЕНИЯ гомеореза*, чтобы подчеркнуть исключительную важность диагностики адаптационных компонентов «плановых структур» - «АПС» в иерархии биологических сообществ: «*Активное поддержание нормальной и, при том специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса - значит понять, что такое жизнь*!!!» (Haldane, 1935).

Поэтому проблема раскрытия структуры адаптивной способности биологических систем *исключительно важна* и этим издавна привлекала исследователей - биологов. При ее решении открывались бы самые разнообразные (междисциплинарные, т.е. синергетические) возможности не только понимания глобальных многочисленных научных и практических проблем, но их решения в биологии, медицине и в смежных науках.

В *медицине:*

- принципиально новая классификация и диагностика «АПС» микробных сообществ;
- необходимость паспортизации микробных сообществ людей;

[24] При этом достигается максимум коэффициента полезного действия («КПД») биологической системы - гомеореза разного иерхитеского уровня: молекула, органойд клетки, клетка, организм и т.д.

- криогенное сохранение микробных сообществ;

На этой основе новые способы диагностики, лечения, предсказание - прогноз разнообразных болезней, например, не только заболеваний кишечника: дисбиоз[25], дисбактериоз[26]- все это только верхушка айсберга! Дисбиоз кишечника - это нарушение функционирования и механизмов адаптации, т.е. взаимодействия составных частей экосистемы, включающие изменения со стороны макроорганизма человека, его микрофлоры и окружающей среды.

В *микробиологии:*

- принципиально *новая классификация и диагностика* «АПС» микробных сообществ,
- криогенное сохранение микробных сообществ.

На этой основе новые способы диагностики и лечения людей, животных, паспортизации микробных сообществ людей и животных (Кузнецов, Королёв, Овечкин, 2002).

В *генетике и селекции:*

- выведение сортов сельскохозяйственных растений с *новыми адаптивными свойствами* (продовольственная проблема человечества!).

В *агрономии и точном сельском хозяйстве* новая концепция позволяет:

- разработать методы диагностики повреждений и скрининг растений с нужными адаптивными свойствами, предназначенными для селекции;
- решить задачи районирования для конкретных регионов;
- выработать принципиально *новые подходы к технологии* возделывания культур, улучшения плодородия почв
- провести паспортизации и криогенное сохранение почвенной микрофлоры.

---

[25] Дисбиоз кишечника - это нарушение функционирования и механизмов адаптации, т.е. взаимодействия составных частей экосистемы, включающие изменения со стороны макроорганизма человека, его микрофлоры и окружающей среды.

[26] Дисбактериоз кишечника всегда вторичен и представляет собой клиниколабораторный синдром, который развивается при целом ряде заболеваний и клинических ситуаций и характеризуется изменением качественного и/или количественного состава микрофлоры определенного биотипа, транслокацией различных ее представителей в несвойственные биотипы, а также метаболическими и иммунными нарушениями, сопровождающимися у части пациентов клиническими симптомами.

Разработка этой *проблемы* выявила массу трудностей, «подводных камней», неразрешимых вопросов[27] в смежных областях знаний. Так как проблема междисциплинарная – синергетичная, она пронизывает всю биологию и смежные науки: медицину, микробиологию, вирусологию, физиологию, биохимию, зоологию, растениеводство, почвоведение, океановедение и др..

Мы лишь немного приоткрыли синергетический *междисциплинарный частный физиолого - биофизический аспект этой проблемы*, но с общими законами.

По нашему мнению, в связи со сложностью – междисциплинарностью проблемы невозможно было сформулировать вопрос на языке понятном биологам и специалистам других областей, что определило застой науки в этой сфере. Не имея представлений о *гомеорезе,* многие исследователи в биологии, тем не менее, сделали попутно массу открытий. Однако, несмотря на это, они не смогли о*бъединить и синтезировать накопленные знания* по выше названным причинам, *разработать теорию, практические технологии и рекомендации по диагностике «адаптационных плановых структур» - «АПС» гомеорезов*.

Здесь следует вспомнить основополагающие работы: по обратимости тепловых повреждений растительных и животных клеток **С**акса (Sachs,1864); о радиочувствительности клеток Анцеля и Винтембергера (Ancel et Vintemberger, 1925); о паранекрозе Введенского и его школы (Введенского,1901), Насонова, Александрова (Александров, Насонов, 1940); открытие Ушакова о значении теплоустойчивости для классификации видов животных (Ушаков, 1958).

Системный анализ по проблеме.

Системный анализ по проблеме, проведенный Королевым, Быковым и Василенко, Можельским, Кузнецовым, Буниным **(**Королев, 1979; Королев, Быков, 1980; Королев, Василенко, 1990; Королев, Можельский, Кузнецов и сотр.,2016)*,* показал, что процессы, развивающиеся в клетке при повреждающем действии экстремального фактора, *имеют двойственную природу*: одни из них деструктивны, другие направлены на сохранение - восстановление целостности гомеореза биологической системы. Исследователи, по сей день, определяют и оценивают устойчивость биологических объектов к неблагоприятным факторам среды, как *гибель* или *выживаемость* исследуемых генотипов. При этом, не подозревая и не учитывая существования следующих адаптивных (авторегуляторных механизмов) *явлений*, которые обеспечивают выживание генотипа:

[27] Наука начинается с вопросов.

1) *модификации* - реактивного ответа авторегуляторных механизмов генотипа на непосредственное действие фактора;

2) *генотипического* потенциала, определяющего максимальный «размер» авторегуляторных механизмов;

3) механизмов *репарации* повреждений, осуществляющих выживание и эволюционный максимальный захват ареалов популяции (например, у растений, животных и микроорганизмов);

4) *взаимодействия адаптивных явлений* – так называемые взаимокомпенсаторные функции *взаимодействия* авторегуляторных процессов в гомеорезе биологической системы.

Обозначенная «ТЕТРАДа» (четырех) структура адаптационных явлений представляет научный академический и практический интерес в плане нового осмысления работы авторегуляторных биофизических и генетических механизмов и их взаимодействия в эволюционном процессе зонального распространения по миру биологических систем в разных климатических зонах.

Три первых, упомянутых выше компонента адаптационных явлений (даже два первых, позже мы скажем почему) представляют не только научный и практический интерес, например: в генетике, селекции растений с целью диагностики первичного селекционного материала к неблагоприятным факторам, в чем нуждается вся мировая селекция и генетика, для выведения высокоадаптивных и, вместе с тем, высокопродуктивных форм сортов сельскохозяйственных культур. Для практических нужд явление *репарации* представляет большой существенный интерес. Адаптационные *репарационные* возможности «потенциала» гомеореза генотипа не безграничны: на все нужна энергия. Если возможности *репарации* большие, то можно утверждать, что генетическая система данного гомеореза тратит их не в пользу селекционера, т.е. данный образец представляет опосредованный интерес, но его потенциал можно использовать.

Трудно недооценить диагностику адаптационных *явлений* гомеорезов для оценки *последствий глобальных природных и искусственных техногенных катастроф*, сопровождающихся массовой гибелью клеток водорослей (фитопланктона), простейших и животных экосистем.

В *медицине: принципиально новая классификация и диагностика* ««АПС»» микробных сообществ их криогенное сохранение и на этой основе новые способы диагностики, принципиально новое лечение, предсказание - прогноз разнообразных болезней, паспортизирование людей.

В *микробиологии - принципиально новая классификация и диагностика* ««АПС»» микробных сообществ их криогенное сохранение и на этой основе новые способы диагностики и лечения людей, животных, паспортизации людей и животных (Кузнецов, Королёв, Овечкин, 2002).

В *генетике и селекции:* выведение сортов сельскохозяйственных растений с *новыми адаптивными свойствами и их сохранение* (продовольственная проблема человечества!).

В *агрономии и точном сельском хозяйстве:* новая концепция позволяет разработать методы диагностики повреждений и скрининг растений с нужными адаптивными свойствами, предназначенными для селекции; задачи районирования для конкретных регионов. Главное, принципиально *новые подходы к технологии* возделывания культур, паспортизация и криогенное сохранение почвенной микрофлоры.

Именно консенсусом макро/микро систем по «АПС» на Земле определяется жизнь вообще, которая теснейшим образом перекликается с микробиологией, вирусологией, медициной, и открывает принципиально новые пути профилактики и лечения заболеваний (Кузнецов, Королёв, Овечкин, 2002; Королёв, Можельский, Кузнецов, Бунин, 2016).

К великому сожалению, никто из исследователей, как уже отмечалось ранее, не собрал воедино все вышеуказанные знания об адаптационных явлениях и даже не пробовал разработать технологию их инструментальной оценки, что посчастливилось сделать нам, несмотря на «доброжелательные опасения» и возражения оппонентов (Королев, 1979; Королев, Быков, 1980, 1980; Королев, Василенко, 1990; Королев, Можельский, Кузнецов, Бунин, 2016).

Нами был разработан *способ и устройство: «Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата»(«FLA»)* (см. разделы: 10) диагностики теплоадаптационной способности растений на основе концепции «АПС», характеризующейся четырьмя явлениями - компонентами: *модификационной, генетической, репарационной и взаимодействия.* Мы рассматриваем первых три.

Нами впервые была представлена диагностика «АПС» гомеорезов (Королев, Быков, 1980; Королев, Василенко,1990). Она с успехом может использоваться для детальной специфической оценки «вклада» составляющих «АПС» адаптивных - *организационных* свойств гомеорезов генотипов растений в генетике и селекции. Изучение *организационных* свойств «АПС»» живых систем, безусловно, является предметом синергетики с *междисциплинарной основой*! В связи

с этим диагностика и оценка «АПС», в данном случае гомеорезов растений, может смело называться синергической. Сложность «АПС» гомеорезов подтверждает междисциплинарность проблемы и, тем самым, еще раз указывает на ее синергетическую природу.

12.3. Причины застоя по проблеме.

Гомеорез исследуемых систем, например: растений, обладает совершенной многогранной сложной адаптационной структурой. Даже при имеющихся трех компонентах адаптивных структур (при уровнях каждого из компонентов (-1), (0), (+1)), матрица Адамары (Beckenbach, 1961) предсказывает существование не менее 8 - 16 классов адаптивных компонентов (плановых структур)! В связи с этим для решения вопроса автоматизированной диагностики сложной адаптационной структуры генотипа требуются совершенно новые междисциплинарные подходы с привлечением знаний и специалистов из других наук: биофизики, термодинамики, теории автоматического регулирования, планирования эксперимента, математики и специализированного (оптического) приборостроения и др..В связи с этим возникают трудности с разобщенностью «исследовательского языка», ибо специалисты теории автоматического регулирования не понимают биологов, физиологов растений, а селекционеры и биохимики - специалистов теории автоматического регулирования, планирования эксперимента, в прерогативу (сферу) которых они вторгаются. Таким образом, практически, не развита «еще не одна сфера» теоретической биологии по данной проблеме! В связи с междисциплинарностью проблемы самоорганизации гомеорезов «БС» можно, по - видимому, говорить не только о застое в «Теоретической биологии», а шире - о не развитости (инфантилизме) «Синергетики» по проблеме «Адаптационных явлений» в междисциплинарном аспекте.

Складывается достаточно «драматическая» ситуация, т.е. воочию ощущается потребность в новом *междисциплинарном направлении в науке*, объясняющей и определяющей роль плановых (адаптационных) синергетических структур самоорганизации гомеорезов в биологических системах на разных уровнях ее иерархии.

По образному высказыванию В.В. Налимова (Налимов, 1981) характерной особенностью современной науки является: «…то, что ученый стремится получить ответ на четко поставленный вопрос, сформулированный на основе прежних знаний». Но знания всегда условны и изменчивы - наука развивается диалектически, т.е. революционно (Кун,1975). Отсюда следует, что корректнее бы-

ло бы ограничиться такой формулировкой: ученый задает вопрос природе феномена, исходя из «существующих в настоящее время *предрассудков*».

Создается «порочащее» языковое кольцо. С течением времени это кольцо начинает увеличиваться под напором информации и фактов и разрываться. Шаг за шагом внедряется в практику науки системный междисциплинарный синергетический подход и теория многофакторного планирования эксперимента. Все это позволяет постепенно выходить из «порочащего» языкового кольца, но проблем, к сожалению, еще много. Природа сложна, многообразна и крайне неохотно раскрывает свои тайны. Однако подход, в основу которого положен анализ одного, а тем более многопараметрического отклика после одно-/многократного факторного воздействия, ограничен по своему внутреннему условию, так как предполагает последовательную процедуру анализа уже свершившегося явления, начальные условия которого по существу, случайны и неподконтрольны исследователю. Он не может выйти за пределы естественных системных отношений внутри объекта тестирования и между ним и окружающей средой. Это даже без учета того, что многопараметричность предполагает стандартизацию двух и более измерительных процедур и неизбежную в этом случае «машинную» (на компьютере) обработку совокупности сигналов. Усложнение аналитической процедуры не должно вступать в противоречие с требованиями представительности выборки, особенно, если речь идет о микрообъектах с единственной целевой функцией, а также об объектах со сложным жизненным циклом. Когда говорят об анализе сигналов, предполагается, что речь идет об изучении последовательного однократного возмущения. В этом случае смысл многопараметрического съема после стрессовой информации по всему доступному спектру признаков - это попытка аппаратными средствами преодолеть «не специфичность» отклика. Однако есть эффективный процедурный путь преодоления указанных ограничений. Пространству состояний биологической системы - *гомеорезу* по Удингтону (Уодингтон, 1970) соответствует пространство среды обитания (*принцип адекватности*). Тогда любой морфофизиологический стресс для совершенно разных биологических объектов будет «принадлежать» системе одних и тех же элиминирующих факторов. В результате мы имеем картину, когда согласно принципу *наименьшего взаимодействия* (Гельфанд, Гурфинкель, 1962) *гомеорез* биологической системы, *минимизируя свое взаимодействие со средой*, дает стереотипный отклик, который является «слепком» среды обитания, а не отражением глубинной генетической специ-

фичности данной биологической системы. В случае же запредельных возмущений, когда регистрируется динамика необратимых разрушений гомеореза биологической системы, мы, тем более, будем иметь дело исключительно с фенотипом, а высказанные выше сомнения лишь обострятся.

Все не так безнадежно!

Мы лишь столкнулись с философией ограниченности классического подхода, который характеризуется установлением зависимости не от множества, но лишь от одного какого-либо экстремального фактора, т.е. с точки зрения аналитической процедуры является *однофакторным* (ограниченным).

Выше уже было сказано, что расширение числа стрессоров наталкивается на проблему их количественной стандартизации, но, главное, не преодолевает факторное пространство среды обитания биологической системы.

Другое дело, если на период обработки стрессором «расширять», либо «сужать» *факторное пространство* среды обитания. При этом мы как бы вторгаемся в совокупность факторов отбора (элиминации), и в этом случае уже не стрессор, как таковой, а фактор, *изменяющий пространство отклика*, является потенциальным *маркером реакции гомеореза биологической системы*.

При таком подходе вполне оправдан переход от одно- к многофакторному зондированию биологической системы, но на фоне единственного стрессора.

Для объяснения разнообразия адаптивных реакций («АПС») рассмотрим гомеорез на его фазовой плоскости (рис. 11.1).

В описании движения биологических систем («БС») – гомеорезов - широко используется метод, основанный на использовании так называемого *фазового пространства* (Рубин и сотр., 1977): *n-мерного Евклидова пространства*, по осям которого откладываются значения всех «***n***» обобщенных координат рассматриваемой динамической «БС» (см. рис.11.1). При этом взаимно однозначное соответствие между состояниями гомеореза и точками фазового пространства достигается выбором числа измерений последнего, равного числу обобщенных координат рассматриваемой динамической «БС». Обозначим параметры некоторой системы символами $Z_1, Z_2, \ldots Z_n$, которые можно рассматривать как компоненты вектора Z n-мерного пространства. Этот вектор, как известно, есть совокупность действительных чисел:

$$Z=(Z_1, Z_2,\ldots\ldots,Z_n) \qquad (11.1)$$

Параметры $Z_1, Z_2, \ldots Z_n$ будем называть *фазовыми координатами* «БС», а состояние (фазу) системы изобразим точкой Z в *фазовом пространстве*. Размерность этого пространства определяется, очевидно, числом фазовых координат, т. е. числом отобранных нами существенных параметров для описания «БС». В общем случае, когда число параметров, характеризующих «БС», произвольно и значительно больше трех, геометрическая интерпретация теряет наглядность.

Однако, геометрическая терминология и в этих случаях ($n < 3$) остается удобной для описания состояния и движения «БС» в так называемом n-мерном или многомерном фазовом пространстве (*гиперпространстве*). Число независимых параметров «БС» называют числом степеней свободы или, реже, *вариантностью системы*. В реальных условиях работы системы ее параметры (*фазовые координаты*), как правило, могут изменяться лишь в некоторых ограниченных пределах. Область фазового пространства, за пределы которой не может выходить изображающая точка, называют областью *допустимых состояний* (ДС) «БС» (рис. 12.1). При исследовании «БС» всегда исходят из того, что система остается в пределах области ее допустимых состояний

Если изображающая точка выйдет за пределы этой области (все зависит от потенциала *репарационной составляющей* плановых структур - «АПС»), то это грозит разрушением целостности системы, возможностью ее распада на элементы, нарушением существенных связей, словом, полным прекращением ее функционирования как данного гомеореза «БС». Так, превышение *допустимых состояний:* переохлаждение или перегрев живого организма может привести к биологической гибели – смерти. Поэтому совокупность изображающих точек *адаптивных (рабочих) состояний* является подмножеством множества изображающих точек *допустимых состояний* «БС». Геометрически это представляется так, что рабочей областью («SP») (рис. 11.1.) является зона, в которой «БС» развивает *максимальный коэффициент полезного действия* («КПД»). *Адаптивные (рабочие) зоны* всегда находятся внутри области *допустимых состояний*, как это наглядно показано для двухпараметрической системы (рис. 11.1). Область допустимых состояний, которую можно назвать также полем системы, включает в себя всевозможные фазовые траектории, т. е. «линии поведения» системы. Совокупность фазовых траекторий называют *фазовым портретом* рассматриваемой «БС». Диапазон параметров температуры и других исследуемых некритических факторов, при которых *максимально* протекает жизнедея-

тельность «БС», называют областью *оптимальности* («SO»). Например: «БС» дает максимум функции напряженности гомеореза или его критерия качества («КК»). Под «КК» «БС», как саморегулирующей системы, мы понимаем совокупность показателей, характеризующих качество работы саморегуляции исследуемого гомеореза «АПС».

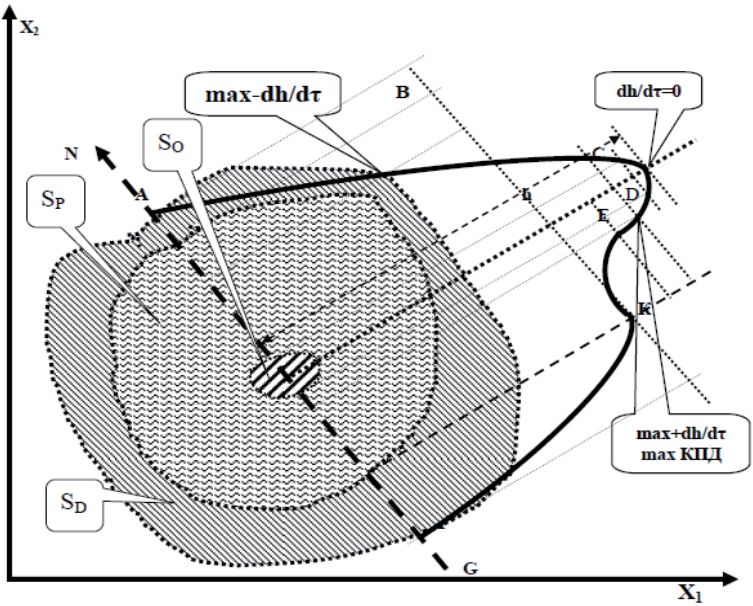


Рис. 12.1. Фазовое изображение состояний гомеореза биологической системы.

Возникает интересный вопрос: как энергетически гомеорез «БС» расплачивается за данное состояние? При этом имеет место ПАРАДОКС: как мы уже говорили, «БС» создает максимум «КК», но ее «КПД» находится в минимуме на поддержание данного состояния (т. к. производная $dh/d\tau=0$, где h – функция напряженности гомеореза, τ - время).

Поэтому *функция оптимальности* гомеореза «БС» не совпадает с *функцией адаптивности,* т. е. с развитием максимального «КПД» - коэффициента полез-

ного действия гомеореза (*max* + *dh/dτ*). Именно это несовпадение является движущей силой эволюции жизни на земле!

В зоне *адаптивности* все жизненные, физиологические, биофизические, биохимические и морфологические функции гомеореза «БС» находятся в стационарном устойчиво - неравновесном состоянии (Бауэр, 1935; Пригожина,1960). В чем же причина устойчиво - неравновесного состояния гомеореза «БС»? Безусловно, устойчиво - неравновесное состояние гомеореза обеспечивается разнообразием его «АПС» «БС». Для объяснения разнообразия «АПС» рассмотрим гомеорез «БС» в сечении GN эллиптического параболоида (рис.) по *направленному* (нарастающему) *вектору - действию температурного фактора «GN=T^0»*. Анализ и априорный материал (рабочая гипотеза) по этому вопросу (см. выше) позволил нам выделить в сечении GN несколько адаптивных зон, соответствующих, как оказалось, «АПС» (см. таб. 12.1.). Развитие процессов в зоне «КЕ» может происходить по «S - виду». Такой переход называют кооперативным (Конев и сотр., 1972). Кооперативность, по нашему мнению, имеет огромное значение в работе авторегуляторных механизмов саморегуляции гомеорезов на всех уровнях биологической организации. *Адаптивную зону* – «КЕ» можно легко определить по max+dh/dτ, где h – функция напряженности гомеореза (критерия качества), **τ**- время. Суть кооперативности состоит в том, что при наличии нескольких или многих реагируемых авторегуляторных единиц, взаимосвязанных между собой, реакция первой единицы облегчает ответ второй, реакция второй - ответ третьей и т. д. При условии, если реакция одной единицы не влияет на реакционную способность других единиц, т.е. при отсутствии кооперативности, функция будет представлена гиперболой. Значение показателя кооперативности системы определяют по тангенсу угла кривой «доза - эффект» в координатах Хилла (Конев и сотр., 1970). Дальнейший рост функции «БС» приводит к вхождению в зону *оптимальности*, при этом ***dh/dτ = 0***. В этой зоне истощается интенсивность ее энергетики: наблюдается максимально возможный выход биомассы. Это состояние инициирует работу репарационной авторегуляторной «БС», максимум которой наблюдается в максимуме отрицательной производной критерия качества гомеореза ***max-dh/dτ***. Параллельно с деструкцией в этой зоне проходят процессы *репарации* - восстановление целостности биологической системы, как гомеореза. По мере нарастания стресса преобладание репарационных процессов сменяется деструкционными процессами.

Таблица 12.1

Гипотетическая схема адаптивных или плановых структур («АПС») гомеореза «БС».

№ п/п	Области фазового пространства существования гомеореза	Услов. обозн.	Адаптивные или плановые структуры БС		
			Названия адаптивных (плановых) структур	Место на фазовой плоскости	Центры зоны адаптивных (плановых) структур
1	2	3	4	5	6
1	Адаптивная	S_P	Модификационная	*KE*	max + dh/dT^0
2	Оптимальности	S_O	Генотипическая	*EDC*	$dh/dT^0=0$
3	Допустимых состояний	$S_Д$	Репарационная	*CA*	max - dh/dT^0
4	Организационные взаимодействия	-	Взаимодействия	Взаимодействия между: 1 и 2; 1 и 3; 2 и 1; 2 и 3.	

Подытоживая выше сказанное (см. таб.12.1.), можно выделить на фазовой плоскости (соответственно зонам) три адаптационных компоненты - («АПС»): *модификационную, генотипическую и репарационную*.

Оценка адаптационных компонент - «АПС» с помощью эмпирического описания с использованием многочлена в многофакторном эксперименте позволяет определить так же *компонент взаимодействия*, что чрезвычайно важно!

Именно поэтому количество адаптационных компонент («АПС») возрастает до четырех и между ними существует авторегуляторная специфическая взаимосвязь.

Таким образом, процесс «подгонки - санастройки» авторегуляторных адаптивных свойств компонент «АПС» гомеорезов к условиям обитания составляет эволюцию «БС». Топография климатической зоны - климатические факторы определяют структуру адаптационных механизмов гомеореза («АПС»), от которых зависит размер и пределы возможного полноценного существования генотипа «БС». Сложность реализации его авторегуляторных свойств в целом оценивается вкладом «АПС», в сравнении с эталонным - контрольным геноти-

пом и тем самым указывает на специфический или не специфический акт гомеореза.

Реализация авторегуляторных свойств гомеореза «БС» по повышенной продуктивности эволюционно и термодинамически не выгодна для «БС», так как з*она оптимальности гомеореза «БС»* не совпадает с *зоной адаптивности*, где она развивает максимальный «КПД». Поэтому классическая селекция и многовековой отбор растений, не зная и *не учитывая структуру «АПС»,* стремятся как бы изменить адаптационные рамки будущего сорта растений: сместить его зону адаптивности ближе к зоне оптимальности, но пока это делается, можно сказать, вслепую, интуитивно, без инструментального контроля «АПС». Таким образом, сорта выведенные по классическим принципам имеют малые адаптивные возможности и при незначительных изменениях климатических условий произрастания резко снижают свою продуктивность, другие свойства и даже гибнут.

При планировании эксперимента с целью оценки «АПС» гомеореза, как маркеров для классификации исследуемых объектов, синергетический подход представляет собой объект исследования в виде системы, которая в общем виде может быть описана с помощью схемы *как дедуктивная задача* по реакциям «АПС». (см. выше - задача идентификации по Триммеру) (Стеси, 1962): «Заданы воздействия и реакция. Требуется найти систему» Безусловно, все это делается ради решения следующих задач по Триммеру (цитирование по Стеси, 1962):

- *проектирования,* например: в селекции - выведение новых высокопродуктивных сортов пшеницы и др. сельскохозяйственных культур с заданными адаптивными свойствами специально для тех или иных регионов нашей страны или мира;
- *индуктивной* - исследования у разных геномов диких сородичей законов «АПС» к разным факторам внешней среды.

Рассматриваемая проблема глобальна - синергетична - междисциплинарна. В этом контексте исследуемые явления - «АПС» могут быть на уровне самоорганизации, взаимодействия гомеорезов различной иерархии с окружающей средой, а так же между макро- и микроорганизмами. Например: человек – микроорганизм; животное – микроорганизм; растение - окружающая среда - почва - микроорганизм и все перечисленные – между собой.

12.4. . Формулировка трех рабочих гипотез по проблеме.

Сформулируем по проблеме три рабочие гипотезы:

1) Присутствие у биологических систем гомеореза со сложной *последовательной* структурой организации «адаптивных компонент или плановых структур» («АПС»):

а) Генотипической; б) Модификационной; с) Репарационной; д) Взаимодействия. (По видимому, существует и «параллельная» организация «адаптивных компонент или плановых структур»). Как говорят, «It is impossible to grasp the immensity» - «…Нельзя объять необъятное». Поэтому, мы остановились на этом пункте гипотезу).

2) Специфика полифункциональных адаптивных компонент плановых структур («АПС») гомеорезов и их использование, как возможных «маркеров»; например, для отбора форм растений с заданными адаптивными свойствами (регуляторные механизмы гомеорезов).

3) Возможность в период действия температурного стрессора с помощью дополнительных факторов (освещенности и скорости нагрева) «расширять» либо «сужать» факторное пространство гомеореза исследуемого образца, изменяющее пространство отклика и позволяющее выделять и оценивать «АПС» компоненты (Королев, 1979; Королев, Василенко, 1990).

12.5. Способ выявления и оценки «АПС» в новой концепции «Диагностики механизмов гомеореза» на «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата» «FLA».

С целью выявления и оценки *адаптационных компонент или плановых структур* («АПС») гомеорезов нами разработан следующий способ, устройство и программное обеспечение для его реализации. Если на период обработки стрессором «расширять» либо «сужать» факторное пространство среды обитания, мы, как бы, вторгаемся в совокупность факторов отбора элиминации.

И в этом случае уже не стрессор, как таковой, а фактор, изменяющий пространство отклика, является потенциальным маркером адаптационных свойств биологической системы**,** что ***впервые*** было высказано нами в работах (Королев, 1973; Королев, 1979; Королев, Быков, 1980; Королев и сотр. 1980; Королев, Василенко,1990; Королев, Можельский, Кузнецов, Бунин, 2016).

В разработанном нами методе, основанном на регистрации температурной кинетики ЗФ и световых кривых, в период обработки температурным стрессо-

ром «изменения собственного факторного пространства гомеореза исследуемого образца/ов» достигается варьированием скорости нагрева (с 5^0 мин$^{-1}$ до 10^0 мин$^{-1}$) и интенсивности света (с 2 -50%).

При этом был установлен сдвиг температурного максимума ЗФ (ТМЗФ) и пропорциональный рост ее амплитуды (Королев, 1979; Быков, Королев, 1980).

Статистически значимый сдвиг ТМЗФ был больше на 9^0-10^0 градусов у менее адаптивных генотипов, чем у более адаптивных[28] - 2^0 градуса. Это мы объяснили специфическим (генетически свойственным) ответом на «количество раздражения» ($P_Д$), *характерным только для данного генотипа*, который, например, можно представить в виде выражения:

$$P_Д = f\,(T * t), \qquad (11.2)$$

где: T – температура нагрева исследуемого образца; t – время нагрева исследуемого образца данной температуры.

Если ***t*** **-** время действия данной температуры представить через скорость V (так как в наших опытах ***t*** адекватно ***V***), сразу же будет понятен этот эффект:

$$t = \frac{T^0}{V} \qquad (11.3)$$

с учетом (2) формула (1) примет вид:

$$P_Д = f\left(\frac{T * T}{V}\right) = f\left(\frac{T^2}{V}\right) \qquad (11.4)$$

Таб.12.2. составлена в соответствии с формулой (11.4), в которой отображено получаемое $P_Д$ в соответствии с изменением скорости V нагрева.(Таб.12.2. можно назвать таблицей прогноза потенциальных компенсаторных явлений).

[28] Более адаптивным генотипам свойственна более компартментальная структура. Этим и объясняется их низкая метаболическая активность и наоборот. Все взаимосвязано: метаболическая активность и структура гомеореза, ее компартментальность (Королев, 1979; http://interlibrary. narod.ru/GenCatBiology/201200044/201200044)

Из формулы (11.4) видно, что варьированием V можно изменять P, определяя «размер» конфирмации по $\Delta ТМП$ и ΔE.

Таблица 12.2

Соотношение между «количеством раздражения» ($P_Д$) и изменением скорости нагрева(V)

ΔT^0	Скорость V нагрева исследуемого образца в град/мин-1					
	5	6	7	8	9	10
10	20,0	16,7	14,3	12,5	11,1	10,0
11	24,2	20,2	17,3	15,2	13,4	12,1
12	28,8	24,0	20,6	16,0	16,0	14,4
13	33,8	28, 2	24,2	21,1	18,8	16,9
14	39,2	32, 7	28,0	24,5	21,8	19,6
15	45,0	37,5	32,1	28,2	25,0	22,5
16	51,2	42, 7	36,6	32,0	28, 4	25,5
17	57,8	48,2	41,3	36,1	32,0	28,9
18	64,8	54,0	46,3	40,5	36,0	32,4
19	72,2	60,2	51,6	45, 2	40,1	36,1
20	80,0	66,7	57,1	50,0	44,4	40,0
21	88,2	73,5	63,0	55,3	49,0	44,1
22	96, 8	80, 7	69,1	60,5	53,8	48,4
23	105,8	88,2	75,6	66,1	58,8	52,9
24	115,2	96,0	82,3	72,0	64,0	57,6
25	125,0	104,2	89,3	78,1	69,4	62,5
26	135,2	112,7	96,6	84,5	75,1	67,6
27	145,8	121,5	104,1	91,1	81,0	72,9
28	156,8	130,7	112,0	98,0	87,1	78,4
29	168,2	130,2	120,1	105,1	93,4	84,1
30	180,0	150,0	128,6	112,5	100,0	90,0

Так, например, следует, что при изменении температуры листа на одну и ту же величину, но с разной скоростью V = 5 и 10° мин$^{-1}$, он получит различное $P_Д$. Пример:

$$\Delta T=+30°;$$

$$V_1=5^0\,мин^{-1}; \qquad P_Д=\frac{30^2}{5}=180$$

$$V_2=10^0\,мин^{-1} \qquad P_Д=\frac{30^2}{10}=90$$

Таким образом, варьирование *P* через *V* позволяет изменять «собственное» факторное пространство исследуемого образца и, тем самым, создает условия выделения и оценки *модификационных генетически* обусловленных различий в степени термоадаптивности сортов, *конфирмационной гибкости липопротеиновых структур* - **(**Clayton, 1969; Itoh, Katoh, 1971; Evans , Crofts, 1973). «генетического адаптационного размера»**(** Королев, 1979; Королев, Быков, 1980; Королев и сотр. 1980; Королев, Василенко,1990; Королев, Можельский, Кузнецов, Бунин, 2016**).**

12.6. Цель экспериментальных исследований.

Цель экспериментальных исследований - проверка наших гипотез: разработать способ на основе *многофакторного эксперимента*, устройство и программное обеспечение для его реализации на биофизическом автоматизированном «Фотолюминесцентном анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA»):

1. Способ «*диагностики термоадаптивности генотипов по оценке вклада «адаптивных компонентов плановых структур» («АПС»)* начинается с разработки *алгоритма* - (последовательности действий и операций для написания программы по п. 3) для его реализации на установке «FLA» по п. 2.

Алгоритм заключается в:

- процедуре последовательности действий и операций, формализации возможности в период действия стрессора «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемых образцов с помощью дополнительного фактора, изменяющего пространство отклика ЗФ;
- применение при планировании многофакторного эксперимента *ортогональной, рототабельной, робастной* матрицы (Налимов,1981), позволяющей с помощью коэффициентов многочлена выделять и оценивать вклад «АПС» исследуемого генотипа.

Говоря языком обывателя, надо было разработать программное обеспечение («ПО») на компьютеризированной установке «FLA» и «научить» ее по характеристикам замедленной флуоресценции (ЗФ) листьев по п.1 (его контроллеры, АЦП, усилители, карусели, задвижки, калориферы) реализовывать *способ диагностики термоадаптивности исследуемого генотипа растений по вкладу адаптивных компонент - плановых структур («АПС»)*.

2. Устройство «FLA» для *диагностики термоадаптивности исследуемого генотипа по вкладу адаптивных компонент «плановых структур» - «АПС»*: (модификационной, генотипической, репарационной и взаимодействия) - должно включать автоматизированную, высокопроизводительную установку на базе точной оптики, схемотехники, механики, микропроцессоров, компьютера и уникального программного обеспечения. «FLA» позволяет проводить ***много-факторный эксперимент*** диагностики «АПС» растений по характеристикам ЗФ их листьев:

- «ИКЗФ» по световым кривым ЗФ их временным компонентам :
  - 1 мс, по статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A),
  - 10 мс, по статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A
  - 1/10 мс по статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A),
- «ТКЗФ» световых кривых временных компонент ЗФ:
  - 1 мс, по их статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A).

- 10 мс, по статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A
- 1/10 мс по статистическим характеристикам:
    - мода (M),
    - дисперсия (D),
    - вариация (V),
    - эксцесс (E),
    - асимметрия (A),

3. Программное обеспечение по разработанному алгоритму по п.1 должно реализовать способ управления установкой по п. 2 с целью анализа ЗФ у исследуемых генотипов, вклада адаптивных компонент плановых структур – («АПС»):

- модификационной,
- генотипической,
- репарационной и
- взаимодействия.

Управление установкой требовало простого интерфейса для возможности работы сотрудников с малым опытом в области использования автоматизированных систем.

Надо сразу сделать пояснение к применению нами многофакторного планирования на «FLA». Многие опаненты – «доброжелатели» и даже «научные зоилы» могут нас обвинить в плагиате того что:

- использование многофакторного планирование для подобных целей, не ново, так как уже использовалось (Урманцев, 1979);
- «Системном подходе к проблеме устойчивости растений» уже якобы разработан (Урманцев, 1979).

Необходимо отдать должное Урманцеву Ю. А.(Урманцев, 1979) безусловно сделавшим, великий перелом не только в науке по устойчивости, но и ментолитете ученых занимающихся этой проблемой, но в концепции *классических в то время представлений.* Урманцев Ю.А. развил и доказазал концепцию специ-

фичности действия на растение[29], как систему, факторов внешней среды, которая не странно до сих пор не правомерно оспаривается многими апонентами.

Вместе с этим следует отметить, что «Системный подход к проблеме устойчивости растений» предложенный Урманцевым Ю.А.: к сожалению, не учитывает (не оценивает) явления адаптивности и оптимальности гомеорезов исследуемого растения. И поэтому в связи с этим, безусловно, не позволяет: оценить структуру АПС, т.е. объективно описать диагноцируемое явление исследуемых генотипов.

Следует подчеркнуть о инструментальных преимуществах использования нами биофизического метода замедленной флюоресценции (ЗФ) в качестве регистрируемой функции, в отличает изменения содержания пигментов взятых в опытах Урманцева Ю.А. (Урманцевым, 1979). Регистрируемая на «FLA» реакция ЗФ множества исследуемых образцов является «живой» скоростной детальной функцией (по «временам жизни» компонент ЗФ с одновременной регистраций их статистических характеристик). Эти сложные характеристики компютерезированный прибор «FLA» реально позволяет регистрировать: процесс разделения зарядов на мембранах в живых листьях исследуемого растения и поэтому быстро и более достоверно характеризует исследуемое явление. Кроме всего «FLA» на основании этих функция ЗФ позволяют оценить гетерогенность – реальное состояние и статистическое качество исследуемого материала. Поэтому, в связи с выше сказанным, дальнейшее комментарии, поэтому вопросу считаем исчерпывающими.

12.7. . Задачи исследования:

1) Разработать:

- *ортогональный* (означает, что все оценки плана эксперимента получаются независимо);
- *ротатабельный* (предусматривает разработку малочувствительных планов к возможному изменению модели хотя бы в пределах некоторого их класса или группы);

[29] Специфичность реакций наглядно показано при использовании ИКЗФ (индукционных кинетик замедленной флюоресценции) и индукционных кривых ИАМ (импульсно-амплитудно-модулированной флуоресценции), которые достаточно четко прокоментированны в настоящей монографии.

- *робастный* (указывает, что полученное с помощью этого плана уравнение регрессии, обладает тем свойством, что дисперсия оценки модели зависит только от длины радиуса, проведенного из центра эксперимента), план эксперимента (ПЭ) и программное управление установкой «FLA» по анализу адаптивных компонентов плановых структур («АПС»).

Разработанное программное обеспечение («ПО») «FLA» позволит: *оценить* количественные зависимости выходных параметров ***У*** от входных исследуемых стрессовых зоновых[30] $X_1 = ({}^1X_1; {}^2X_1; {}^3X_1)$ и дополнительных факторов X_2, X_3, позволяющих «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство $У_1, У_2, У_3$ гомеореза исследуемых образцов (дедуктивная или задача идентификации системы, т.е. четвертая задача по Триммеру (см. раздел. 2.1)). Внутреннее факторное пространство $У_1, У_2, У_3$ и есть адаптивные компоненты плановых структур («АПС») исследуемого генотипа: $У_1$ - *модификационная,* $У_2$ - *генотипическая,* $У_3$ - *репарационная.* Компоненты «АПС» определяются по функциональной зависимости:

- *модификационная,* $У_1 = f({}^1X_1, X_2, X_3)$;
- *генотипическая,* $У_2 = f({}^2X_1, X_2, X_3)$;
- *репарационная* $У_3 = f({}^3X_1, X_2, X_3)$,

т.е. задача исследования поверхности отклика и раздельной «оптимизации» $У_1, У_2, У_3$ по производной: ***max+dI/dT; dI/dT=0; max-dI/dT*** и соответственно полученным аргументам – температуре - T^0_1; T^0_2; T^0_3. Методы, применяемые для *поиска* ***max+dI/dT; dI/dT=0; max-dI/dT*** $У_1 = f({}^1X_1, X_2, X_3)$; $У_2 = f({}^2X_1, X_2, X_3)$; $У_2 = f({}^3X_1, X_2, X_3)$, называют методами *экстремального эксперимента* (Лисенков,1979).

Значения компонент «АПС» получают по результатам многофакторного эксперимента, включающего анализ:

- полиномов «ТКЗФ» с регистрацией (по выборкам) ее «времен жизни»: 1 mc., 10 mc., 1\10 mc,
- световых кинетик ЗФ с регистрацией (по выборкам) ее «времен жизни»: 1 mc., 10 mc., 1\10 mc,
- оцениваемые по статистическим характеристикам:

[30] Первоначально для проверки гипотезы, срессовую зону - X_1 задавали отдельно в качестве фактора блока.

- ***M*** - мода, ***D*** - дисперсия, ***V*** - вариация, ***A*** - асимметрия, ***E*** - эксцесс, ***t*** - критерий достоверности на высечках листьев исследуемых образцов

2) Для реализации вышесказанного надо: (между п.1 и п.2) выбрать и обосновать входные исследуемые факторы (освещенности X_2 и скорости нагрева X_3), позволяющие «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемых образцов на фоне стрессора температуры X_1.

3) Выбрать функции и обосновать модификационную, генетическую, репарационную составляющие компонент в «АПС» исследуемого генотипа (см. таб. 12.4; таб. 12.8).

4) Создать экспериментальную исследовательскую программируемую высокопроизводительную установку (*«FLA»*) для исследования световых кривых «ИКЗФ», «ТКЗФ» с регистрацией «времен жизни» ЗФ 1 mc., 10 mc., 1\10 mc по их статистическим характеристикам: ***M*** - мода, ***D*** - дисперсия, ***V*** - вариация, ***A*** - асимметрия, ***E*** - эксцесс, ***t*** - критерий достоверности на высечках листьев исследуемых образцов;

5) Разработать специальный программный продукт управления «FLA», обеспечивающий диагностику «АПС».

6) Описать структуру адаптивных компонент полиномиальными *ортогональными, ротатабельными, робастными* моделями по вкладам временных (1 mc., 10 mc., 1\10 mc) значений ЗФ и их статистических характеристик *(M* - мода, *D* - дисперсия, *V* - вариация, *A* - асимметрия, *E* - эксцесс, *t* - критерий достоверности).

7) разработать метод оценки *гетерогенности исследуемых образцов* листьев *в кассете* по функциональному состоянию гомеореза фотосинтетического аппарата перед многофакторным исследованием «АПС» по ***«ИКЗФ»*** с регистрацией «времен жизни» ЗФ 1 mc., 10 mc., 1\10 mc по их статистическим характеристикам: ***M*** - мода, ***D*** - дисперсия, ***V*** - вариация, ***A*** - асимметрия, ***E*** - эксцесс, ***t*** - критерий достоверности показателей листьев исследуемых образцов;

8) Этот метод по п. 7 «ИКЗФ» на *«FLA»* может использоваться как самостоятельный для оценки состояния листьев растений в выбор «КЕ» в кассете прибора, например метод определения морозоустойчивости растений по Джанумомому, о котором писали во введении (Джанумов, Бочаров, Вшивцев и сотр.,1976). На основании полученной информации по п. 4, разработать алгоритмический прием оценки однородно*сти (гетерогенн*ости) показателе выбор-

ки исследуемых образцов в кассете, что чрезвычайно важно для каждого эксперимента.

12.8. . Факторы, определяющие процесс исследования.

Как упомянуто выше, для оценки вклада *термоадаптивных компонент* «АПС» исследуемого генотипа предлагается прием: в период действия стрессора «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемых образцов по отклику ЗФ с помощью дополнительных факторов X_2 и X_3. Стрессором служит «температура» X_1 и скорость ее изменения X_3. При этом X_1 определял срессовую зону[31]действия температуры $X_1 = ({}^1X_1; {}^2X_1; {}^3X_1)$, т.к. $X_1 X_3$ адекватно количеству раздражения $P_Д$:

$$P_Д = f\left(\frac{T * T}{V}\right) = f\left(\frac{T^2}{V}\right)$$

см.формулу 11.4. В качестве дополнительных факторов: X_2 - «интенсивность возбуждающего света ЗФ»; X_3, - скорость изменения температуры. Варьирование дополнительных факторов X_2 и X_3 позволяет «расширять» либо «сужать», т. е. оценивать внутреннее факторное пространство *по скорости изменения* авторегуляторных механизмов АПС *по функции ЗФ, которая характеризует первичные фото- и биохимические реакции* генетически обусловленного «адаптационного размера» исследуемых генотипов (таб. 12.3.). Заранее можно сказать, что фактор варьирования «интенсивности возбуждающего света ЗФ» - X_2 позволяет так же выделить *тенелюбивые* исследуемые генотипы. Последние, как известно, обладают высоким потенциальным фотосинтезом, который по оценкам многих публикаций коррелирует с повышенной *продуктивностью* (Довнар, 1978; Томинг, Нильсон, 1967). Задавшись задачами диагностики «АПС» (мы как бы забегаем вперед), следует признать, что согласно рабочей гипотезе, зоны факторного пространства по схеме рис.11.1 расположены последовательно к действию нарастающего фактора температуры – T^0. поэтому авторегуляторные механизмы «АПС» гомеореза «БС» проявляются *последовательно.*Эта замечательная предпосылка (*последовательность зон «АПС» по гипотезе*) позволила нам оригинально спланировать эксперимент для оценки структуры -

[31] В экспериментах для проверки гипотезы

компонентов «АПС» гомеореза исследуемой «БС». В связи тем, что «FLA» позволяет точно задавать скорость V изменения T^0 в термокамере для кассеты с исследуемыми образцами и с большой точностью, стало возможным это успехом использовать.

Таблица 12.3

Факторы воздействия на гомеорез исследуемой биологической системы.

Факторы воздействия на гомеорез исследуемой биологической системы									
Фактор определяющий зону действия стрессора X_1, X_3				Дополнительные факторы определяющие размеры авторегуляторных механизмов «АПС»					
Стрессор				Факторы, позволяющие «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемого образца					
№ зоны действия стрессора X_1, X_3	X_1			X_2			X_3		
	Температура T^0			Интенсивность света E			Скорость изменения температуры - V		
	T^0	T^0	T^0	Вт*м^2	Вт*м^2	Вт*м^2	град./мин	град/мин	град/мин
	Уровни воздействия			Уровни воздействия			Уровни воздействия		
	-1	0	+1	-1	0	+1	-1	0	+1
1	Модификационный компонент								
	20	30	40	2	26	60	5	7,5	10
2	Генотипический компонент								
	30	40	50	2	26	60	5^0	7,5	10
3	Репарационный компонент								
	50	55	60	2	26	60	5^0	7,5	10

Задавшись задачами диагностики «АПС» (мы как бы забегаем вперед), следует признать, что согласно рабочей гипотезе, зоны факторного пространства по схеме рис.11.1 расположены последовательно к действию нарастающего фактора температуры – T^0. поэтому авторегуляторные механизмы «АПС» гомеореза «БС» проявляются *последовательно.* Эта замечательная предпосылка (*последовательность зон «АПС» по гипотезе*) позволила нам оригинально спланировать эксперимент для оценки структуры - компонентов «АПС» гомеореза исследуемой «БС». В связи тем, что «FLA» позволяет точно задавать скорость V изменения T^0 в термокамере (для кассеты с исследуемыми образцами) с большой точностью, стало возможным это с успехом использовать. Скорость

V температурной развертки в термокамере для разных кассет – блоков разная, согласно реализации плана эксперимента. Накопленные экспериментальные данные «FLA» позволяют *анализировать - моделировать* исследуемый материал. Такой анализ многофакторного эксперимента (по оценке вклада компоненты «АПС» у исследуемых гомеорезов) дает возможность исследователю перемещаться по поверхности отклика, задавая разные *зоны факторного пространства* предполагаемых зон «работы» «АПС» (см. рис. 11.1**;** таб. 11.3.).

Скорость V температурной развертки в термокамере для разных кассет – блоков разная, согласно реализации плана эксперимента. Накопленные экспериментальные данные «FLA» позволяют *анализировать - моделировать* исследуемый материал. Такой анализ многофакторного эксперимента (по оценке вклада компоненты «АПС» у исследуемых гомеорезов) дает возможность исследователю перемещаться по поверхности отклика, задавая разные *зоны факторного пространства* предполагаемых зон «работы» «АПС» (см. рис. 11.1**;** таб. 11.3.). Как догадался уважаемый читатель, эту работу по *анализу поиска* структуры - компоненты «АПС»: модификационной, генотипической, репарационной, можно автоматизировать - оптимизировать и запрограммировать. Так и было сделано: написана подпрограмма оптимизации выбора - поиска зон факторного пространства для диагностики структуры - компоненты «АПС» гомеореза исследуемой «БС»). Это одно из преимуществ «FLA», которая как «рабочая лошадка» позволяет наблюдать за ходом эксперимента. Например, на «FLA» удобно биофизику, физиологу растений, селекционеру, генетику, молекулярному биологу следить за ростом или затуханием функции «АПС» гомеореза и изменением временных компонент ЗФ по их статистическим характеристикам в исследуемых фотосинтетических объектах, анализировать полученные матрицы и с помощью программ факторного анализа или распознавания образов классифицировать исследуемые образцы, генотипы (Стьюпер Брюггер, Джурс, 1982). Но не все так гладко! К сожалению, наша техника эксперимента не позволяет проводить одновременные измерения, так как в силу обстоятельств принципиально нельзя в термокамере «FLA» одновременно задавать разный скоростной температурный режим разным образцам по плану. Поэтому каждый эксперимент разделен на *три блока* (кассеты с исследуемыми образцами) – по уровням (-1; 0; +1) исследования фактора X_3 - «скорости изменения температуры». Таким образом, в протоколе эксперимента для каждого блока-кассеты задаем (или это делается автоматически) зону анализа факторного про-

странства диагностируемой структуры - компоненты «АПС» (модификационной, генотипической, репарационной) гомеореза исследуемой «БС».

Таблица 12.4

Реакции индукционной («ИКЗФ») и температурной кинетики («ТКЗФ») ЗФ «АПС» используемые в эксперименте.

Реакции ЗФ	Адаптац. компоненты (АДС)	Шифр функ.	Функции	Врем. комп. ЗФ	Статистические показатели временных компонент ЗФ – Z , I. Последняя построчная буква/цифра.					T^0 град
					M	D	V	A	E	
					Мода	Диспер.	Вари.	Асим.	Эксц.	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Индук. кинет. (ИКЗФ)	Контр. гетер.	$У = Z_K$	$Z_K = B/F$ $T^0 = +20^0$	1	Z_{KAM}	Z_{KAD}	Z_{KAV}	Z_{FAA}	Z_{FAE}	+20
				10	Z_{KBM}	Z_{KBD}	Z_{FBV}	Z_{KBA}	Z_{KBE}	
				1/10	Z_{KCM}	Z_{KCD}	Z_{KCV}	Z_{KCA}	Z_{KCE}	
Темпер. кинетик. ЗФ (ТКЗФ)	Модиф.	$У_1 = I$	I и T^0_1 при max+dI/dT	1	I_{111}	I_{112}	I_{113}	I_{114}	I_{215}	T_1
				10	I_{121}	I_{122}	I_{123}	I_{124}	I_{125}	
				1/10	I_{131}	I_{132}	I_{133}	I_{134}	I_{135}	
	Генетичес.	$У_2 = I$	I и T^0_2 при $dI/dT^0 = 0$	1	I_{211}	I_{212}	I_{213}	I_{214}	I_{215}	T_2
				10	I_{221}	I_{222}	I_{223}	I_{224}	I_{225}	
				1/10	I_{331}	I_{332}	I_{333}	I_{234}	I_{235}	
	Репарацион.	$У_3 = I$	I и T^0_3 при max-dI/dT^0	1	I_{311}	I_{312}	I_{313}	I_{314}	I_{315}	T_3
				10	I_{321}	I_{322}	I_{323}	I_{324}	I_{325}	
				1/10	I_{331}	I_{332}	I_{333}	I_{334}	I_{335}	

Каждая зона фазовой плоскости (см. таб.11.1) имеет свою область действия стрессора – температуры, а дополнительные факторы позволяют «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемой «БС» (авторегуляторные механизмы «АПС»), изменяя его организацию, что дает возможность оценивать «размер» адаптивных – плановых структур исследуемого генотипа (Королев, Василенко, 1990).

12.9. Реакции исследуемого гомеореза.

В качестве реакций в данном многофакторном эксперименте была выбрана ЗФ исследуемых листьев пшениц. Напоминаем, что ЗФ является результатом фотовозбуждения пигментного комплекса фотосинтетического аппарата исследуемого генотипа и отражает электрохимическую активность мембранных систем тилакойдов хлоропластов и соответственно их организацию «АПС». Тесная связь ЗФ с активностью фотосинтетического аппарата и ее важная роль в жиз-

недеятельности растений позволили использовать ЗФ, как наиболее информативный и мощный инструмент в наших исследованиях с точки зрения обнаружения ранних изменений на растительном интактном листе растения (***in vivo***). При этом ЗФ характеризует энергетику фотосинтеза и несет важную информацию о механизмах переноса электронов в его первичных процессах (Рубин, 2000). В качестве функции отклика были выбраны следующие характеристики ЗФ: индукционная кинетика ЗФ («ИКЗФ»), температурная кинетика ЗФ («ТКЗФ») при различной интенсивности света. (таб. 11.4; таб. 11.6).

Индукционная кинетика ЗФ («ИКЗФ»)

«ИКЗФ» листа исследуемого растения возникает при включении света. В ней можно выделить 2-е фазы: *быструю* и *медленную.* Известно, что быстрая фаза состоит из 2-х частей: ***«OI»*** **-** связана с электронно-транспортными реакциями; ***«DP»*** - с образованием химического компонента - электрохимического градиента протонов *ΔpH.* Медленная фаза - *«PS»* отражает накопление высокоэнергетического интермедиатора фотофосфорилирования. В фазе ***«PS»*** происходит активация фиксации углекислоты, что однозначно соответствует видимому углекислотному фотосинтезу листа растения. Таким образом, **«ИКЗФ»** миллисекундного компонента ЗФ ответственна за установление (фиксацию) электрохимического потенциала на мембране тилакойда (Литвин, Шувалов,1969; Wraight, 1971; Evans, Crofts 1973; Gashimov, Matorin, 1976). Аксонометрия **«ИКЗФ»** детально показывает как ***«FLA»*** регистрирует выборки ЗФ с помощью АЦП (см. рис. 12.2). В каждой выборке (500 тысяч измерений) **«ИКЗФ»** регистрируются два временных интервала затухания ЗФ: 1 mc , 10 mc и производная величина - отношение 1/10 mc.

«FLA» позволяет в каждом временном «окне фосфороскопа» регистрировать **два временных интервала затухания ЗФ: 1 mc , 10 mc и производную величину -** 1/10 mc. При этом в каждом временном интервале проводится статистическая обработка по шести характеристикам: ***Z*** = ***M*** - мода; ***D*** - дисперсия; ***V*** - вариация; ***A*** - асимметрия; ***E*** – эксцесс и ***t*** - критерий достоверности с учетом повторяющихся выборок - ***n***. Разумеется, можно регистрировать (задавать) разное количество выборок «ИКЗФ» и временных интервалов затухания. Данные параметры устанавливаются в разделах: ***Tuning*** **в протоколе «*дружеского меню*».** Важно отметить значительную зависимость вида **«ИКЗФ»** от состояния исследуемого объекта - высечки листа растения.

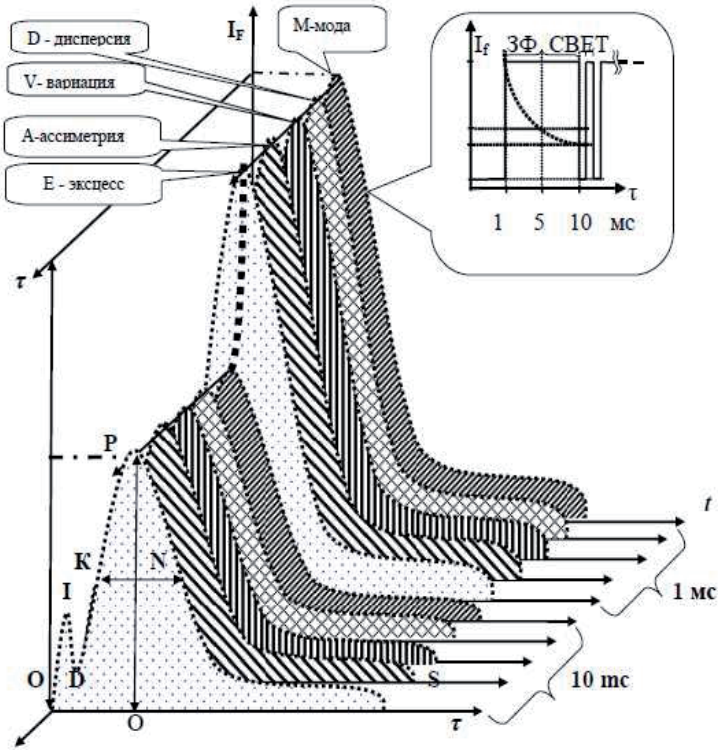


Рис. 12.2. Аксонометрия «ИКЗФ» через ее статистические значения, где: I_F= *М-мода, D-дисперсия, V-вариация, Е-эксцесс, А-асимметрия*, для τ временных значений компонент «жизни» ЗФ = 1 мс; 10 мс и 1/10 мс; I_F - интенсивность ЗФ; t – время регистрации ЗФ; τ - временные компоненты «жизни» ЗФ; фаза *OI* - электрическая разность потенциалов на мембране хлоропласта; *DP* - становление протонного градиента *ΔpH* (Itoh, Murata, Takamiya, 1971; Wrautght, Crofts, 1971); *PS* - отражает накопление высокоэнергетического ингредиента фотофосфорелирования (Itoh., 1971); *KN* - ширина пика ЗФ на 1/2 высоты ОР. «ИКЗФ» оцениваем коэффициентом *Z = OP/KN.* Справа от аксонометрии представлен график - жирно выделен буквой «*П*» - временной фрагмент «окна» фосфороскопа τ = 10 мс для регистрации временных компонент ЗФ (1 мс;10 мс) по 500000 отсчетов.материала в кассете по параметрам «ИКЗФ»: *OP, KN и OP/KN = Z,* включающие временные компоненты и вышеназванные статистические характеристики.

Таблица 12.5

Закономерности параметров «ИКЗФ» исследуемых генотипов в «норме» и патологии

Параметры ИКЗФ		Реакции исследуемых генотипов в «норме» и патологии	
Название параметра ИКЗФ	Обозначение параметра ИКЗФ	В физиологической «норме» исследуемого генотипа	В физиологической «патологии» исследуемого генотипа
Становление протонного градиента *ΔpH*	«DP»	больше	меньше
Общий потенциал	Высота пика ИКЗФ «OP»	больше	меньше
Ширина пика ИКЗФ на 1/2 высоты «OP»	«KN»	меньше	больше

В связи с этим, в приборе ***«FLA»*** предусмотрен режим *проверки функционального состояния* фотосинтетического аппарата и однородности (*гетерогенности*) экспериментального исследуемого материала. Поэтому наш описываемый автоматизированный многофакторный эксперимент начинается с проверки функционального состояния фотосинтетического аппарата и однородности (гетерогенности) экспериментального исследуемого материала в кассете по вышеуказанным параметрам. В таб. 11.5. указаны закономерности параметров «ИКЗФ» исследуемых генотипов в норме и патологии (см. рис. 12.3). Для регистрации «ИКЗФ» выборок из кассеты с исследуемыми образцами используется 10-разрядный АЦП с частотой преобразования 1 мкс., который последовательно производит измерения в течение 3 - 5 мин, делая в окне фосфороскопа две выборке по ≈ 500 тыс. отсчетов: - τ = 1 мс, τ = 10 мс, производная 1/10 мс (вычисляя для каждой выборки- τ = 1 мс, τ = 10 мс, производная 1/10 мс по шести статистическим характеристикам: ***Z*** = ***M*** - мода; ***D*** - дисперсия; ***V*** - вариация; ***A*** - асимметрия; ***E*** – эксцесс и ***t*** - критерий достоверности).

Температурная кинетика ЗФ («ТКЗФ»).

«ТКЗФ» представляет собой функциональную зависимость интенсивности ЗФ $I = f(T^0)$ от определенной скорости V изменения температуры (рис.12.3.). Нагрев листа растения или суспензии одноклеточной водоросли приводит к образованию так называемого температурного максимума (ТМ) ЗФ, а в дальней-

шем – к изменению ее стационарного уровня в виде резкого или постепенного подъема и постепенного спада (см. рис.12.3).

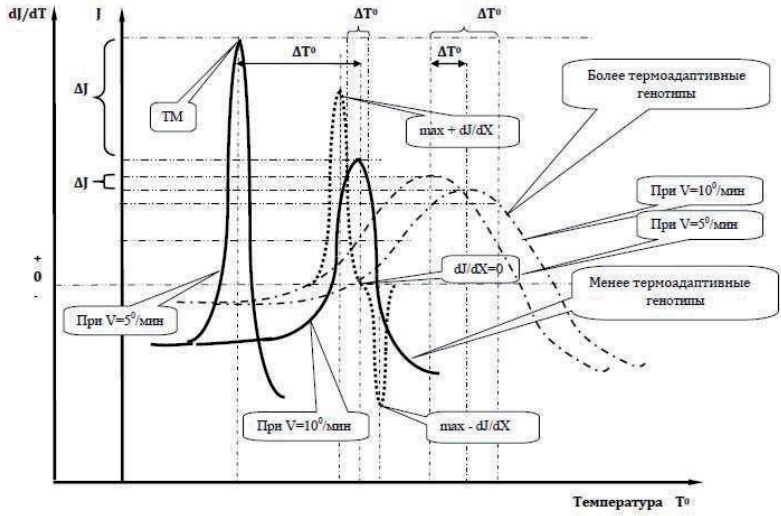


Рис. 12.3. Функциональная зависимость замедленной флуоресценции листа пшеницы I = f(T^0) от температуры (T^0) и скорости ее изменения (V) .

На основании собственного и литературного материала (Тарусов, Веселовский, 1978) в таб. 11.6 представлены закономерности «ТКЗФ», встречаемые при исследовании. Наш анализ (Королев, Василенко, 1990) закономерностей ЗФ выявил главные факторы, которые позволяют в многофакторном эксперименте изменять: «расширять» либо «сужать» внутреннее факторное пространство гомеореза исследуемых образцов по отклику ЗФ и, тем самым, выявлять компоненты «АПС».

В таб.12.8 – протокол эксперимента - представлены регистрируемые параметры «АПС» $У_1$ –$У_3$ исследуемых генотипов. Для повышения информативности так же, как и при регистрации индукционных кинетик ЗФ (**«ИКЗФ»),** регистрируются по $У_1$ - $У_3$ (по зонам) временные характеристики «затухания» ЗФ: 1 mc, 10 mc и производная величина 1/10 mc, по которым рассчитываются шесть

статистических характеристик: ***M*** - мода, ***D*** - дисперсия, ***V*** - вариация, ***A*** - асимметрия, ***E*** - эксцесс, ***t*** - критерий достоверности (таб.11.6).

Таблица 12.6

Закономерности «ТКЗФ»

Параметры ТКЗФ		Факторы, влияющие на ТКЗФ		Реакции объектов генотипов с различной термоадаптивностью – жароустойчивостью, исследуемые «классическими» методами ЗФ					
				Степень термоадаптивности генотипов					
Название параметра.	Сокр. название парамет.	Скорость нагрева(V) T^0/мин		Высокая		Средняя		Низкая	
				Тем. Т	Освещ. Е	Тем. Т	Освещ. Е	Тем. Т	Освещ. Е
				Стимул./ингиб.	Стимул./ингиб.	Стимул./ингиб.	Стимул./ингиб.	Стимул./ингиб.	Стимул./ингиб.
		10^0/м	5^0/м	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Интенсивность ЗФ	I	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Высокое	Высокое
Темпер. максим ЗФ	ТМЗФ	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Очень высокое	Очень Высокое
Сдвиг ТМЗФ	Δ ТМЗФ	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Высокое	Высокое
«Остроконеч.» ТМЗФ	К*	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Высокое	Высокое
Относит. ширина ТМЗФ – ΔT^0	ΔТМЗФ	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Высокое	Высокое
Варьирование V +Max, - Max производной	Max+dI/dT Max- dI/dT	⟹		Низкое	Низкое	+/-	+/-	Высокое	Высокое

*«Остроконечность» ТМЗФ можно оценивать коэффициентом К (Королев, 1978)

Это позволяет «заглянуть» внутрь фотосинтетического аппарата исследуемого генотипа, например исследуемой пшеницы и в цифровом виде получить информацию о *специфике* на уровне авторегуляторных механизмов исследуемых генотипов, что ранее практически не делалось. В таб.12.8 – протокол эксперимента - представлены регистрируемые параметры «АПС» $У_1$ –$У_3$ исследуемых генотипов. Для повышения информативности так же, как и при регистрации индукционных кинетик ЗФ (**«ИКЗФ»),** регистрируются по $У_1$ - $У_3$ (по зонам) временные характеристики «затухания» ЗФ: 1 mc, 10 mc и производная величина 1/10 mc, по которым рассчитываются шесть статистических характеристик:

M - мода, ***D*** - дисперсия, ***V*** - вариация, ***A*** - асимметрия, ***E*** - эксцесс, ***t*** - критерий достоверности (таб.11.6).

12.10. Статистические характеристики временных компонент ЗФ.

Статистические характеристики временных компонент ЗФ, регистрируемые *«FLA»* по каждой выборке в «ИКЗФ» или «ТКЗФ» для трех временных характеристик ЗФ: 1 mc, 10 mc и 1/10 mc**:**

- **Мода** временных компонент ЗФ - значение во множестве выборок, которое встречается наиболее часто:

$$M_0 = x_0 + h\frac{f_m - f_{m-1}}{\left(f_m - f_{m-1}\right) + \left(f_m - f_{m+1}\right)} \qquad (12.5)$$

где: M_0 - значение моды ; x_0 - нижняя граница модального интервала; h - величина интервала; f_m - частота модального интервала; f_{m-1}- частота интервала, предшествующего модальному; f_{m+1} – частота интервала, следующего за модальным.

- **Выборочная средняя**: $\tilde{M}$

$$\tilde{M} = \frac{\sum_{i=1}^{n} y_i}{n}; \qquad (12.6)$$

- **Дисперсия** – точнее, квадратный корень из дисперсии равный δ^2 называется среднеквадратичным отклонением, стандартным отклонением или стандартным разбросом и измеряется в тех же единицах, что и сама случайная величина, а дисперсия измеряется в квадратах этой единицы измерения:

$$\delta^2 = \frac{1}{n}\sum_{i-1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right)^2 \qquad (12.7)$$

- **Вариация -** различие значений какого-либо показателя у разных единиц совокупности за один и тот же промежуток времени. Причиной возникновения вариации являются различные условия существования разных единиц совокупности, что отражает условия развития массовых явлений:

$$V = \frac{\delta}{\bar{x}} \qquad (12.8)$$

- **Коэффициент асимметрии *«А»*:** в теории вероятностей величина, характеризующая асимметрию распределения данной случайной величины (Википедия). Степень асимметричности распределения можно измерять несколькими способами по формулам или через разность между средней арифметической и модой или через отношение момента третьего порядка к кубу квадратичного отклонения . Пусть задана случайная величина X такая, что E $(X^3) < \infty$. - для больших выборок. Пусть μ_3 обозначает третий центральный момент:

$$\mu_3 = \mathrm{A}[(X - EX)^3] \quad \text{или} \quad \mu_3 = \frac{\sum(X-\bar{X})^3 m}{\sum m} \qquad (12.9)$$

Если стандартное отклонение X, то:

$$\delta = \sqrt{D[\mathrm{X}]} \qquad (12.10)$$

Тогда коэффициент асимметрии:

$$\mathrm{A} = \frac{\mu_3}{\delta^3} \quad \text{или} \quad \mathrm{A} = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\sigma} \qquad (12.11)$$

- **Коэффициент эксцесса** в теории вероятностей - мера остроты пика распределения регистрируемой величины. Пусть задана случайная величина X такая, что $E(X^4) < \infty$. Тогда μ_4 обозначает четвёртый центральный момент:

$$\mu_4 = E\left[\left(X - EX\right)^4\right] \text{ или } \mu_4 = \frac{\sum(X-\bar{X})^4 m}{\sum m} \qquad (12.12)$$

Тогда коэффициент эксцесса задаётся формулой:

$$E = \frac{\mu_4}{\delta^4} - 3 \qquad (12.13)$$

Если коэффициент эксцесса положителен, то пик распределения около математического ожидания – *острый*; при отрицателеном - *пик тупой*.

- **Достоверность (*t*)** измерений определяли следующим образом: задавшись доверительным интервалом (Δ = 5 – 10%), по способу Стьюдента - Фишера находят надежность - *P*. по формулам вычисляют значения:

$$m = \frac{\tilde{\delta}}{\sqrt{n}}; \qquad (12.14)$$

Далее находим *t*:

$$t = \frac{\Delta}{m} \qquad (12.15)$$

где: Z = ***OP/KN*** = $M_0 \approx \tilde{M}$ - параметр «ИКЗФ» экспериментального исследуемого материала в кассете; $\tilde{M}$ - мода; ***n*** - число повторностей (дублирующих опытов; в нашем случае - пять); $\tilde{\delta}$ - среднеквадратичное отклонение; $\tilde{m}$ - ошибка среднеквадратичного отклонения; ***t*** **-** критерий достоверности; Δ - доверительный интервал Δ = 5 ÷ 10% выборочной средней или моды при доверительной вероятности (надежности) P = 0,90 ÷ 0,95.(Рафалес – Ламарка, Николаев, 1971). Если определяемое таким образом значение ***t*** ниже *t значения заданного*, то требование однородности выполнить невозможно. ***Z*** = ***M*** не значима! *«FLA»* сигнализирует об этом и предлагает экспериментатору заменить кассету

с исследуемыми образцами, с плохим неоднородным состоянием фотосинтетического аппарата.

12.11. Кодировка функции исследуемых полиномов.

Кодировка функции исследуемых полиномов (многочленов) гомеорезов адаптивных компонент имеет принцип, представленный в таб.12.7..

Пояснение к многофакторному эксперименту.

Существенным является то обстоятельство, что каждому набору уровней *входов* «черного ящика» исследуемого гомеореза *«БС»,* соответствует определенные значения выходов реакций ЗФ (функция поверхности отклика). Исследуемый образец гомеореза листа растения (генотипа) поддействием совокупности факторов и их разнообразных комбинаций приобретает в результате эволюционного процесса за счет морфогенеза определенный комплекс адаптивных свойств («АПС»). Если на период обработки стрессором «***расширять»*** *либо* ***«сужать»*** факторное пространство авторегуляторных механизмов АПС, мы как бы вторгаемся в совокупность факторов отбора (элиминации). В этом случае уже не стрессор, как таковой, а фактор, изменяющий пространство отклика, является потенциальным маркером биологической системы. При таком подходе вполне оправдан переход от одно - к многофакторному зондированию «БС», но на фоне единственного или двойного стрессора. Исследуемый лист растения другого генотипа, обработанный по таким режимам, имеет иные свойства характеристики ЗФ. Точно ответить на вопрос, почему при изменении режимов воздействия факторов изменились свойства генотипа, нельзя - механизм явления либо плохо, либо совсем не известен - «черный ящик». Важен лишь сам факт изменения свойств, которые обуславливают различные явления адаптивности. В связи с тем, что между выходами и входами системы существует определенная связь, задача (см. выше: *дедукционная задача по Триммеру* раздел1.0) сводится к постановке минимально возможного числа экспериментов, выбору некоторого числа набора тестирующих уровней входов, фиксации выходов, а затем - к построению и анализу функции отклика математических моделей, связывающих выходы с входами (Azzi, 1962; Wraight, 1971).

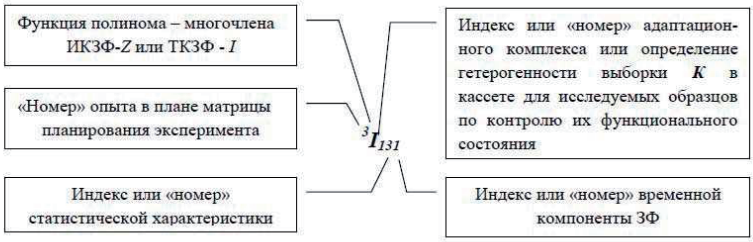
12.1. Функция поверхности отклика исследуемого генотипа.

Как известно, особенностью использования методов математического многофакторного планирования эксперимента (раздела прикладной математики) является то, что система постулатов образует своеобразные концепции – мате-

матические структуры, богатые логическими следствиями, которые из них могут выделены.

Таблица 12.7

Кодировка функции исследуемых полиномов гомеорезов «АПС» в эксперименте.



№	Подстрочный символ функции	Функции исследуемых полиномов гомеорезов адаптивных компонет (например: функция $^{3}Z_{MCV}$ для ИКЗФ). (например: функция $^{7}I_{131}$ для ТКЗФ)		ИКЗФ	ТКЗФ
1	2	3	4	5	6
1	Первый	Контроль		K	-
		Название адаптационного компонента	Модификационный	M	1
			Генетический	G	2
			Репарационный	R	3
2	Второй	Временные компоненты «жизни» ЗФ	1 mc	A	1
			10 mc	B	2
			1/10 mc	C	3
3	Третий	Статистические Характеристики ЗФ	M – мода	M	1
			D – дисперсия	D	2
			V – вариация	V	3
			A - ассиметрия	A	4
			E - эксцесс	E	5

Наличие таких структур, согласно Бурбаки (Бурбаки, 1963), в которые имплицировано (подразумевающее) все содержание математики, есть та черта, которая отличает ее от других областей знаний.

Поэтому в многофакторном планировании эксперимента, как и в других разделах прикладной математики, исчезают из поля зрения целостные математические структуры. Они заменяются пестрой мозаикой критериев, которая потеря-

ла смысл в самой постановке вопроса о *непротиворечивости*, играющей столь большую роль в структурах чистой математики. В связи с этим, в других случаях на математическом языке стали записываться некоторые постулаты и тогда вообще исчезла цепочка силлогизмов, которая является одним из обязательных признаков традиционных математических построений (Налимов, 1981). Даже беглое знакомство с литературой по методам современной биологии позволяет заметить, что многие выводы, предвидения и даже законы носят качественный характер, так как количественные описания получают экспериментально, огромными затратами дорогих многофакторных экспериментальных опытов. Безусловно, любое комплексное воздействие на биологическую систему - гомеорез, имеющее своей целью направленное изменение ее состояния, действительно является многофакторным экспериментом. В конечном итоге, это - попытка регуляции функции ее гомеореза. Классический (традиционный) метод экспериментирования предлагает последовательное изучение сочетаний действующих факторов. Когда число сочетаний последних будет исчерпано, то появится возможность путем сравнения найти *лучший – оптимальный* вариант.

Не подлежит сомнению, что количество опытов при этом окажется недопустимо большим, а результаты будут представлены в малодоступной форме в виде таблиц, в лучшем случае, в виде графиков. Графический способ теряет наглядность, если число действующих факторов становиться больше двух или трех.

Положение еще усугубляется тем, что каждый из сравниваемых результатов должен быть достоверным – статистически надежным, т.е. с допустимыми ошибками на основании обоснованных экспериментальных данных, с достаточным количеством дублирующих опытов, произведенных в идентичных условиях и т.д. В связи с этим, по мере усложнения экспериментальных задач становится принципиально необходимым аналитическое представление данных в виде функциональной зависимости:

$$У = f\,(X_1, X_2, \ldots\ldots X_n) \qquad (12.16)$$

где через X_i - обозначены переменные факторы, влияющие на ход изучаемого процесса; *У* – исследуемая функциональная зависимость.

Вид функции заранее неизвестен. Поэтому, получая в опытах выборочные оценки выходов У (ЗФ), строятся уравнения функций отклика:

$$\left.\begin{array}{c} \boldsymbol{У_1 = f(X_1, X_2, \ldots X_k)} \\ \boldsymbol{У_2 = f(X_1, X_2, \ldots X_k)} \\ \ldots\ldots\ldots\ldots \\ \boldsymbol{У_g = f(X_1, X_2, \ldots X_k)} \end{array}\right\} \qquad (12.17)$$

Эти уравнения в многомерном пространстве факторов, имеющие некоторый геометрический образ, часто называют *факторным пространством* или *поверхностью отклика.*

Адаптивные компоненты гомеореза листа (фотосинтетического аппарата) пшеницы к одновременному действию факторов (разной интенсивности возбуждающего света ЗФ - X_2, скорости изменения температуры X_3), позволяющих «расширять» либо «сужать» *внутреннее факторное пространство* гомеореза исследуемого образца, на фоне стрессора температуры X_1 и скорости изменения температуры X_3 представлены функциональной зависимостью $У = f(X_1, X_2, X_3)$. При этом X_1 определял срессовую зону[32]. Она описывается математической моделью в виде алгебраического полинома (многочленов, см. ниже) функции $У_i$ ЗФ для ее трех временных компонентов «затухания» - 1 mc., 10 mc., 1/10 по 5 статистикам: ***M*** - мода; ***D*** - дисперсия; ***V*** - вариация; ***A*** – асимметрия; ***E***- эксцесс; ***t*** - критерий достоверности (кодировку функции ЗФ см. таб. 12.7).

Такой съем информации позволяет не только одновременно получить большое множество маркеров и построить более точную и надежную *информационную матрицу*, которую можно будет в дальнейшем использовать ее не только в классификационных целях, но и получить ответ на вопрос об особенности организации механизмов фотосинтеза исследуемых генотипов на молекулярном уровне. При этом используем разложение неизвестных исследуемой функции отклика в ряд Тейлора, в окрестности любой точки из области ее определения в факторном пространстве:

[32] В экспериментах для проверки гипотезы

$$\eta = \varphi(X_1, X_2 \dots . X_i) = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_j \quad (11.18)$$

где: $\beta_i = \frac{\partial \varphi}{\partial X_i}$; $\beta_i = \frac{\partial^2 \varphi}{\partial X_i \partial X_j}$; $\beta_i = \frac{\partial^2 \varphi}{\partial X_i^2}$;

12.2. Модель.

Модель строят по результатам многофакторного эксперимента. Она имеет общий вид:

$$y_1 = b_0 + \sum_{i=1}^{n} b_i x_i + \sum_{i=1}^{n} b_{ij} x_i x_j \quad \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots(12.19)$$

где: ($У_1$ – $У_3$) - выборочные оценки *М* ожидаемых эффектов согласно таб.11.4; b_o - свободный член уравнения; b_i - оценка коэффициентов регрессии исследуемых факторов; X_i - уровни исследуемых факторов.

Для проведения наиболее эффективного эксперимента необходимо его математическое планирование. Планировать эксперимент - значит выбрать оптимальную схему эксперимента, дающую возможность получить необходимую информацию об исследуемом объекте минимальным числом опытов.

Основное преимущество активного эксперимента связано с тем, что он позволяет:

- минимизировать общее число опытов;
- рандомизировать условия опытов, т.е. многочисленные мешающие факторы превратить в случайные величины;
- одновременно варьировать всеми переменными и оптимально использовать факторное пространство;
- организовать эксперимент таким образом, чтобы выполнялись многие исходные предпосылки регрессионного анализа;
- получить для исследуемых объектов математические модели, обладающие некоторыми *оптимальными свойствами*, что дает возможность сопоставлять результаты, получаемые различными исследователями.

Приступая к реализации планирования, на примере двух/трехфакторного эксперимента (например: исследования действия температуры, влияние света различной интенсивности и разной скорости нагрева) с целью активной иденти-

фикации адаптивности растений по оценке особенностей их авторегуляторных механизмов[33], необходимо:

- выбрать уровни изучаемых воздействующих факторов;
- составить матрицу эксперимента на основе *ортогональных, рототабельных, ротабастных* планов;
- определить конкретный вид уравнения регрессии;
- определить его коэффициенты.

Для задания многофакторного эксперимента требуется открыть программу ***«FLA»*** и в «Меню» - дружеского интерфейса в разделе: «*Experiment»* заполнить «Протокол эксперимента», выбрать или задать план - матрицу эксперимента, пример которой представлен в таб. 12.8. В протоколе, кроме всего, требуется заполнить - задать:

- цель и задачи многофакторного эксперимента;
- записать «имя - код» исследуемого образца; например: по количеству заданных факторов X_1, X_2, X_3 и значению их уровней программа протокола «FLA» автоматически представляет *ортогональный, рототабельный, робастный* план эксперимента;
- количество исследуемых образцов в кассете;
- время темновой адаптации;
- время регистрации «ИКЗФ»;
- скорость нагрева и т.д.

В связи с принципиальными трудностями – невозможностью провести одномоментный эксперимент (как мы писали выше), так как нельзя сразу обеспечить разную скорость изменения температуры в термокамере «FLA» для разных образцов согласно плана эксперимента. Для преодоления этих трудностей общий эксперимент мы спланировали как двухфакторный, но трехблочный или «трехкассетный».

Следует заметить, что согласно таб. 12.3, требовалось провести три серии экспериментов (по количеству зон действия стрессора, а для представления результатов потребовалось бы три таб. 12.8). Возможность линейной развертки температуры позволяет провести эксперимент в одну серию. При этом зоны

[33] Исследование авторегуляторных механизмов - прерогатива синергетического междисциплинарного изучения.

действия стрессора выбираются автоматически программным обеспечением FLA.

Блоки реализуют действие разных уровней фактора X_3, т.е. различный скоростной режим действия температуры на исследуемые образцы, для:

- первого блока (первой кассеты) воздействуют уровнем фактора X_3 – (+1) - скорость нагрева образцов 10^0 /мин;
- второго блока (второй кассеты) - уровнем фактора X_3 – (0) - скорость нагрева образцов $7{,}5^0$ /мин;
- третьего блока (третий кассеты) - уровнем фактора X_3 – (-1) – скорость нагрева образцов 5^0 /мин.

Для реализации полного двухфакторного X_1, X_2 эксперимента (см. таб. 12.8 столбцы 2, 3) связанного с исследованием структуры адаптивных компонент по «АПС» у исследуемых образцов, требуется 9 опытов. Исследуемые образцы листьев согласно плана располагаются в кассете, которая для анализа вставляются в прибор «FLA».

С трудностью задания разных уровней фактора X_2 (различной интенсивности возбуждающего света ЗФ) мы успешно справились в конструкции «FLA», установив оригинальные ослабители света прямо на кассете для исследуемых образцов. Перед каждым проведением исследования «ТКЗФ» *15 исследуемых образцов в кассете подвергаются проверке*, т.е. контролю функционального состояния фотосинтетического аппарата – оценки однородности (гетерогенности) по выборке по статистическим характеристикам «ИКЗФ»: Z = Y = M - мода ЗФ; Z = Y = D - дисперсия; Z = Y =V - вариация; Z = Y = A - асимметрия; Z = Y = E – эксцесс для временных значений «ИКЗФ»: 1\10 мс. (см. таб. 12.8 столбцы 10 - 14). В этой же таблице показан результат контроля - проверки функционального состояния фотосинтетического аппарата по вышеназванным показателям для первой кассеты места исследуемого образца с 1 по 5, с 6 по 10, с 11 по 12 (сформированы по пятикратным повторностям).

Для опытов с №1, №3, №8 соответственно контрольные результаты по гетерогенности ${}^{1}Z_{KCA}$, ${}^{1}Z_{KCB}$, ${}^{1}Z_{KCC}$, ${}^{1}Z_{KCD}$, ${}^{1}Z_{KCE}$, ${}^{3}Z_{KCA}$, ${}^{3}Z_{KCB}$, ${}^{3}Z_{KCC}$, ${}^{3}Z_{KCD}$, ${}^{3}Z_{KCE}$, ${}^{8}Z_{KCA}$, ${}^{8}Z_{KCB}$, ${}^{8}Z_{KCC}$, ${}^{8}Z_{KCD}$, ${}^{8}Z_{KCE}$ (надстрочные цифры - номер опыта; Z - параметры «ИКЗФ»; подстрочные цифры и буквы – пожалуйста, см. таб. 12.5 - .12.8.).

Далее, после исследования функционального состояния фотосинтетического аппарата кассета с 15-ю исследуемыми образцами и определения их *гетероген-*

ности по «ИКЗФ» подвергается многофакторному исследованию действия X_2, X_3 при постоянном уровне X_1.

Выделенные строки - «кирпичная кладка» соответствуют номерам «мест» исследуемого образца в кассете, отображенных в столбцах 4, 5, 6, 7, 8 *без рандомизации*: в упрощенном виде, для лучшего объяснения (см. в таб. 12.8 для фактора скорости нагрева X_3 уровня = +1).

Столбец 9 характеризует адаптивные функции - компоненты («АПС») $У_1, У_2, У_3$ (см. таб. 11.8), по которым происходит сбор статистических характеристик «ТКЗФ»: $\boldsymbol{I = У_i = M_i}$ – мода ЗФ; $\mathbf{D_i}$ –дисперсия; $\mathbf{V_i}$ – вариация; $\mathbf{A_i}$ – асимметрия; $\mathbf{E_i}$ – эксцесс.

Выделенные строки - «кирпичная кладка» соответствуют номерам «мест» исследуемого образца в кассете, отображенных в столбцах 4, 5, 6, 7, 8 *без рандомизации*: в упрощенном виде, для лучшего объяснения (см. в таб. 12.8 для фактора скорости нагрева X_3 уровня = +1).

Выделенные строки - «кирпичная кладка» соответствуют номерам «мест» исследуемого образца в кассете, отображенных в столбцах 4, 5, 6, 7, 8 *без рандомизации*: в упрощенном виде, для лучшего объяснения (см. в таб. 12.8 для фактора скорости нагрева X_3 уровня = +1). Столбец 9 характеризует адаптивные функции - компоненты («АПС») $У_1, У_2, У_3$ (см. таб. 12.8), по которым происходит сбор статистических характеристик «ТКЗФ»: $\boldsymbol{I = У_i = M_i}$ – мода ЗФ; $\mathbf{D_i}$ – дисперсия; $\mathbf{V_i}$ – вариация; $\mathbf{A_i}$ – асимметрия; $\mathbf{E_i}$ – эксцесс. Выделенные строки - «кирпичная кладка» соответствуют номерам «мест» исследуемого образца в кассете, отображенных в столбцах 4, 5, 6, 7, 8 *без рандомизации*: в упрощенном виде, для лучшего объяснения (см. в таб. 12.8 для фактора скорости нагрева X_3 уровня = +1).

Столбец 9 характеризует адаптивные функции - компоненты («АПС») $У_1, У_2, У_3$ (см. таб. 12.8), по которым происходит сбор статистических характеристик «ТКЗФ»: $\boldsymbol{I = У_i = M_i}$ – мода ЗФ; $\mathbf{D_i}$ –дисперсия; $\mathbf{V_i}$ – вариация; $\mathbf{A_i}$ – асимметрия; $\mathbf{E_i}$ – эксцесс.

В пятикратной повторности, реализуя первую матрицу плана эксперимента (9 опытов), т.е. двухфакторный опыт при X_3=+1) и т.д.

Столбцы 10 – 14 указывают временные значения «жизни» ЗФ: 1\10 мс.

Таблица 12.8

Протокол пакета *Experiment «FLA»* Файл: 3I00F07.»FLA».06.15.

Первый этап эксперимента – контроль гетерогенности в кассете *«FLA»* для $^{1}X_{1.}$

При X_3= +1 - кассета № 1

При X_3= 0 - кассета № 2

При X_3= -1 - кассета № 3

№ опыта	План экспер.		№ образ. кассет					АПС	Функции $У_1$ контроль комп.1/10мс				
			Повторность						Статистики ИКЗФ и ТКЗФ				
	X_1	X_2	1	2	3	4	5		M	D	V	A	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	+1	+1	1	2	3	4	5	M	$^{1}Z_{KMM}$	$^{1}Z_{KMD}$	$^{1}Z_{KMV}$	$^{1}Z_{KMA}$	$^{1}Z_{KME}$
								G					
								R					
2	-1	+1	1	2	3	4	5	M	$^{2}Z_{KMM}$	$^{2}Z_{KMD}$	$^{2}Z_{KMV}$	$^{2}Z_{KMA}$	$^{2}Z_{KME}$
								G					
								R					
3	+1	-1	6	7	8	9	10	M	$^{3}Z_{KMM}$	$^{3}Z_{KMD}$	$^{3}Z_{KMV}$	$^{3}Z_{KMA}$	$^{3}Z_{KME}$
								G					
								R					
4	+1	-1	6	7	8	9	10	M	$^{4}Z_{KMM}$	$^{4}Z_{KMD}$	$^{4}Z_{KMV}$	$^{4}Z_{KMA}$	$^{4}Z_{KME}$
								G					
								R					
5	0	0	1	2	3	4	5	M	$^{5}Z_{KMM}$	$^{5}Z_{KMD}$	$^{5}Z_{KMV}$	$^{5}Z_{KMA}$	$^{5}Z_{KME}$
								G					
								R					
6	0	+1	6	7	8	9	10	M	$^{6}Z_{KMM}$	$^{6}Z_{KMD}$	$^{6}Z_{KMV}$	$^{6}Z_{KMA}$	$^{6}Z_{KME}$
								G					
								R					
7	0	-1	11	12	13	14	15	M	$^{7}Z_{KMM}$	$^{7}Z_{KMD}$	$^{7}Z_{KMV}$	$^{7}Z_{KMA}$	$^{7}Z_{KME}$
								G					
								R					
8	-1	-1	11	12	13	14	15	M	$^{8}Z_{KMM}$	$^{8}Z_{KMD}$	$^{8}Z_{KMV}$	$^{8}Z_{KMA}$	$^{8}Z_{KME}$
								G					
								R					
9	-1	0	11	12	13	14	15	M	$^{9}Z_{KMM}$	$^{9}Z_{KMD}$	$^{9}Z_{KMV}$	$^{9}Z_{KMA}$	$^{9}Z_{KME}$
								G					
								R					

Из плана эксперимента (таб. 12.8, столбцы 2, 3) видно, что:

- *первая кассета* - для уровня X_3 - «**+1**» - скорость нагрева V =_10^0мин$^{-1}$.;
- *вторая кассета* - для уровня X_3 - «**0**» - скорость нагрева V = 5^0мин$^{-1}$.
- *третья кассета* - для уровня X_3 **- «-1»** - скорость нагрева V = $7{,}5^0$мин$^{-1}$,

С помощью *ортогональных, ротатабельных, робастных* планов представлена матрица планирования эксперимента (столбцы 2, 3 таб. 12.8). Предполагается определение коэффициентов уравнения независимо друг от друга, например:

$$\hat{y}_{113} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.20)$$

Примеры результата исследования.

Пример результата исследования: уравнения регрессии (полином или многочлен) для функции $У_1 = I = M$ *при* $+max\ dI/dT^0$ (*Модификационный компонент адаптации «АПС»*) для 1\10 мс временного компонента по 5-и статистическим характеристикам: (*M* - мода, ***D*** –дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – асимметрия, ***E*** – эксцесс) ЗФ- гомеореза исследуемых листьев пшениц**:**

Модификационный компонент:

$$\hat{y}_{131} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.21)$$

$$\hat{y}_{132} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.22)$$

$$\hat{y}_{133} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.23)$$

$$\hat{y}_{134} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.24)$$

$$\hat{y}_{135} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.25)$$

Пример результата исследования: уравнения регрессии для функция $У_2 = I = M$ *при* $dI/dT^0=0$ (*Генетический компонент адаптации «АПС»*) для 1\10 мс временного компонента по 5-и статистическим характеристикам (*M* - мода, ***D*** – дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – асимметрия, ***E*** – эксцесс) ЗФ гомеореза исследуемых листьев пшениц**:**

Генетический компонент:

$$\hat{y}_{231} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.26)$$

$$\hat{y}_{232} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \qquad (12.27)$$

$$\hat{y}_{233} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.28)$$

$$\hat{y}_{234} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.29)$$

$$\hat{y}_{235} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.30)$$

Пример результата исследования: уравнения регрессии для функции $У_3 = I = M$ при - max - dI/dT^0 (*Репарационный компонент адаптации «АПС»*) для 1\10 мс временного компонента по 5-и статистическим характеристикам (*M* - мода, ***D*** –дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – ассиметрия, ***E*** – эксцесс) ЗФ гомеореза исследуемых листьев пшениц**:**

Репарационный компонент:

$$\hat{y}_{331} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.31)$$

$$\hat{y}_{332} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.32)$$

$$\hat{y}_{333} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 - \quad (12.33)$$

$$\hat{y}_{434} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.34)$$

$$\hat{y}_{435} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (12.35)$$

где: b_0 - свободный член; x_1,x_2 - значения действующих факторов; b_1 b_2 - коэффициенты регрессии соответствующих факторов; b_{12} - коэффициенты регрессии взаимодействия факторов между собой; $b_{11}x^2_1;b_{22}x^2_2$; $b_{11}x_1$ - коэффициенты регрессии нелинейности действия факторов x_1,x_2.

Аналогичным образом происходит расчет коэффициентов регрессии для фактора Y_3 - скорости нагрева для уровней «+1»; «0»; «-1».

Особенности реализации эксперимента.

Как мы писали выше (см. таб.11.8.)., в кассете для образцов фактора X_2 «освещенности» по уровню:

- «-1» - образцы в кассете № 2, № 3 перекрыты ослабляющим светофильтром 10% от общей интенсивности света, возбуждающего ЗФ исследуемых образцов;
- «0» - в кассете № 2, № 3 перекрыты ослабляющим светофильтром 50% от общей интенсивности возбуждающего света ЗФ исследуемых образцов;
- «+1» в кассете № 2, № 3 без ослабляющих светофильтров исследуемых образцов.

Таким образом, по плану эксперимента по X_2 (по протоколу) устанавливаются нейтральные ослабляющие соответствующие светофильтры в кассетах № 2 и № 3. На основании результатов таб. 12.8 получаем уравнения регрессии, полиномов (многочленов) для функций: «I» для *«Модификационного», «Генетического» и «Репарационного»* компонентов, для *временных составляющих ЗФ: 1 тс, 10 тс и 1/10 тс* по *пяти статистическим характеристикам* (*M* - мода, ***D*** – дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – ассиметрия, ***E*** – эксцесс; ***t*** - критерий достоверности) ЗФ гомеореза исследуемых листьев растений, которые могут быть использованы для изучения и сравнения не только адаптационных компонент, но и специфической структурной организации (механизма) их фотосинтетического аппарата, свойственных «АПС».

Жизнь сложна! *Tempora mutantur, et nos mutamur in illis* – (лат). время меняется, и мы меняемся вместе с ним. Сложны и многообразны плановые структуры - адаптивные компоненты («АПС»), поэтому исследователь - экспериментатор - биолог, биофизик, микробиолог, медик…. должен быть готов[34] к обилию новой информации и, конечно, к новому автоматизированному многофакторном эксперименту в целом, работая совместно в консенсусе с математиками, программистами, электронщиками и оптиками.

Структура блока образцов в кассете.

Согласно управляющей программе («FLA») образцы листьев исследуемого растения (высечки) помещаются *рандомезировано* в кассету «FLA».

---

[34] Сформулируем нетривиальную задачу для «нового» исследователя – экспериментатора, которая поможет укрепить его консенсус с техническими коллегами: «…учиться если не программированию, то хотя бы умению формулировки задачи для программиста». К сожалению, новые автоматизированные инструментальные методы на базе компьютеров не смогут заменить генерацию новых идей у биологов - экспериментаторов. Теория многофакторного эксперимента (ТМЭ) совместно с новыми автоматизированными инструментальными методами, на базе компьютеров, безусловно приблизит решения этих проблемы, но для этого требуются знания, а поэтому наш призыв: учить, учится и получать новые междисциплинарные синергитические знания.

Всего используется три кассеты (см. таб.12.8) и проводится двухфакторный эксперимент в соответствии с экспериментальной матрицей планирования в пятикратной повторности.

При проведения «единого» (не блочного) трехфакторного эксперимента требуется поменять кассету с соответствующим количеством мест для образцов, а в разделах ***Tuning, протокол*** «дружеского меню» (см. рис. 9.1.) сделать соответствующую настройку кратной повторности (дублированность опытов).

Индукционная кинетика ЗФ («ИКЗФ»).

В приборе «FLA» кассета с исследуемыми образцами листьев перед регистрацией **«ТКЗФ»** первоначально подвергается исследованию «ИКЗФ». И вот почему. Параметры «ИКЗФ» очень информативны, так как в полной мере отражают функциональное состояние фотосинтетического аппарата, поскольку могут зондировать первичные механизмы фотосинтеза и первичные биохимические процессы. Статистические характеристики Z (*M* - мода, ***D*** –дисперсия, ***V*** – вариация, ***A*** – асимметрия, ***E*** – эксцесс, ***t*** - критерий достоверности) ЗФ в кассете позволяют определить однородность – гетерогенность исследуемых образцов, что позволяет повысить точность эксперимента – заданной диагностики (Рафалес – Ламарка, Николаев, 1971).

Далее, эта кассета исследуется согласно протоколу заданной диагностики, т.е. по характеристикам **«ТКЗФ»**.

Температурная кинетика ЗФ («ТКЗФ»).

«ТКЗФ» проводится согласно протоколу многофакторного эксперимента, осуществляется последующий анализ кассеты с исследуемыми образами листьев исследуемых пшеницы (после анализа ИКЗФ). «FLA» выдает данные, которые используются в регрессивных моделях диагностики АДС гомеорезов.

12.3. Интерпретация коэффициентов полинома. Сравнительные значения величин коэффициентов регрессии.

Анализ величин коэффициентов регрессии начинают с оценки их статистической значимости. Для этого находят ошибку коэффициента регрессии «σ_a» (см. раздел. 3.). Коэффициент регрессии считают значимым, если его величина равна или больше произведения ошибки на критерий Стьюдента.

Далее рассматриваются коэффициенты полинома. по величине *коэффициента* a_o образцы могут не отличаться или же иметь несущественные различия. Но

это не значит, что данные образцы имеют идентичные плановые структуры (одинаковые адаптивные компоненты).

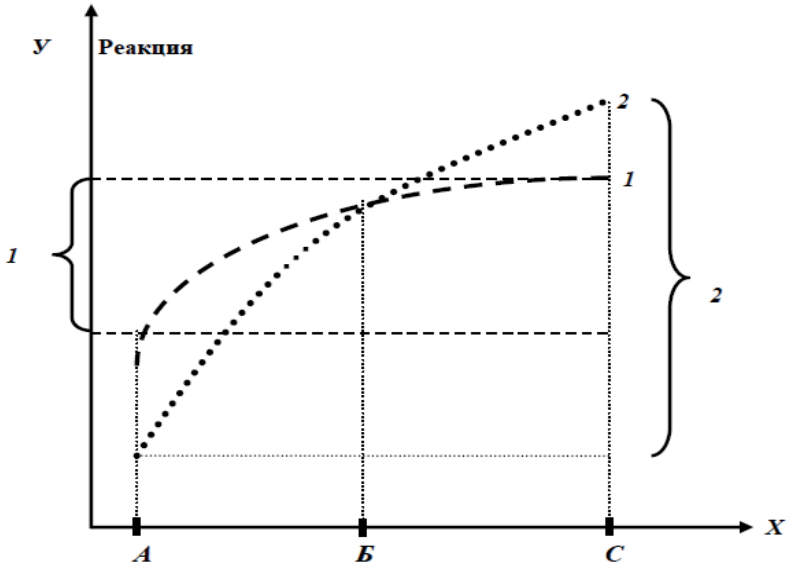


Рис. 12.4. Пример графического представления результатов экспериментов для получения уравнения регрессии.

Вообще при сравнительном изучении признаков растений с большой вероятностью может встретиться случай, показанный на рис. 12.4, где видно, что в зоне «*Б*» образцы не имеют существенных различий в характеристиках «ТКЗФ» фотосинтетического аппарата по «АПС». Если эту зону экспериментатор случайно примет - наметит для исследования и ограничится единственным сочетанием или уровнем факторов, тогда ни один из образцов не выделится. При опыте с уровнем фактора из зоны «*А*», то выделится первый образец, из зоны «*Б*» - второй. В каждом случае последует, «основанный на экспериментальных данных» вывод и рекомендация исследователю. Данные опыта при любом единственном сочетании уровней факторов не отражают *особенностей геноти-*

па. На рис. 12.4. фигурной скобкой показана величина изменения реакции - отклика в ответ на изменение уровня фактора при переходе от значения «*А*» к значению «*Б*». Видно, что второй образец не обладает преимуществом по исследуемому признаку, так как способен активироваться при меньшем значении действующего фактора: изменении скорости температуры и интенсивности возбуждающего света. В уравнении эта особенность зафиксируется большей величиной *коэффициента регрессии* для данного фактора. Высокую классификационную и смысловую нагрузку несут *коэффициенты нелинейности*, передавая чрезвычайно важную информацию, например о ходе «ТКЗФ»: величине ее *вогнутости* – «+» или *выпуклости* – «-», т.е. отражают зависимость выхода от исследуемых факторов («скорости действия температуры» и «интенсивности света») (см. рис.12.4).

Это одна из ярких специфических адаптивных характеристик исследуемого гомеореза генотипа. Величина и знак *коэффициента взаимодействия* указывают на специфичность (или не специфичность – антагонизм или синергизм) действия двух факторов (как в нашем случае) на одну и ту же систему реакции ЗФ исследуемого процесса (Василенко, 1990; Василенко, Королев, 1990).

Эффект взаимодействия факторов проявляется в случае, когда один из них лимитирует или активизирует другой. Такое явление наблюдается в зоне выхода процесса, например, ЗФ *на плато*, положение которого зависит от сопряженности скоростей обеих систем реакций (см. рис.12.4).

Так, например: в наших экспериментах установлено отсутствие взаимодействия факторов X_2 и X_3 у более *адаптивных* сортов исследуемых растений. Это указывает на то, что наши эксперименты позволяют *самостоятельно* зондировать свойства первичных фотохимических и биохимических процессов ЗФ гомеореза фотосинтетического аппарата исследуемых генотипов, по которым проводится диагностика «АПС», что позволяет выявить специфические свойства «АПС» на уровне их регуляторных свойств.

Эффекты взаимодействия (их антагонизм или синергизм) позволяют лучше понять специфическую структуру (природу) авторегуляторных (синергетических) процессов, их *компартментальность* с целью дальнейшего направленного изменения - управления и дают исследователю возможность заглянуть внутрь ранее неизвестного.

Роль знаков при коэффициентах регрессии.

Знаки при коэффициентах регрессии несут самостоятельную и важную в методическом и биологическом отношениях информацию. *Положительный знак* при коэффициентах линейной регрессии свидетельствует о том, что центр эксперимента по рассматриваемому фактору находится на восходящей кривой, отражающей зависимость отклика ЗФ от этого фактора (изменения освещенности или скорости нагрева) (см. рис.12.5).

Значения *репарационных* компоненты в эксперименте по регистрации «ТКЗФ» всегда отрицательны и зависят от генетических репарационных особенностей организации гомеореза исследуемого генотипа.

Интересно: как оказалось (по материалам наших экспериментов) *репарационный* компонент *плановых адаптивных структур гомеореза* исследуемого генотипа имеет определенную достоверно оцениваемую *модификацию*, т.е. может сдвигаться либо в сторону высоких, либо низких температур (важен интервал сдвига!).

Мы бы сказали - имеет собственную генетически обусловленную *подстройку (гомеореза «АПС»)*, которая проявилась в нашем эксперименте в результате изменения факторного пространства гомеореза исследуемого генотипа при варьировании факторов (изменения освещенности и скорости нагрева), что отразилось на значениях соответствующих коэффициентов регрессии в полиноме.

При этом у генотипов с низким показателем *репарационного* компонента, коэффициент взаимодействия положителен, что указывает на низкую «*компартментализационную организацию*» при действии стресса. В данном случае, компартментализационная организация (ранее компартментализационную организацию исследуемых образцов оценивали коэффициентом «*К*» (Королев, 1978)) проявляется в кооперативности: активизации/взаимодействии исследуемых факторов (изменении освещенности и скорости нагрева), более низком сопротивлении исследуемого гомеореза действию факторов стресса.

Диаметрально противоположную картину мы наблюдаем у генотипов, обладающих высоким показателем по *репарационному* компоненту. При этом *коэффициент взаимодействия* - отрицательный, т.е. нет взаимодействия в реакции гомеореза на пагубное влияние вышеуказанного стрессора. Это свойственно высокой компартментализации гомеореза исследуемого генотипа, что свидетельствует о его высокой репарационной способности при действии стресса.

Отрицательный знак коэффициента линейной регрессии показывает, что максимум действия стрессора - фактора уже миновал.

Положительный знак при *коэффициентах нелинейности* бывает в случае *вогнутости кривой*, отражающей зависимость возрастания функции - *потенцирование* действия; отрицательный знак характеризуется *выпуклостью функции,* т.е. выходом от данного фактора на плато. Знак при *коэффициенте нелинейности* говорит о высокой специфичности отклика и играет значимую роль в диагностике плановых адаптивных структур (рис. 12.5).

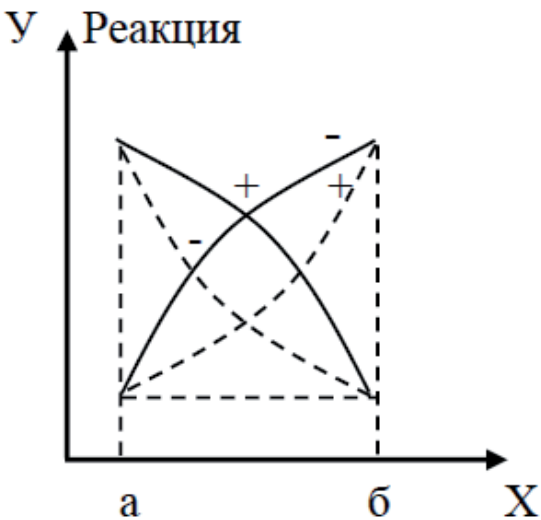


Рис. 12.5.. Роль знаков в уравнениях регрессии.

Знак при *коэффициенте взаимодействия* указывает на стимулирующие (+) или ингибирующие (-) взаимодействия данных факторов исследуемом процессе. Таким образом, особенности ***морфогенеза***, как специфической структуры плановых - адаптивных компонент (определяющих их разнообразную адаптацию и, тем самым, самоорганизацию в эволюционном развитии) гомеорезов фотосинтетического аппарата исследуемых образцов, выявленных и оцененных в специальном многофакторном эксперименте с помощью полиномной модели, весьма наглядно описываются важными коэффициентами регрессии и знаками при них.

12.4. Канонический анализ квадратичной модели.

Еще никто не делал исследования адаптивных явлений гомеорезов биологических объектов (адаптивных компонент – плановых структур «АПС») с помощью математической модели в типовой канонической форме (исследование поверхности отклика). Каноническая форма уравнения регрессии второго порядка (квадрика) позволяет получить наглядную геометрическую интерпретацию функции отклика в области особых точек, что способствует как успешному анализу исследований, так и удобному представлению результатов. Простая зависимость:

$$У= f(x_1,x_2)=a_0+a_1x_1+a_2x_2 \qquad (12.36)$$

является поверхностью первого порядка и плоскостью, расположенной в трехмерном пространстве (рис. 11.6.). Функции по аналогии трех и более параметров, изображенные многочленом первой степени, интерпретируются как гиперплоскости. Так, функция:

$$У= f(x_1,x_2)=a_0+a_1x_1+a_2x_2+ a_3x_3+a_4x_4... \qquad (12.37)$$

Это, безусловно, уравнение гиперплоскости в пятимерном пространстве. Следует отметить, что, если поверхность (гиперповерхность) первого порядка имеет наклон, то при этом экстремум лежит на границе с исследуемой областью, а его величина определяется только положением поверхности (рис. 12.6) поверхности, описываемые многочленом второго порядка от двух параметров, так же могут иметь наглядную геометрическую интерпретацию в трехмерном пространстве. Есть способы, когда с помощью переноса начала координат и вращения осей oX_1 и oX_2, возможно исследовать характер поверхности отклика в стационарной области (при условии ее адекватности) уравнением многочлена второго порядка (квадрика):

$$Y = B_0 +B_1X_1 +B_2X_2+B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{12}X_1X_2, \qquad (12.38)$$

$$Y = B_{11}X_1^2+/-B_{22}X_2^2 \qquad (12.39)$$

Типы поверхностей отклика.

Знак в уравнении 12.39 определяет тип поверхности. Так со знаком «+» поверхность представляет собой:

- эллиптический параболоид $B_{11} \neq B_{22}$ (рис. 12.7)
- параболоид вращения $B_{11} = B_{22}$

Со знаком «-» поверхность по уравнению (12.39) дает: так называемое «седло» - гиперболический параболоид (рис. 12.8.), проекции сечений которого на плоскость $x_1 o x_2$ составляют «картину перевала между горами» в виде «седла». поверхность отклика, эллиптический параболоид и параболоид вращения могут иметь *экстримум* (минимум или максимум) внутри исследуемой области, «седло» - только на границах ее.

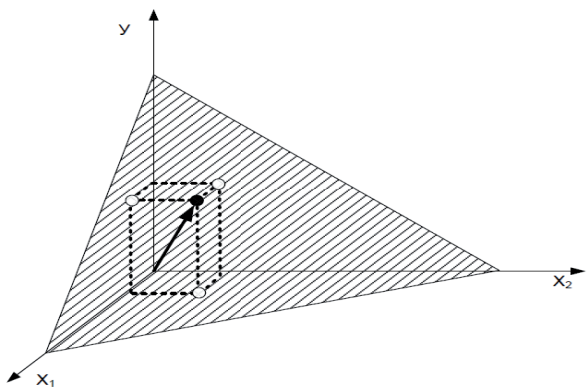


Рис. 12.6. Линейная поверхность в трехмерном пространстве,

где: ● - точка поверхности; ○ - ее проекции на координаты плоскости. и приведение точки к каноническому виду:

$$\beta = 4b_{11}b_{22} - b^2_{12} \qquad (12.40)$$

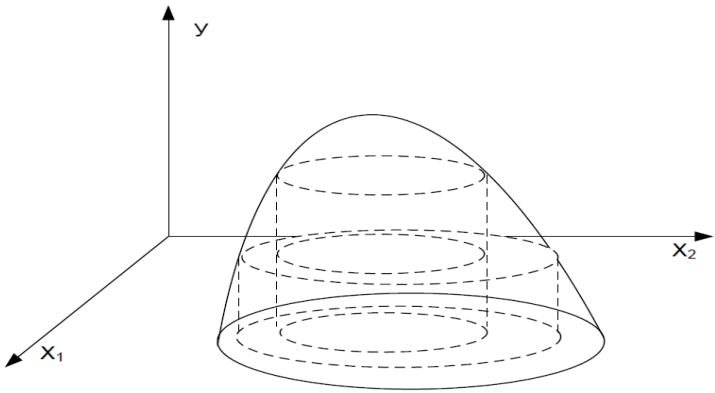


Рис. 12.7. Контурные кривые различных типов для двух факторов X_1,X_2, исследуемой функции У – эллиптического параболоида.

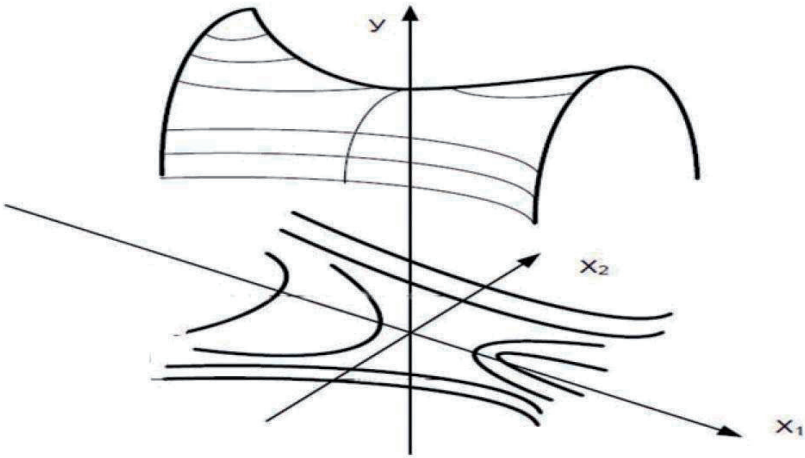


Рис. 12.8.. Контурные кривые различных типов поверхностей отклика для двух факторов X_1, X_2, исследуемой/х функции/й *У*.

Важно поэтому, определить из опытов исходя опытов многофакторного эксперимента коэффициенты, исследуемого полинома и узнать к какому типу поверхности принадлежит наше уравнение.

Классификация исследуемых полиномов.

Для классификационных целей исследуемых полиномов служит критерий:

Таблица 12.9

Классификация условий образования разнообразных поверхностей отклика квадратической математической модели.

№	β	Название поверхности отклика	Условия существования поверхности отклика по классификационному критерию полинома: $\beta = 4b_{11}b_{22} - b^2_{12}$	
1	2	3	4	
1	β>0	Эллиптический параболоид	Мин.	$b_{11}>0$
2			Мак.	$b_{11}<0$
3	β <0	Гипербалический параболоид	Мин.	$b_{11}>0$
4			Мак.	$a_{11}<0$
5	β =0	Требует специальных исследований	-	$b_{11}= b_{22}= b_{33}=0$

Но не все так просто! Элементарных методов анализа «на экстремум» для поверхности n > 2, к сожалению, нет. Критерий (12.40) в известной мере облегчает работу исследователю, избавляя его от необходимости приводить уравнение – полином к каноническому виду, и поэтому полезен для малого, ограниченного анализа функций: до 3 - 4 параметров. Конечно, можно использовать «дробный метод», применяя сложные математические методы на ЭВМ как «*ридж - анализ*» (Draper, 1963), но, к сожалению, полное изложение «Канонического анализа математической модели» не входит в нашу задачу - повествование.

Что дает канонический анализ квадратической модели?

Мы хотим обратить внимание вдумчивого исследователя на интересную биологическую сторону канонического анализа квадратической модели (таб.

12.9), который при исследовании адаптивных явлений компонент – плановых структур («АПС») гомеорезов биологических объектов с помощью математической модели по поверхности отклика дает много ценной информации:

1. Каждое *проявление,* на поверхности отклика при исследовании адаптивных явлений - это наглядный (видимый) ответ системы гомеореза «БС» по математической модели.

2. Каждое специфическое проявление на поверхности отклика при исследовании адаптивных явлений - это уже наглядные координатные проявления специфических реакций гомеореза «БС» по математической модели.

3. Набор специальных *проявлений,* в общем, на поверхности отклика при исследовании адаптивных явлений - это ответ системы гомеореза «БС»: увеличивающаяся информационная платформа при распознавании скрытых возможностей генотипа гомеореза «БС» по математической модели.

4. Не будет преувеличением отметить, что канонический анализ квадратической модели при исследовании адаптивных явлений «АПС» гомеорезов исследуемых объектов в многофакторном эксперименте с помощью наблюдения поверхности отклика - это «глаза и уши» экспериментатора.

5. Канонический анализ квадратической модели при исследовании адаптивных явлений - «АПС» гомеорезов дает наглядную, детальную информацию об исследуемых процессах по результатам «ИКЗФ», «ТКЗФ», световым кривым ЗФ, временным и статистическим характеристикам. Это позволяет, «как бы заглянуть» в механизм того или иного исследуемого процесса и понять его специфику.

6. Канонический анализ квадратической математической модели гомеорезов как будто был сделан специально для исследования адаптивных компонент – плановых структур («АПС»), и достоверно показывает разницу в поверхностях отклика (от эллиптического параболоида до гиперболоида), помогая исследователю в вопросах анализа.

13.0. Примеры организации биофизического эксперимента в новой концепции «диагностики адаптивных механизмов гомеореза» микроорганизмов.

Методы многофакторного анализа в процедуре идентификации адаптационных механизмов с целью классификации биологических объектов.

13.1. Общие сведения.

В связи с междисциплинарностью концепции адаптационных явлений потребовалось бы привести сначала примеры для нескольких разделов науки и практики: медицины, микробиологии, генетики и селекции, агрономии - точного сельского хозяйства. К сожалению, в силу новизны, сложности проблемы и разнообразных, не зависящих от нас, причин более подробно сначала был освещен раздел, касающийся термоадаптивности растений. Примеры диагностики адаптивных явлений микроорганизмов по вышеуказанным разделам мы осветим лишь кратко – принципиально, так как они ранее были опубликованы (Королев, Василенко, 1990). И, тем не менее, несмотря на меньшее представление конкретных примеров, это не умоляет ценность нашей междисциплинарной концепции адаптационных явлений, к тому же это только начало!

13.2. О факторах и реакциях.

Представление о супероптимальных или стрессирующих воздействиях, как об инициаторах глубоких биохимических (в том числе надмолекулярных) перестроек, которые в той или иной мере затрагивают все клеточные структуры, делает «дозирующий» стресс привлекательным методом идентификации биологических объектов (см. раздел 2 - 5). Различная «инерционность» фенотипического и собственно генотипического откликов позволяет использовать понятие о накопленном (интегральном) сигнале, в котором бы отражались быстрые конструктивные перестройки структур и метаболизма (Александров, 1978; Уодингтон, 1970) и глубокая адаптация, обусловленная синтезом белков ***de – novo*** (Александров, 1978; Инге-Вечтомов, 1977). Это сразу позволяет говорить о портрете явления на базе как минимум пяти численных маркеров:

- амплитуды и расстояния между немедленным и отсроченным возмущениями опорного сигнала;
- гистерезис;
- максимальные отклонения (*+1; -1*);

- Если дополнительно рассматривать скорость фронтов импульса +max ($dh / d\tau$) и их изменения max($dh^2 / d^2\tau$), идентификационная информативность матрицы резко возрастает (Richard, Cuellar - Glebnn, Ford William,1978; Королев, 1980; Королев А.М., Можельский А.Н., Кузнецов С.Ю. и сотр., 2016) .

13.3. Проблемы эксперимента.

Однако подход, в основу которого положен анализ одно-, а том более многопараметрического отклика после однократного воздействия, ограничен по своему внутреннему условию, так как предполагает последовательную процедуру анализа уже свершившегося явления, начальные условия которого по существу случайны и неподконтрольны исследователю. Он не может выйти за пределы естественных системных отношений внутри объекта тестирования и между ним и окружающей средой. Это даже без учета того, что многопараметричность предполагает стандартизацию двух и более измерительных процедур и неизбежную в этой случае компьютерную[35] обработку совокупности сигналов. Усложнение аналитической процедуры не должно вступать в противоречие с требованиями представительности выборки, особенно если речь идет о микрообъектах с единственной целевой функцией (например, биосинтетики), а также об объектах со сложным жизненным циклом. Последовательный анализ большого количества образцов, сосредоточенный на получении максимально возможного спектра сигналов – откликов (дескрипторов), сразу наталкивается на фактор времени. Причем, если лабораторное время всего массива измерений еще можно как-то контролировать, то собственное биологическое время (пластохрон) анализируемых объектов остановить невозможно, а учесть затруднительно. Когда говорят об анализе сигналов, предполагается, что речь идет об изучении последовательного однократного возмущения. В этом случае смысл многопараметрического съема после стрессовой информации по всему доступному спектру признаков - эта попытка аппаратными средствами преодолеть «не специфичность» отклика. Однако, как нам кажется, есть эффективный процедурный путь преодоления указанных ограничений. В самом деле, пространству состояний биологической системы - гомеорезу (по Удингтону) - соответствует пространство среды обитания (принцип адекватности). Тогда любой физиологический стресс для совершенно разных биологических объектов на самом деле

[35] Раньше говорили машинную

будет принадлежать системе одних и тех же элиминирующих факторов. В результате мы имеем картину, когда согласно принципу наименьшего взаимодействия Гельфанда - Цетлинс (Гельфанд, Гуфенкель и сотр.,1962) биологическая система, минимизируя свое взаимодействие со средой, дает стереотипный отклик, который является «слепком» среды обитания, а не отражением глубинной генетической специфичности данной биологической системы. В случае же запредельных возмущений, когда регистрируется динамика необратимых разрушений биологической системы, мы, тем более, будем иметь дело исключительно с фенотипом, а высказанные выше сомнения лишь обостряется. Получается, что адаптивные реакции вовсе не лучший маркер для идентификации биологического объекта, т.е. нахожденининя его адаптационных характеристик?

13.4. Способы решения проблемы. Ограниченность классического подхода.

Все не так трагично – безвыходно! Мы лишь столкнулись с ограниченностью классического подхода, который характеризуется установлением зависимости не от множества, а лишь от какого-либо одного экстремального фактора, т.е. с точки зрения аналитической процедуры является однофакторным (ограниченным). Выше уже было сказано, что расширение числа стрессоров наталкивается на проблему их количественной стандартизации, но, главное, не преодолевает факторного пространства среды обитания биологической системы.

Другое дело, если на период обработки *стрессором «расширять» либо «сужать» факторное пространство среды обитания*. Мы как бы вторгаемся в совокупность факторов отбора (элиминации), и в этом случае уже на стрессор, как таковой, а фактор, изменяющий пространство отклика, является потенциальным маркером биологической системы.

При таком подходе вполне оправдан переход от одно- к многофакторному зондированию биологической системы, но на фоне единственного стрессора. В качестве примера показаны результаты факторных экспериментов с актиномицином - продуцентом *Str.1emoгia* - штамма 78 противогрибкового антибиотика Леворин (см. рис. 13.1.).

Варьирование факторов производилось согласно *ортогональной матрице 4 х 4* (Бирюков, Каятерв, 1985). Выходной параметр: «оптимизация активности на сливе», например: Способ определения активности полиеновых антибиотиков авт. свид. СССР № 741154 (Королев, Конев, Туркевич и сотр. 1980).

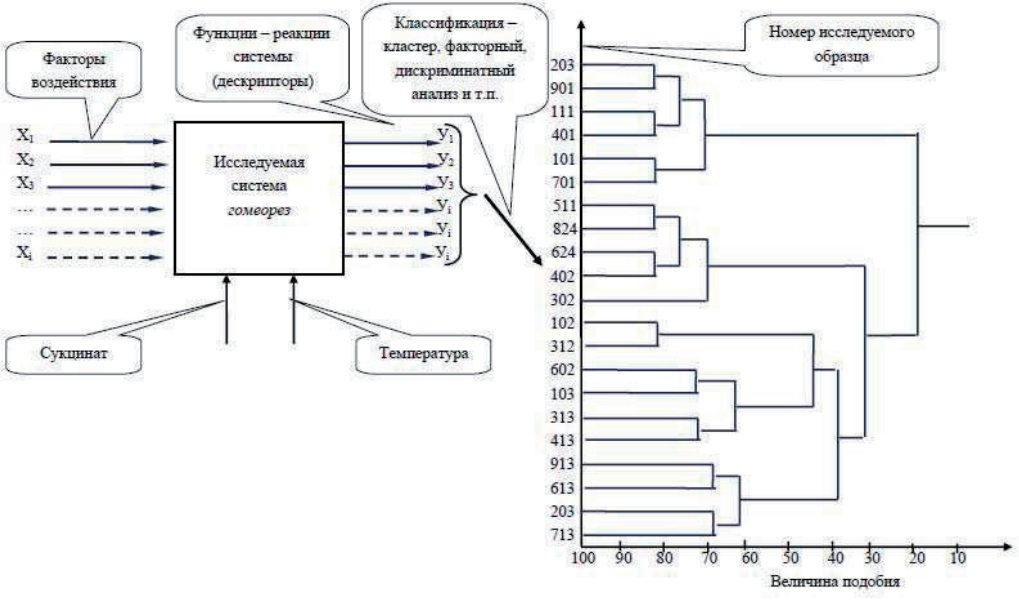


Рис. 13.1. Схема этапов исследования.

Стрессор - термоэкспозиция при 45°С в течение 2 ч. Факторное пространство среды обитания изменялось при помощи *энергетического субстрата*, в качестве которого использовали *сукцинат натрия*. Варьируемые компоненты подбирались по признаку химического подобия комплексному органоминеральному источнику питания - кукурузному экстракту. В таблице 13.1 представлены расчетные матрицы эффектов. Из приведенного примера видно, что введение сукцината в физиологических концентрациях в состав комбинационных вариантов сред заметно усиливает деформацию матрицы после однотипной обработки супероптимальной температурой всех вариантов культуральной жидкости.

Таблица 13.1.

Результаты факторных экспериментов с актиномицином без температурной обработки (А) и на фоне теплового шока 45°С (Б).

Варьируемые Компоненты	Уровни факторов							
	1		2		3		4	
	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б
В отсутствии сукцината.								
Кукурузный Экстракт	-820	-800	210	410	350	560	420	950
Глюкоза	-740	-540	190	-450	590	120	450	1010
$MgSO_4$ *$7H_2O$	470	520	660	720	790	-130	-900	-970
Фон	95	200	-5	85	72	43	80	160
В присутствии сукцината								
Кукурузный Экстракт	2500	1700	-1100	-440	-1700	-1100	270	-160
Глюкоза	630	-2100	900	-1000	-1400	1700	-90	1440
$MgSO_4$ *$7H_2O$	-1900	740	-820	230	1070	-280	-3	-700
Фон	270	-970	-2100	-700	900	600	960	1050

Изменение факторного пространства среды (присутствие сукцината) приводит к индивидуализации отклика через актуализацию «числового образа - портрета» адаптационного явления (см. таб. 13.1. 1-й уровень). Для диагностики плановых структур микробиологических объектов («АПС») требуется многофакторный эксперимент с регистрацией температурной кинеики, но в данном случае это не рассматривается, так как было представлено в предыдущем раз-

деле. В приведенных примерах разделов 12 и 13 для классификации объекта использовались только входные параметры, но не описывался объект как таковой.

Поэтому предложено многопараметрическое описание классифицируемого объекта с использованием новых реакций - дискрипторов, проведенное на фоне факторного пространства по множеству параметров. В результате каждому объекту классификации соответствует вектор «Х», а все объекты могут быть представлены в виде матрицы:

$$X = \begin{vmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \\ \dots \\ X_{ij} \end{vmatrix} \Rightarrow \begin{vmatrix} X_{11}\ X_{21}\ X_{31}\ X_{41} \dots {}_{м1}\ X \\ X_{12}\ X_{22}\ X_{32}\ X_{42} \dots {}_{м2}.X \\ X_{13}\ X_{23} X_{33}\ X_{43} \dots {}_{м3} X \\ \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots \\ X_{1j}\ X_{2j}\ X_{3j}\ X_{4j} \dots {}_{мj}.\ X \end{vmatrix}$$

Рис. 13.2. Матрица

13.5. Классификация

Обычно под классификацией понимается процедура отнесения объектов исследования к тому или иному классу согласно их расположению в пространстве признаков. Можно предположить, что объекты с близкими адаптивными свойствами будут располагаться – концентрироваться в одной и той же ограниченной зоне N- мерного пространства. Как правило, из исходного набора объектов выделяется их некоторая подгруппа, на основании которой («обучающейся выборки») строится классификационное правило. Последнее может быть проверенно испытанием на объектах, не включенных в обучающую выборку. Порядок действий - процедура распознавания объектов складывается из следующих операций:

- многофакторного эксперимента по одному или нескольким типам, предложенных перечисленными далее авторами: (Галкин, Кошкин В.А.,Поляков М.И. и сотр., 1978; Королев, Удовенко, 1981а; Королев, 1981б; Королев, Василенко,1990; Королев, 1993; Косарева, Разоренов, Груздева и сотр., 1999; Груздева, Косарева, Разоренов, 2000; Королев, Овечкин, Исламов и сотр. 2005; Ко-

ролев, 1993; Королев, 2006; Королев, Можельский, 2011; Королев, Можельский, Кузнецов и сотр., 2016; Кошкин В. А. , Лискер И. С., Мережко А. Ф., и сотр., Драгавцев В. А. , Косарева И.А., 2007.)

- предварительной обработки (Той, Gonsalez, 1974; 1967).

Рассмотрим более подробно достаточно сложный этап предварительной обработки экспериментальных данных, предназначенных для классификации.

13.5.1. Предварительная обработка

Методы предварительной обработки служат для преобразования исходных данных и состоят из следующих этапов:

- **масштабирования,**
- **нормализации,**
- **преобразования кластеризации,**
- **отбора признаков,**
- **многомерного скейлинга,**
- **нелинейного отображения.**

Масштабирование и нормализация

Для преобразования данных, полученных в эксперименте, к виду удобному для обработки необходимо выбрать масштаб и выполнить нормализацию. Такие преобразования особенно важны, когда данные получены из разных экспериментов. Поэтому они могут отличаться на несколько порядков, так что большие по величине дескрипторы будут подавлять малые. Эта аномалия может быть устранена путем автоматического выбора масштаба. При этом преобразование совершается так, что среднее значение каждого признака становится равным нулю, а его стандартное отклонение - заданной величине S:

$$X'_{ij} = \frac{S(x_{ij} - \bar{x}_j)}{\delta_j} \qquad (13.1)$$

$$\bar{X}_j = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} X_{ij} \qquad (13.2)$$

$$\delta^2{}_j = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(X_{ij} - \bar{X}_j)^2 \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \qquad (13.3)$$

где: X_{ij} - элементы матрицы, представляющей данные таким образом, что каждый объект задается соответствующей строкой матрицы, а X'_{ij} - элементы матрицы данных, полученные после преобразования масштаба.

В итоге выполнения процедуры автоматического масштабирования все объекты попадают внутрь «гиперкуба». При этом преобразование масштаба меняет только размер области значений, а количество признаков остается прежним. Так же сохраняются основные геометрические характеристики пространства признаков, относящиеся к кластеризации. При изменении массива - добавлении новых объектов к большим выборкам данных, как правило, требуется выполнить только преобразование (13.1), так как величины $\bar{X}_j$ и σ_j, сильно не изменяются. Данное преобразование масштаба требует нормализацию веса, чтобы измерения, дающие больший вклад - **существенно влияющие** на кластеризацию, имели соответственно большие (веса) **массы**. Для этого производят дисперсионное взвешивание. В результате этого преобразования новое пространство признаков X' получается из старого X с помощью следующих соотношений:

$$X'_{ik} = Q_k X_{ik} \tag{13.4}$$

$$Q_k = \frac{\sum_{i}^{L}\sum_{j=i}^{L} P_i P_j X^k{}_{ij}}{\sum_{i}^{L} P_i X^k{}_{ki}} \tag{13.5}$$

$$X = \sum_{l,m} (X^i_{lk} - X^j_{mk})^2 \tag{13.6}$$

где L - количество классов; P_{ui} - вероятность попадания объекта в i-й класс (отношение числа элементов класса к числу элементов всего исходного множества данных), X^k_{ij} - межклассовая дисперсия, рассчитанная с помощью всевозможных сочетаний пар объектов, не принадлежащих одному и тому же классу; X^i_{lk} - *k-я* координата *1-го* элемента класса *i;*, X^k_{ii} - внутриклассовая дисперсия, найденная с помощью всех парных комбинаций объектов, принадлежащих к одному и тому же классу; Q_k - весовой фактор k признака. Чем больше величина Q_k, тем важнее этот признак для классификации.

При преобразованиях такого типа имеет место *парадокс*, заключающийся в том, что в результате его выполнения наилучшие индивидуальные признаки получают наибольшие веса. При этом хорошо известно, что наилучшие призна-

ки, идентифицированные по отдельности, необязательно образуют наилучший набор признаков. Поэтому ценность такого способа ранжирования признаков может оказаться спорной и зависит конкретно от специфики конкретной задачи.

Преобразования кластеризации.

Следует отметить, что процедуры по типу масштабирования могут уменьшить эффект разнородности исходных данных, а в методе дисперсионного взвешивания признаки получают веса, соответствующие их вкладу в кластеризацию. Обе эти операции изменяют исходные данные одинаково. Зачастую бывает необходимо так преобразовать исходные данные, чтобы был выделен какой-то один класс. Такие преобразования минимизируют внутриклассовое расстояние для данного конкретного класса, и, следовательно, процедура классификации облегчается. Существуют и другие методы преобразования кластеризации, которые могут быть осуществлены путем «взвешивания» компонент пространства признаков в соответствии с их вкладом в кластеризацию интересующего нас класса. Одним из методов осуществления такого преобразования является линейное:

$$\mathbf{X^* = WX}, \qquad (13.7)$$

где: **W** – показатель**,** задающий переход от пространства X к пространству X*, в котором внутриклассовое расстояние исследуемого класса объектов минимально.

Приведем упрощенный пример, который показывает, как использовать один из методов предварительной обработки. Он подробно изложен в работе (*Той , Gonzalez,* 1974). Для данного класса векторов - образцов внутриклассовое расстояние задается соотношением:

$$D^2 = 2\sum_{k=1}^{N} \delta_k^2 \qquad (13.8)$$

где N - размерность пространства и δ_k^2 - несмещенная дисперсия класса, рассчитанная по соотношению:

$$\delta_k^2 = \frac{1}{K-1}\sum_{i=1}^{K} a_k^i \qquad (13.9)$$

K - среднее значение координаты вектора образа, рассчитанное по уравнению:

$$a_k^{-i} = \frac{1}{K}\sum_{i=1}^{K} a_k^i \qquad (13.10)$$

где: K - количество элементов класса, внутриклассовое расстояние которого минимизируется.

Отыскиваем матрицу преобразования W минимизирующую внутриклассовое расстояние в новой системе координат, так как нас интересует только масштабный фактор. При этом мы можем считать матрицу W диагональной, где внутриклассовое расстояние в новой системе координат будет равно:

$$D^2 = 2\sum_{k=1}^{\bar{N}} (w_{kk}\delta_k^2) \qquad (13.11)$$

Обычно на процедуру минимизации накладываются следующие ограничения:

Пример 1:

$$\sum_{k=1}^{N} w_{kk} = 1$$

Пример 2:

$$\prod_{k=1}^{N} w_{kk} = 1$$

В примере 1 - матрица преобразования может быть рассчитана:

$$w_{kk} = \frac{1}{\delta_k^2 \sum_{j=1}^{N} (\frac{1}{\delta_j^2})} \qquad (13.12)$$

Следует отметить, что значение коэффициента w_{kk} мало, когда дисперсия δ_k^2 велика. Как нам кажется, такое определение представляется удовлетворительным, поскольку признаки с большими удалениями дисперсии дают малый вклад в кластеризацию, поэтому они должны иметь соответствующие веса.

В примере 2 - матрица преобразования рассчитывается:

$$W_{kk} = \frac{1}{\delta_k}\left(\prod_{i=1}^{N} \delta_J\right)^{\frac{1}{N}} \qquad (13.13)$$

Конечно, весовые факторы признаков обратно пропорциональны их стандартным отклонениям, и признаки, дающие наибольший вклад в кластеризацию, получают наибольшие веса. Поэтому эти преобразования требуют применения только самых простых вычислений, поскольку матрица преобразования диагональная. Следовательно, получается быстрота обработки данных. Поскольку преобразование линейное оно не требует больших дополнительных расчетов при добавлении новых объектов. Данное преобразование касается только одного класса, поэтому для минимизации внутриклассовых расстояний в нескольких классах нужно применить это преобразование к каждому классу в отдельности.

Отбор признаков

К сожалению, парадоксы не заканчиваются! Следующий из них заключается в том, что методы предварительной обработки данных учитывают все признаки, в том числе и те, которые могут не иметь отношения к рассматриваемой классификационной задаче. Поэтому порой при обработке данных мы попадаем в весьма неблагоприятную ситуацию, в частности, в том случае, если несущественные признаки будут увеличивать ошибку процедуры классификации, не говоря уже о сложности этих преобразований. Из-за того, что не все признаки существенны для решения рассматриваемой задачи, необходимо найти способ уменьшения их количества. Одним из таких подходов является метод «Отбора признаков». Суть его заключается в том, что размерность пространства признаков можно уменьшить путем отбора тех признаков, которые, по убеждению исследователя, наиболее существенны для данной задачи. При этом отбор сводится к образованию отношений или комбинаций исходных признаков, к применению различных преобразований исходного набора данных и к использованию результатов классификации. Существует два типа отбора признаков. При отборе признаков до процедуры классификации ее называют *априорной*, если после классификации – *апостериорной* (Ho, Kashyap,1965; Той, 1967; Von Emden, 1971). Главное назначение этих методов состоит в нахождении оптимального набора признаков. При этом определение понятия «оптимальность» зависит от

характера применяемого метода. Одним из лучших из критериев оптимальности является выбор тех компонент, которые обязательно дают больший вклад в кластеризацию рассматриваемого класса. При этом компоненты получают с помощью следующей операции:

- подвергаем данные предварительной обработке с помощью преобразования кластеризации W, т. е. образуем новое пространство признаков X*, в котором внутриклассовое расстояние рассматриваемого класса минимально. Такое преобразование может быть задано соотношением:

$$X^* = WX, \qquad (13.14)$$

где матрица W рассчитывается из уравнений (13.12) или (13.13).

- дисперсионная матрица C* соответствует пространству признаков. Она может быть получена из исходной дисперсионной матрицы путем следующего преобразования:

$$C^* = WCW^* \qquad (13.15)$$

где W - матрица, транспонированная к W^*. Далее мы можем найти преобразование A, которое диагонализирует дисперсионную матрицу, сохраняя минимум внутриклассового расстояния. Таким образом, мы осуществим переход в некоторое пространство X^{**}, в котором вклад различных компонент в кластеризацию становится очевидным.

В итоге не удалось построить новое пространство признаков, в котором можно оценить вклад каждого признака в способность рассматриваемого класса кластеризоваться. Это обусловлено тем, что признаки, имеющие большую величину дисперсии, дают меньший вклад в кластеризацию. Этим признакам присваивается меньший ранг. Естественно, что признаки, имеющие меньшие значения дисперсии, получают больший ранг. Поэтому можно выбрать n признаков высшего ранга, считая их наиболее существенными, а остальные отбросить. Возможно, попытка провести преобразование кластеризации до диагонализации дисперсионной матрицы приводит к слишком громоздким выражениям для матрицы преобразования, но при этом соотношения получаются довольно простыми, если сначала диагонализовать дисперсионную матрицу, а потом провести преобразование кластеризации. Такая технология позволяет показать, что диагонализующее дисперсионную матрицу преобразование A имеет матрицу, строки которой являются собственными векторами исходной дисперсион-

ной матрицы C. При этом первоначальное взаимное расположение векторов - обра-зов остается неизменным, поскольку матрица A - ортогональная. Для максимизации способности интересующего нас класса кластеризоваться настала возможность провести преобразование W. В связи с этим, вклад признаков в кластеризацию может быть ранжирован в соответствии с величинами их дисперсий. Эти предпосылки позволяют построить *новое пространство* путем следующей технологии:

1. Рассчитывается матрица C исходной выборки данных:

$$\boldsymbol{C_{IJ}} = \frac{1}{m-1}\sum_{i=1}^{m}(\boldsymbol{X_{il}} - \overline{\boldsymbol{X_i}})(\boldsymbol{X_{ji}} - \overline{\boldsymbol{X_J}}) \qquad (13.16)$$

$$\overline{\boldsymbol{X}}_{\boldsymbol{k}} = \frac{1}{m}\sum_{i=1}^{m}\boldsymbol{X_{lk}} \qquad (13.17)$$

2. Отыскиваются собственные векторы матрицы C и из них формируется матрица A.

3. Диагонализированная матрица рассчитывается:

$$C^* = ACA \qquad (13.18)$$

4. С помощью соотношений (13.9), (13.10),(13.12) рассчитывается матрица W.

5. Рассчитывается дисперсионная матрица для дважды преобразованного пространства:

$$C^{**} = WC^*W \qquad (13.19)$$

6. Исходные данные преобразуются к новому представлению:

$$X^{**} = WAX \qquad (13.20)$$

Таким образом, в результате выполнения этих преобразований мы переходим в новое пространство, в котором интересующий нас класс имеет минимальное внутриклассовое расстояние, а дисперсионная матрица выборки данных диагональна. Безусловно, признаки, имеющие наименьшие значения дисперсии (диа-

гональной матрицы), считаются наиболее существенными для кластеризации. Поэтому «оптимальное» подмножество данных формируется из *n* признаков, имеющих наименьшие значения дисперсии. Расчет собственных векторов для формирования матрицы А - наиболее трудный этап рассматриваемых преобразований. Он может быть решен с помощью достаточно эффективного алгоритма. Однако данный метод искажает признаки исходного пространства X**, которые представляют собой линейные комбинации компонент исходного пространства. Описанный метод весьма эффективен при отборе признаков в достаточно представительной выборке данных, в том случае, когда искомое соотношение не обязательно должно быть выражено через компоненты исходного пространства. При этом добавление новых объектов не вносит больших осложнений, поскольку требуется лишь выполнение двух матричных перемножений векторов - образов добавленных объектов. Кроме выше рассмотренных способов определения оптимальности используется метод преобразования, осуществляющего переход к ортогональному базису меньшей размерности и вносящего при этом минимальное искажение в первоначальное распределение данных. Подобное преобразование по типу эквивалентно задаче отыскания такой комбинации вращений и проекций, которая уменьшает размерность исходного пространства и, в то же время, дает минимальные отклонения от исходного распределения. Преобразование Карунена – Лоэва, как раз является одним из таких методов перехода к сокращенному базису (Andrews, 1971; *Mutcwrd, Cose,* 1971; *Uhr,* 1973). Преобразование Карунена - Лоэва оптимально в виду следующих причин:

- дает наилучшую аппроксимацию исходного распределения в пространстве меньшей размерности,
- вносит минимальное искажение в величину дисперсии.

Преобразование Карунена - Лоэва состоит из следующих операций:

1. Расчета автокорреляционной матрицы векторов - образов обучающей выборки:

$$\boldsymbol{Q} = \frac{1}{T*M_1}\sum_{j=1}^{M_1} \boldsymbol{X_{1j}X_{1j}} + \frac{1}{T*M_2}\sum_{j=1}^{M_2} \boldsymbol{X_{2j}X_{2j}} \ \dots + \frac{1}{T*M_k}\sum_{j=1}^{M_k} \boldsymbol{X_{kj}\ X_{kj}} \quad (13.21)$$

где M_k - количество элементов класса *k*, *T* - общее число классов, X_{kj} - j-й элемент класса *k*.

Под обозначением XX' понимается следующее. Пусть имеется n-мерный вектор:

$$X = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \\ . \\ . \\ . \\ X_n \end{bmatrix}$$

и транспонированный вектор

$$X' = (X_1, X_2, X_{3,\ \ldots}, X_n).$$

Тогда XX' определяется соотношением:

$$XX' = \begin{bmatrix} X_1X_1 & X_1X_2 & X_1X_3 \ldots X_1X_n \\ X_2X_2 & X_2X_2 & X_2X_3 \ldots X_2X_n \\ X_3X_3 & X_2X_3 & X_3X_3 \ldots X_3X_n \\ . & . & . & . \\ . & . & . & . \\ . & . & . & . \\ X_1X_n & X_2X_n & X_1X_n & X_nX_n \end{bmatrix} \qquad (13.22)$$

Разумеется, $\sum XX'$ представляет собой сумму всех таких матриц. Количество матриц соответствует числу элементов в данном классе. Автоматизация эксперимента и программное обеспечение позволяют оперативно обрабатывать такие матрицы.

2. Рассчитываются собственные векторы и собственные значения матрицы Q. Собственные векторы нормируются.

3. В качестве базиса нового пространства выбирают *K* собственных векторов, отвечающих *K* наибольшим собственным значениям матрицы Q.

4. Выбранные в п. 3 собственные векторы образуют ее строки, которые и составляют матрицу A.

5. Автоматически рассчитывают новые векторы - образы X* по соотношению:

$$\mathbf{X^* = AX} \qquad (13.23)$$

Поэтому векторы X* представляют собой наилучшую аппроксимацию в *К*-мерном пространстве к исходным N - мерным векторам *(К < N)*. В связи с этим количество признаков, необходимых для описания рассматриваемых объектов, существенно уменьшается. Следует отметить, что при *К = N* отбора признаков не происходит и новое представление векторов - образов получается из старого вращением осей координат. Выделим две особенности описываемой процедуры.

Во - первых, в общем случае матрица Q определяется соотношением:

$$Q = \sum_{i=1}^{T} P(W_i) E\left\{X_i\, X_i'\right\} \qquad (13.24)$$

В связи с этим данное преобразование может применяться и в тех случаях, когда вероятности наблюдения классов W_t не равны[36].

Во - вторых, при проведении разложения Карунена-Лоэва на основании рабочей гипотезы предполагается, что $E\ \{X_i\} = 0$, т. е. математические ожидания векторов - образов каждого класса равны нулю. Правда, это условие не всегда выполняется, но преобразование все же может быть проведено. Судя по всему, выборка, состоящая из элементов, имеющих сильно различающиеся математические ожидания, не может быть преобразована оптимальным образом. И даже в этом случае результаты преобразования могут оказаться пригодными.

Возможны ошибки, так как полученные в результате преобразования Карунена - Лоэва признаки являются линейными комбинациями исходных признаков. Судя по всему, признаки, не имеющие отношения к исследуемому явлению, также подвергаются преобразованию. Следовательно, необходимо следить за тем, чтобы исходные данные содержали только наиболее существенные признаки. Преобразование Карунена - Лоэва не зависит от характера распределения данных, и поэтому может использоваться в процедуре отбора признаков. Оценка основана на предположении о нормальности распределения данных и о равенстве дисперсионных матриц. При выполнении условия, хотя бы приблизительно, могут быть проведены следующие преобразования, мини-

[36] Описанная выше процедура основана на предположении, что эти вероятности равны.

мизирующие энтропию (более подробное описание метода содержится в работах (*Ton*, *Hiydoin* 1967; Той, Gonzalez, 1974) [14, 53]):

1. Рассчитываем математическое ожидание векторов - образов и их дисперсионную матрицу по соотношениям:

$$m = m_i = \frac{1}{N_i}\sum_{j=1}^{N_i} X_{ij} \qquad (13.25)$$

$$C = C_i = \frac{1}{N_i}\sum_{j=1}^{N_i} X_{ij} X_{ij}^{'} - m_i m_i^{'} \qquad (13.26)$$

где N_i - количество элементов в классе *i;* X_{ij} - *j-й* элемент *i* - го класса векторов-образов.

Установлено, что размерность вектора X равна *N* матрицы XX' и mm' определяются соотношением (13.22). Поэтому предполагается, что дисперсионные матрицы всех классов одинаковы. Достаточно рассчитать C и только для одного класса.

2. Оцениваем собственные значения и собственные векторы матрицы C, которые нормируются. Поэтому дисперсионная матрица всегда симметрична (это следует из способа расчета XX' и mm'), всегда можно найти набор действительных, ортогональных собственных векторов.

3. Производится отбор векторов, соответствующих *K* с наименьшим собственным значениям. Из них - строк - формируется матрица преобразования A.

4. Новые векторы - образы X* рассчитываются из соотношения:

$$X^* = AX. \qquad (13.27)$$

При этом вектор X* является K-мерным представлением исходных данных *(K < N),* минимизирующим энтропию системы. Минимизация энтропии наряду с понижением размерности пространства признаков способствует улучшению кластеризационных свойств системы. Безусловно, успех этого метода зависит от того, с какой точностью данные подчиняются гипотезе о нормальности распределения и равенстве дисперсионных матриц.

Следует рассказать еще о нескольких интересных методах отбора наиболее информативных признаков. Высокая информативность критериев, таких как дивергенция (Tou, Gonzalez, 1974), U-статистика (McCabe, 1975), F-статистика (Bevmgton, 1969), отношение Фишера (Fisher, 1936), помогают выделить наи-

более существенные характеристики системы - дескрипторы. Ряд методов основан на гипотезе о виде распределения данных. При ошибочности гипотезы результаты будут не надежными. Некоторые затруднения могут возникать при выборе наилучшего набора дескрипторов, которые должны быть проверены всеми возможными комбинациями исходного набора дескрипторов. Это проверка затруднительна в случае наборов признаков, объем которых n превышает 20, поскольку число вычислительных итераций возрастает в степени n! Это приводит к дальнейшему снижению ценности рассматриваемых процедур. Безусловно, необходимы такие методы отбора признаков, которые, с одной стороны, были бы близки к оптимальным, а с другой, не были бы сопряжены с большими объемами вычислений. И, тем не менее, не редко необходимые сведения могут быть получены с помощью значительно более простых методов, таких как оценка прогнозирующей способности отдельных признаков. Приведем алгоритм:

1. Как правило, значения дескрипторов упорядочиваются по возрастанию.

2. Отмечают количество элементов на класс, превышающее и не достигающее этого значения, начиная с наименьшего.

3. Повторяют расчеты, выполняемые в п. 2 до тех пор, пока не будут перебраны все значения данного дескриптора.

4. Производят ротацию, отмечая наибольший процент правильных предсказаний для всей выборки и для каждого класса.

Выделяют малопригодные для анализа дескрипторы, дискриминирующая способность которых превосходит 90 %. Это происходит в том случае, когда дескриптор преимущественно сосредоточен в одном классе. Такое неравномерное распределение может указывать на то, что анализируемая выборка недостаточно полно представляет классы. Все это свидетельствует о том, что данные дескрипторы (с очень низкой прогнозирующей способностью) не содержат никакой ценной информации, либо о полимодальности распределения исследуемого материала. Для решения вопроса, какой из случаев на самом деле имеет место, необходима процедура, которая может быть проделана для всевозможных парных произведений дескрипторов. При этом такого рода комбинации имеют большую ценность с указанием на повышение прогнозирующей способности, нежели на их отдельные дескрипторы. Это дает возможность в каждом таком случае размерность пространства признаков понизить на единицу!

Следует подчеркнуть полезность сопоставления значений различных статистических характеристик системы при отборе отдельных признаков. Поэтому для каждого класса без труда могут быть рассчитаны: выборочное среднее, стандартное отклонение, наибольшее значение, наименьшее значение и общее количество отличных от нуля значений. Следовательно, можно составить представление об информативности анализируемых данных, а также решить вопрос о том, оправдано ли включение в систему данного дескриптора.

Один из полезных статистических критериев - коэффициент корреляции. Коэффициент корреляции показывает, есть ли лишняя информация. Поэтому, если несколько дескрипторов сильно коррелированны, можно оставить какой-либо один из них (при условии, что после такого отбора общее количество информации не изменится).

Безусловно, ценность изложенных методов зависит от природы анализируемой выборки. При этом, если главной целью является классификация, то применимы методы типа преобразования Карунена - Лоэва. Когда данные подчиняются хорошо известным распределениям, то наиболее существенные признаки могут быть выявлены с помощью статистических тестов. В конечном итоге определение индивидуальной прогнозирующей способности может быть решением вопроса о включении данного признака в систему диагностики.

И наконец, только результаты классификации могут быть мерилом ценности проделанных преобразований предварительной обработки и отбора признаков.

Многомерный скейлинг[37] и нелинейное отображение.

Тщательный анализ данных не возможен без разбора структуры, ее геометрического распределения в многомерном пространстве, образованном векторами - образами. К примеру, данные могут образовывать перекрывающиеся или неперекрывающиеся *гиперсферы* или *гиперэллипсоиды*. Поэтому точная картина распределения данных не поддается непосредственному изображению, так как наши геометрические представления ограничиваются пространством трех измерений. Однако, тщательный визуальный анализ даже двух- или трехмерных проекций часто дает ценные сведения о многомерной структуре данных. В

[37] **С**кейлинг - масштабная инвариантность, свойство неизменности уравнений, описывающих какой - либо биологический процесс или явление, при одновременном изменении всех расстояний и отрезков времени в одно и то же число раз. В квантовой теории этому соответствует инвариантность.

подавляющем большинстве наличие представления о структуре анализируемых данных помогает решить вопрос, какой из методов классификации лучше всего применим в данном случае. Об этом свидетельствуют малоинформативные дескрипторы с отсутствием такой структуры.

Для анализа низкой размерности существует два основных метода: линейный и нелинейный.

Линейный метод заключается в последовательном переборе компонент. Главный его недостаток в том, что отдельные координаты плохо отображают совокупное поведение системы и не исключают малоинформативные признаки. Поэтому рассматриваемый метод дает самое примитивное представление о структуре данных. Достоинством является использование операций вращения при получении двух- или трехмерных проекций системы данных. Такие приемы обычно не дают особого преимущества по сравнению с простейшим методом, за исключением, может быть, некоторых частных случаев, например: основанных на сложном способе получения вращательно - проекционных двух- или трехмерных изображений в модификации преобразования Карунена - Лоэва, осуществляющего наилучшую аппроксимацию исходных данных. Основа метода в поиске таких преобразований вращения и проекции в пространство более низкой размерности, которые вносят минимальные искажения в исходное распределение и величину дисперсии. В этом случае преобразованию подвергается вся выборка в целом, а не один класс. Опишем этапы преобразования метода:

1. **Вычисляются выборочные средние для каждого признака:**

$$\overline{X_k} = \frac{1}{m}\sum_{i=1}^{m} X_{kl} \qquad (13.28)$$

где m - количество векторов - образов.

2. **Вычисляются элементы дисперсионной матрицы C:**

$$C_{ij} = \frac{1}{m}\sum_{i=1}^{m}(X_{il} - \overline{X_i})(\overline{X_j}) \qquad (13.29)$$

3. Рассчитываются собственные векторы u_k и собственные значения λ_k дисперсионной матрицы.

4. ***K*** собственных векторов (K≤ 3), соответствующих наибольшим значениям, выбираются в качестве осей координат нового пространства. В новом пространстве строится изображение исходной выборки данных.

Исходная информация сохраняется в процессе преобразования и рассчитывается по формуле:

$$P_v = \frac{100 \sum_{i=1}^{k} \lambda_i}{\sum_{i=1}^{N} \lambda_i} \qquad (13.30)$$

Процентное соотношение определяет исходную дисперсию, которая указывает на долю потерянной информации (при этом и новое представление не является точным). К сожалению, очень часто рассматриваемое преобразование приводит к тому, что множества векторов - образов, не пересекавшиеся в исходном пространстве, начинают пересекаться в пространстве меньшей размерности. Эта проблема вызывает затруднения при объяснении структуры данных и преодолевается с помощью специальных, нелинейных методов понижения размерности. Методы нелинейного отображения и многомерного скейлинга впервые описаны в работах[38] Крускала (Kruskal,1964), Сэммона (Sammon,1969) и Шеппарда (Sheppard,1962).

Концептуальная идея этих методов заключается в отыскании такой проекции в двух- или трехмерном пространстве, которая походила бы на исходное изображение. При этом используются различные критерии сходства, однако чаще всего для этой цели используют расстояние. Как правило, расстояние измеряют в евклидовой метрике, но в случае необходимости можно применить и другие метрики.

Рассмотрим отыскание такого преобразования многомерного пространства в пространство двух или трех измерений, в результате которого новые расстояния dfj^* минимально отличались бы от первоначальных расстояний *dij*. Разность расстояний в новом и старом представлениях позволяет оценить ошибку такого преобразования, которую удобно описывать с помощью функции критерия, которая была бы инвариантной по отношению к искажениям конфигурационных

[38] По применению этих методов имеется достаточно обширная литература (*Green, Carmone* , 1970; *Green, Rao*, 1972; *Torgenson,* 1958; Coombs, 1964; *Young, Householder,* 1938).

многогранников и растяжениям векторов. Рассмотрим три функции квадратичной ошибки, относящихся к этому типу:

$$J_1 = \frac{1}{\sum_{i<j} d_{ij}^2} \sum_{i<j} \left(d_{ij}^* - d_{ij}\right)^2 \qquad (13.31)$$

$$J_2 = \sum_{i<j} \left(d_{ij}^* - d_{ij}\right)^2 \qquad (13.32)$$

$$J_3 = \frac{1}{\sum_{i<j} d_{ij}} \sum_{i<j} \frac{\left(d_{ij}^* - d_{ij}\right)^2}{d_{ij}} \qquad (13.33)$$

Надо подчеркнуть, что эти три разновидности функции критерия характеризуют разные типы ошибок:

1. Наибольшие ошибки, независимые от величины d_y, отождествляет функция J_1.
2. Относительные ошибки, независимые от величины (d_{ij}^* - d_{ti}.), описывает функция J_2.
3. Промежуточная ошибка характеризует максимальное произведение абсолютной и относительной ошибок и является промежуточной между типами двух предыдущих функций - J_3.

Третий тип функции более объективен по мнению Сэммона (Sammon,1969).

Эти характеристические функции могут быть минимизированы любым из доступных методов. Когда используются евклидовые метрики, градиенты функций критерия имеют вид:

$$\nabla_{y_k} J_1 = \frac{2}{\sum_{i<j} d_{ij}^2} \sum_{j \neq k} \left(d_{kj}^* - d_{kj}\right) \frac{y_k - y_j}{d_{kj}^*} \qquad (13.34)$$

$$\nabla_{y_k} J_2 = 2 \sum_{j \neq k} \frac{d_{kj}^* - d_{kj}}{d_{kj}^2} * \frac{y_k - y_j}{d_{kj}^*} \qquad (13.35)$$

$$\nabla_{y_k} J_3 = \frac{2}{\sum_{i<j} d_{ij}} \sum_{j \neq k} \frac{d_{kj}^* - d_{kj}}{d_{kj}^2} * \frac{y_k - y_j}{d_{kj}^*} \qquad (13.36)$$

где y_i - отображение в пространстве меньшей размерности i-го вектора-образа, а $d_{ij}^* = \|y_i - y_j\|$.

Методы градиентного спуска позволяют найти оптимальную конфигурацию, а случайное распределение точек в пространстве или с применением преобразования Карунена - Лоэва дают возможность задать начальное приближение. При этом K собственных векторов $(K \leq 3)$, отвечающих наибольшим собственным значениям, могут быть взяты в качестве осей координат пространства, в котором задается начальное приближение оптимальной конфигурации. Следует заметить, что для начальной конфигурации по соотношению (13.30) может быть рассчитан коэффициент сохранения дисперсии.

К сожалению, рассматриваемые методы также несвободны от недостатков. В частности, например, матрица расстояний состоит из $N(N - 1)/2$ элементов. Следует подчеркнуть, что в связи с развитием современной вычислительной техники уже нет ограничений в выборках объемом от 250 до 450 объектов, как это было раньше. В связи с этим в случае других преобразований возможно включение малоинформативных признаков, поскольку они содержат шумы (но скрытую информацию), которые, как ранее считалось, могут сильно исказить структуру исходных данных. Поэтому структура пространства признаков очень большой размерности $(N > \sim 15)$ часто не оказывается слишком сложной для того, чтобы ее отображение на пространство двух или трех измерений не содержало существенных искажений.

Кроме того многомерный скейлинг делает удобным визуальное представление структуры данных. Эти предпосылки часто помогают подобрать наиболее подходящий к данному случаю метод классификации. Безусловно, сфера применения методов скейлинга не ограничивается только предварительной обработкой. В дальнейшем с помощью классификации может быть проверен любой скейлинг путем визуального анализа отображений на пространство низкой размерности даже при условии, если при нелинейном отображении не возникает существенных искажений исходных данных.

Классификация.

Попробуем выяснить, что дают процедуры, предшествующие классификации и осуществляющие перевод информации этих преобразований в числовое представление. Не секрет, что понятие измерения лежит в основе методов распознавания, с помощью которых получают информацию о свойствах исследуемых

объектов. Например, путем измерения *адгезии*[39] можно получить информацию о способности соединения взаимодействовать с биологической системой, но не просто соединение клеток между собой, а такое их соединение, которое приводит к формированию определённых правильных типов гистологических структур, специфичных для данных типов клеток. Специфичность клеточной *адгезии* определяется наличием на поверхности клеток белков клеточной *адгезии* - интегринов, кадгеринов и др.

Например, *адгезия* тромбоцитов на базальной мембране и на коллагеновых волокнах повреждённой сосудистой стенки. Информацию измерения *адгезии* (с учетом показателей нашей междисциплинарной концепцией адаптационных явлений гомеорезов) переводя в векторное представление, можно получить некоторое распределение точек в многомерном пространстве, причем каждая точка соответствует элементу исследуемой выборки.

Поэтому, если проделанные измерения действительно имеют отношение к исследуемому свойству, то элементы, обладающие нужным свойством, будут преимущественно сосредоточиваться в одной области многомерного пространства, а элементы, не обладающие этим свойством, будут образовывать кластеры в другой области многомерного пространства. Эти области многомерного пространства могут перекрываться. В случае, когда перекрывание сильное, никакой информации об исследуемом свойстве получить нельзя.

Концепция о кластеризации объектов в пространстве информативных измерений является центральной в приложениях методов распознавания образов.

Поэтому нахождение такого преобразования, с помощью которого можно кластеризовать исследуемую выборку и в результате получить классы объектов, обладающих заданным свойством, является общей целью процедур измерения, предварительной обработки и априорного отбора признаков. В связи с этим распознавание образов - метод выявления сходства между исследуемыми объектами. Классификация позволяет отыскать некоторые соотношения, характеризующие это сходство, в нашем случае адаптивные свойства макро/микросистем гомеорезов. В настоящее время существует много различных

---

[39] Существуют приборы для исследования *адгезии*, например: BIAffinity - фирмы Analytik Jena AG, Германия – «Анализатор бимолекулярного взаимодействия» для детекции биомолекурярного взаимодействия в твердых фазах, в биочипах, без использования меток, на основе рефлектометрической интерференционной спектроскопии (РИС).

методов классификации, однако в микробиологических приложениях преимущественно используются непараметрические методы. Для лучшего понимания основ непараметрических методов мы предлагаем начинающему исследователю небольшое введение в теорию параметрических методов.

Параметрические методы классификации

Итак, параметрические методы классификации основаны на байесовской статистике. Как правило, эти методы формируют классификационное правило непосредственно из вероятностного распределения данных. При этом вид вероятностного распределения данных зависит от типа и числа экспериментальных источников, приборов, методов предварительной обработки и отбора признаков. Максимальное увеличение доли правильных группировок путем построения функции, определяющей границы между различными классами, формируют цель *классификации.* Известно несколько методов построения параметрической решающей функции. Проиллюстрируем способ построения такой функции следующим примером. Из формулы Байеса непосредственно может быть построен классификатор:

$$P(X)P\left(\frac{W_i}{X}\right) = P(W_i)P(\frac{X}{W_i}) \qquad (13.37)$$

где: X – вектор - образ, компоненты которого получены в результате работы различных экспериментальных источников, приборов, методов предварительной обработки. Экспериментальные численные значения этих компонент определяют распределение данных в N-мерном пространстве. Функция $P\ (X)$ характеризует распределение экспериментальных данных независимо от того, к какому классу они принадлежат. Функция $P\ (Wi)$ – описывает вероятность наблюдения класса W_i..Функция $P\ (W_i\,/X)$ - описывает условную вероятность того, что вектор X принадлежит классу W_i. Функция P (X/W_i) - описывает условная вероятность того, что из класса W_i будет выбран объект, характеризуемый вектором-образом X.

Построение дискриминантной функции гарантируется с помощью этих условных вероятностей. Можно определить дискриминантную функцию (X) как функцию, с помощью которой производится отнесение каждого вектора - образа X к одному из классов W_i..Отсюда вытекает понятие «Оптимальной функции», которая приводит к наименьшему числу ошибочных классификаций. В связи с этим можно сказать, что вероятность того, что вектор X принадлежит к классу W_b, равна:

$$P_i = \frac{P\left(\frac{X}{W_i}\right)}{\sum_{k=1}^{M} P\left(\frac{X}{W_k}\right)} \qquad (13.38)$$

При условии, что априорные вероятности появления каждого класса равны, вышеуказанное соотношение вытекает непосредственно из формулы Байеса.

Судя по всему, наибольшая из величин $P\ (X/W_i)$ и будет играть роль решающей функции, которая позволяет сформулировать ее решающее правило следующим образом: вектор - образ принадлежит классу W_i если:

$$P\left(\frac{X}{W_i}\right) > P\left(XW_j\right),\ J \neq i \qquad (13.39)$$

или в другой форме:

$$\frac{P\left(\frac{X}{W_i}\right)}{P\left(\frac{X}{W_j}\right)} > 1,\ \mathrm{J} \neq i \qquad (13.40)$$

В том случае, если эти вероятности равны, то X может быть отнесен как к классу W_i, так и к классу W_j. С помощью соотношения (13.40) может быть построена решающая функция. Допустим, что каждый класс векторов - образов описывается нормальным распределением и дисперсионные матрицы всех классов одинаковы. В этом случае:

$$P\left(\frac{X}{W_i}\right) = \frac{1}{(2\pi)^{n/2}|C_i|^2} \exp\left[-\frac{1}{2}(X - m_i)'C_i^{-1}(X - m_i)\right] \qquad (13.41)$$

где m_i - математическое ожидание вектора - образа.

Тогда отношение функций плотности будет определяться формулой:

$$\frac{P\left(\frac{X}{W_i}\right)}{P\left(\frac{X}{W_j}\right)} = \exp\left\{-\frac{1}{2}\left[(X - m_i)'C^{-1}(X - m_i) - \left(X - m_j\right)'C^{-1}\left(X - m_j\right)\right]\right\} \qquad (13.42)$$

потому что матрица C симметричная, тогда $X'C^{-1} = C^{-1}X$ и соотношение (13.42) преобразуется в формулу:

$$\frac{P\left(\frac{X}{W_i}\right)}{P\left(\frac{X}{W_j}\right)} = \exp\left[X'C^{-1}(m_i - m_j) - \frac{1}{2}(m_i + m_j)'C^{-1}(m_i - m_j)\right] \quad (13.43)$$

Определив функциональную зависимость:

$$f_{ij}(X) = \ln\frac{P\left(\frac{X}{W_i}\right)}{P\left(\frac{X}{W_j}\right)} \quad (13.44)$$

получим распознающую функцию для классификации:

$$f_{ij}(X) = X'C^{-1}(m_i - m_j) - \frac{1}{2}(m_i + m_j)'C^{-1}(m_i - m_j) = 0 \quad (13.45)$$

Классификация вектора X заключается в расчете значений функции f_{ij} (X) для всех i *к* j при $i \neq j$ и отнесения X к тому классу, для которого величина f_{ij} (X) имеет наибольшее значение. Если априорные вероятности появления различных классов и их дисперсионные матрицы равны, а распределения элементов этих классов нормальны - решающая функция будет оптимальной. К примеру, заметим, что решающую функцию f_{ij} (X) иначе можно представить как некую гиперплоскость. При этом, если имеется всего два класса, классификационное правило выглядит следующим образом:

f_{ij}(X) >0 для X $\in W_i$

f_{ij}(X) <0 для X $\in W_j$

Понятно, что уравнение f_{ij}(X) = 0 определяет решающую поверхность, которая отделяет один класс от другого.

Любопытно, что в рассматриваемом случае оптимальная решающая функция линейна. Конечно, с точки зрения непараметрического подхода в этом результате нет ничего удивительного. На рис. 13.3. изображены простые функции плотности для задачи классификации на два класса. На рисунке иллюстрируется пример одномерного распределения: по вертикальной оси откладывается

число наблюдений, а по горизонтальной - значения компоненты вектора - образа. При этом можно отметить, что классификационная ошибка разделяющей поверхности в положении *A* пропорциональна сумме всех заштрихованных площадей, а ошибка решающей поверхности в положении *B* пропорциональна только площади, заштрихованной косой чертой. Не трудно увидеть, что в рассматриваемой задаче функция, описывающая решающую поверхность *B,* является оптимальной. Поэтому никакая другая поверхность не дает более низкой вероятности неправильной классификации. Можно утверждать, что уравнения (13.43) и (13.44) действительно описывают эту поверхность. Появляется возможность построить решающую функцию, зная формулу распределения $P(X/W_i)$. Как правило, параметрические решающие функции задают двумя различными соотношениями:

$$f(X) = P\left(\frac{X}{W_i}\right)P(W_i) \qquad (13.46)$$

$$f(X) = P\left(\frac{W_i}{X}\right) \qquad (13.47)$$

Функции (13.46 и 13.47) получают путем сочетания формулы Байеса с некоторыми формулами элементарной теории информации. Вычисленное выше соотношение (13.44) является частным случаем формулы (13.45). При этом можно получить решающую оптимальную функцию в смысле минимума неправильных классификаций, при условии знания формы распределений $P(X/W_i)$, $P(W_i)$ или $P(WJX)$. Конечно, форма этих распределений неизвестна и оценивается приближенно. Часто большинство из приближений функции распределения дают линейные или, в крайнем случае, квадратичные решающие функции. Как видим, для получения оптимальной решающей функции параметрические методы, по существу, аппроксимируют функцию распределения данных. При условии, если аппроксимация функции распределения недостаточно точна, то и решающая функция будет далека от оптимальной. Естественно, что большим препятствием к использованию параметрических методов в многочисленных приложениях является необходимость аппроксимации функции распределения.

Поэтому трудности связаны не только с выбором правильной функциональной формы, но также со сложностью расчетов при восстановлении функций

распределения по экспериментальным данным. Принимая во внимание все эти трудности, приходится искать другие методы построения решающих функций.

Часто бывает, что, если аппроксимация функции распределения сопряжена с серьезными затруднениями, то решающая функция аппроксимируется легче. Тогда возникает задача построения такой решающей функции, которая дает наилучшую аппроксимацию поверхности при условии, что последняя получена при использовании стандартного байесовского подхода.

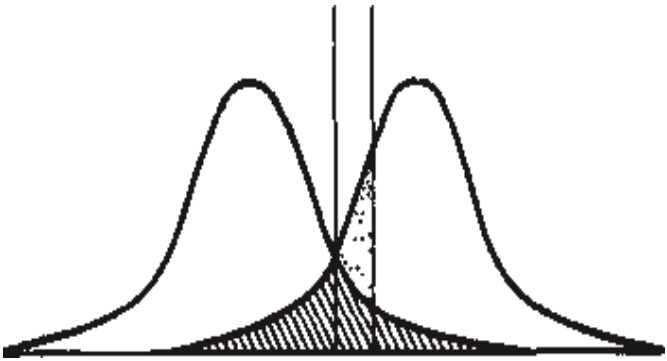


Рис. 13.3. Вероятностные распределения и положение оптимальной и неоптимальной разделяющих поверхностей.

О терминологии.

Классификаторы, строящие решающую функцию путем аппроксимации решающей поверхности, называются непараметрическими классификаторами. Как правило, эти классификаторы формируют линейные решающие функции при условии минимума количества неправильных классификаций. При этом точность метода зависит от того, насколько полно экспериментальная выборка представляет истинное распределение.

Методы кластеризации.

Концепция о кластеризации - одна из наиболее привлекательных в классификационной задаче. Это представление естественным образом возникает из геометрической интерпретации задачи. Идея метода кластеризации идентична примеру «гадкого утенка», при котором ищется граница, отделяющая кластер

нормальных «утят от гадких». Если смотреть – распознавать кластер с одинаковой оценкой разделения всех «утят», то они все на одно лицо. В этой задаче мы имели дело с системой низкой размерности, поэтому достаточно было ограничиться визуальными методами построения разделяющей поверхности этих кластеров «утят». Вероятно, визуальные методы применимы только в случае пространств, размерность которых не выше, чем три. Кроме того, эти методы накладывают ряд ограничений, затрудняющих применение классификаторов в задачах распознавания. Из этого следует, что необходимо разработать систематический подход, позволяющий дать более строгое определение кластера. Существует несколько алгоритмов разделения множества исходных данных на кластеры. В большинстве из этих алгоритмов при выполнении кластеризации в качестве меры близости объектов используются различные способы определения расстояний. При изображении исследуемых объектов точками в евклидовом пространстве использование расстояния в качестве меры близости является естественным. В прочем критерии, основанные на том или ином способе определения расстояния, являются только одним из возможных способов определения кластеров. По мнению Харшгана (Harngan, 1975) существует шесть типов алгоритмов кластеризации, отличающихся друг от друга способами выделения кластеров. Перечислим и прокомментируем их:

Сортировка.

Исследуемые объекты разделяются на кластеры в соответствии со значениями, которые принимает какой-либо существенный признак, характеризующий объекты. Далее внутри выделенных кластеров проводится дальнейшая сортировка путем анализа значений другого признака и т. д.

Перегруппировка

Для распределения объектов по кластерам задаются начальные условия. Затем объекты перемещают из одного кластера в другой, в соответствии с каким-либо критерием, например, величиной стандартного отклонения для данного кластера. Однако конечный результат иногда зависит от вида начального распределения. В этом суть высокоскоростного алгоритма перегруппировки.

Объединение.

Предварительно каждый объект исходной выборки данных выделяется в отдельный кластер. Затем отыскивается пара кластеров с наименьшим межкластерным расстоянием и объединяется в один кластер большего размера.

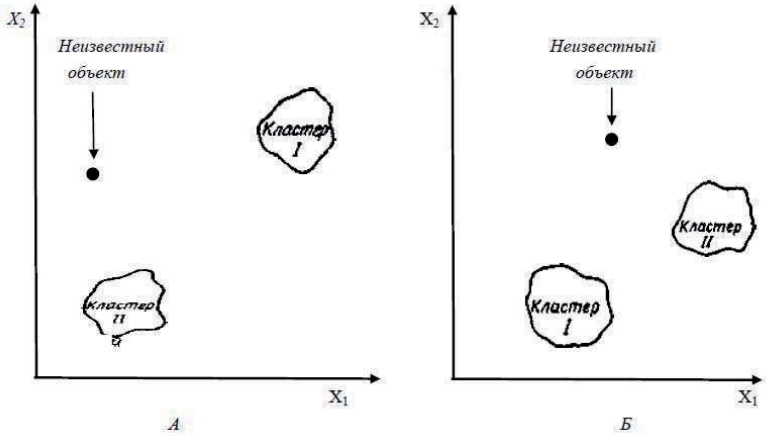


Рис. 13.4 Классификация объектов по критерию минимального расстояния.
где: *А* - неизвестный объект легко классифицируется по критерию минимума расстояния; *Б* - классифицировать неизвестный объект по критерию минимума расстояния затруднительно.

Для выполнения условия оптимальности этот процесс продолжают до тех пор, пока все объекты не окажутся в одном кластере. Данный алгоритм неэкономичен для больших выборок, включающих более 1000 элементов, и определение оптимальных условий требует привлечения определенных аппроксимаций.

Разбиение.

Следует заметить, что алгоритмы разбиения полностью противоположны алгоритмам объединения. Согласно некоторым правилам (минимальный или максимальный размер, стандартное отклонение и т. д.) в этих алгоритмах исходная выборка данных последовательно разбивается на все более мелкие кластеры. Реализация этих алгоритмов имеет сложности, которые обычно связаны с выбором формы функций разбиения.

Добавление.

Особенность работы этих алгоритмов заключается в добавлении элементов выборки в уже существующие кластеры. Естественно ограниченность этих алгоритмов очевидна.

Поиск.

В необходимости алгоритмов поиска обычно нуждаются системы, для которых в результате математического анализа сильно ограничены или практически исключены многие из возможных способов разбиения на кластеры. Эти алгоритмы производят оптимальную кластеризацию системы, которая приводит к минимуму функции ошибок. Парадоксально, но из множества существующих различных алгоритмов, ни один не приспособлен для решения любой из возникающих задач. Следует отметить, что некоторые алгоритмы, например, начиная с алгоритма «ISODATA» Болла и Холла (Ball, Hall, 1965а; Bal, Hall, 1965б), могут осуществлять процедуры добавления, поиска, объединения и разбиения. Поэтому они имеют более широкую область применения, однако ни один из них не является универсальным. К сожалению, эвристичность многих алгоритмов по своей природе не дает оснований рассчитывать на успех диагностики, реализация которой, в конечном счете, зависит от мастерства исследователя. В конечном итоге последний недостаток методов кластеризации заключается в том, что иногда возникают трудности с отнесением неизвестного объекта к одному из уже имеющихся классов. Подобная ситуация иллюстрируется рис. 13.4. Разумеется, что неизвестный объект, изображенный на рис. 13.4. А, следует отнести к ближайшему кластеру. В случае, представленном на рис. 13.4. Б, отнести неизвестный объект к какому-либо кластеру по принципу наименьшего расстояния затруднительно.

Резюмируя все недостатки, методы кластеризации могут оказаться полезными для упорядочения систем, которые на первый взгляд кажутся совершенно неупорядоченными (Смирнов, 1969; Бейли, 1970; Курылович, Пашкевич, 1974; Конев, Метлитский, 1980) . Можно также отметить, что методы кластеризации необязательно требуют предварительной группировки объектов исследуемой выборки на классы. Поэтому алгоритмы кластеризации могут использоваться для выделения классов в выборках, способ классификации которых неочевиден. Как описано выше, алгоритмы кластеризации, основанные на различных способах определения расстояния, могут использоваться для расчета критериев подобия, выделения существенных признаков и преобразования исходных данных к виду более удобному для дискриминантного анализа.

13.6. Заключение по разделу.

Параллельное использование факторного анализа позволяет, на наш взгляд, установить для большого числа исходных признаков сравнительно узкий набор специфических адаптивных свойств, характеризующих связь между группами этих признаков - факторами (Наследов, 2013). Реакция организмов на стрессовые воздействия существенным образом зависит от состояния клеточных мембран как первичных акцепторов внешнего сигнала (Александров , 1978, 1985; Скулачев, 1989; Уодингтон, 1970). Поэтому привлекательно перейти от оценки метаболических последствий стресса к прямому диагностированию состояния мембранных комплексов. Во многих случаях такая постановка задачи означает поиск способов контроля изменения трансмембранного потенциала хлоропластов, митохондрий (прокариот или эукариот), либо оценку изменений активности цитохромоксидазного и дегидрогеназного комплекса, т.е. ферментных цепей, в которых происходит биотический перенос электронов (Скулачев, 1989;). Также мы считаем целесообразным переход от матричного планирования (т.е. набора исходно независимых процедур) к последовательному изменению факторного пространства среды по типу, представленному на рис. 13.5. Приборное обеспечение последовательной процедуры, построенной на необратимом разрушении объекта, формирует зависимость от видоспецифичности биологических объектов. Так, для аэробов и некоторых факультативных видов микроорганизмов опорный сигнал легко получить, регистрируя способность культур к электрогенезу при их инкубации в ***биохимических топливных элементах*** (Королев, Василенко, 1990)*;* для семян (зародышей) растений это может быть последовательная ***хроматография газов*** **(**Королев, 1978**)** при инкубации последних в замкнутом пространстве; для листьев, водорослей, хлоропластов **-** ***замедленная флуоресценция*** (Королев, 1973; 1977; 1979; Королев, Конев, Терешин, 1879; Королев, Конев, Туркевич. и сотр.,1980; Королев, 1981; Королев, Удовенко, 1981; Королев, Кондратенко, 1982; Королев, 1993; Королев, Овечкин, Исламов и сотр.,2005; Королев, 2006; Королев, Можельский, 2011; /Королев, Можельский, Кузнецов . и сотр. 1916 **)** *и т.д.*

В заключение еще раз о главной мысли работы. Авторы считают, что искусственно изменяя факторное пространство среды за счет введения экзотических доноров и акцепторов электронов на момент воздействия агрессоров на биологическую систему, можно преодолеть «не специфичность» физиологического

(биофизического, биохимического) отклика и использовать форму регистрируемого сигнала (по любому доступному, желательно энергетической природы, параметру) для высокоточной идентификации – диагностики адаптивных специфических свойств гомеорезов «АПС»биологических генотипов.

Рис. 13.5.. Приборное обеспечение последовательной процедуры диагностики АПС.

14.0. Разработка компьютеризированного «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»).

14.1. Общие вопросы.

Описан один из первых отечественных, разработанных нами компьютеризированных высокочувствительных полифункциональных фотометрических детекторов (*«ВПФД»*), программное обеспечение («ПО») которого с помощью контроллера, *набора физических* интерфейсов (рис. 14.1.) позволяет легко его адаптировать для разнообразных задач с высокими метрологическими характеристиками.

полифункциональный «ВПФД» предполагается использовать в модификации следующих съемных *физических интерфейсов (ФизИ)*:

- *пламенного фотометрического детектора* (рис. 14.1.) к любому газовому хроматографу для анализа нитрозных и углеродсодержащих газов, в том числе почвенных газов; с целью диагностики почв;
- *озономера* (рис. 14.1.) для измерения - мониторинга сверхнизких концентраций озона в воздухе;
- *люминометра* (рис.14.1.) для широкого круга люминесцентных измерений в биологии, микробиологии, медицине и в др. областях, в том числе определение:
- концентрации АТФ;
- количества микроорганизмов в биологических средах;
- липорастворимых антиоксидантов*:* скрининга антиоксидантов биосубстратов (рис. 14.1.), в *норме* и *патологии*;
- для регистрации фотоиндуцированной ЗФ (рис. 14.1.) при исследовании:
- процессов фотосинтеза;
- диагностики термоадаптации растений;

для оценки:

- активности гербицидов;
- активности гиббереллинов;
- энергизации мембран микроорганизмов;
- активности полиеновых антибиотиков;
- качества морепродуктов.

«ВПФД» не только в одном лице объединяет ряд новых приборов в медицине, биохимии, метеорологии, сельском хозяйстве и в других областях.

Он становится просто не заменим при решении широкого круга научных и производственных многофакторных задач, где требуется высокочувствительная регистрация люминесценции, управление измерением или экспериментом. «ВПФД» позволяет производить одновременный сбор дополнительной информации, поступающей параллельно от других детекторов, например: с газового хроматографа, газоанализатора и дериватографа и др. Такое решение «ВПФД» резко повышает информативность многопараметрического, многофакторного исследования или производственного контроля и управления (быстрое принятие решения) экспериментом или технологическим процессом, что раньше было практически невозможно! Разработка новых технологий и методов исследования в биологии, микробиологии, медицине, биохимии, метеорологии, сельском хозяйстве и в других областях была крайне затруднительна без применения «ВПФД». Ранее для решения подобных проблем была необходимость в серии специализированных приборов.

Однако бурный рост числа интеллектуальных, компьютеризированных анализаторов позволяет снизить, а порой даже исключить требования специализации и начать создание нового поколения полифункциональных приборов с одновременной адаптацией к получаемой информации, ее обработке, с высокими метрологическими и эргономическими характеристиками на базе микроконтроллеров, совместимых с персональными компьютерами. Разработке «ВПФД» с такими требованиями посвящен данный раздел.

14.2. Описание «ВПФД».

«ВПФД» (см. рис.14.1.) состоит из:

- из «материнского» блока;
- вспомогательного блока, включающего: ультротермостат кювет, автоматического дозатора для ввода в кювету различных ингредиентов (управляется от контроллера);
- блока съемных *физических интерфейсов* (***ФизИ***), представляющего собой поворачивающийся светонепроницаемый стакан, в котором смонтированы разнообразные съемные детекторы с кюветами для образцов (и титрования) с магнитными вибрационными мешалками имеющие оптический контакт с фотоэлектронного умножителя (ФЭУ).

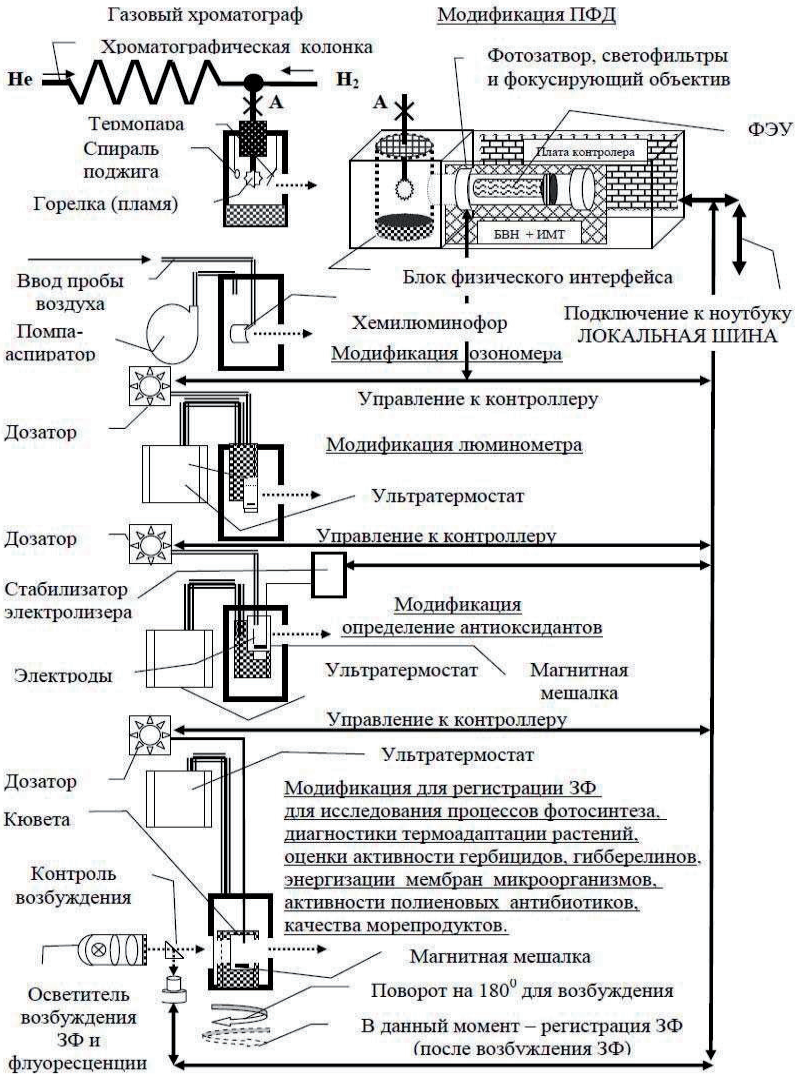


Рис. 14.1. Физические интерфейсы «ВПФД».

14.3. Полифункциональность «ВПФД».

Полифункциональность «ВПФД» заключается в множестве съемных аналитических блоков-детекторов физических интерфейсов (***ФизИ)*** и их специфической программной поддержке.

Чтобы не быть голословным и декларативным в перечислении возможностей применения ***ФизИ,*** надо одновременно привести экспериментальные данные по цитируемым статьям, но их оказалось очень много.

Для исправления этого пробела мы специально ввели раздел 14.0, где подробно изложили на примерах множество *оригинальных* методик, алгоритмов эксперимента и технологий использования ***ФизИ*** «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («**ВПФД**») (Королев, Можельский, 2011). Полифункциональные ***ФизИ*** определяют разнообразие «**ВПФД**» в модификациях приборов, описанных ниже.

14.3.1. ФизИ - пламенно-фотометрический детектор (ПФД).

ПФД[40] к любому газовому хроматографу (газовый хроматограф - аналитический прибор для разделения на составляющие парогазовых или жидких веществ и их количественного определения) для анализа почвенных газов, с целью: мониторинга парниковых газов углекислого (CO_2), метана (CH_4), закиси азота (N_2O); диагностики почв; при патологии почвы, связанной с нарушением ее адаптивных свойств к почвенной микрофлорой в результате уплотнения тяжелой техникой, не правильного применения удобрений и т. д. При этом у почвенных микроорганизмов нарушаются процессы дыхания CO_2, O_2 и азотфиксации, они загазовывают почву, «газят» закисью азота, тем самым резко уменьшают ее плодородие.

«ПФД» основан на фотометрировании эмиссии анализируемых газов в водородном пламени горелки, которая пропорциональна ее концентрации. *ФизИ* ПФД, в котором смонтирована водородно-воздушная горелка со штуцерами, подключен к хроматографической колонке газового хроматографа, снабженной сигнальной термопарой и спиралью поджига пламени (см. рис.13.1..). Следует

---

[40] Уверенны, что ПФД можно использовать в качестве маркера (диагностика дыхания по углекислоте и кислороду и других метаболических газов) при идентификации адаптационных механизмов "АПС» с целью классификации микроорганизмов объектов. На это так же указывает мография (Митрука, 1978).

отметить, что *ФизИ* ПФД прибора «ВПФД» позволяет регистрировать с высокой точностью и одновременно обрабатывать сигналы, поступающие параллельно и от других детекторов: CO_2, O_2, CH_4 данного газового хроматографа, что резко повышает информативность исследования / диагностики. Разработке: «Устройство пламенно - фотометрического детектора для анализа почвенного воздуха» (авторы: Королев, Исламов и сотр.) присвоен Государственный регистрационный номер 018700464212049,1990 г. Экспонат награжден Серебряной и Бронзовой медалями ВДНХа.

14.3.2. ФизИ – озономер.

ФизИ – озономер - для измерения сверхнизких концентраций озона (метод основан на хемилюминесцентной реакции озона, содержащегося в воздухе, с хемилюминофором - датчиком концентрации озона). *ФизИ*, в котором смонтирована герметическая кювета с хемилюминофором, имеет тефлоновые патрубки ввода, подключенные к помпе-аспиратору анализируемого воздуха (см. рис. 14.1.). В 1983 году Королев А.М. провел успешные испытания озонометра в арктических условиях.

14.3.3. ФизИ – люминометр.

ФизИ – люминометр - для измерения сверхнизких концентраций аденозинтрифосфата (АТФ) в биологических системах, например: санитарный мониторинг. АТФ присутствует во всех живых клетках и по этой причине является индикатором биологического загрязнения бактериального происхождения или возникшего в процессе жизнедеятельности.

Метод основан на реакции окисления люциферина с ферментом люциферазой в присутствии АТФ и кислорода, сопровождающейся выделением квантов света строго пропорционального концентрации АТФ. *ФизИ*, в котором смонтирована герметическая термостатируемая стеклянная кювета со штуцерами ввода пробы с помощью автоматического дозатора управляется контроллером (см. рис. 14.1.).

Данный люминометр по чувствительности не уступает специализированным зарубежным приборам, таким как Luminometr 1250, Luminometr 1251 фирмы LKB- Wallac, Ym-100a и др.

14.3.4. ФизИ для определения липорастворимых антиоксидантов.

ФизИ для определения липорастворимых антиоксидантов в биосубстратах в *норме* и *патологии*. Метод основан на оценке их способности тормозить свободно-радикальные реакции, сопровождающиеся хемилюминесценцией, иду-

щие в модельных системах: в электролитической ячейке в системе ацетон/хлороформ, в присутствии малеиновой кислоты, при пропускании тока от 1 до 50 мА. Введение в электролитическую ячейку ингибиторов антиоксидантов приводит к снижению интенсивности хемилюминесценции. В связи с этим - высокая информативность метода: диагностика туберкулеза, рака, различный воспалений (Королев, Овечкин, Исламов и сотр., 2005) и т.п. *ФизИ* для определения липорастворимых антиоксидантов выполнен виде герметической термостатируемой стеклянной кюветы со специальными электродами со штуцерами ввода пробы с помощью *автоматического дозатора,* управляется контроллером. Электроды на *ФизИ* через разъем подключены к стабилизатору тока (см. рис. 14.1.).

Следует подчеркнуть, что возможности данного ФизИ на «ВПФД» в связи высокой фотометрической чувствительностью, автоматической сменой светофильтров, контролем возбуждающего света, наличием автоматического дозатора и специального программного обеспечения - еще не реализованы и не исчерпаны. Его новые возможности в медицинской диагностике свойственны сложным дорогостоящим приборам. ФизИ определения липорастворимых антиоксидантов в биосубстратах в *норме* и *патологии* можно с успехом использовать в медицине для диагностики:

- иммунотипирования - мониторинга ВИЧ-инфицированных пациентов[41] (с наборами *Simultest™ Lymphocytee Kit и Simultest™ IMK Kit*);
- исследования синтеза цитокининов в связи с различными задачами (например: изучение иммунитета). Оценка нескольких антигенов способствует быстрому определению лейкозов и клинического прогноза (с набором FastImmuneTM Cytokine Value);
- неисчерпаемы возможности «ВПФД» со специальными реагентами в иммуногистологических исследованиях.

14.3.5. ФизИ для регистрации ЗФ.

ФизИ для регистрации флуоресценции и ЗФ (медленные компоненты от 0,5 сек >) позволяет применять при:

[41] Состав набора Simultest™ IMK Kit соответствует рекомендациям по иммунотепированию ВИЧ – инфицированных пациентов

- исследованиях процессов фотосинтеза, например: механизма действия гербицидов на фотосинтетический аппарат растений (Королев, Кондратенко, 1982);
- диагностике термоадаптации растений (Волкова, Королев, 1979; Королев, Кондратенко и сотр., 1989);
- оценке активности гербицидов, гиббереллинов (Королев, Кондратенко и сотр., 1989);
- энергизации мембран актиномицетов (Королев, Конев и сотр.,1979);
- оценке активности полиеновых антибиотиков (Королев, Конев и сотр., 1980).

ФизИ для регистрации ЗФ. - поворачивающийся светонепроницаемый стакан, в котором смонтирована термостатируемая стеклянная кювета или термостатируемый держатель листа, поворачивающийся от осветителя к ФЭУ (служит для выделения ЗФ из общей фотолюминесценции (ФЛ) исследуемого образца), чем достигается разделение периода возбуждения до начала регистрации (период темнового интервала ≈ 0,5 - 1 сек).

ФизИ имеет штуцера: для термостабилизации и ввода пробы и др. ингредиентов с помощью автоматического дозатора, управляемого контроллером. *ФизИ* снабжен универсальным осветителем λ = от 200-800 нм.; (см. рис. 14.1).

14.3.6. ФизИ для оценки качества морепродуктов.

Метод основан на «тушении» ЗФ в зависимости от свежести морепродуктов, например: тушек кальмаров**.** Мы не покривим душой, если скажем, что «ВПФД» для оценки качества морепродуктов в скором будущем пророчат правовую защиту России и Белоруссии на международном рынке морепродуктов.

14.4. Основные технические характеристики «ВПФД».

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ «ВПФД»:

- Чувствительность:
  - к световым потокам с квантовым выходом…..……..…10^{-2}-.10^{-3}
  - в модификации ПФД, ppm[42] N2O……..….....<15
  - к газам, в модификации ПФД…..…CH_4; CO_2; N_2O; C_2H_2; C_2H_4; NH_3

[42] Миллионная доля - (*ppm, англ. parts per million* - частей на миллион) – международная единица измерения концентрации.

- Чувствительность в модификации:
  - озономера, ppb[43]……..……..…..…..1
  - люминометра, моль АТФ…..…….....1 *10^{-14}
  - люминометра для определения количества бактерий, ед/мл….....10^{3}
- стабильность электролизера, %…….……..……..……..…….0,01
- диапазон регулировки тока электролизера, мА…….……..1 – 100
- спектр возбуждения ЗФ или люминесценции, нм….....200 –400
- спектр регистрации ЗФ или люминесценции, нм. (по точкам): 365,00; 404,36; 435,83; 479,99; 486,13; 486,00; 546,07; 587,56; 589,29; 643,85; 656,27; 656,00; 706,52
- время возбуждения/регистрации ЗФ, сек/мин…...…….……..0,5/30
- регистрация ЗФ при ослаблении возбуждающего света %.....15 – 90
- температура образцов задается в интервале, град…….……...-10 - +90
- коэффициент передачи сигнала……..…200
- разрядность АЦП…….....…….8/12
- время преобразования АЦП мкс……...…...1/10
- дискретизация программируемого усилителя……...……..……255
- входные аналоговые каналы..……..……..……..8
- выходные цифровые каналы...……..…….....4
- интерфейс RS-232 «Локальная шина», бод..……..……..……... 57600
- блок питания фотоэлектронных умножителей:
- высоковольтное напряжение, вольт…..…..……..……..100-2500
- ток в нагрузке, мА, до……..…….……3
- коэффициент стабилизации……...…….....….6000
- коэффициент пульсаций, %/час……..……...…..……<2*10^{-3}
- «КПД», % …….……..……..…..……80

«ВПФД» использует однокристальный микроконтроллер AT89C51 и пентиум или ноутбук.

[43] Миллиардная доля - (*ppb англ. parts per billion* - частей на миллиард) - единица измерения концентрации: *1 ppb = 1 мг/т = 1 мкг/кг = 1 нг/г.*

14.5. Программное обеспечение («ПО») «ВПФД».

«ПО» «ВПФД» состоит из двух частей:

Первая часть «ПО» включает:

специальные программы контроллера (**«К»**). Она обеспечивает оптимальный коэффициент передачи сигнала (с помощью ЦАП, DD4, типа: К572ПА1) типа: К572ПА1) на 8/12 - разрядный DD8 MAX191BCNG АЦП и работу четырех цифровых каналов управления и восьмиканального аналогового коммутатора сбора информации. Использование цифровых каналов (релейного переключателя – **«РП»**):

1 канал - сигнал вкл./выкл. спирали - поджига водородно-воздушной горелки ПФД;

2 канал - вкл./выкл. крана-дозатора для ввода пробы почвенного воздуха или выбора светофильтра для ФЭУ;

3 канал - вкл. автоматического дозатора для ввода реагента в кювету (**ВПФД** в модификации люминометра или прибора для определения активности антиоксидантов);

4 канал - вкл./выкл. фотозатвора ФЭУ;

5 канал – выбор светофильтра осветителя (по квитированию);

Использование аналоговых каналов сбора сигналов информации:

1 канал - основной сигнал ФЭУ;

2 канал - работа горелки по напряжению термопары;

3 канал - напряжение питания ФЭУ;

4 канал - от разнообразных ФизИ, например:

- пламенно-фотометрического детектора (**ПФД**);
- озономера;
- люминометра;
- определения липорастворимых антиоксидантов;
- регистрации флуоресценции;
- регистрации замедленной флуоресценции (ЗФ).

5 канал – катарометр (детектор теплопроводности) или контроль тока электролизера в кювете (в модификации прибора для определения активности антиоксидантов биосубстратов);

6 канал – пламенно-ионизационный детектор «**ПИД**»;

7 канал - от автоматического дозатора – сигнал, пропорциональный количеству реагента, введенного в кювету **«ПВФД»** в модификации люминометра или прибора для определения активности антиоксидантов биосубстратов;

8 канал – контроль - расход количества реагента или пробы в дозаторе.

Вторая часть ***ПО*** программа под «Windows» построена поприципу *выбора пользователем* режима по «МЕНЮ» с «дружеским» интерфейсом и состоит из ряда подпрограмм, каждая из которых реализует определенный подход к проведению измерения или эксперимента.

Это позволяет работать на «ВПФД» персоналу без предварительной подготовки в области автоматизированных систем. Связь ***«К»*** с ноутбуком осуществляется через последовательный опторазвязанный интерфейс (рис. 14.1).

Интерактивные режимы программного продукта «ВПФД».

Интерактивные режимы программного продукта «ВПФД»:

1).Режим настройки:

- отображение напряжения питания, сигнала ФЭУ,
- опознавание периферийного оборудования:
- датчика контроля интенсивности возбуждения флуоресценции;
- контроль дозатора;
- контроль электролизера.

2). Работа с файлами: создать (автоматически: присваивает порядковый № исследуемого образца, время создания); открыть; закрыть; обмен файлами; Help;

3). Мониторный режим: протокол исследования и текущая информация измерения;

4). Режим интегратора;

5) Определение:

- концентрации АТФ;
- активности полиеновых антибиотиков;
- автоматическое титрование различных биосубстратов (методики работы) и др.;

6) Режим offline дополнительного сбора информации и управления.

Программное обеспечение (***«ПО»***) «**ВПФД**» под Windows позволяет:

- получать удобное представление о результатах анализа: легкое управление интерфейсом с помощью «мышки» и т.п.;

- применять автоматизированные режимы:
- plag-and-play и сервис работы - калибровка;
- спектров интенсивности флуоресценции (по точкам) сменных светофильтров;
- создавать графическое изображение получаемой информации;
- проводить:
- статистическую обработку;
- использовать методы планирования эксперимента;
- распознавания образов;
- факторный анализ.

14.6. Электроника и схемотехника «ВПФД».

Электроника и схемотехника «ВПФД»материнского блока включает:

- блока ФЭУ включает:
- фотозатвора;
- фокусирующего объектива;
- набор светофильтров (смена которых управляется контроллером по программе компьютера);
- сменные ФЭУ-71, ФЭУ-85, ФЭУ-100;
- блок контроллера (**«К»**) включающего:
- АЦП (аналого-цифровой преобразователь);
- программируемым усилителем («ПУ»);
- реле («Р»);
- блок высоковольтного питания ФЭУ («БВП»);
- блок контроллера (**«К»**) включающего (рис. 14.2; рис. 14.3)**.**

Блок «К» соединен локальной шиной через интерфейс с компьютером типа пентиум или ноутбуком.

14.6.1. Блок «К»

«К» - (контроллер) (рис. 14.2; рис.-14.3.) выполнен на однокристальном микропроцессоре DD5 - AT89C51, работающем на частоте 11,059 МГц. К имеет четыре порта P0, P1, P2, P3. Из портов P0 и P2 сформирована универсальная 16 - разрядная шина DD5. Порт P0 путем мультиплексирования превращается в восьмиразрядную шину данных для ввода и вывода данных.

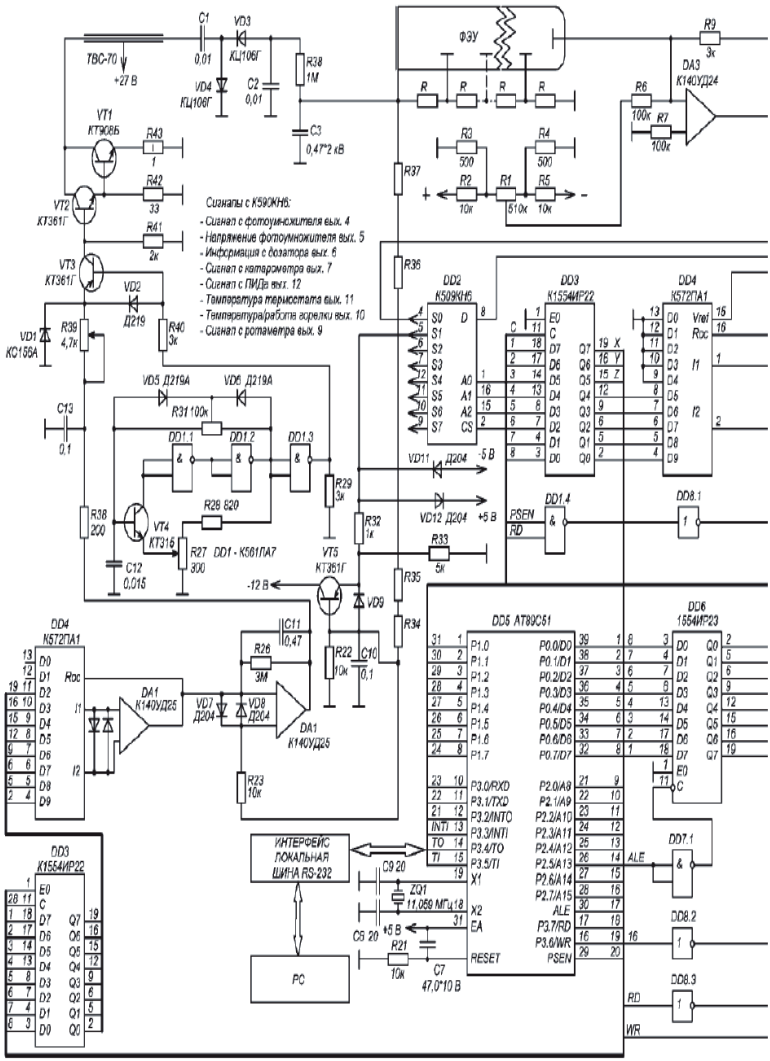


Рис. 14.2. Принципиальная схема контроллера (левая часть).

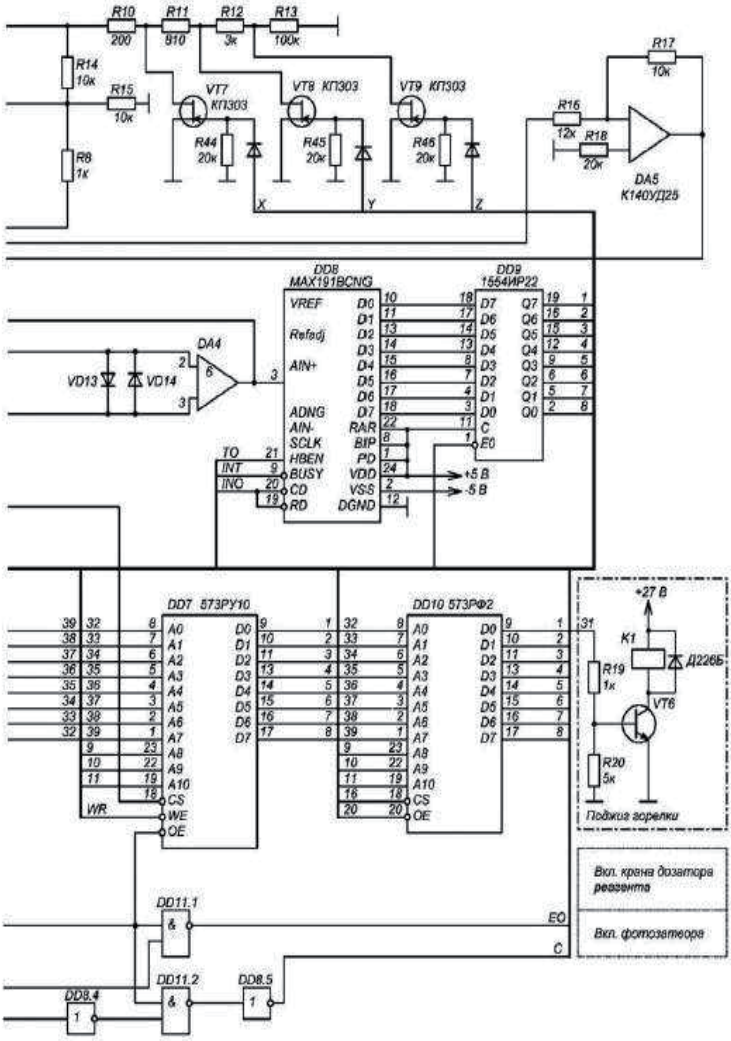


Рис. 14.3. . Принципиальная схема контроллера (правая часть).

Для фиксации логического состояния выводов AD0-AD7 служит буфер DD6 - К1554ИР23 с помощью сигнала ALE. На шине, находится ПЗУ – DD10 - К573РУ10, ОЗУ – DD7 К573РФ2 , 12/8-разрядным АЦП DD8 - MAX191BCNG.

Для придания универсальности и сокращения схемотехники и увеличения ее быстродействия при одновременной регулировке коэффициента усиления измерителя малых токов выполненного на суперпрецизионном усилителе (**«ИМТ»**) DA3 К140УД24 и коэффициента передачи сигнала на АЦП DD8, была разработана следующая оригинальная схема.

Цифровое управление от контроллера DD5 этими двумя параметра осуществляется через «слово состояние» регистра DD3 - К1554ИР22. При этом младшие разряды DD3 управляют коэффициентом передачи сигнала через ЦАП DD4 на АЦП DD8, а старшие разряды порта» компьютера, (X,Y,Z) DD3 управляют коэффициентом усиления измерителя малых токов суперпрецизионного усилителя «ИМТ» DA3 К140УД24.

14.6.2. Блок «ПУ»

выполнен на операционном усилителе с обратной связью, на микросхеме суперпрецизионного усилителя (измерителя малых токов) DA3 - К140УД24 с высоким входным сопротивлением. Резистор R1 служит для компенсации темнового тока ФЭУ. На выходе ОУ - DA3 включен делитель напряжения R10– R13, позволяющий ступенчато изменять глубину обратной связи и, тем самым, коэффициент усиления сигнала (грубая «начальная» регулировка чувствительности); см. рис. 14.2 – 14.3.

14.6.3. Диспетчер (выбор) устройств

выполнен на микросхемах DD8, DD11.Транзисторы типа VT6 – VT10 подключается. РП (четыре канала), P1.0 – P1.4 микропроцессора, позволяющего осуществлять дискретное управление различными устройствами – реле K1…K4 - РЭС-44 или расширять его.

14.6.4. Блок «БВП»

высоковольтного питания ФЭУ, выполнен как однотактный компенсирующий преобразователь с внешним возбуждением. Он состоит из:

стандартного повышающего автотрансформатора ТВС-70; удвоителя напряжения на диодах VD3, VD4 - КЦ-106Г; силовых транзисторов VT1 - КТ-801Б, VT2 - КТ-908Б; задающего генератора (15 кГц) на DD1.1 – DD3 - К561ЛА7.см. рис. 14.2 -14.3. Стабилизация рабочего напряжения, получаемого после выпрямления, собранного по схеме удвоения напряжения на диодах VD3 – VD4 -

КЦ-106Г, осуществляется отключением генератора электронным ключом VT3 - КТ-361Г от выходных каскадов в момент достижения рабочего напряжения заданного уровня на делителе ФЭУ. Для этого в цепи обратной связи используется микросхема DA1 - К140УД25, включенная по схеме компаратора. На ее, не инвертирующий вход, подается через делитель рабочее напряжение, а на инвертированный - опорное напряжение от DD4 - ЦАПа через микросхему К140УД25.

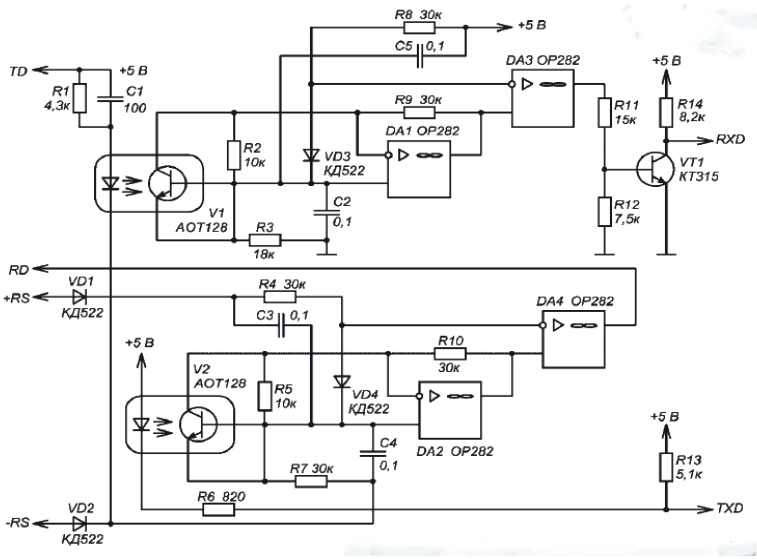


Рис. 14.4. Интерфейс локальная шина RS-232.

Рабочее высоковольтное напряжение на ФЭУ устанавливается и регулируется «**К**» с помощью специальной программой-драйвером, через буфер DD3 - К1554ИР22, в который записывается код – «слово – состояние», соответствующее устанавливаемому опорному напряжению. Контроль высокого напряжения осуществляется с помощью АЦП DD8 «**К**» вводом сигнала через S1- канал аналогового коммутатора на DD2 - К590КН6.

14.6.5. Интерфейс «И»

«И» (интерфейс) рис. 14.4) обеспечивает полную гальваническую «развязку», что особенно важно с точки зрения электробезопасности (соответствует ТУ по

сертификации на подобные «К», используемые в медицине, биофизике, химии, биологии, генетике, селекции, сельском хозяйстве, метеорологии, экологическом мониторинге и др. областях).

«И» - выполнен на быстрых компараторах DA1 – DA4 - OP-282 с малым гистерезисом и оптопарах V1,V2 - AOT128. Передающая часть интерфейса запитывается от «COM-порта. а приемная часть - от контроллера ПВФД, от контроллера шагового двигателя «карусели» кассеты для образцов и от контроллера терморегулирования камеры калорифера в стандарте RS-232 (V-24).

15.0. Проблемы/ошибоки встречаемые при организации биофизических экспериментов с использованием флуоресцентных методов на базе оптики, компьютеров и микропроцессоров.

Общие вопросы.

Как мы и писали, закономерно, что в процессе организации биофизических экспериментов и разработки новых приборов у начинающего экспериментатора - исследователя «ПО» является масса технических и методических *проблем*!

К большому сожалению, эти вопросы не имеют должного отражения в научно-исследовательской и учебной литературе.

Чтобы восполнить этот пробел, мы решили «ПО»делиться с уважаемыми читателями – начинающими экспериментаторами и разработчиками флуоресцентной аппаратуры собственным опытом их *решения*.

15.1. Классификация проблем/ошибок встречаемых при организации биофизических экспериментов.

Проблемы/ошибки могут присутствовать на разных этапах организации биофизического эксперимента при:

- *конструировании* – схемотехнике экспериментальных установок на базе оптики, компьютеров и микропроцессоров;
- *программировании* компьютерезированных экспериментальных установок;
- *разработке методики* - планировании биофизического эксперимента на экспериментальных установках.

15.1.1. Проблемы/ошибки встречаемые в схемотехнике при конструировании экспериментальных установок.

В разделе освещены особенности конструкции и ошибки (их устранение) встречаемые часто при конструировании в схемотехнике биофизических приборов, типа:

- «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») и
- «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»),

которые помогут начинающим исследователям их недопускать.

Показаны особенности эксплуатации ФЭУ, необходимость использования разнообразных узлов, которые ранее, по недомыслию считались лишними, ошибки при конструировании фосфороскопа и многое другое.

Проблемы, связанные с особенностью эксплуатации фотоэлектронного умножителя (ФЭУ).

О фотоэлектронных умножителях (ФЭУ).

Успехи в развитии техники эксперимента по регистрации слабых световых потоков для биологов-биофизиков, безусловно, открыли новую эру в изучения сверхслабых свечений биологических объектов. Трудно представить величину световых потоков, испускаемых живыми системами. Так, например: один грамм биолюминесцентных клеток бактерий 10^{11} излучает 10^{12} квант/сек. Сопоставляя эти данные с характеристиками излучения корней гороха, можно говорить о еще более низких интенсивностях излучения до 1000 квантов/сек, что соответствует потоку около 10^{-13}лм или 10^{-15} Вт. Интенсивность замедленной флуоресценции (ЗФ) фотосинтезирующих организмов в 100 раз (на несколько порядков) выше спонтанного свечения непигментированной ткани растений.

Известно, что интенсивность ЗФ одноклеточной водоросли Хлореллы составляет около 30 – 40 квант/сек., но ее величина зависит от многих факторов (спектрального состава света, интенсивности возбуждения ЗФ, к тому же она быстро затухает во времени). Квантовый выход ЗФ составляет приблизительно 1 квант на 10^5 - 10^8 квантов, поглощенных хлоропластами. поэтому наблюдение сверхслабых свечений связано с необходимостью измерения крайне низких световых потоков: 3-4 * 10^{-16} квант/сек. Для образного представления - это свет свечи, находящейся на расстоянии в 50 – 100 км от наблюдателя.

Оъективная возможность инструментальной достоверной оценки регистрации таких потоков появилась только после создания чувствительных детекторов - фотоэлектронных умножителей (ФЭУ).

Прошло без малого 80 лет со времени создания российским инженером Л. А. Кубецким первого в мире многокаскадного фотоэлектронного умножителя (ФЭУ). Гений Л.А. Кубецкова подтвержается тем, что в настоящее время промышленность различных стран выпускает несколько сот типов подобных электроваккумных приборов. Следует отметить, что среди элементов радиоэлектронной аппаратуры ФЭУ занимает особое место, так как позволяет создавать высокочувствительную и точную аппаратуру для регистрации и анализа излучений. Многообразие решаемых с помощью ФЭУ задач стимулировалось раз-

витием определенных областей экспериментальной физики и широким внедрением физических методов исследований в различные отрасли науки и техники. Так, например, совершенствование техники эксперимента в ядерной физике привело к созданию в 1946 г. первого современного сцинтилляционного счетчика для регистрации и измерения ионизирующих излучений. последующее развитие ядерного приборостроения явилось мощным стимулом для разработки новой группы ФЭУ, обладающих необходимым комплексом специфических радиометрических параметров.

Основные пути конструктивного и технологического усовершенствования ФЭУ определила специфика использования их в сцинтилляционной аппаратуре: создание серии ФЭУ с торцевыми полупрозрачными фотокатодами, в том числе большой площади; усовершенствование технологии изготовления эффективных фотокатодов; применение высокоэффективных эмиттеров вторичных электронов; конструирование умножительных систем с малым разбросом времен пролета электронов и большим импульсным выходным током и т. д. Космонавтику - космические исследования можно считать следующим этапом развития ФЭУ. При этом, традиционные требования к ФЭУ: получение наилучшего отношения сигнал/шум уже сочетается с требованием работоспособности в жестких условиях эксплуатации (ускорении, вибрации и необходимости уменьшения размеров и веса как самого ФЭУ, так и связанных с его эксплуатацией устройств и блоков). Следует подчеркнуть, что не только бурное развитие электроники и оптического прибостроения поднимает «планку» сложности в новейших разработках, но возникновение и развитие одной из новейших областей науки и техники - *квантовой электроники* поставило новые задачи и перед разработчиками ФЭУ.

Основные[44] параметры и характеристики - качества ФЭУ, работающего в режиме «регистрации постоянного тока».

Следует подчеркнуть, что большое разнообразие требований к ФЭУ зависит от множества областей их применения. Это, в свою очередь, приводит к необходимости характеризовать *качество* ФЭУ большим количеством параметров и их величин. При регистрации замедленной флуоресценции фотосинтезирую-

[44] Для получения более основательной справки по теме мы отсылаем уважаемого читателя к монографии: Соболева Н.А., Меламед А.Е.: «Фотоэлектронные приборы.», М., «Высшая школа», 1974. 364 с.

щих объектов используются ФЭУ, работающие в режиме регистрации постоянного тока, со следующими характеристиками:

1. Габаритные характеристики:

- Максимальный диаметр, мм ;
- Максимальная посадочная длина, мм;

2. Диаметр рабочей площади фотокатода, мм;

3. Спектральная чувствительность равная спектральной чувствительности фотокатода, умноженной на коэффициент усиления умножительной системы ФЭУ, лежащей обычно в пределах 10^3 - 10^{11};

4. Чувствительность фотокатода, мкА/лм;

5. Световая анодная чувствительность - отношение анодного фототока к вызывающему его световому потоку при номинальных потенциалах электродов, составляющая 1- 10^4А/лм;

6. Темновой ток - это ток в анодной цепи в отсутствие светового потока. Как правило, не превышает 10^{-9}—10^{-10}А.;

7. Световой эквивалент темнового тока – показатель, по которому обычно оценивают качество ФЭУ в схеме регистрации постоянного тока. Он определяется как отношение темнового тока I_T к анодной чувствительности $\sum a$:

$$\text{Фэкв}[\text{лм}] = I_{\text{т}}[A/] \sum \text{а}[\text{А/лм}]$$

Минимальность достижения Фэкв в области значений величины напряжения питания и анодной чувствительности определяется конструкцией ФЭУ. Вариация Фэкв для ФЭУ одного типа достигает 1-1,5 порядков величины; для ФЭУ разных типов – нескольких порядков! Флюктуация темнового тока является главным источником собственных шумов ФЭУ. Спектрально равномерно представлены составляющие всех частот – белый шум. Для количественной оценки величины шума ФЭУ используют два параметра: порог чувствительности (так называемый темновой порог чувствительности) и порог чувствительности при постоянном свете.

8. порог чувствительности F_{II} =[лм/Гц] - это такой световой поток от стандартного источника, который, попадая на фотокатод, создает на сопротивлении нагрузки ФЭУ сигнал, равный среднему значению собственных шумов.

9. Спектральный порог чувствительности $F_{П\lambda}$ =[лм/Гц] оценивают при освещении монохроматическим излучением аналогично.

10. порог чувствительности при постоянном световом фоне $F_{пс}$ [лм/Гц] оценивается аналогично при наличии фотонных шумов.

Порог чувствительности $F_П$, $F_{П\lambda}$, $F_{пс}$ в большинстве случаев является бичом современных ФЭУ. Физика показателей шумов по современным представлениям определяется флюктуацией фототока, зависящего от дробового эффекта, коэффициента вторичной эмиссии и, конечно же, культуры производства ФЭУ. Но есть практические методы снижения этих шумов - это тренировка ФЭУ.

Ошибки, связанные с особенностью расчета делителя ФЭУ.

ФЭУ относится к электровакуумным приборам. Он преобразует свечение света, например, фотолюминесценцию в поток фотоэлектронов и приводит к дальнейшему их умножению на динодах ФЭУ, основанному на фотоэффекте.

Фотоны вырывают из фотокатода некоторое количество фотоэлектронов. Они фокусируются специальными электродами и ускоряются электрическим полем в пространстве между фотокатодом и первым умножающим динодом. поверхность динода покрыта материалом, обладающим свойством обеспечивать выход фотоэлектронов с небольшой работой. Задерживаясь в диноде, ускоряющийся фотоэлектрон инициирует – выбивает несколько вторичных электронов. Геометрия и электрическое окружение обеспечивают фокусировку и направление выбитых электронов на второй динод. Напряжение, прикладываемое между первым и вторым динодами, ускоряет электроны, которые в дальнейшем последовательно многократно умножаются и ускоряются на втором и последующих динодах. Такое многократное умножение приводит к усилению потока электронов в ФЭУ и регистрации на сопротивлении нагрузки электрического сигнала, который, конечно, нуждается в усилении и согласовании с последующей цепью регистрации. Фотокатод ФЭУ изготавливают в виде полупрозрачного слоя вещества, наносимого на внутреннюю поверхность торцевой части ФЭУ или на первый динод. В качестве вещества фотокатода применяют сплавы сурьмы и цезия или висмута, серебра и цезия. Вещество фотокатода определяет его спектральную чувствительность. Число динодов определяет коэффициент усиления ФЭУ.

Усиление потока электронов в ФЭУ зависит от величины ускоряющего напряжения между двумя последующими динодами. Для характеристики размножения электронов в ФЭУ введен коэффициент усиления *i*-го каскада ФЭУ

k_i, который равен отношению числа испущенных динодом электронов к числу упавших на него:

$$k = k_1 k_2 k_3, \ldots\ldots k_n$$

где $k_1 k_2 k_3, \ldots\ldots k_n$ – коэффициенты усиления на 1-ом, 2 –ом и последующих динодах. Коэффициент усиления отдельного каскада ФЭУ может достигать 10.

При одинаковом усилении каскадов ФЭУ его общий коэффициент усиления может достигать:

$$k = k_1^n$$

поток электронов, который собирается на последнем электроде ФЭУ, называют *анодом*. Распределение потенциалов между динодами обеспечивает электрическая схема, формирующая сигнал напряжения на сопротивлении нагрузки (рис. 15.1.). Она содержит делитель напряжения, состоящий из активных сопротивлений, емкостей, блокирующих два – три последних каскада ФЭУ и сопротивления нагрузки в цепи анода ФЭУ.

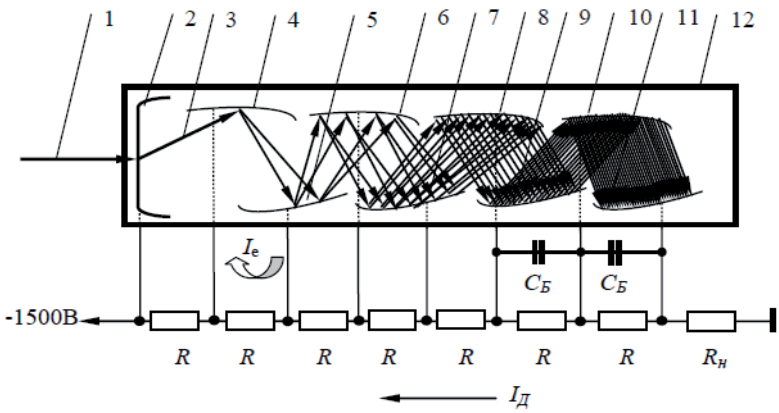


Рис. 15.1. . Схема фотоумножения потока фотоэлектронов в ФЭУ.

где: 1 – источник излучения; 2 – фотокатод; 3 – фотоэлектроны; 4 – первый динод; 5 – второй динод; 6 – третий динод; 7 – четвертый динод; 8 – пятый динод; 9 – шестой динод; 10 – седьмой динод; 11 – фотоанод; 12 – баллон фотоэлектронного умножителя (ФЭУ); ***R*** – сопротивление звена делителя на-

пряжения ФЭУ; I_e – ток протекания; $R_н$ - сопротивление нагрузки; $C_Б$ – блокировочные емкости; $I_Д$ – ток делителя.

Характеристики делителя – распределение напряжения между динодами - рекомендуются заводом – изготовителем в паспорте ФЭУ. Эти рекомендации являются наиболее оптимальными для эффективной работы данного экземпляра ФЭУ. От анода к катоду по делителю протекает ток $I_Д$. Он создает падение напряжения в цепи на сопротивлениях делителя и, тем самым, обеспечивает заданные потенциалы на электродах в ФЭУ. Это накладывает особые требования к стабильности напряжения источника питания ФЭУ, который должен обеспечить заметную величину тока, рассчитываемую следующим путем.

Если суммарное сопротивление *делителя напряжения:*

$$R = \sum_{i=1}^{n} R_i$$

то ток делителя напряжения:

$$I_Д = \frac{U}{I}$$

где U – напряжение, приложенное к делителю ФЭУ, R – сопротивление делителя напряжения.

При заданном напряжении U выбирается такой номинал R_i, чтобы через делитель протекал необходимый для работы ток $I_Д$. Для устойчивой работы ФЭУ требуется ток $I_Д$ не менее 0,3 – 0,5 мА.

Таким образом, для обеспечения работы ФЭУ в линейном, стабильном режиме при максимальной его чувствительности ток, проходящий через делитель, должен не менее, чем в 10 раз превышать максимальный ток анода.

Это требование к току $I_Д$ связано с процессами протекания I_e тока через ФЭУ. Этот ток, безусловно, соответствует в каждом каскаде ФЭУ круговому току в цепи: динод – динод – сопротивление R_i. При переходе от каскада к каскаду ФЭУ он возрастает и достигает максимального значения в последнем каскаде. В каскадах ток электронов протекает по сопротивлению делителя R_i в направлении противоположном к току делителя $I_Д$. Этим объясняется, что в момент прохождения тока электронов I_e через ФЭУ по делителю протекает ток:

$$I_Д(t) = I_Д - I_e(t)$$

Мощность *P,* рассеиваемая на звене делителя, определяется:

$$P = I_Д * U_I$$

Где $I_Д$ – ток делителя; U_I - напряжение на любом из звеньев делителя.

Номинальная, т.е. *практическая* мощность резисторов делителя должна, по крайней мере, вдвое превышать расчетную мощность. Это обеспечивает запас прочности, стабильность сопротивления, вызванные нагревом.

Тренировка с целью понижения шумов ФЭУ.

Нам в процессе работы посчастливилось встретиться со многими замечательными оптиками[45]. Когда установка для регистрации замедленной флуоресценции фотосинтезирующих объектов, собрана, делитель ФЭУ распаян и опробован в работе, но шумы, которые определяют порог чувствительности $\boldsymbol{F_П}$, $\boldsymbol{F_{Пл}}$, $\boldsymbol{F_{пс}}$ вас не устраивают, предлагаем следующие методы тренировки ФЭУ. Предлагаемые методы в шутку можно назвать методами «шамана». Они заключаются в следующем.

Первый метод тренировки.

В практике использования оптико - электронных приборов, в частности, атомно - абсорбционных спектрофотометров С-302, С 115, МГА -915 и др. применяются *высокочастотные блоки питания безэлектродных ламп* (их часто называют БПБЛ). В этих блоках лампа в виде «шарика» вставляется между двумя витками высокочастотного генератора, который инициирует яркий свет. Этим блоком, как проверено практикой, можно улучшать – «лечить», увеличивая чувствительность и улучшая стабильность «плохих ФЭУ» на порядок и выше, и даже восстанавливать эмиссию «плохих, дохлых» газовых лазеров. БПБЛ «чистит» электровакуумный прибор, восстанавливая вакуум и убирая «грязь». Для этого следует ФЭУ местом выходных контактов из стеклянного баллона поместить между витками блока БПБЛ на 15 – 20 мин. Далее ФЭУ го-

[45] Мы умышленно не называем их имена ибо боимся , что читатель заподозрит нас в желании возложить на наших консультантов вину за те неточности, которые, вероятно, еще остались в этой монографии.

тов к использованию. Процедура метода не простая и длительная, особенно для ФЭУ с мягкой разводкой выводов от динодов , но «игра стоит свеч»!

Второй метод тренировки.

Перед экспериментальным использованием следует в установке по регистрации ЗФ закрыть шторку окна ФЭУ и высокое напряжение питания последнего поднять на одну треть от номинального при контроле тока делителя (читайте выше) и продержать 45 мин. Затем выключить на 45 мин и повторить процедуру 3 – 4 раза. Сделать выдержку 24 часа и провести при необходимости еще один цикл тренировки.

Успех тренировок очевиден: они проверены временем, многократно при условии стабильности напряжения высоковольтного питания ФЭУ, коэффициента пульсаций последнего, правильности номиналов делителя по величине сопротивления и ее мощности.

Ошибки, связанные с конструкцией фосфороскопа.

При этом мы имеем в виду применение методов регистрации замедленной флуоресценции (ЗФ) фотосинтезирующих объектов, напрямую связанной с использованием фосфороскопов (***«Ф»***), о которых авторы рассказывали в разделе Конструкция сложного двухдискового Ф подробно освещена в разделе 10.0.

Следует заметить, как мы уже говорили ранее, что техника эксперимента, связанная с регистрацией ***ЗФ*** исследуемых фотосинтетических объектов листьев растений, тест-объектов – одноклеточной водоросли Хлореллы, задача не простая не только для биологов-экспериментаторов, но даже для специалистов-оптиков, работающих в области регистрации слабых свечений: ЗФ и фосфоресценции.

Причин – проблем, конечно, здесь много, но одна из главных – конструкция фосфороскопа (***«Ф»***).

При своей кажущейся простоте «***Ф»*** является сложным, не стандартным в изготовлении прецизионным оптико-механическим прибором. К сожалению, оптико-механическая промышленность не выпускает ***«Ф»*** и поэтому они конструируются и изготавливаются экспериментаторами-биофизиками самостоятельно. В связи с этим начинающий экспериментатор, не имея должного опыта, конструирует и изготавливает, например: *однодисковый* ***«Ф»*** с одинаковыми *радиусами* окон возбуждения и регистрации, что в корне не верно! И вот почему. Высокая интенсивность лампы возбуждения «ЗФ» на «радиусе» - секторе

«Ф», т.е на диске металла, на его «чернении/воронении» или краске, наводит – возбуждает сильную фоновую «*паразитную*» фотолюминесценцию.

При этом высокочувствительный фотоэлектронный умножитель (ФЭУ) регистрирует – «захлебывается» от фонового - «паразитного» *сигнала*, который на несколько порядков выше, чем *«ЗФ»* от объекта исследования.

Рис. 15.2. Принципиальная схема однодисковой установки для регистрации ЗФ исследуемых образцов карусельного типа.

Для борьбы с этим не помогают разнообразные способы «чернения/воронения» диска ***«Ф»*** и его неподвижной части! В свое время мы столкнулись с такой ужасной проблемой, выход из которой оказался достаточно простым (см. рис.15.2; рис.15.3). Чтобы исключить регистрацию фоновой «паразитной» фотолюминесценции, требуется разнести (раздвинуть) окна для возбу-

ждения и регистрации *«ЗФ»* на разных радиусах, а также сделать на диске *Ф* выступы, которые входят в неподвижную часть его корпуса.

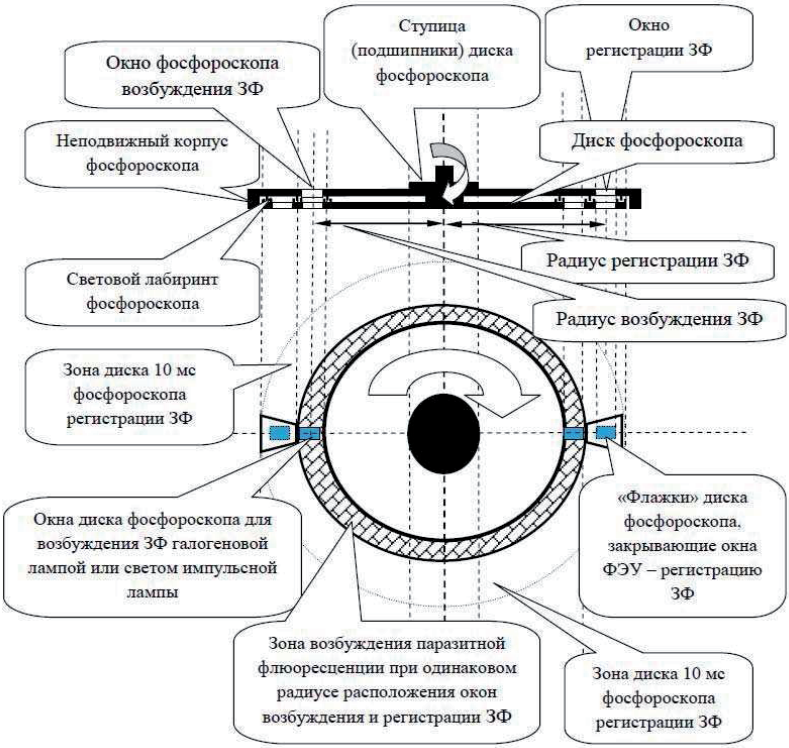


Рис. 15.3. Принципиальная схема проекции диска фосфороскопа.

Зазор между неподвижной частью и вращающимся диском *Ф* должен быть 0,5 мм, но не более 1 мм. полученный таким образом «световой лабиринт», который гасит прорывающийся свет от возбуждения к ФЭУ, уничтожает все «паразитные» наводки возбуждения, позволяет получить *максимальное* отношение сигнал/шум и реализовать *максимальный* динамический диапазон чувствительности фотоэлектронного умножителя (ФУЭ).

Необходимость импульсной лампы для возбуждения замедленной флуоресценции («ЗФ»).

Конструкция «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата»» («FLA») карусельного типа предъявляет повышенные требования к системе возбуждения «ЗФ», что обусловлено строгой синхронизацией возбуждения «ЗФ» образца в кассете через окно фосфороскопа. Это достигается с помощью синхронной системы возбуждения «ЗФ» образца импульсной лампой в момент полного открытия окна фосфороскопа. Схема возбуждения «ЗФ» образца импульсной лампой представлена на рис. 15.4. Она включает: преобразователь напряжения с самовозбуждением, выполненный на транзисторах Т1 и Т3 и трансформаторе Тр1 для исключения наводок; диоды VD1, VD2 для выпрямления напряжения питания импульсной лампы ИФК-120; систему «поджига» ИФК-120 - импульсный трансформатор Итр2, тиристор VS1, оптотранзистор Т2, включенный в цепь оптронов фосфороскопа; транзистор Т4, который служит для разрешения работы импульсной лампы возбуждения. Простота схемы не нуждается в детальном пояснении.

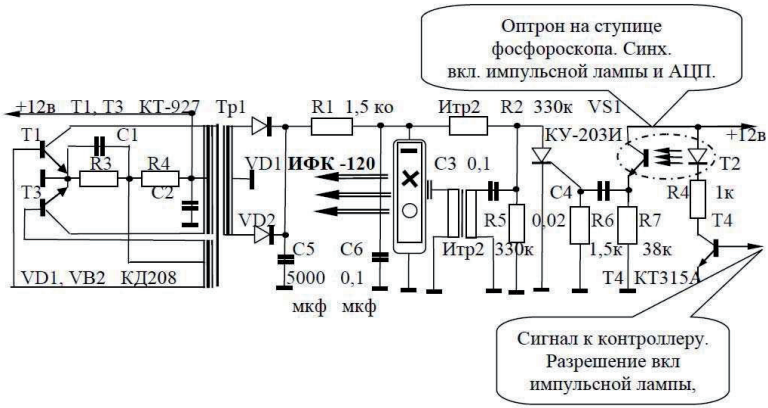


Рис. 15.4. Принципиальная схема импульсной лампы для возбуждения замедленной флуоресценции.

Необходимость шторки перекрытия света возбуждения и регистрации замедленной флуоресценции.

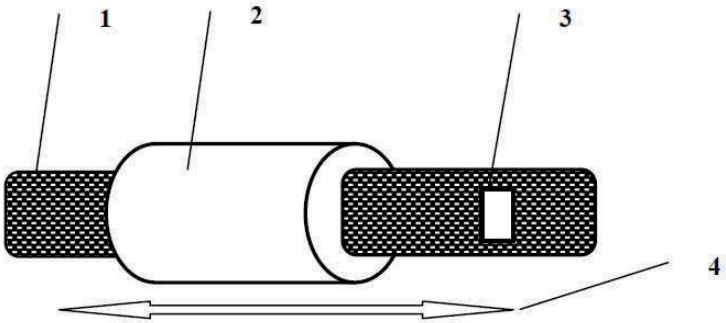


Рис. 15.5. Коммутирующая шторка-рейка света для возбуждения «ЗФ» или регистрируемой «ЗФ».
где: 1 - перемещающаяся шторка -рейка; 2 – привод шторки - солянойд; 3 - окно коммутации света возбуждения «ЗФ» или регистрируемой «ЗФ»; 4 – «ход» движения коммутирующей шторки.

«Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата» («FLA») имеет две коммутационные шторки света возбуждения «ЗФ» и регистрируемой «ЗФ» (рис.15.5.).

Первая шторка (заслонка) необходима для точного открытия окна для света возбуждения «ЗФ» - начало эксперимента (первый образец).

Вторая шторка - для предохранения ФЭУ от выхода из строя, так как он находится под высоким напряжением. При открытии дверцы термокамеры, при смене кассеты с образцами может возникнуть нежелательная засветка, которая приведет к выходу ФЭУ из строя.

Необходимость предусилителя ФЭУ.

Конструкция «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата»» («FLA») и «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»), представленная на рис. 15.6., топологически предусматривает расположение контроллера с АЦП в нижней части установки.

При этом ФЭУ и плата контроллера разнесены (удалены) друг от друга на 70 – 80 см. поэтому передача сигнала микротоков *априори* предполагает потерю сигнала, не говоря о помехоустойчивости, быстродействии и, следовательно, требует предусилителя. последний расположен в корпусе ФЭУ и, тем самым, решает эту проблему.

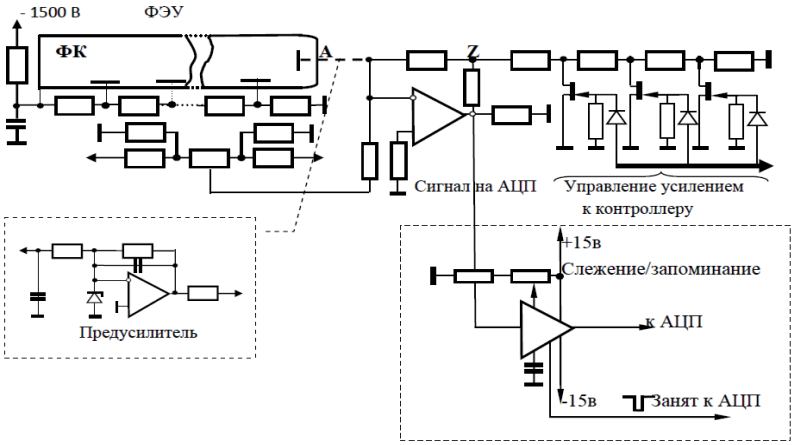


Рис. 15.6. Принципиальная схемотехника необходимой вставки предусилителя и схемы «слежения/запоминания»

Необходимость предусилителя ФЭУ.

Конструкция «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата»» («FLA») и «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»), представленная на рис. 13.6., топологически предусматривает расположение контроллера с АЦП в нижней части установки.

При этом ФЭУ и плата контроллера разнесены (удалены) друг от друга на 70 – 80 см. поэтому передача сигнала микротоков *априори* предполагает потерю сигнала, не говоря о помехоустойчивости, быстродействии и, следовательно, требует предусилителя. последний расположен в корпусе ФЭУ и, тем самым, решает эту проблему. *Предусилитель* это – повторитель, подобно эмиттерному повторителю, на основе операционного усилителя. Он представляет собой не

что иное, как не инвертирующий усилитель. Существуют специальные операционные усилители, предназначенные для использования только в качестве повторителей. Они обладают улучшенными характеристиками, в частности, более высоким быстродействием, например: операционные усилители LM310, OPA633, TL068. Такие усилители с единичным коэффициентом усиления часто называют *буферами*, так как они обладают большим входным сопротивлением.

Необходимость устройства «слежния/запоминания».

Схемотехника правильной работы большинства схем аналого-цифрового преобразования требует[46] (особенно это важно для АЦП с последовательным уравновешиванием), чтобы входное напряжение в течение определенного времени, называемого временем преобразования, оставалось неизменным, представленная на рис. 15.6. Входной сигнал в течение времени преобразования может меняться и давать совершенно непредсказуемые ошибки в том случае, когда он не зафиксирован во время преобразования. Для устранения этого явления его фиксируют с помощью устройства «слежения/запоминания». Это устройство устанавливают перед АЦП. Наличие в составе преобразователя (усилитель - АЦП) схем слежения/запоминания и синхронизации гарантирует точное, безошибочное преобразование сигнала частотой до 1 МГц. Разработана схема типа LF389 фирмы National (отечественный аналог КР1100СК2) или с более лучшими характеристиками - LF585 фирмы Analog Devices.

Особенности конструкции привода «карусели» для кассеты образцов.

«Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата» («FLA») имеет важное устройство - привод карусели кассеты для образцов, от которого зависит точность – достоверность получаемой установкой информации см. рис.15.7. Привод - драйвер выполнен для шагового двигателя, который управляется контроллером ATmega8A-PU (с «вшитой программой» - на языке ассемблер), обеспечивающим точность позиционирования образцов для возбуждения и регистрации замедленной флуоресценции («ЗФ»). Временная синхронизация и позиционирование карусели с кассетой для образцов выполняется программой и двумя оптронными парами, сигналы от которых попадают в драйвер - контроллер. Вал шагового двигателя, типа: СДХ 1,8/40 совершает

[46] В том числе и в схемотехнике контроллера регистрации сигнала в «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата»» («FLA») и в «Высокочувствительном полифункциональном фотометрическом детекторе» («ВПФД»).

один оборот за 200 шагов, один шаг - 360/200 = 1,8 град. (для простоты объяснения не будем включать передаточное число промежуточного редуктора от шагового двигателя к карусели). Кассета для образцов имеет 15 мест, т.е. позиционирование осуществляется на 24 градусов.

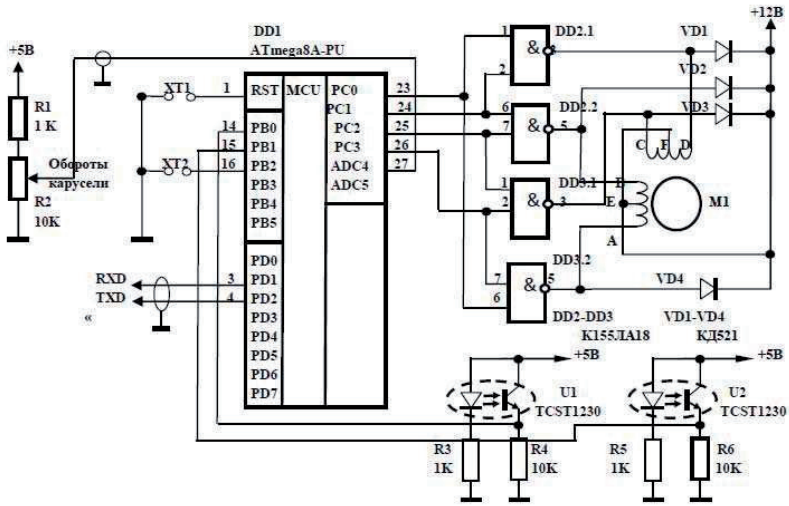


Рис. 15.7. Принципиальная схема драйвера - шагового двигателя «карусели» кассеты для образцов.

В «юбке» «карусели» имеется 15 отверстий для оптронов (по количеству образцов), но для первого образца - два отверстия. Это сделано для точного отыскания первого и последующих образцов. Контроллер с помощью программы может управлять шаговым двигателем в двух режимах. В первом режиме программа контроллера считывает время позиционирования и частоту вращения по первому оптрону.

Во втором - программа контроллера дополнительно корректируется стробирующими отверстиями напротив каждого образца с помощью второго оптрона. Выбор режима возможен с помощью перемычки XT2. Первый режим - при ус-

тановленной перемычке XT2 или второй, когда эта перемычка снята. Частоту вращения вала - оборотов шагового двигателя(начальные установки) корректируют с помощью переменного многооборотного резистора типа СП5 R2. Схема блока управления драйвера - контроллера шагового двигателя изображена на рис.15.7. Микроконтроллер DDI (ATrnega8A-PU) работает от встроенного тактового генератора частотой 2 МГц. Для коммутации обмоток шагового двигателя M1 использованы ключи микросхемы DD2 К155ЛА18 - логические элементы 2И-НЕ микросхем DD2 и DD3 (зарубежный аналог SN75452). Микросхемы имеют открытые коллекторные выходы повышенной мощности. Используется один из двух каналов АЦП микроконтроллера, на вход которого - ADC5 (выв. 28) подано напряжение с подстроечного многооборотного резистора типа СП5 R2, которым регулируют и точно подстраивают частоту шагов вала двигателя в любом режиме работы блока. При подаче через порт сигнала включения программа микроконтроллера приводит в действие привод вращения вала шагового двигателя. Сигналы управления, формируемые компьютером, через интерфейс RS-232 передаются микроконтроллеру: начало и конец работы, частота вращения, времени позиционирования образца и квитируются[47] и др.

Особенности драйвера – контроллера терморегулирования камеры калорифера.

Одним из необходимых блоков «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата» («FLA») является калорифер, обеспечивающий заданный температурный режим для кассеты с образцами, управляемый по программе с помощью драйвера на базе микроконтроллера. Он позволяет производить регулировку температуры. Схема блока управления драйвера – контроллера терморегулирования камеры калорифера изображена на рис.15.8.

Микроконтроллер DDI (ATrnega8A-PU) работает от встроенного тактового генератора частотой 2 МГц. При поступлении через интерфейс (выв. 3,4) сигналов включения DD1(рис.15.8.) «вшитая» программа контроллера (например: линейного нагрева - 5^0/мин) включает вентилятор - мотор M1 продува камеры калорифера и одновременно управляет оптронной парой U2, которая активирует программируемый нагрев с помощью симистора U3. Программное управле-

[47] квитирование - подтверждение приёма-передачи структурной единицы информации. При нарушении или отсутствии квитирования передача может повторяется (воприниматься) несколько раз – обычно три раза. При нарушение квитирование выдается сигнал сбоя работы контроллера или микропроцессорной системы.

ние: оборотами двигателя M1 осуществляется способом широтно-импульсной модуляции; температурой камеры калорифера – через включение нагревателя с помощью симистора U3 (фазовым пропорциональным методом с фазовой привязкой от сети через VD2-VD5 и оптронно-транзисторную пару U1). Микроконтроллер DDI имеет три режима.

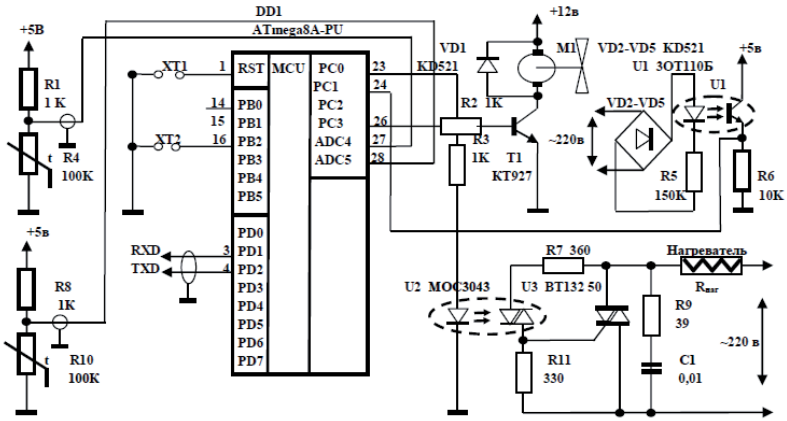


Рис. 15.8. Принципиальная схема драйвера - терморегулирования камеры калорифера.

Первый режим: «изотермический» – стабилизации заданной температуры в камере калорифера, которая задается с компьютера через порт RS-232.

Второй режим: «нагрева» - скорость задается в контроллер с компьютера через порт RS-232.

Третий режим: «охлаждение» - скорость задается в контроллер с компьютера через порт RS-232.

Наличием или отсутствием перемычкой XT2 определяется один из двух режимов работы: второй или третий.

В схеме рис.15.8. драйвера - микроконтроллера ATmega8A-PU использованы два канала АЦП в качестве измерителя температуры. Необходимость измерения температуры в двух местах вызвана требованием высокой точности к поддержанию температуры или скорости ее изменения при нагреве или охлажде-

нии в калорифере. Для охлаждения используется испаритель холодильника. Сигналы квитирования на PD1—PD2 (выв. 3,4) микроконтроллера сформированы в стандарте интерфейса RS-232 для компьютера, который может задавать и контролировать температуру, длительность эксперимента и режимы работы драйвера заданного режима: изотермического или режима линейного нагрева, или охлаждения и, соответственно, их скорости с большой точностью.

15.1.2. Ошибки программирования техники эксперимента.

Очень трудно писать об ошибках организации биофизического эксперимента, связанных с *программированием компьютеризированной техники эксперимента* в столь маленьком объеме на примере: «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата»» («FLA») и «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» (*«ВПФД»*). Для этого потребовалось бы изложить общий алгоритм и текст - программы, показать происхождение возможных «баг» - ошибок, т.е. дело далеко не нескольких страниц рукописи – здесь все во много раз сложнее. Тем не менее, мы попытались, в общем, осветить проблему. Для этого мы подытожили наш опыт разработки программ и показали множество «подводных камней» - ошибок, которые не видны начинающим программистам – биологам - организаторам биофизического эксперимента. Существуют различные типы «баг», которые могут возникать на этапе разработки алгоритмов, программы и программного обеспечения, о которых каждый программист - биолог должен знать. Здесь мы постарались показать описание самых распространенных ошибок программирования. Ошибки программирования более известные на жаргоне среди программистов как «баги» - бич любого разработчика программного обеспечения. поскольку используются компьютеры, работающие совместно с многочисленными контроллерами, программная ошибка может иметь серьезные непредсказуемые последствия. История знает случаи взрывов на старте миллиардных по стоимости космических ракет и самолетов из-за ошибок в программном обеспечении, когда программист путал всего лишь навсего, например: «дефис» с «точкой запятой».

Разновидность категорий ошибок в программировании.

Компьютерное программирование - это огромное поле с сотнями языков, поэтому разновидность категорий ошибок условно можно разделить на следующие:

- программирование операционной системы;
- прикладное программирование (в том числе, для микроконтроллеров);

- встроенная система кодирования;
- развитие программ;
- научные вычисления.

Виды ошибок программирования.

1. Синтаксические ошибки.

Языки программирования как *C, Java, Perl, Python* и др. имеют специфический синтаксис, которым будет написан код будущей программы. Программист из-за неаккуратности, не придерживающийся «грамматики» спецификации компьютерного языка, допускает ошибки синтаксиса. Такого рода ошибки легко устраняются на этапе компиляции.

2. Логическая ошибка, связанная с ошибками алгоритмов программ.

Это наиболее серьезная из всех ошибок. Бывает досадно, когда написанная программа на любом языке компилирует и работает правильно, но выдает неправильный вывод. Ошибка кроется в логике алгоритмирования. Она унаследована из базового алгоритма. Скажем прямо, алгоритм - логика, на которой базируется вся программа, является не правильной. Для решения такой ошибки необходимы фундаментальное изменение алгоритма программы: «Вам не позавидуешь: нужно начать «копать» в алгоритмическом уровне, чтобы ограничить область поиска такой ошибки».

3. Ошибка компиляции.

Компиляция - это процесс, в котором программа, написанная на языке высокого уровня, преобразуется в машиночитаемую форму. Многие виды ошибок могут формироваться на этом этапе, в том числе и синтаксические. Иногда синтаксис исходного кода может быть безупречным, но ошибка компиляции все же происходит. Это может быть связано с проблемами в самом компиляторе. Эти ошибки исправляются на стадии разработки, отладки.

4. Ошибки среды выполнения (*RunTime*).

Программный код успешно скомпилирован и исполняемый файл был создан. Вы можете вздохнуть с облегчением и запустить программу, чтобы проверить ее работу. Но ошибки при выполнении программы могут возникнуть в результате аварии или нехватки ресурсов носителя. Разработчик должен был предвидеть реальные условия развертывания программы. Это можно исправить, вернувшись к стадии кодирования.

5. Арифметические ошибки.

Многие программы используют числовые переменные. Алгоритм может включать несколько математических вычислений. Арифметические ошибки возникают, когда компьютер не может справиться с проблемами, такими как «деление на ноль» или ведущие к бесконечному результату. Эта логическая ошибка, которая может быть исправлена только путем изменения алгоритма.

6. Ошибки ресурса.

Ошибка ресурса возникает, когда значение переменной переполняет максимально допустимое значение. Будет уместным сказать, что это надо предвидеть: переполнение буфера, использование неинициализированной переменной, нарушение прав доступа и переполнение стека – примеры некоторых распространенных ошибок ресурса.

7. Ошибки, выявляемые на фазе тестирования и отладки.

Без преувеличения можно сказать, что интенсивное тестирование и фаза отладки - неотъемлемые части цикла разработки программного обеспечения, которое может помочь избавиться от ошибок еще в зародыше, прежде чем произойдет полномасштабное развертывание программного обеспечения.

Следует подчеркнуть, что от множества ошибок можно избавиться еще на стадии кодирования с помощью *предварительного планирования*. Практика строгой, внимательной отладки позволяет исправить в процессе разработки программного обеспечения большинство ошибок.

Ошибки, конечно же, являются частью обучения и их нельзя полностью избежать. «Иногда стоит совершить ошибку, хотя бы ради того, чтобы знать, почему ее не следовало совершать» (*Конфуций*). Тем не менее, это не дает Вам права повторять старые ошибки!

15.1.3. Проблемы/ошибки встречаемые при организации методики – планирования биофизического эксперимента.

Проблемы/ошибки при организации методики – планирования биофизического эксперимента подробно освещены в книге.

Безусловно, настоящие разделы не претендуют на «панацею» от проблем/ошибок, связанных с организацией биофизического эксперимента. Они только знакомят начинающего экспериментатора с *разновидностью* полифункциональных проблем/ошибок, которые возникали при разработке «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») и «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД»).

16.0. Примеры применения «FLA» и *«ВПФД».*

Постановка цели, задачи.

Постановка цели, задачи: показать примеры применения методик, в том числе оригинальных, диагностики состояний фотосинтетического аппарата, жароустойчивости растений, гербицидной, фитогормональной активности растений, определение активности полиеновых антибиотиков и концентрации АТФ, выполненных на приборах: «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата» (***«FLA»***) и «Высокочувствительном полифункциональном фотометрическом детекторе» («ВПФД»).

Параметры, характеризующие процессы

гомеореза исследуемых объектов или тест - объектов реакция У - замедленная флуоресценция («ЗФ»): быстрые миллисекундные компоненты и медленные компоненты <0,5 сек.

Объект исследования.

Тест - объект можно использовать в качестве «лабораторного животного», т. е. живого биологического детектора - конвертера, на котором можно изучать, к примеру, действие различных, в том числе токсических, веществ: гербицидов, полиеновых антибиотиков, фитогормонов и т. п.

Тест-объектом, например, при определении активности полиеновых антибиотиков, гербицидной активности может служить одноклеточная водоросль Хлорелла в качестве «*лабораторного животного»***,** т. к. живые организмы очень чувствительны к действию различных токсических веществ. Таким образом, *объект исследования становится методом исследования других объектов.*

Переходные функции.

Переходные функции: ступенчатая (индукционные кинетики «ЗФ» - быстрые и медленные компоненты) и линейно-изменяющаяся (температурная кинетика «ЗФ» - быстрые компоненты).

Реакции гомеореза биологических систем.

Реакции гомеореза биологических систем подразделяют на статические и динамические:

- Статические характеристики: индукционные кинетики «ЗФ» («ИКЗФ»);
- Динамические характеристики: температурные кинетики «ЗФ» («ТКЗФ»).

Факторы, определяющие процесс x_1, x_2, x_i.

Факторы, определяющие процесс x_1, x_2, x_i, следует различать на: *опосредованные и непосредственные*.

Опосредованные факторы:

- влияющие на тест-объект - одноклеточную водоросль Хлореллу;
- время темновой адаптации тест - объекта;
- концентрация тест - объекта;
- технология обработки гербицидами и т. д.

Непосредственные факторы:

- первоначальная температура объекта исследования;
- скорость изменения температуры объекта исследования;
- связанные с характеристиками экспериментальных установок, например:
- интенсивность возбуждающего света «ЗФ»;
- спектральный состав света возбуждения «ЗФ»;
- спектр регистрации «ЗФ»;
- выбор технологии**.**

16.1. Тестирования состояний фотосинтетического аппарата образцов перед диагностикой жароустойчивости растений проводились по реакциям «ИКЗФ».

С этой целью:

- исследуемые образцы листьев подготавливались в помещении с кондиционированием воздуха $+18^0$С и влажностью 75-80 %, в темноте;
- использовались 7 - 12 - дневные проростки исследуемых растений, которые рандомизированно помещали в кассету (в 3 – 4 –х кратной повторности) и закладывали в карусель термокамеры прибора «FLA»;
- время темновой адаптации 15 мин, при температуре $+20^0$ (условия могут корректироваться);

16.2. Диагностика жароустойчивости растений.

Диагностика жароустойчивости растений (по «классической» терминологии) проводилась по реакции «ТКЗФ» (быстрые миллисекундные компоненты) на «Фотолюминесцентном анализаторе фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA»)**.** С этой целью:

- кассету, не вынимая из карусели прибора после тестирования состояний фотосинтетического аппарата по «ИКЗФ», подвергают воздействию светом 5 х 10^3 эрг. $см^2.с^{-1}$, при температуре $+20^0$С, в течение 1мин;
- далее осуществляют регистрацию температурной кинетики «ЗФ»:
- при интенсивности возбуждающего света «ЗФ» 3 х 10^3 лк с λ= 430 нм;
- «ЗФ» регистрировали с λ> 670 нм;
- *кассеты* с образцами анализируют в двух сериях:
- первая серия: при нагреве при скорости 10°$мин^{-1}$;
- вторая серия: при нагреве при скорости 5°$мин^{-1}$;

Следует подчеркнуть, что вторую серию эксперимента при нагреве при скорости 5°$мин^{-1}$, проводят на новых образцах после тестирования состояния их фотосинтетического аппарата по реакциям индукционных кинетик «ИКЗФ».

16.3. Определение активности полиеновых антибиотиков.

Определение активности полиеновых антибиотиков проводилось по реакциям «ИКЗФ» на «FLA» (Королев**,** Конев, Туркевич и сотр., 1980). Можно использовать «ВПФД» с ФизИ по регистрации «ЗФ» и флуоресценции, но с меньшей производительностью исследуемых объектов**.** С этой целью:

- использовали тест-объект - синхронную культуру - водоросль Хлореллу, выращенную в специальных условиях эксперимента (см. ниже);
- концентрация Хлореллы составляла 3 х 10^3 клеток на I мл суспензии;
- тест-водоросль Хлореллу выращивали на среде *Тамия* и сохраняли при температуре +4°;
- подсчет клеток Хлореллы вели под микроскопом с помощью камеры Горяева в 3 – 5 - кратной повторности или большей (при статистической обработке, когда Р достигнет 0,95);
- время темновой адаптации тест - водоросли Хлореллы - 5 мин (может корректироваться);
- антибиотики растворяли в диметилформамиде или диметилсульфоксиде;
- разведения антибиотиков: 10^{-8} - 10^{-2} Моль готовились в фосфатном буфере pH 7.0;
- растворы антибиотиков вносили в суспензию клеток Хлореллы в фосфатном буфере pH 7.0 (0,5мл в соотношении 1:2);

16.4. Диагностика гербицидной и ростовой активности.

Данная диагностика (Королев, Кондратенко и сотр., 1980, 1982) проводилась по реакциям индукционных кинетик «ЗФ» («ИКЗФ») - быстрые компоненты - на «FLA» (см. рис. 12.2). С этой целью:

- *использовали* тест-растения для:
- оценки гербицидной активности – ячмень сорта «Московский 121»;
- оценки ростовой активности - пшеница сорта «Мироновская 808»;
- тест - растения выращивали:
- в песчаной культуре на полной питательной смеси Кнопа;
- в светоустановке при освещенности 9 х 10^4 эрг. $см^2.с^{-1}$;
- при световом периоде - 16 ч, темновом - 8 ч;
- при температуре 18 - 20°С.

При определении гербицидной активности:

- *ткань* листа тест-растения инкубировали методом вакууминфильтрации в растворах, содержащих гербициды в концентрации 10^{-7}–10^{-3} М;
- тест-растения перед инкубацией в растворах гербицидов выдерживали в темноте 15 мин;
- гербициды растворялись в диметилсульфоксиде или диметилформбамиде;
- доводились до требуемого объема бидистиллированной деионизированной водой с электропроводностью 5 х 10^3 $ом^{-1}.см^{-1}$;
- конечная концентрация диметилсульфоксида (диметилформбамида) в инкубационном растворе составляла 2%;
- гиббереллином (гиббереллиновая кислота - ГК) тест-растения обрабатывали в концентрациях 10^{-8} - 10^{-2} моля;
- для повышения смачиваемости и проникновения ГК в ткань листа в растворы добавляли нейонный ПАВ-твин в конц.и 0,01% от объема раствора;
- исследуемые образцы листьев закладывались в прибор в кассете 30 образца и экспонировали в темноте 5 мин;
- в трехкратной повторности;
- 7 концентраций в 3-хкратной повторности (см. таб.16.1);
- экспонировали в темноте 5 мин;
- при интенсивности возбуждающего света «ЗФ» 3 х 10^3 лк с λ = 430 нм;
- «ЗФ» регистрировали при λ> 670 нм.

Таблица 16.1

Протокол определения активности полиеновых антибиотиков, гербицидов или ростовых веществ на «FLA»

Имя файла исследуемого образца	№ п/п	Повт	Конц.	Параметры ИКЗФ			Статистические параметры для Z ИКЗФ				
				OP	KN	Z=OP/KN	Мода - M	Диспер.- S	Вариац.- V	Эксцесс - E	Ассимет.- A
AI(7747)01.FLA.06.07.16.	1	1	10^{-4}	*	*	*	*	*	*	*	*
AI(7747)02.FLA.06.07.16	2	2		*	*	*					
AI(7747)03.FLA.06.07.16.	3	3		*	*	*					
AI(7747)04.FLA.06.07.16.	4	4		*	*	*					
AI(7747)05.FLA.06.07.16.	5	5		*	*	*					
AI(7747)06.FLA.06.07.16	6	1	10^{-5}	*	*	*	*	*	*	*	*
AI(7747)07.FLA.06.07.16.	7	2		*	*	*					
AI(7747)08.FLA.06.07.16	8	3		*	*	*					
AI(7747)09.FLA.06.07.16.	9	4		*	*	*					
AI(7747)10.FLA.06.07.16.	10	5		*	*	*					
AI(7747)11.FLA.06.07.16.	11	1	10^{-6}	*	*	*	*	*	*	*	*
AI(7747)12.FLA.06.07.16	12	2		*	*	*					
AI(7747)13.FLA.06.07.16.	13	3		*	*	*					
AI(7747)14.FLA.06.07.16.	14	4		*	*	*					
AI(7747)15.FLA.06.07.16.	15	5		*	*	*					
AI(7747)16.FLA.06.07.16	16	1	10^{-7}	*	*	*	*	*	*	*	*
AI(7747)17.FLA.06.07.16.	17	2		*	*	*					
AI(7747)18.FLA.06.07.16	18	3		*	*	*					
AI(7747)19.FLA.06.07.16.	19	4		*	*	*					
AI(7747)20.FLA.06.07.16.	20	5		*	*	*					
AI(7747)21.FLA.06.07.16.	21	1	10^{-8}	*	*	*	*	*	*	*	*
AI(7747)22.FLA.06.07.16	22	2		*	*	*					
AI(7747)23.FLA.06.07.16.	23	3		*	*	*					
AI(7747)24.FLA.06.07.16.	24	4		*	*	*					
AI(7747)25.FLA.06.07.16.	25	5		*	*	*					
GI(7747)26.FLA.06.07.16	26	1	Контр без обраб.	*	*	*	*	*	*	*	*
GI(7747)27.FLA.06.07.16	27	2		*	*	*					
GI(7747)28.FLA.06.07.16	28	3		*	*	*					
GI(7747)29.FLA.06.07.16.	29	4		*	*	*					
GI(7747)30.FLA.06.07.16.	30	5		*	*	*					

*Заполняется автоматически программой FLA по результатам эксперимента.

16.5. Имена файлов, создаваемые «FLA», при определении активности полиеновых антибиотиков, гербицидов или ростовых веществ.

Примеры имен файлов, которые создает «FLA» для вышеуказанного протокола: **GI774703.FLA.06.07.16**. или **KI(7747)03.FLA.06.07.16**.

- Первый символ – ***G*** **-** контроль без обработки или гетерогенность; ***K*** **-** активность антибиотиков, гербицидов или ростовых веществ.
- Второй символ:
- ***I*** - индукционная кинетика («ИКЗФ»);
- ***T*** - индукционная («ИКЗФ») + температурная кинетика («ТКЗФ»).
- Следующие четыре символа - номер образца.
- Далее два символа - текущий номер исследуемого образца.
- Расширение (последние три символа) «FLA» (файлы принадлежат прибору «FLA»).
- Дата проведения эксперимента.

Описание экспериментальных установок.

«Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата растительных объектов» («FLA») описан в разделе 10.0.

«Компьютеризированный высокочувствительный полифункциональный фотометрический детектор (*«ВПФД»*)» описан в разделе 12.0.

Матрица планирования и результаты эксперимента.

Матрица планирования и результаты эксперимента по: диагностике гербицидной, фитогормональной активности растений; определению активности полиеновых антибиотиков; определению концентрации АТФ - однофакторный эксперимент, и поэтому матрица планирования не приводится.

С матрицей планирования многофакторного эксперимента можно ознакомиться в разделе 10.0: **«**Организация биофизического эксперимента: исследование адаптационных механизмов гомеореза биологических систем с помощью *FLA*»**.**

16.6. Экспериментальная особенность оценки тестирования.

Следует выделить экспериментальную особенность оценки тестирования состояний фотосинтетического аппарата, диагностики жароустойчивости расте-

ний, гербицидной, фитогормональной активности, определения АТФ и активности полиеновых антибиотиков.

Тестирование состояний фотосинтетического аппарата оценивалось по параметрам:

- далее регистрировали параметры «ИКЗФ»: *OP=B; KN=F; B/F=Z* исследуемых листьев в кассете (см. рис. 12.2).
- Z «ИКЗФ» - (см. рис. 12.2). Малое варьирование Z по исследуемым образцам в кассете в пределах статистической вариации V = 10 % свидетельствует об однородности состояния их фотосинтетического аппарата - отсутствии *гетерогенности* выборки.
- Термоадаптивность оценивалась по параметрам:
  - $+maxdI/dT^0$;
  - dI/dT0=0;
  - $- maxdI/dT^0$;
  - значения T^0 соответственно: $+maxdI/dT^0$; $dI/dT^0 =0$; $- maxdI/dT^0$);

значения сдвига Δ+maxdI/dT0, dI/dT0=0, -maxdI/dT0 и ΔT0*, при изменении скорости нагрева от 5° мин$^{-1}$ до 10^0 мин$^{-1}$.*

- Гербицидная, фитогормональная и активность полиеновых антибиотиков оценивалась по параметрам «ИКЗФ»(рис.12.2)**:**
- *OP, KN, Z* «ИКЗФ» находились коэффициенты *a* и *b*, по которым оценивалась концентрация гербицида или гиббереллина или полиенового антибиотика соответственно (нахождение коэффициентов *a* и *b* см. в разделе «Определение концентрации АТФ»).

16.7. Определение концентрации АТФ.

Определение концентрации АТФ оценивалось биолюминесцентным методом на установке «FLA» или «ВПФД» с ФизИ «Люминометра». Предварительно «ВПФД» предварительно калибруют с помощью чистых растворов АТФ с точно известной концентрацией и получают коэффициенты регрессии ***a*** и ***b*** (калибровочную кривую), по которой легко получить измеряемую концентрацию АТФ (как и гербицидную, фитогормональную активность растений, а также активность полиеновых антибиотиков). Все данные калибровки заносятся в протокол прибора.

Программное обеспечение (***«ПО»***) ***«ВПФД» («FLA»)*** снабжено алгоритмом, который позволяет получать массив данных для вычисления линейных соотношений между измеряемыми величинами: интенсивностью хемилюминесценции (***ХЛ***) тест-объекта люциферин-люциферазного комплекса и измеряемой аликвоты АТФ (см.рис. 16.1; рис. 16.2; таб. 16.1).

Значения попарно оцениваются, и находится функциональная зависимость, по которой рассчитываются значения экспериментальных параметров ***a, b***.

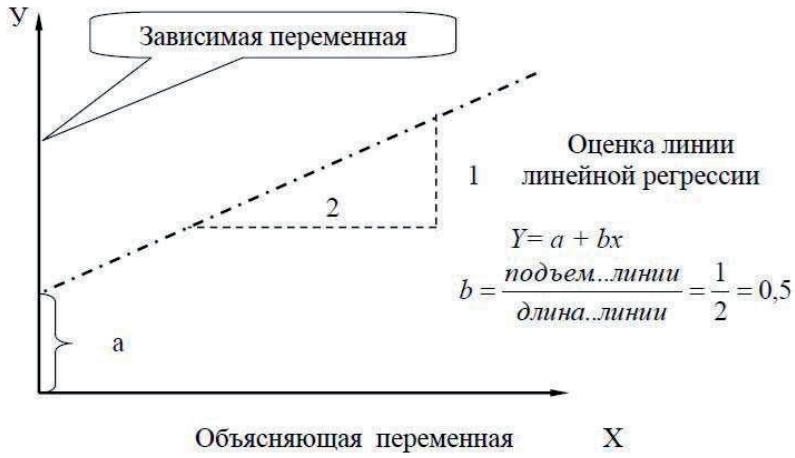


Рис. 16.1. График линейной регрессии.

где: ***X*** - концентрация АТФ, ***У*** - экспериментальные значения реакции (полученные на ***«ВПФД»***) или ***ХЛ*** люциферин - люциферазного комплекса, ***n*** пар (***X,Y***)

связанных линейной зависимостью:

$$y = a + bx \qquad (16.1)$$

«ПО» «ВПФД» позволяет оценить зависимость ***ХЛ*** от концентрации АТФ. В большинстве случаев - это прямо пропорциональная зависимость - регрессия, где сумма квадратов отклонений экспериментальных значений величины

ХЛ = У, от прямой минимальна (см.рис. 16.1.):

$$\frac{\partial S}{\partial a} = -2\sum_{i=1}^{n}(y_i - a - bx_i) = 0 \qquad (16.2)$$

$$\frac{\partial S}{\partial b} = -2\sum_{i=1}^{n}(y_i - a - bx_i)\cdot x_i = 0 \qquad (16.3)$$

Сумму квадратов разностей экспериментальных значений ***y*** и ординат соответствующих точек на аппроксимирующей прямой можно записать следующим образом:

$$\sum\left(y_{rc} - y_{teop}\right)^2 = \sum_{i=1}^{m}\left[y_i - (a + bx_i)\right]^2 = S\sum y^2 - (\sum y)^2 : n \qquad (16.4)$$

подбираются такие значения параметров ***a*** и ***b***, чтобы сумма квадратов отклонений ***S*** была минимальна. Для этого надо приравнять к нулю частные производные от ***S*** по ***a*** и ***b.***

$$\frac{\partial S}{\partial a} = -2\sum_{i=1}^{n}(y_i - a - bx_i) = 0 \qquad (16.5)$$

$$\frac{\partial S}{\partial b} = -2\sum_{i=1}^{n}(y_i - a - bx_i)\cdot x_i = 0 \qquad (16.6)$$

$$\sum_{i=1}^{n} y_i = a\cdot n + b\cdot\sum_{i=1}^{n} x_i \qquad (16.7)$$

$$\sum_{i=1}^{n} y_i\cdot x_i = a\cdot\sum_{i=1}^{n} x_i + b\cdot\sum_{i=1}^{n} x_i^2 \qquad (16.8)$$

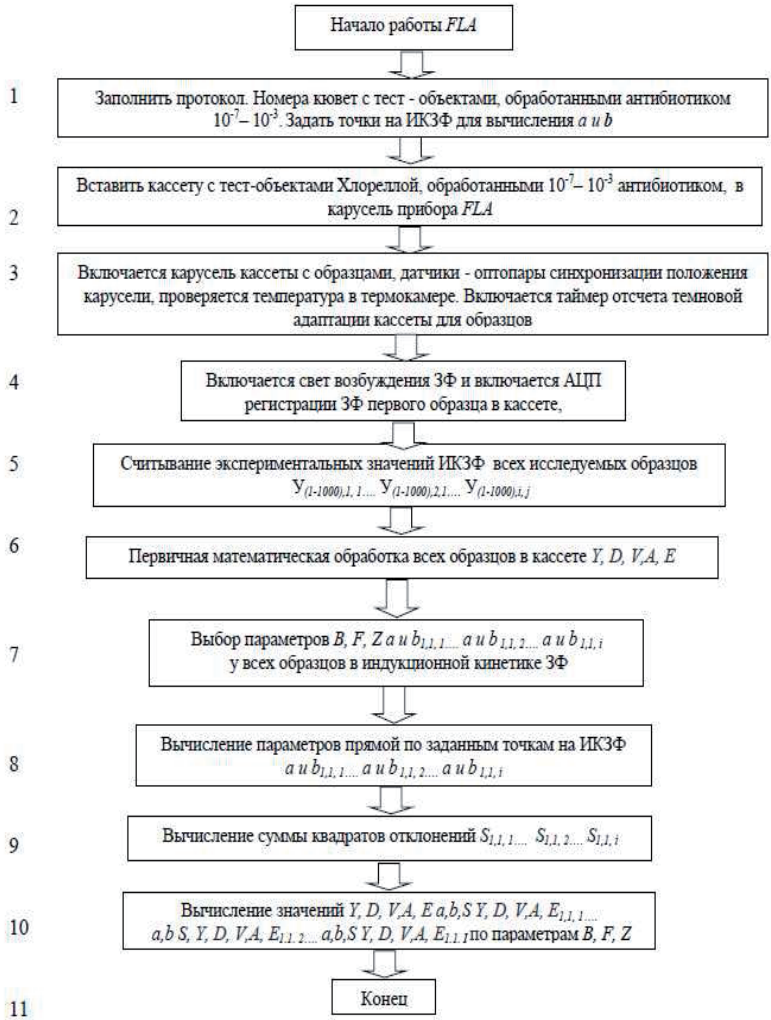


Рис. 16.2. Алгоритм определения АТФ на «FLA»

Деление обоих уравнений на (-2), раскрытие скобок и приведение подобных при параметрах ***a*** и ***b*** дает:

Введем обозначения:

$$S_1 = n; \quad S_2 = \sum_{i=1}^{n} x_i; \quad S_3 = \sum_{i=1}^{n} y_i \qquad (16.10)$$

$$S_4 = \sum_{i=1}^{n} x_i^2; \quad S_5 = \sum_{i=1}^{n} x_i \; x_i \qquad (16.10)$$

Тогда получится следующая простая система уравнений относительно параметров ***a*** и ***b***:

$$S_3 = S_1 \cdot a + S_2 \cdot b \qquad (16.11)$$

$$S_5 = S_2 \cdot a + S_4 \cdot b \qquad (16.12)$$

по экспериментальному массиву можно вычислить S_1, S_2, S_3, S_4, S_5 и решить систему уравнений относительно ***a*** и ***b***:

$$a = \frac{S_3 * S_4 - S_5 * S_2}{S_1 * S_4 - S_2 * S_2} \qquad (16.13)$$

$$b = \frac{S_1 * S_5 - S_2 * S_2}{S_1 * S_4 - S_2 * S_2} \qquad (16.14)$$

Таким образом, задача решена: диагностика работы ***«ПО» «ВПФД»*** (***«FLA»)*** по описанному выше методу линейной регрессии, выглядит следующим образом, см. таб. 16.2.

Данный алгоритм используется для оценки гербицидной; фитогормональной активности; определения АТФ; определения активности полиеновых антибиотиков. Удобный интерфейс ***«FLA»*** и ***«ВПФД»*** позволяет работать даже пользо-

вателю, не имеющему опыта в программировании и использовании компьютеров (ЭВМ) в биологических исследованиях.

17.0. Заключение.

Вот, вроде бы, конец нашей книги, но не конец проблеме, поднятой в ней.

Мы пытались осветить «Междисциплинарную концепцию адаптационных явлений гомеорезов», пожалуй, самую трудную и злободневную, но архи необходимую. Для объяснения разработки проблемы мы начали с разъяснения: исторических, теоретических и методологических вопросов науки, техники эксперимента, что помогло подойти к системному - синергетическому решению проблемы «междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Только применение многофакторного эксперимента позволило инструментально решить эту проблему. Безусловно, дискуссия не возможна без комментариев инструментальных методов исследования АПС (на примере флуоресцентных биофизических автоматизированных компьютеризированных методов) и, конечно же, без вскрытия ошибок, встречаемых в этих сложных методах, и поэтому потребовало освещения. Разработка - изучение этих явлений в различных вышеуказанных областях открывает перед наукой, практикой и обществом в целом невиданные доселе перспективы:

- новую диагностику;
- новую профилактику;
- новое лечение многих заболеваний людей и животных;
- паспортизацию по АПС и криогенное хранение их микрофлоры;
- создание поистине новых адаптивных, высокопродуктивных сортов сельскохозяйственных культур;
- возможность выведения новых высокопродуктивных (жизнестойких) сельскохозяйственных животных с паспортизаций и криогенным хранением их микрофлоры по АПС;
- новые технологии в сельском хозяйстве, например, в нарождающейся науке *precision agriculture* (Шпаар и сотр., 2009);
- повышение плодородия земли с учетом адаптивых свойств ее микрофлоры с паспортизацией ее по АПС и криогенным хранением.

Взаимодействия организации биосистем макро/микро гомеорезов между собой, с окружающей средой, безусловно, основаны на адаптационных явлениях

и имеют сложную иерархическую структуру, начиная с молекулярного уровня и кончая организменным. Можно утверждать, что *именно консенсусом*[48] *макро/микросистем с помощью «АПС» на Земле определяется жизнь вообще!*

Недаром великий Холдейм говорил о ***значении изучения*** *гомеореза* (мы уже об этом писали), чтобы подчеркнуть исключительную важность диагностики адаптационных компонентов плановых структур «АПС» в иерархии биологических сообществ: «*Активное поддержание нормальной и, при том, специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса - значит понять, что такое жизнь*!!!» (Haldane, 1935).

На этой основе в книге авторами обосновывается зарождение новой междисциплинарной науки: «Синергетики гомеорезов биологических систем», использование которой позволит решить многие проблемы в биологии, медицине, микробиологии, сельском хозяйстве и в других смежных областях.

В монографии мы стремились показать истоки «Междисциплинарной концепции адаптационных явлений гомеорезов». Но для этого потребовалось осветить:

- определение и значение науки;
- методологию научного исследования;
- схему научного исследования;
- постановку вопросов и задачи исследования;
- роль гипотезы и контргипотезы;
- понятие о теоретических исследованиях;
- сущность эксперимента;
- критику современных методов исследоования (на примере методов диагностики жароустойчивости и повреждения растений): их ограниченность и малую информативность в связи с их однопараметричностью при исследовании гомеорезов и, вытекающую отсюда, острую потребность в многофакторных методах;
- необходимость системного синергетического подхода к проблеме адаптативных явлений в «Междисциплинарной концепции адаптационных явлений

[48] Консенсус (лат. consensus – согласие, сочувствие, единодушие) – способ разрешения конфликтов при принятии решений, если отсутствуют принципиальные возражения у большинства заинтересованных лиц.

гомеорезов» с применением многофакторного анализа и его автоматизацию (пять задач по Триммеру);

- что такое многофакторное планирование БЭ;
- протокол эксперимента или документацию - лабораторный журнал;
- как производят планирование эксперимента;
- автоматизацию экспериментов на базе ЭВМ (компьютеров);
- функции, возложенные на ЭВМ (компьютер);
- историю развития автоматизации БЭ;
- роль интерфейсов, по ЭВМ в прецизионных измерениях, управлении многофакторным БЭ;
- сопряжение ЭВМ с внешними устройствами в БЭ;
- типы интерфейсов и структуру разработки «ПО» для автоматизированного биологического эксперимента (БЭ);
- разработку биофизического автоматизированного «Фотолюминесцентного анализатора фотосинтетического аппарата» (FLA) с его описанием;
- пример эксперимента исследования организации (синергетики) адаптационных механизмов (плановых структур) гомеореза биологических систем с помощью FLA;
- разработку автоматизированного компьютеризированного «Высокочувствительного полифункционального фотометрического детектора» («ВПФД») с его описанием;
- преимущество и эффективную полифункциональность, структуру программного обеспечения и физических интерфейсов (ФизИ) «ВПФД»:
    - ФизИ», как пламенного - фотометрического детектора (ПФД);
    - ФизИ, как озономера;
    - ФизИ, как люминометра;
    - ФизИ для определения липорастворимых антиоксидантов;
    - ФизИ для регистрации фотоиндуцированной «ЗФ» и флуоресценции;
    - ФизИ для оценки качества морепродуктов.
- Классификацию проблем/ошибок, встречаемых при организации биофизических экспериментов с использованием флуоресцентных методов на базе оптики, компьютеров и микропроцессоров.

Ряд полезных и критических замечаний высказал мой брат канд. физ. мат.

наук лауреат государственной премии Королев В.Н., которому высказываем слова благодарности.

Хочется вызать слова памяти, благодарности признательности другу – товарищу - учителю замечательному человеку - инженеру – элетронщику кан. биол. наук Вадиму Серевичу Маренкову, к сожалению рано ушедшему от нас.

Мы признательны нашему верному и скромному коллеге Пальчикову Л.В. за ряд ценных замечаний и оказание помощи в оформлении книги.

Авторы выражают глубокую признательность Кашириной С.А. за редакцию книги, которая доброжелательно, твердой рукой исключила из текста не желательных фрагментов, спокойно доказывала авторам свою правоту и довела текст рукописи до кондиции научного языка.

Особая благодарность и признательность ответственным редакторам и редактору книги за корректную и добрую атмосферу при работе над изданием.

18.0. Цитируемая литература.

1. Агроскин А.С. Папаян Г.В. // Цитофотометрия ДНК в растительных клетках. В кн.: «Цитофометрия», Л., Наука, 1977, с.271 - 273.
2. Аксенов С.И., Воронков А.Е., Гельфанд В.Е. // Спектрометр спинового эхо для исследования воды в растительных и животных тканях. Биолог. Науки, 1971, №.12, с.109.
3. Александров В.Я., Насонов Д.Н. // Реакция живого вещества на внешние воздействия. М - Л, 1940, Наука, с. 8 – 15.
4. Александров В.Я. // О связи между теплоустойчивостью протоплазмы и температурными условиями существования. Докл. АН СССР, 1952, т.83, вып.1, с. 44 - 47.
5. Александров В.Я. // Цитологическая оценка различных методов определения жизнеспособности растительных клеток. Труды Ботан. инс. АН СССР 1955, сер.4, Экспер. ботан.,10, с.12 - 17.
6. Александров В.Я. // Цитофизиологический анализ теплоустойчивости растительных клеток и некоторые задачи цитоэкологии. Ботан. журнал, 1956, т.41, n.7, 939 с.
7. Александров В.Я. // О биологическом смысле соответствия уровня теплоустойчивости белков температурным условиям существования вида. Успехи современной биологии, 1965, том.7, № 4, с. 447 – 466.

8. Алексанндров В.Я., Алексеева Н.И. // Теплоустойчивость окислительного фосфорелирования и ее роль в развитии теплового повреждения растительных клеток. Цитология, 1972, т.14, № 5, с.591-597.

9. Александров В.Я. // Клетки, макромолекулы и температура. Л., Наука, 1975, 327 с.

10. Александров В.Я. // Реактивность клеток и белков. Л., Наука, 1985, 317с.

11. Анев В.Н., Веселов В.А.,Тарусов Б.Н. // Влияние тепловой закалки на содержание сульфгидридных групп в листьях гороха. Биол. Науки, 1976, n.7, с. 99 - 102.

12. Арманд А.Д. // Самоорганизация и саморегулирование географических систем. М., Наука, 1988. 261 с.

13. Бабушкин Л.Н., Барабальчук К.А. // Способ определения жароустойчивости растений. Авт. свид. СССР № 457445;1973.

14. Бабушкин Л.Н.. // Механизм и физиологическая роль устьичных движений. Кишинев, Штиинца, 1975, 145 с.

15. Барабальчук К.А. // Изменение интенсивности флуоресценции хлорофилла в листьях традесканции после нагрева. Цитология, 1970, №.10, с.1225 - 1247.

16. Балашов Е.В. // О методах измерения транспирации и водных потенциалов листьев и корней растений. Современные методы исследований в растениеводстве. Л., НТО, 1989, с. 4 -5.

17. Барская Е.И. // Термостолик к микроскопу. Физиол. раст., 1973, т.20, вып. 4, с. 862 – 863.

18. Батуева Р.А., Агавердиев А.Ш. // Определение повреждаемости теплолюбивых растений с помощью перекиси водорода. В кн.: «Сверхслабое свечение в с/х и медицине». М., МГУ, 1974, с.154 -157.

19. Бауэр Э.С. // Теоретическая биология. М - Л, изд. ВИЭМ, 1935, 87с.

20. Бейли Н. Математика в биологии и медицине.. М. МИР, 1970, 253 с.

21. Беликов И.С., Гэй Б.А. // Временной ход выделения веществ из листьев пшениц в условиях нарастающего обезвоживания. Изв. ТСХА, 1959, вып.2, с.77 - 83.

22. Белимов А.А., Кунаков А.М., Груздева Е.В. // Влияние pH почвы на взаимодействие ассоциациативных бактерий с ячменем. Микробиология. 1998. Т.67, №4 с.561 -568.

23. Бернал Д. Д. // Наука и общество. М., «Иност. лит», 1953, 157с.

24. Бернер Г., Бензен Ф. // О пригодности флуоресцентного микроскопа - фотометра «флуовал - фотометр» для оценки препаратов слизистой оболочки рта, орошенным производными акридина. ГДР, Йена, «Йенское обозрение»,1974, №.6, с. 7 - 10.

25. Бирюков В. В., Каятерв В.М. // Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. М.: Наука, 1985; 295 с.

26. Болховский З.В. // Анатомо-физиологические исследования некоторых декоративных растений в связи с их зимостойкостью. Эксп. бот., 1955, сер. IV, вып.10, с. 139 - 154.

27. Большой энциклопедический словарь, 1-е изд., т.63, 1933, 503 с.

28. Бородюк Н.Р., Тарусов Б.Н. // К вопросу об эффекте продольного рассеивания света. Биофизика, 1978, т.23, вып.4, с.723 - 727.

29. Бриллиант В.А. // Фотосинтез как процесс жизнедеятельности. Изд. М - Л., АН СССР, 1949, с.32 -42.

30. Брюггер У., Джурс П., Стьюпер Э. // Машинный анализ связи химической структуры и биологической активности. М., «Мир», 1982, 232с.

31. Бурзукашвили Э.Л.,Гордецкий А.В.,Снакин В.В. и сотр. // Генетически детерминированные особенности ионного гомеостаза (ИГК) в популяции растений, различающихся устойчивостью к водным стрессам. Тез. док. Всесоюзной конференции: «Проблемы и пути повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции», Л., 1981, 147с. .

32. Бурбаки. // Архитектура математики; приложение к книге: «Очерки по истории математики». Пер. с франц., М., «Иност. Лит»., 1963, 245 с.

33. Быков О.Д., Иванов О.В. // Установка для исследования кинетики фотосинтетического газообмена по $^{12}CO_2$ и $^{14}CO_2$. В кн.: «Методы комплексного изучения фотосинтеза». Л., Вир, 1973, вып. 2, с.33 - 54.

34. Быков О.Д., Королев А.М. // Способ сравнения методов определения жароустойчивости растений. IV Респуб. конф.: «Физиологические основы повышения продуктивности и устойчивости зерновых культур». Казахстан, Каскелен, 1980, 1 - 4 июля, с. 42 – 47.

35. Быков О.Д., Королев А.М. // О компонентах адаптивности растений. IV Респуб. конф.: «Физиологические основы повышения продуктивности и устойчивости зерновых культур». Казахстан, Каскелен, 1980, 1 - 4 июля, с. 48 – 53.

36. Ваганов А.П., Лясковский Г.М., Романов А.А. // Полевой прибор для определения относительной транспирации растений. В кн.: «Тезисы 2 - ого Всесоюзного симпозиума», Кишинев, 1977, 16 - 18 ноября, 120 с.

37. Валесян А.Л. // Пространственная устойчивость систем расселения и эволюционная морфология транспортных сетей. Изв. РАН, серия: «География», 1994, №6, с.52-60.

38. Василенко С.М. // Применение математического планирования эксперимента для изучения биохимических механизмов // Получение, исследование, применение антибиотиков и биологически активных веществ: Тез. докл. международ. конф. молодых ученых, 27-30 марта 1990 г. М., 1990. с.21 -29.

39. Васильева Н.Г. // Изменение проницаемости протоплазмы клеток листьев яровой пшеницы при орошении. Докл. АНСССР, 1953, т. 88, вып. 3, стр. 145 - 150.

40. Василенко С.М. // Применение математического планирования эксперимента для изучения биохимических механизмов. // Получение, исследование, применение антибиотиков и биологически активных веществ. Тез. докл. Международ. конф. молодых ученых, Пущино, 1990, 27-30 марта, с. 21 - 25.

41. Васин Ю.А., Казаков А.С., Верхотуров В.Н. и сотр. // Исследование организации фотосинтетического аппарата у кукурузы и гороха методом поляризационной спектроскопии. Кишинев, Тезисы докладов 2-ого Всесоюзного симпозиума, 1977, 16 - 18 ноября, 119 с.

42. Введенский Н.Е. // Возбуждение, торможение и наркоз. Л., изд. ЛГУ, Собр. соч., 1953, т. 4, с. 55 – 134.

43. Венедиктов П.С., Маторин Д.И., Рубин А.Б. и сотр. // Исследование индукционных кривых замедленной флуоресценции зеленых растений. Биол. науки, 1978, № 2, с. 35 – 41.

44. Вентцель Е.С. // Теория вероятностей. М., Наука, 1969, 256 с.

45. Веселовский В.А., Джанумов Д.А. // Изучение биофизическими методами адаптационной реакции растений в связи с проблемой устойчивости. В кн.: «Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве». М., МГУ, 1974, с. 89 – 98.

46. Веселовский В.А., Веселова Т.В., Маркарова Е.Н. и сотр. // Теплоустойчивость фотосинтетического аппарата хлопчатника при заболевании вилтом хлопчатника. С/х биология, 1976, т. 11, № 5, с. 695 – 699.

47. Веселов С.Ю., Шарипова Г.В., Тимергалин М.Д. и сотр. // Прогноз засухоустойчивости по содержанию абсцизовой кислоты и изучение возможности процедуры ее количественной оценки в растениях пшеницы. Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2011, том.13, № 5(3), стр.17 – 20.

48. Владимиров Ю.А., Львова О.Ф. // Сверхслабое свечение и окислительное фосфорилирование в митохондриях. Биофизика, 1964, т. 9, в. 4, с. 506 – 512.

49. Владимиров Ю.А., Оленев В.И., Суслова Т.Б. // О роли ионов железа в хемилюминесценции липидов. Биофизика, 1968, т. 13, в. 6, с. 723 – 734.

50. Водяной В.Я., Зубов А.Н., Котов Б.Н. // Метод раздельной регистрации активной и реактивной составляющих неспецифического импеданса биологических объектов. Цитология, 1972, т . 14, № 6, стр. 797 - 799.

51. Воеводин А.В., Кондратенко В.И., Королев А.М. // Применение замедленной флуоресценции для изучения влияния гербицидов на фотосинтетический транспорт и фотофосфорелирование. Ереван, Тезисы Респуб. Конф. по защите растений, 1980, с. 112 - 116.

52. Воеводин А.В., Кондратенко В.И., Королев А.М. и сотр. // Использование метода замедленной флуоресценции для диагностики термоадаптивности растений, оценки активности гербицидов, гиббереллинов и полиеновых антибиотиков. Л., Современные методы исследований в растениеводстве, 1989, с. 12-16.

53. Володарский Н.И., Быстрых Е.Е. // Активность реакции Хилла в онтогенезе подсолнечника при засухе. С.-х. биология, 1973, т.8, в.5, с. 652-657.

54. Волкова А.М., Маткалюк О.Б. // Определение жаро-, засухоустойчивости сортов пшениц по интенсивности роста проростков. Бюлл. ВИР, 1976, вып. 63, стр. 24 - 26.

55. Волкова А.М., Королев А.М. // Изменение фотоиндуцированной хемилюминесценции листьев пшениц при действии высоких температур. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1979, т. 64, в. 3, с. 92 – 95.

56. Всесоюзное совещание: «Люминесцентные методы исследования в сельском хозяйстве и перерабатывающей промышленности». Минск, 1985; с. 185 – 190.

57. Всесоюзное совещание: «Биохемилюминесценция в медицине и сельском хозяйстве». Ташкент, 1986, 188 с.

58. Гаврилюк И.П. // Иммунохимический анализ растительных белков в связи с селекцией на качество. В кн.: «Растительные белки и их биосинтез». М., «Наука», 1975, стр. 31.

59. Гавриш О.Г., Гурвич А.Г. // Подлинная история биологического поля. Химия и жизнь, 2003, № 5, с. 32 – 37.

60. Галкин В. И., Кошкин В.А.,Поляков М.И. и сотр., // Регрессионный анализ сортовых различий в скорости фото- и биохимических реакций фотосинтеза растений. Труды по прикл. бот. ген. и селек. - Л.: ВИР, 1978, с.62 - 67.

61. Гасанов Р.А., Мамедов Т.Г., Тарусов Б.Н. // О взаимосвязи сверхслабой хемилюминесценции и жароустойчивости растительных организмов. Доклады АНСССР,1963, т. 153, вып. 4, стр. 232 - 236.

62. Гельфанд И.М., Гурфинкель В.С. и сотр. // О тактиках управления сложными системами в связи с физиологией. В кн.: «Биологические аспекты кибернетики». М., АН СССР, 1962, 330 с.

63. Генкель П.А., Цветкова И.В. // Влияние солей на вязкость протоплазмы и жароустойчивость растительных клеток. Доклады АНСССР, 1950, т. 76, № 4, стр. 201 - 208.

64. Генкель П.А., Морголина К.П. // О вязкости протоплазмы и жароустойчивости вегетативных и генеративных органов у растений. Доклады АНСССР, 1952, т. 86, № 8, стр. 225 - 230.

65. Генкель П.А, Шеломова Н.А. // Диагностика жаро- и засухоустойчивости растений методом фотометрического определения статолитного крахмала. С - х биология, 1970, т. 15, № 3, стр. 272 - 276.

66. Гирогосиан П., Лорд Н. и сотр. // Вычислительные машины будущего. М., «Мир», 1987, с. 345.

67. Голодрига П.Я., Китлаев Б.Н., Тарусов Б.Н. // Способ определения жароустойчивости биологических объектов. Авт. Свид. СССР № 23; 1967.

68. Горбунова А.А., Лемешко Б.Ю. Лемешко С.Б. // Критерии. Измерительная техника. М., 2010, № 3, с. 10 – 16.

69. Годнев Т.Н., Ефременко Р.В. // О влиянии температуры на спектральные свойства суспензии водорослей и изолированных хлоропластов. Доклады АНСССР, 1960, т. 181, № 6, с. 1444 - 1446.

70. Григорьев Ю.С., Гольд В.М., Гаевский Н.А. и сотр. // Изучение индукционных переходов флуоресценции у разных групп растений. Физиол. раст., 1973, т.20, с.747-751.

71. Гродзинский Д.М. // Надежность растительных систем. Киев.: Наукова Думка, 1963, 364 с.

72. Груздева Е.В., Яковлева О.В., Косарева И.А. и сотр. // Каталог мировой коллекции ВИР, Ячмень. Лабораторная оценка образцов ячменя на кослото-устойчивость (Al^{3+}, Mn^{2+})/ СПб, 1998. ВИР. Вып. 701. 27с.

73. Груздева Е.В., Косарева И.А., Разоренов Г.И. // Функциональное моделирование устойчивости ячменя к комплексному эдафическому стрессу. В сборнике: Информационные технологии, информационные измерительные системы и приборы в исследовании сельскохозяйственных процессов материалы Региональной научно-практической конференции «АГРОИНФО 2000». Сибирский физико-технический институт аграрных проблем. 2000. с. 278-288.

74. Гунар И.И., Синюхин А.М. // Зависимость биопотенциалов растительной клетки от физиологического состояния организма. Изв. ТСХА, 1959, № 4, с.7 - 10.

75. Гусев Н.А. // Некоторые методы исследования водного режима растений. Л., «Колос», 1960, стр. 59 - 62.

76. Гусев Н.А. // Физиология водообмена растений. Казань, изд. КГУ, 1966, 112 с.

77. Гусев Н.А. // О структурно-образовательном значении внутриклеточной воды. В сб.: «Состояние воды и водный обмен у культурных растений». М., Наука, 1971, 38 с.

78. Данилов В.С., Егоров Н.С. // Бактериальная биолюминесценция. М., МГУ, 1990, 152 с.

79. Джанумов Д.А., // Исследование влияния экстремальных факторов среды на растения методом фотоиндуцированной хемилюминесценции. М., МГУ, Авт. канд. дисс., 1971, 165 с.

80. Джанумов Д.А., Веселовский В.А., Тарусов Б.Н. и сотр. // Изучение температурной устойчивости растений методами спонтанной и фотоиндуцированной хемилюминесценции. Физиол. раст., 1971, т.18, вып. 3, стр. 588 - 593.

81. Джанумов Д.А., Бочаров Е.А., Вшивцев В.С. и сотр. // Способ экспрессного определения морозоустойчивости растений. Авт. свид. СССР № 499856; «Открытия, изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки». М., 1976, № 3, 344 с.

82. Довнар В.С. // Методика получения световых кривых чистой продуктивности фотосинтеза в вегетационных условиях. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1978, в. 3, т. 61, с. 72 – 81.

83. Должников В.И., Жуков Ю.А. // Методика изучения устойчивости растений методом исследования электропроводности в широком диапазоне частот. Петрозаводск, «Биофизические и системные исследования в лесной биогеоценологии». 1976.21 с.

84. Доскоч Я.Е., Тарусов Б.Н., Агавердиев А.Ш. // Биофизические методы диагностики устойчивости растений к неблагоприятным температурным условиям. В кн.: «Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды», Л. «Колос», 1976, с. 213 - 219.

85. Думанский А.В. // Учение о коллоидах. М., Госхимиздат, 1948, 72 с.

86. Ефимов Е.И., Архипов В.Н., Лелеткин В.А.и сотр. // Исследование биосинтеза хлорофилла в этиолированных листьях методом скоростной спектрофометрии. Биол. Науки, 1977, № 5, с. 45 - 49.

87. Жданов Г.Б. // В кн.: «Современный детерминизм. Законы природы. М., «Мысль», 1973, 526 с.

88. Жолкевич В.Н. // Особенности обмена веществ при различных условиях водоснабжения растений. В кн.: «Биологические основы орошаемого земледелия». М., АН СССР, 1957, с. 519 - 535.

89. Журавлев А.И. // Квантовая биофизика животных и человека. М., БИНОМ, Лаборатория знаний, 2011, 398 с.

90. Зеленский М.И., Клементьева И.И. // Потенциометрический метод исследования фотохимической активности изолированных хлоропластов. В кн.: «Методы комплексного изучения фотосинтеза», под ред. Быкова О.Д. Л., Вир, 1973, вып. 2, с. 127 - 141.

91. Зеленский М.И., Могилева Г.А., Шитова И.П. // Сортовое разнообразие яровых пшениц по фотохимической активности хлоропластов. Бюлл. ВНИИ растениевод., 1979, в. 87, с. 36-40.

92. Зотиков А.А., Шифферс А.А. // Изменения поляризованной флуоресценции клеток при их повреждении. Известия АН СССР, серия биология, 1973, № 5, с. 744 -747.

93. Зубкус О.П., Новоселова А.Н., Севрова О.К. // Использование ответной биоэлектрической реакции для оценки жароустойчивости растений. Л., тезисы

докладов совещания: «Методы оценки устойчивости растений к благоприятным условиям среды», 1973, 190 с.

94. Ивакин А.П. // Влияние высоких температур на листья томатов в естественных условиях. Л., Бюллетень ВИР, 1976, с. 66 -69.

95. Иванов Н.Н. // Методы физиологии и биохимии растений. М - Л., Сельхозиздат, 1946, с. 494.

96. Иванов О.В. // Применение электронных весов в комплексных исследованиях фотосинтеза. В кн.: «Методы комплексного исследования фотосинтеза», Л., Вир, вып. 2., 1973, с. 129 - 151.

97. Иогансен В.Л. // Элементы точного учения об изменчивости и наследственности. М - Л., 1933, 147 с.

98. Извозчиков В.П., Бахмет В.П. // К методике учета свободной и связанной воды в растительных объектах. Физиол. раст., 1968, т. 15, № 4, с. 71 - 76.

99. Илькун Г.М., Юдин Ю.Н., Клюкина Л.К. и сотр. // Энергия активации как индикатор устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды. Л., Тезисы Всесоюз. конф. по проблемам и путям устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции, 1981, с. 89 -90.

100. Инге - Вечтомов С.Г. // Принцип поливалентности матричных процессов. В кн.: «Исследования по генетике», под ред. Корогодина В. И., 1976, вып. 7, с. 27 – 39.

101. Инге - Вечтомов С.Г. // Неоднозначность матричных процессов как фактор адаптации. В кн.: «Системы надежности клетки». Киев, Наукова Думка, 1977, с.75 - 85.

102. Казначеев В.П., Михайлова Л.П., Шурин С.П. и сотр. // Открытие № 122: «Явление межклеточных дистанционных электромагнитных взаимодействий в системе двух тканевых культур». Гос. Реестр открытий СССР, раздел: «Человек. Биология». Приоритет от 15 февраля 1966.

103. Карапетян Н.В., Климов В.В., Ланг Ф. и сотр. // Исследование индукционной флуоресценции листьев кукурузы в аэробных условиях. Физ. растен., 1971, т. 18, вып. 3, с. 112 - 116.

104. Карнаухов В.П. // Люминесцентный спектральный анализ клетки. М., «Наука», 1978, с. 207.

105. Кикнадзе Г.С. // Влияние теплового повреждения на интенсивность флуоресценции хлорофилла в листьях традесканции. Цитология, 1965, т. 7, № 2, с. 197 - 204.

106. Китаев О.И. // Использование люминесцентного микроспектрального метода для оценки реакции пластидного аппарата плодовых растений на экстремальные воздействия. Л., тезисы докладов Всесоюзной конф. по проблемам повышения устойчивости растений к болезням и экстр. условиям среды в связи с задачами селекции, 1981, 60с.

107. Китлаев Б.Н, Голодрига П.Я., Тарусов Б.Н. // Способ определения жароустойчивости биологических объектов. Авт. свид. СССР № 231948; 1967.

108. Китлаев Б.Н. // Длительное послесвечение и термоустойчивость растений. М., Автореф. канд. дисс., 1969.

109. Клюкина Л.К, Юдина Ю.Н., Кишко Я.Г. // Резонансные спектры молекул связанной воды как специфический индикатор сортовых особенностей озимых пшениц. Кишинев, Тезисы 2 - ого Всесоюзного симпозиума, 1977, 16 - 18 ноября, 115с.

110. Козорезов В.П., Погорезова Р.Ф. // Полевые приборы для измерения импеданса как показатели жизнеспособности древесных растений. Кишинев, тезисы Всесоюзной конференции: «Биоприбор-81»,1981, 82с.

111. Козлов Ю.П., Тарусов Б.Н. // Определение свободно-радикальных состояний в облученных биологических системах методом привитой сополимеризации. В сб.: «Свободно - радикальные процессы в биологических системах». М., «Наука», Труды МОИП, 1966, т. 16, 31с.

112. Козлов Р.С., Сивая О.В., Кречикова О.И. и сотр. // Антибиотикорезистентность Streptococcus pneumoniae в России в 1999-2005 гг.: результаты многоцентровых проспективных исследований ПеГАС-I, ПеГАС-II. Клин Микробиол Антимикроб Химиотер 2006; № 8: с.33-47.

113. Кожушко Н.Н., Удовенко Г.В. // Характер метаболизма белка и нуклеиновых кислот при адаптации к различным типам засух. Физиол. растен., 1975, т.22, вып. 6, с. 1239 - 1244.

114. Колкунов В.В. // О транспирации и засухоустойчивости культурных растений. Ж-л: «Новый агроном», 1926, № 9, с. 42 -44.

115. Клипсон Н.А., Мамедов Т.Г., Тарусов Б.Н. // Люминесцентный метод исследования свободнорадикальных состояний. В сб.: «Биолюминесценция», М, «Наука», Труды МОИП, 1965, т. 21, 107с.

116. Конарев В.Г. // Принципы белковых маркеров в генетическом анализе исходного и селекционного материала. В кн.: «Физиология растений в помощь селекции» М., Наука, 1974, 242с.

117. Конев С.В., Аксенцев С.П., Черницкий Е.А. // Кооперативные переходы белков в клетке. Минск, 1970 , 275с.

118. Конев С.В., Лыскова Е.Н., Черницкий Е.А. // Проявление кооперативных свойств дрожжевых клеток в их реакциях на солевой состав окружающей среды. Биофизика, 1972, т. 17, с.833 - 838.

119. Конев Ю.Е., Митницкий А.Б. // О нумерической таксономии мутовчатых актиномицетов. Микробиология, 1980, т.49, вып.1, С.II0-II6.

120. Корж Б.В. // Установка для изучения газообмена листьев растений в условиях непрерывного и прерывистого освещения. Л., Тез. докл. Всесоюз. совещ. по унификации методов и приборов для массовых измерений интенсивности фотосинтеза, 1970, с. 48 - 51.

121. Корж Б.В. // Способ определения интенсивности дыхания зеленых растений на свету. Авт. св. СССР № 337096, 1972.

122. Корж Б.В. // Использование коротких серий импульсного освещения для изучения процесса фотосинтеза дыхания зеленых растений на свету. Дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук, 1976, 194 с.

123. Королев А.М. // Прибор для определения интенсивности фотосинтеза и дыхания растений. Авт. свид. СССР № 423429;1972г.

124. Королев А.М. // Определение жароустойчивости методом послесвечения. Л., Бюллетень ВИР, 1973, вып. 93, с. 45 - 49.

125. Королев А.М. // Электронное устройство программного регулирования температуры. Л., Бюллетень ВИР, 1976, вып. 70, с. 79 - 80.

126. Королев А.М. // Установка для регистрации короткоживущих компонент послесвечения. Л., Бюллетень ВИР,1977, вып. 70, с. 35 - 41.

127. Королев А.М. // Сравнение и особенности некоторых методов оценки жароустойчивости пшеницы. Л., Бюллетень ВИР, 1978, вып. 70, с. 42 - 45.

128. Королев А.М. // Определение жароустойчивости пшениц методом послесвечения. Л., Бюллетень ВИР, 1979, № 93, с. 82 - 84.

129. Королев А.М. // Определение жароустойчивости яровых зерновых по амплитудно - частотным характеристикам импеданса. Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции 1979, т. 64, вып. 3, с. 96 - 98.

130. Королев А.М., Конев Ю.Е., Терешин И.М. // Фотохимические изменения в мембранах актиномицетов. В кн.: «Фотобиология животной клетки». Л., Наука, 1979, с. 219 – 220

131. Королев А.М. // Исследование фотосинтетического аппарата различных пшениц и эгилопсов методом замедленной флуоресценции. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1980, вып. 2, т. 67, с. 45 - 48.

132. Королев А.М., Конев Ю.Е., Туркевич Г.Б. и сотр. // Способ определения активности полиеновых антибиотиков. Авт. свид. СССР № 741154; 1980.

133. Королев А.М., Удовенко Г.В. // Установка для одновременной регистрации послесвечения и флуоресценции фотосинтезирующих организмов для изучения механизмов их устойчивости к факторам вешней среды. Л., ЛСХИ, Научно - теоретическая конференция, 1981а, 160 с.

134. Королев А.М. // Установка для одновременной регистрации послесвечения и люминесценции фотосинтезирующих организмов для изучения механизмов их устойчивости к абиотическим факторам внешней среды. Ивано-Франковск, Тезисы докладов совещания по «Биолюминесценции», 1981б, с. 1 - 6.

135. Королев А.М., Кондратенко В.И. // Применение замедленной флуоресценции для изучения влияния гербицидов на фотосинтетический транспорт и фотофосфорелирование. Бюллетень ВИЗР, 1982, с. 32 - 37.

136. Королев А.М., Банкин М.П., Исламов С.С. и сотр. // Устройство: «Пламенно - фотометрический детектор для анализа почвенного воздуха». Проспект ВДНХа, 1987. Экспонат награжден Серебряной и Бронзовой медалями ВДНХа.

137. Королев А.М., Исламов С.С., // Пламенно-фотометрический детектор для газовой хроматографии. Л., ЦНТИ, Информационный листок № 451-88, 1988, с. 4. (Прибор награжден бронзовой и серебряной медалью ВДНХа, дипломами Российских и международных выставок).

138. Королев А.М., Василенко С.М., // Методы многофакторного анализа в процедуре идентификации биохимических механизмов с целью классификации биологических объектов. Ленинград, Научно – технический Бюллетень Агрофизического НИИ, 1990, № 79, с. 58 – 42.

139. Королев А.М. // Фотолюминесцентный анализатор фотосинтетического аппарата растительных объектов. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1993 , т. 149, с. 103 - 106.

140. Королев А.М. // Доработка «полифункционального высокочувствительного фотометрического детектора». Ж-л для любителей и профессионалов: «Радиолюбитель», № 9, 2006, с. 47 - 51.

141. Королев А.М. // Манометрический многоканальный компьютеризированный газоанализатор для динамических измерений. Ж-л для любителей и профессионалов: «Радиолюбитель», №7, 2008, с. 25 - 29.

142. Королев А.М., Овечкин К.И., Исламов С.С. и сотр. // Высокочувствительный полифункциональный фотометрический детектор («ВПФД»). Ж-л: «Заводская лаборатория», 2005, № 5, с. 22 - 25.

143. Королев А.М. // Микропроцессорный анализатор импеданса растительных объектов (RUSLAN). Ж-л для любителей и профессионалов: «Радиолюбитель», 2009, № 6, с. 14 - 20.

144. Королев А.М., Можельский А.Н. // Универсальный фотометрический прибор (УФП). Ж-л для любителей и профессионалов: «Радиолюбитель», 2011, № 6, с. 54 - 57.

145. Королев А.М., Можельский А.Н., Кузнецов С.Ю. и сотр. // Организация биофизического эксперимента. Проблемы и возможности их решения. Lambert Academic Publishing, 2016, 220 с.

146. Корота В.В., Саталькин Г.И., Алешин Н.Е. и сотр. // Послесвечение растений при хлоридном засолении. Труды Кубанского СХИ, 1978, в. 162, с. 43 - 46.

147. Косарева И.А., Давыдова Г.Д., Семенова Е.В. и сотр. // Срининг селскохозяйственных культур с цель обеспечения стабильности растениеводства. Мат. Сессии Северо –Западного отделения РАСХ (21 – 22 июля 1998 г.) СПб. 1998, с 13 -15.

148. Косарева И.А., Разоренова Г.И., Груздева Е.В. и сотр. // Математическое моделирование ростовых процессов ячменя при действии комплесного эдафического стресса. Мат. IV съезда Всеросс. Общ. Физиологов растений (6 - 10 окт.1999). М., 1999, 603 с.

149. Кошкин В.А., Лимарь Р.С., Галкин В.И. // Потенциальная интенсивность фотосинтеза пшеницы при оптимальных сочетаниях освещенности и температуры листа. Л., Бюллетень ВИР, 1975, с. 53 - 60.

150. Кошкин В. А., Лискер И. С., Мережко А. Ф., Драгавцев В. А., Косарева И. А. // Способ определения у длиннодневных злаковых растений форм

различной скороспелости и фотопериодической чувствительности. Патент на изобретение №: 2300193. 2007 г.

151. Кринкер М.С., Петрушенко В.В. // Комплексная физиологическая методика прогнозирования устойчивости растений к повреждающим агентам. Л., Тезисы Всесоюз. конф. по проблемам и путям повышения устойчивости растенений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции, 1981, с. 61 - 62.

152. Кувалдин Э.В., Сурин В.Г. // Специализированный фотометр для измерения патологических и физиологических измерений в растениях. Оптический журнал, 1998, № 5, с. 43 - 46.

153. Кузнецов С.Ю., Королёв А.М., Овечкин К.И. // Системный анализ причин неэффективного лечения хронического инфекционного простатита антибактериальными средствами. Железноводск, ЛПУ Санаторий им. 30-летия Победы, Научно - практическая конференция «Актуальные вопросы урологии и андрологии». 5 ноября 2002, 128 с.

154. Кун Т. // Структура научных революций. М., «Прогресс», 1975, с. 150 - 160.

155. Курылович В., Пашкевич А. //Нумерическая таксономия микроорганизмов. Успехи микробиологии 1974, вып. 9, с. 3. с.210 – 214.

156. Лайск А., Оя В. // Изменение сопротивления мезофилла сосны в ответ на быстрое обезвоживание листа. Физ. раст., 1971, т. 18. вып. 3. с. 553 - 562.

157. Лисенков А.Н. // Математические методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов. М., Медицина, 1979, с. 230 - 271.

158. Литвин Ф.Ф., Шувалов В.А. // Изучение фотосинтетических пигментных систем по спектрам возбуждения хемилюминесценции хлорофилла в высших растениях. Биофизика, 1966, т. 31, с. 1264 - 1269.

159. Литвин Ф.Ф., Шувалов В.А. // Длительное послесвечение хлорофилла в растениях и ловушки энергии при фотосинтезе. Доклады АН СССР, 1968, т. 181, с. 733 - 736.

160. Литвин Ф.Ф., Шувалов В.А. // О механизме длительного послесвечения хлорофилла в растениях и запасания энергии в реакционных центрах фотосинтеза. В кн.: «Молекулярная биология», 1969, т. 3, с.1 - 3.

161. Литвин Ф.Ф., Шувалов В.А. // Энергетика центров свечения фотосинтезирующих организмов и их связь с реакционными центрами фотосинтеза:

соотношение послесвечения и изменений квантового выхода флуоресценции. М., «Наука», Труды МОИП, 1973, т. 69, с. 148 - 153.

162. Лобов А.И., Рутковский И.В. // Прибор для измерения электрического сопротивления и определения коэффициента поляризации тканей древесных растений в полевых условиях. Докл. науч. конф. ВНИИЛМ, 1971, стр. 16 - 20.

163. Ломагин А.Г, Антропова Т.А., Семенихина Л.В. // Определение жизнеспособности паренхимы листа по фототаксису хлоропластов. Физиол. раст., 1967, т. 14, вып. 6. стр. 1071 - 1077.

164. Любищев А.А. // Проблемы формы, систематики и эволюции организмов. М., Наука, 1982, 279 с.

165. Лютова М.И. // Изучение фотосинтеза на клетках с экспериментально повышенной устойчивостью. Ботан. журн., 1958, т. 43, № 2, с. 283 - 287.

166. Лютова М.И. // Прочность связи хлорофилла с белком у растений с повышенной теплоустойчивостью. Доклады АН СССР, 1963, т. 149, № 5, с. 1206 - 1208.

167. Макроносов А.Г. // Ауксонографические исследования растений. Физиол. растен., 1955, т. 2, с. 187 - 190.

168. Максимов Н.А., Сойкина Г.С. // О влияния засухи на проницаемость протоплазмы растительных клеток. М., изд. АН СССР 1939, с. 42 - 47.

169. Маренков В.С. // Особенности конструирования аппаратуры для регистрации сверхслабых потоков. В сб.: «Сверхслабое свечение в медицине и с/х». МГУ, 1974, с. 162 - 167.

170. Маринчик М.И. // Особенности физиологических процессов в связи с состоянием воды в листьях и продуктивностью сортов сахарной свеклы. В кн.: «Биологические основы орошаемого земледелия». Изд. АН СССР, 1957, 145 с.

171. Материалы 1-го Международного симпозиума «Photoemission from biological systems», Вроцлав, 1986, 157 с.

172. Мацков Ф.Ф. // К вопросу о физиологичской характеристике сортов яровой пшеницы. Ж-л: «Советская ботаника», 1936, № 1, стр. 36 - 39.

173. Мелещенко С.Н. // Об особенностях и информационной роли импедансных измерений на растительных объектах. Сборник трудов по агрономической физике: вопросы эксперим. биофизики и кибернетики растений, АМ, 1969, вып.24, с.74 - 77.

174. Мельникова В.В. // Влияние повреждения на первичную и вторичную флуоресценцию водорослей. Изв. отд. с/х и биол. наук АН Тадж.ССР, 1960, т. 1, вып. 2, стр. 15 - 28.

175. Милсум Дж. // Анализ биологических систем управления. М., «Мир», 1968, 312 с.

176. Митрука Б.М. // Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине. М. «Медицина», 1978, 604 с.

177. Мочалкин А.И., Озолина И.А. // Исследование послесвечения и свободнорадикальных состояний листьев пшеницы при заражении ржавчатым грибом. В кн.: «Сверхслабое свечение в биологии». М., «Наука», Труды МОИП, 1972, т. 34, с. 45 – 48.

178. Налимов В.В. // Логические основания планирования эксперимента. М., «Металлургия», 1981, 122с.

179. Наследов А. // IBM SPSS 20 statiscs и AMOS. Профессиональный статитистический анализ данных. Питер. 2013, 413 с.

180. Николаев Г.М. и сотр. // Состояние воды и функционирование первичных реакций фотосинтеза у лишайника из холодных пустынь Восточного Памира. Ж-л: «Биол. науки», 1977, № 1(157), с. 101 - 107.

181. Ничипорович А.А. // К вопросу о причинах засухоустойчивости некоторых растений. Ново-агномический журнал, 1926, т. 5, № 6, с. 42 - 45.

182. Ничипорович А.А. // О потере воды срезанными растениями в процессе завядания. Журнал опытной агрономии Ю-Востока, 1928, т. 3, вып. 1, с. 17 - 21.

183. Новейший философский словарь. Сост. и гл. н. ред. Грицанов А.А. 3-е изд., испр. Мн.: «Книжный Дом», 2003,1280 с.

184. Окунцов М.М., Левцова О.П. // Влияние меди на водный режим и засухоустойчивость растений. Доклады АН СССР, 1952, т. 82, № 4, с. 45 - 47.

185. Олейник К.В., Скварко К.А. // Прибор для определения коэффициента поляризации в растительных тканях. Кишинев, тезисы Всесоюзной конференции: «Биоприбор-81», 1981, 81 с.

186. Олейникова Т.В. // Методические указания по определению жароустойчивости сортов злаков по степени проницаемости протоплазмы для электролитов. Л., 1964, 64 с.

187. Оселедченко Т.А., Алексеева Д.И., Лискер И.С. и сотр. // Фотоэлектрическая активность листа как косвенный показатель устойчивости на ранних

этапах селекционного процесса. Л., Тезисы Всесоюз. конф. по проблемам и путям повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции, 1981, с. 57 - 58.

188. Осипов А.В. // Исследования по разработке экспресс - метода диагностики морозоустойчивости винограда и некоторых других видов растений. Ялта, Дисс. на соискание степени канд. биол. наук, 1973.

189. Осипов А.В., Голодрига П.Я., Терз Э.И., Усатов В.В. // Способ определения генетической специфичности растений. Авт. свид. СССР, № 71653, 1980.

190. Папаян Г.В., Иоффе В.А., Виноградова В.Н. и сотр. // Двухлучевой импульсный микрофлюориметр с цифровым отсчетом. Ж-л: «Цитология», 1974, т. 16., № 3, с. 355 - 397.

191. Павленко В.А. // Газоанализаторы. М., «Машиностроение», 1965, 230 с.

192. Пасичный А.П. // Анализ водоудерживающих свойств тканей растений термографическим методом. Ж-л: «Физиол. и биохимия культур. растен.», 1978, т. 10, № 3, с. 318 - 323.

193. Перфильев В.Е. // Коэффициент асимметрии статистических распределений как показатель условий среды. «С – х биология», 1969, т. 4, № 3, 210 с.

194. Петрушенко В.В. // Адаптационные реакции растений. Киев, «Вища школа», 1981, 181 с.

195. Потов В.А. // Методика рефрактометрического определения связанной воды в растениях. Коллоидный журнал, 1936, т. 2, вып. 9, с. 10 - 16.

196. Посудин Ю.И. // Лазерная доплеровская спектроскопия биологических объектов. Ж-л: «Биол. науки»,1983, № 7, с. 29 - 37.

197. Пригожин И. // От существующего к возникающему. Время и сложность в физических науках. М., Наука, 1985, 328 с.

198. Пригожин И., Стенгерс И. // Порядок из хаоса. Новый диалог человека с природой. М., Прогресс, 1986, 432 с.

199. Пригожин И. Р. // Введение в термодинамику необратимых процессов. М., Ин. лит., 1960, 128 с.

200. Пригожин И., Стенгерс И. // Время, хаос, квант. К решению парадокса времени. М., Прогресс, 1994, 268 с.

201. Приходько Н.В. // Изменение проницаемости клеток мембран как общее звено механизмов неспецифических реакций растений на внешнее воздействие. Физиология и биохимия культурных растений, 1977, № 9, вып. 3, с. 301 - 309.

202. Радченко С.И. // Температурный градиент среды и растения. М - Л., «Наука», 1965, 387 с.

203. Радченко С.И. // Температура и растение. Иркутск, 1967, 43 с.

204. Радченко С.И. // Учение о температурных градиентах среды и растения, его значение для земледелия и растениеводства. Одесса, Сборник научных трудов Одесского с - х ин-та, 1972, с. 3 - 28.

205. Растригин Л. А. // Адаптация сложных систем. Методы и приложения. Рига «Зинатне» 1981, 390 с.

206. Ратушняк Ю.М., Цветаев В.В. // Использование метода спиновых зондов для оценки термоустойчивости мембран хлоропластов пшениц. Л., Тезисы Всесоюз. конференции по проблемам и путям повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции, 1981, с. 62 - 63.

207. Рафалес – Ламарка Э.Э., Николаев В.Г. // Некоторые методы планирования и математического анализа биологических экспериментов. Киев. Наукова Думка, 1971, 120 с.

208. Рвачев В.П. // Методы оптики светорассеивающих сред в физике и биологии. Изд. Минского БГУ, 1978, 240 с.

209. Розов М.А. // Пути научных открытий. Ж-л: «Вопросы философии», 1981, № 8, с. 138 - 147.

210. Розов М.А. // Понятие исследовательской программы. // Исследовательские программы в современной науке. Новосибирск, Наука, 1987, с. 7 - 26.

211. Рубин Б.А., Макарова Е.Н., Веселовский В.А. и сотр. // О применении методов сверхслабого свечения и длительного послесвечения в работах по патогенезу растений (на примере вилта хлопчатника). Ж-л: «Сельскохозяйственная биология», 1974, т. 9, № 2, с. 23 - 27.

212. Рубин А.Б. // Биофизика: в 2 т. М., Книжный дом «Университет», 2000, 356 с.

213. Рубин А.Б., Пытьева Н.Ф., Резниченко Г.Ю. // Кинетика биологических процессов. М., МГУ, 1977, 326 с.

214. Смита К., Хенеуолта Ф. // Молекулярная фотобиология. М., «Мир», 1972, 125 с.

215. Сааков В.С. // Исследование центров локализации повреждающих воздействий в мембранах хлоропластов методом молекулярной спектроскопии. Л., Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, 1976, т. 57, с. 17 - 33.

216. Сааков В.С., Удовенко Г.В., Рутман Г.И. и сотр. // Применение производной спектроскопии для изучения оптических свойств пластидного аппарата при экстремальных воздействиях. Л., «Колос», сб.: «Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды», 1976, с. 287 - 301.

217. Сааков В.С. // Спектрофотометрические методы при изучении реакции пластидного аппарата растений на экстремальные воздействия. Л., Наука, сб.: «Спектрофотометрические методы исследования в физиологии и биохимии», 1987, с. 115 - 126.

218. Сааков В.С. // Действие γ- облучения на устойчивость энергетики и пигментной системы фотосинтетического аппарата. Доклады АН СССР, 1993, т. 328, № 4, с. 520 - 523.

219. Сааков В.С., Драпкин В.З., Кривченко А.Н. и сотр., // Производная спектрофотометрии при решении эколого – биологических проблем. С - Петербуг. Технолит, 2010, 407 с.

220. Савин В.Н., Николенко В.Ф. // Изменение жароустойчивости листьев томатов в зависимости от их возроста и ярусносности. Ботн. жур., 1977, т. 62, с. 1753 - 1759.

221. Савин В.Н., Николенко В.Ф. // Внутрисортовая изменчивость томатов сорта «Пушкинский 1853» по жароустойчивости. Ж-л: «Физиология и биохимия культурных растений», 1977, т. 9, вып. 2, с. 172 - 176.

222. Самиев Х.С., Марфина К.Г. // Электрофоретический анализ белков хлоропластов как критерий устойчивости хлопчатника к засухе. Л., Тезисы Всесоюзной конференции по проблемам и путям повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции. 1981, с. 63 - 64.

223. Сатарова Н.А. // Некоторые регуляторные механизмы адаптации растений к засухе и высоким температурам. В кн.: «Физиология засухоустойчивости растений», М., Наука, 1971, с. 28.

224. Седых Н.В. // Применение метода диэлектрической спектроскопии для характеристики состояния воды в растительных тканях. М., Наука, сб.: Состояние воды и водный обмен у культурных растений. 1971, с. 267 - 270.

225. Семихатова О.А., Чулановская И.Н. // Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений. М - Л., Наука, 1965, 312 с.

226. Сердюк Л.С., Конарев В.Г. // Флуоресцентный анализ структурного состояния ДНК в ядре. В кн.: «Клеточное ядро и его ультроструктуры» М., 1970, с. 235 - 238.

227. Сисакян Н.М. // Биохимическая характеристика засухоустойчивости растений. М - Л., АН СССР, с. 125 - 132.

228. Словарь иностранных слов. М., «Советская энциклопедия», 1964, 624 с.

229. Созинов А.А. // Перспективы применения достижений биохической генетики в селекции растений. Л., Тезисы докладов пленарного заседания 9 конгресса ЕУКАРПИА: «Генетические ресурсы и селекция растений на устойчивость», 1980.

230. Скулачев В.П. // Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989 564 с.

231. Смирнов Е.С. // Таксономический анализ. М. МГУ, 1969 212 с.

232. Стадник С.А., Лищук А.И. // Биоэлектрическая активность и фотоиндуцированное свечение растительных тканей при различных температурных нагрузках. Кишинев, сб.: Молекулярная и прикладная биофизика с/х растений и применение новейших физико-технических методов в с/х. 1977, 107 с.

233. Стаценко А.П., Бутылкин Ф.А. // Способ оценки жароустойчивости растений (по уровню пролина). Патент 2159033; 1999г.

234. Стеси Р. // Электроника для биологов и медиков. М., Гос. энергоиздат., 1962, 312 с.

235. Стьюпер Э., Брюггер У., Джурс П. // Машинный анализ связи химической структуры и биологической активности. Пер. с англ. М., Мир, 1982, с. 235.

236. Сулейманов А.Ш. // Диагностика степени засухоустойчивости виноградного растения по спектрам флуоресценции его листьев. Л., Тезисы Всесоюзной конференции по проблемам и путям повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции. 1981, с. 72 - 73.

237. Тарусов Б.Н. // Электропроводность как метод определения жизнеспособности тканей. Архив биологических наук, 1938, том 52, с. 100 - 104.

238. Тарусов Б.Н., Козлов Ю.П. // Прививка полимера на облученные семена пшеницы. Доклады АН СССР, 1961, № 140, вып. 3, с. 709 - 712.

239. Тарусов Б.Н., Поливода А.И., Журавлев А.И. // Обнаружение хемилюминесценции в печени облученных мышей. Ж-л: «Радиобиология», 1961, т. 1, № 1, с. 150.

240. Тарусов Б.Н., Поливода А.И., Куравлев А.И. // Изучение сверхслабой спонтанной хемилюминесценции животных клеток. Ж-л: «Радиобиология», 1961, т. 6, вып. 4, с. 490.

241. Тарусов Б.Н. // Биофизический метод оценки температурной устойчивости сельскохозяйственных растений. Сельскохозяйственная биология, 1966, т. 1, № 2, с. 238 - 242.

242. Тарусов Б.Н., Китлаев Б.Н., Доскоч Я.Е. // Биофизические методы диагностики устойчивости растений и перспективы их применения в селекции. В кн.: «Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды». Л., 1976, с. 191 - 204.

243. Тарусов Б.Н., Веселовский В.А. // Сверхслабые свечения растений и их прикладное значение. М., МГУ, 1978, 147 с.

244. Тарчевский И.А. // Фотосинтез и засуха. Казань, Изд. КГУ, 1964, 109 с.

245. Ткачук К.С., Аеров И.Л. // Влияние засухи на оптичесие свойства листьев. Доклады АН СССР, 1974, № 12, с. 1112 - 1225.

246. Томинг Х., Нильсон Т. // Основы энергетической адаптации растительного покрова к свету. В кн.: «Фотоактинометрические исследования растительного покрова». Таллин, Валгус, 1967, 230 с.

247. Туркин Н.И. // Изменение роста растительных объектов при тепловом стрессе. Л., Тезисы докладов Всесоюзной конференции по проблемам и путям повышения устойчивости растений к болезням и экстремальным условиям среды в связи с задачами селекции. 1981, с. 87 - 88.

248. Туроверов К.К., Щелчков Б.В. // Исследование тепловой денатурации белков с помощью двухканального метода регистрации изменений спектра их ультрафиолетовой флуоресценции. Биофизика, 1970, т. 15, № 6, с. 965 - 978.

249. Турсунов Х.З. // Разработка и исследование методов и алгоритмов анализа и распознавание изображений микроструктур и их использование для

задач прогнозирования в селекции. Ташкент, Дисс. на соиск. уч. степ. канд. тех. наук. 1982, 146 с.

250. Удовенко Г.В., Чернышева С.В. // Флуоресцентно-спектроскопическое исследование молекулярных механизмов энергетических повреждений хлоропластов пшеницы при различных стрессах. Кишинев, Тезисы докладов 2 - ого Всесоюзного симпозиума по молекулярной и прикладной биофизике с/х растений и применении новейших физико-технических методов в сельском хозяйстве. 1977, с. 19 - 20.

251. Удовенко Г. В., Гончарова Э. А. // Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. Л. : Гидрометеоиздат, 1982. 144 с.

252. Урманцев Ю.А. Системный подход к проблеме устойчивости растений. Физ. растений 1979, том. 26, вып. 4 стр. 762 - 777; вып.6, стр. 1233 - 1243.

253. Уодингтон К. // Пролегомены. М., Мир, сб.: «На пути к теоретической биологии». 1970, с. 21 - 39.

254. Ушаков Б.П. // Теплоустойчивость соматической мускулатуры земноводных в связи с условиями существования вида. Зоол. Журн., 1955, т. 34, № 3, с. 578 - 588.

255. Ушаков Б.П. // Открытие № 19: «Закономерность теплоустойчивости тканей, как критерий вида». Гос. Реестр открытий СССР, раздел: «Человек. Биология». Приоритет от 23 января 1958.

256. Федулов Ю.П. // Биофизические методы оценки устойчивости растений к стрессам. В кн.: «Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям». Л., ВИР, 1988, с. 206 - 211.

257. Фельдман Н.А. // Метод оценки термоустойчивости ферментов. В кн.: «Вопросы цитологии и простистологии». М - Л., Наука, 1976, с. 216 - 223.

258. Философский словарь, под редакцией Розенталя М.М., Юдина П.Ф. М., «Политическая литература», 1963, 544 с.

259. Философская энциклопедия. М., «Советская энциклопедия», 1970, 575 с.

260. Фрайфелдер Д. // Физическая биохимия. М., «Мир», 582 с.

261. Хакен Г. // Синергетика: Иерархии неустойчивостей в самоорганизующихся системах и устройствах. М., Мир, 1985, с. 424.

262. Хлебникова Н.А. // О жароустойчивости растений. Изв. АН СССР. 1932, серия 7, № 8, с. 1127 - 1146.

263. Шаповалов А.А. // Применение метода спектрофлюориметрии к исследованиям корневых выделений растений. Ж-л: «Физиол. и биохимия культурных растений», 1970, т. 2. вып. 2, с. 168 - 170.

264. Шматько И.Г., Шаповал А.И., Шевчук И.И. // Устойчивость зеленых пигментов к водному дефициту и повышенным температурам. Л., «Колос», 1976, с. 48 - 54.

265. Шматько И.Г., Яценко Л.М., Кумахова Т.А. // Анализ взаимосвязи водообеспеченности питания и аминокислотного состава пшеницы многофакторным методом. Ж-л: «Физиол. и биохим. культ. раст.». 1986, т. 18, № 2, с. 107 - 111.

266. Шварц К.К. // Термолюминесцентная дозиметрия. Рига: Зинатне, 1968, с. 180.

267. Шахбазов В.Г., Шестопалова Н.Г., Попель А.П. // Теплоустойчивость проростков некототорых растений в связи с явлением гетерозиса и полиплоидии. Х., Ученые записки Харьковского университета, 1963, вып. 140, с. 122 - 127.

268. Шевелуха В.С., Шевелуха Т.А. // Аксунографический метод контроля за ростом полевых культур. Ж-л: «С.-х. биология», 1968, т. 3, с. 417.

269. Шматько И.Г., Шведова О.Е., Григорюк И.А. и сотр. // Изменение в водном балансе пшеницы при действии повышенных температур. Казань, «КГУ», сб.: «Водный режим растений в связи различными условиями», 1978, с. 29 - 35.

270. Шпаар Д., Захаренко А., Якушев В.П. и сотр. // Точное сельское хозяйство (Precision agriculture), под общей редакцией Шпаар Д. Санкт-Петербург, Пушкин, 2009, 397 с.

271. Шрейдер Ю.А. // Ценности, которые мы выбираем. М., «Эдиториал УРСС», 1999, с. 12 - 17.

272. Шувалов В.А. // Импульсная фосфороскопическая установка для измерения люминесценции и поглощения. В кн.: «Методы современной биохимии». М., «Наука», 1975, с. 128 - 131.

273. Щерабакова А.М. // Регистрация экспериментального повышения теплоустойчивости растительных клеток с помощью тетразолиевого теста. Цитология, 1969, т . 11, № 11, с. 1467 - 1470.

274. Ahuja D. R., Lashof D. A. // Relattie contributionsof greenhouse gas emissions to global warming. Nature. 1990, p. 529 - 531.

275. Aldridge, B. B. et al. //Asymmetry and aging of mycobacterial cells lead to variable growth and antibiotic susceptibility. Science. 2012, vol.335, p. 100–104

276. Andrews H. C. // Multidimensional Rotations in Feature Selection, IEFE Trans Comp, C-20, J971, p. 137 – 142.

277. Ancel P., Vinterberger P. // O radiosensitivity of cells. «SO»c. Biol, 1992, p. 517 - 520.

278. Arnold W. A., Azzi J. R. // Chlorophyll energy levels and electro flow in photosynthesis. «Proc. Nat. Acad. US», 1968, vol. 61. p. 98 - 104.

279. Arnold W. A., Strehler B. L. // Light production by green plants. «J.Gen. Physol.», 1951, Vol. 34., p. 88 - 92.

280. Avian Systems - фирма разработчик программы анализа изображений: «Full Search». Ж-л: «Мир ПК», 1995, № 10. с. 67.

281. Azzi J. R., Bertsch W. F., Davidson J. B. // Identification of the oxygen – evolving photoreaction as the delayed light emitter in mutant of Scenedesmus obliques. «Boichim. Acta», 1962, vol. 143, N 1, p. 34 - 39.

282. Azzi J. R., Davidson J. B., Bertsch W. F. // Identification of the oxygen – evolving photoreaction as the delayed light emitter in mutant of Scenedesmus obliques. 1967, vol. 143, № 3, p. 129 - 143.

283. Balaban, N. Q., Merrin, J., Chait, R., et al // Bacterial persistence as a phenotypic switch. Science. 2004. vol. 305, p. 1622–1625

284. Ball G. H, Hall J. P. // 1SODAIA: A Novel Method of Data Analysis and Pattern Classification, NITS Report AD699616, 1965, p. 223 – 229.

285. Beckenbach E. F. // Bellman, Inequalities, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Germany, Ch. 2, § 11, 1961, p. 109 - 115.

286. Bertsch W. F., Clayton R. K. // Absence of delayed light emission in the millisecond time rang from a mutant of Rhodopseudomonas sph., which lacks functioning phosynthetic reaction centre. «Biochem. Biophys. Res. Comm», 1965, vol. 18, № 1, p. 68 - 75.

287. Bevmgton P. R. // Data Reduction and Error Analysis for the Physical Sciences, McGraw-Hill, New York 1969, p. 59 – 66.

288. Brauner, A., Fridman, O., Gefen, O et al. // Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. Nat. Rev. Microbiol. 2016. vol. 14, p.320–330

289. Cannon W. B. // Rganization for physiological homeostasis. «Physiological Review», 1932, v. 1, №1, p. 78 - 85.

290. Campos, M. et al.// A constant size extension drives bacterial cell size homeostasis. Cell. 2014. vol.159, p 1433–1446.

291. Chiu, V. C. & Haynes, D. H. // High and low affinity Ca2+ binding to the sarcoplasmic reticulum: use of a high-affinity fluorescent calcium indicator. Biophys. J. 1977. vol.18, p. 3–22

292. Clayton R. K // Characterics of prompt and delayed fluorescence from spinach chloplasts. «Biophys.J», 1969, vol. 9, N 1, p. 102 - 107.

293. Cormack R.J. // A study of leaf thicknes in wheat. «Agron. Jornal», 1950, v. 42, № 7, p. 14 - 21.

294. Coombs C. H. // A Theory of Data, Wiley, New York 1964, p. 103 – 109.

295. Colli L., Facchini U. // Light emission by germination plants. «Nuovo Cimento», 1954, vol. 12, № 1, p. 23 - 29.

296. Croxton R.J. // Detection and Classification of Ash Dieback on Large scale Color Aerial Photographs. Research Paper № PSW -35, U.S Forest Serv., 1966, p. 157 – 163.

297. Green P. E, Carmone E. J. // Multidimensional Scaling and Related Techniques m Market Analysis, Allyn and Bacon, Boston, Massachusetts, 1970, p.47 – 51.

298. Green P. E, Rao V. R. // Applied Multidimensional Scaling — A Comparison of Approaches and Algorithms, Holt Rmehart and Wilson, New York, 1972, p. 217 – 223.

299. Dar, R. D., Hosmane, N. N., Arkin, M. R., et al. // Screening for noise in gene expression identifies drug synergies. Science. 2014. vol.344, p.1392–1396.

300. Dexter S.T., Tottingham W.E. and Graber L.F. // Investigation of the hardiness of plants by meeasurement of electrcal conducttiivty. Plant Physiol., 1932, № 7, p. 63 - 67.

301. E.Hesper Rego, Rebecca E. Audette & Eric J. Rubin. Deletion of a mycobacterial divisome factor collapses single-cell phenotypic heterogeneity. Nature. 2017. vol..546. p.153–157..

302. Edwards G.J., Schehl T., Du Charme E.P. // Multispectral sensing of citrus young tree decline. Photogram. Eng.Rem.Sens., 1975, vol. 41, p. 653 - 657.

303. Encyclopedia Americana, v.10, 1944.

304. Evans E.N., Crofts A.R. // The relationship between delayed fluorescence and the H+ Gradient in chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta, 1973, vol. 292, № 1, p. 130 - 140.

305. Fisher R. A. // The Use of Multiple Measurements m Taxonomic Problems, Ann Eugen, 7, 1936, p. 178 – 184.

306. Gashimov R. M., Matorin D. N., Rubin A. B. // Study of millisecond delayed fluorescence activated by reduced DPIP in DCMU – treated chloplasts and subchloroplasts particles. Photosynthetica, 1976, vol. 10, № 3, p. 80 - 84.

307. Gerwick B.C., Wiliams G.J. // Effects of growth temperature on carboxylase enzyme activity on opuntia polyacantha. Photosynthetica, 1979, v. 3, № 3, p. 254 - 256.

308. Gerrits N.M., Kraan G.P. // In Proceedings of the Second International Congress on Photosynthesis Research (Ed. G. Forti, M. Avron, and A. Melandri), 1971, vol. 3, p. 951 - 961.

309. Goedheer J. C., Vegt G. K. // Chemiluminescence of chlophylla and bacteriochlorophyll in reaction to redox action. «Nature», 1962, vol. 193, № 4818, p. 966 - 972.

310. Goltsev V. // Delayed chlorophyll fluorescence as a monitor for physiological state of photosynthetic apparatus / Goltsev V., Zaharieva I., Chernev P.and Strasser R.J.. Biotechnology & Biotechnological Equipment. – 2009. – V.23 (Special Edition). p. 452–457.

311. Goyal A. // Effects of water stress on glycolate metabolism in the leavesof rice seedlings (Oryza sativa). Physiol. Plant, 1987, vol. 69, p. 289 - 294.

312. Guthrie I.D. // The reducing capacity of potatoes tubers. Jn.: “Cotrib B. Thomp In – te”, 1937, vol. 9, N 1, p. 17 - 39.

313. Haldane J. // The philosophy of a biologist. Clarendon Press, Oxford University Press, 1935, v. 4, p. 112 - 119.

314. Harngan G. E. // Clustering Algorithms, Wiley, New York, 1975, p. 71 – 78.

315. http://adweb.desy.de/mst/tine/ Системы автоматизации экспериментальных установок.

316. http://doocs.desy.de/ µTCA Developments for the European XFEL.

317. http://www.aps.anl.gov/epics/EPICS (от англ. Experimental Physics and Industrial Control System) - программная среда для разработки и запуска распределенных систем управления для научных и экспериментальных установок, та-

ких как ускорители частиц, телескопы и других больших установок. EPICS также предоставляет возможности SCADA.

318. http://www.esrf.eu/computing/cs/tango/ This Chapter documents the java api for the tango database and device servers.

319. http://interlibrary.narod.ru/GenCat/GenCat.Scient.Dep/GenCatBiology/201200044/201200044.htm - International Electronic Scientific &Technical Library

320. Itoh S., Murata N., Takamiya A. // Studies on the delayed light emission in spinach chloplasts. Nature of twophases in development of the millisecond delayed light emission during intermittent illumination. «Biochim. Biophys. Acta», 1971, vol. 245, N 1, p. 125 - 130.

321. Kieser, K. J. & Rubin, E. J.// How sisters grow apart: mycobacterial growth and division. Nat. Rev. Microbiol. 2014. vol. 12, p. 550–562

322. Kieser, K. J. et al. // Phosphorylation of the peptidoglycan synthase PonA1 governs the rate of polar elongation in Mycobacteria. PLoS Pathog. 2015. vol. 11, p.100-120.

323. Kinbacher E.I., Sullivan C.P // Effect of high temperature on the respiration rate of Phaseolus Ch.Y. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 1967, v. 90, p. 163 - 168.

324. Kruskal J. B. // Multidimensional Scaling by Optimizing Goodness of Fit to a Numeric Hypothesis, Psychometnka, 29,v. 1 1964, p. 204 – 209.

325. Kruskal J. B. // Nonmetnc Multidimensional Scaling A Numerical Method, Psychometnka, 29, v.115. 1964, p. 889 – 897.

326. Koshland D.E. // Conformation changes at the active site during enzyme action. Federation Proceedings, 1964, v. 23, p.719 - 726.

327. Landgraf, D. et al.// Segregation of molecules at cell division reveals native protein localization. Nat. Methods 2012.vol. 9, p. 480-495.

328. Lang M., Saakov V.S. // Changes in chlorophyll fluorescence and photosynthetic activity of French bean leaves induced by gamma radiation. Photosynthetica, 1993 , v. 27, N 3, p. 369 - 383.

329. Legrand, O., Simonin, G., Perrot, J. et al..// Pgp and MRP activities using calcein-AM are prognostic factors in adult acute myeloid leukemia patients. Blood. 1998.vol.91, p. 4480–4488

330. Levitt J., Sullivan C.J., Krull E. // Some problem in drondht resistonce. Res. Con. of Jsrael., 1960, N 3 - 4, p. 134 - 139.

331. Libbert E. // Pflanzenphysiobogie. Jena, 1974, p. 458.

332. Lomagin A.G., Antropova T.A., Semenihina L.V. // Photaxis of chloroplasts as a critera on of viability of beaf parenehymo. Plant., 1966, N 71, p.119 - 124.

333. Marmiesse, M. et al. // Macro-array and bioinformatic analyses reveal mycobacterial 'core' genes, variation in the ESAT-6 gene family and new phylogenetic markers for the Mycobacterium tuberculosis complex. Microbiology. 2004. vol. 150, p. 483–496

334. Mayne B. C. // The effect of inhibitors and uncouplers of ptotosynhetic phosphorylation on delayed light emission of chloplasts. «Photobiol.», 1967, vol. 6, N 1, p. 97 - 103.

335. MeCown B.H., Beck G.B., Hall T.C. // The hardening response of three clones of Diathus and the corresponding complement of peroxidase isoensymes. J. Amer. Soc hortic Sce., 1969, v. 94, p. 691 - 693.

336. Mitchison, D. A. Role of individual drugs in the chemotherapy of tuberculosis. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2000. vol. 4, p. 796–806.

337. Mutcwrd A. N., Cose E. E. // A Comparison of Seventh Techniques for Choosing Subsets of Pattern Recognition Properties, IEEE Trans Comp, C-20, (1971), p. 1023 – 1029/

338. McCabe G. P. // Computations for Variable Selection in Discriminant Analysis, Technometncs, 17, 1975, p. 103 – 112.

339. Myers V.I., Cater D.L., Rippert W.J. // Remote sensing for estimatimating soil saliniity. J. Irrig. Drain. Div., Am. Soc. Civ., Eng., 1966, vol. 92 (IR-4), p. 59 - 68.

340. Neumann J., Jagendorf A.T. // Light-induced pH changes related to phosphorylation by chloplasts. Arch. Biophys., 1964, vol. 107, N 1, p. 109 - 115.

341. Niederweis, M. et al. Cloning of the mspA gene encoding a porin from Mycobacterium smegmatis. Mol. Microbiol. 1999. vol.33, p. 933–945.

342. Nock K. // Der zustand des chlorophylls in der lebenden pflanze. Biochem Zeitschr, 1927, Bd. 183, H 1/3 S 5, p. 135 - 152.

343. Oxfod English Dictionary // «Oxford University Press», 1958.

344. Parcker L. // Structural changes correlated with photochemical phosphorylation in chloroplast membranes. «Biochim. Biophys.Acta», 1963, vol. 75, N 1, p. 12 - 34.

345. Richard E., Cuellar - Glebnn A., Ford William F.T. // Application of higher derivative techniques to analysis of high resolution thermal denaturation paoiiles of reassociated DNA // J.Boldii. 1978. Vol.75, N 13. P. 6026-6030.

346. Rubin, E. J. et al. In vivo transposition of mariner-based elements in enteric bacteria and mycobacteria. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1999. vol. 96, 1645–1650..

347. Saakov V.S., Hoffmann P. // Zur Bedeutung der Karotinoide fuer die Photosynthese unter besonderer Beruecksichtigung der Photophosphorylierung. Wiss. Zt. der Humboldt Univer. zu Berlin, Math. Naturwiss. Rh., 1974, Bd. 23, N 6, p. 577 - 580.

348. Saakov V.S. // Application of the PAM-method for estimating the damage of photosynthetic apparatus of chloroplasts during gamma-irradiation. Abstr. Intern. Conference on Spectroscopy and Optical Techniques in Animal and Plant Biolgy. Muenster, Universitaet, Germany, Sept. 30 - Okt. 3, 1996, p. 96.

349. Saakov V.S., Leontjev V.G. // Untersuchungen ueber molekularspektrophotometrische Reaktion des pflanzlichen Photosyntheseapparates auf Stressbedingungen. Colloq. Pflanzenphysiol. d. Humboldt Univer. zu Berlin, 1988, Bd. 12, p. 143 - 156.

350. Saakov V.S., Udovenko G.V. et. al. // The centres oflocalization of harmful influences of extreme factors in chloroplasts. Leningrad, Abstraets of XII Intern. Bot. Congress, 1975, p. 478 - 480.

351. Sachs J. // Uber die ober Tetperarur-Granze der Vegetation. „Flora“, 1864, vol. 47, N 512; p. 33 - 39.

352. Sammon J. W., Jr, A. // Nonlinear Mapping for Data Structure Analysis, IEEE Trans Comp, C-18, vol. 401, 1969, p. 117 – 120.

353. Santi, I., Dhar, N., Bousbaine, D., et. al. // Single-cell dynamics of the chromosome replication and cell division cycles in mycobacteria. Nat. Commun. 2013. Vol. 4, p. 2470 - 2479.

354. Sheppard R.,. N. // The Analysis of Proximities Multidimensional Scaling with an Unknown Distance Function, Psychometnka, 27, vol.125, 1962, p. 235 – 242.

355. Schreiber U. // Chlorophyll fluorescence yield changes as a tool in plant physiology. I. Measuring system. Photosynth. Res., 1983, vol. 4, № 4. p. 361 - 373.

356. Taheri-Araghi, S. et al. Cell-size control and homeostasis in bacteria. Curr. Biol. 2015. vol. 25, p. 385–391.

357. Stratchounski L.S., Kozlov R.S., Appelbaum P.C. et. al. // Antimicrobial resistance of nasopharyngeal pneumococci from children from day-care centres and

orphanages in Russia: results of a unique prospective multicentre study. Clin Microbiol Infect 2006; vol.12:p. 853-866.

358. Thomas D.A., Andre M. // The response of oxygen corbon dioxide exhanges and root activity to short term water stress in soybean. “J. Exp. Bot.”, 1982, vol. 33, p. 393 - 405.

359. Tiberghien, F. & Loor, F. Ranking of P-glycoprotein substrates and inhibitors by a calcein-AM fluorometry screening assay. Anticancer Drugs. 1996. Vol. 7, p. 568–578.

360. Torgenson W. S. // Theory and Methods of Scaling, Wiley, New York, 1958, p. 98 – 108.

361. Tou J.T., Gonsalez R.C. // Patten Recognition Principles. N.Y. 1974. 324 p

362. Tou J.T., Computer and Information Sciences. III: Proc. of the Second Symposim on Computer and Information Science. August 22-24, 1966. Academic, H.Y. , 1967. p.34-39.

363. van Kessel, J. C. & Hatfull, G. F. // Recombineering in Mycobacterium tuberculosis. Nat. Methods 2007. vol.4, p. 147–152.

364. Viera da Silva J.B. // Coribution a letude de la resistance a la sechesse dans le genre Gosypium. I. Transpiration de feuilles detaches et notion dun indice de controle la transpiration. Coton et fibres tropicales, 1967, v. 22, fasc. 2, p. 198.

365. Viera da Silva J.B. // Coribution entre cing especies de Gossypium guant a lactivite de phoshatase acide apres un traitement osmotigue. Etude la vitesse de solubilisation et de la formationd de lenzyme. Z. Pflazenphysiol., 1969, Bd. 60, N 6, p. 385.

366. Udovenko G.V., Saakov V.S. // Resistenz der Getreidepflanzen gegen ungün stige Bedingungen des Milieus: physiologische und genetische Aspekte. Wissensch. Zt. der Humboldt Univer. zu Berlin, Math. - Naturwiss. Reihe, 1976, Bd. 25, p. 776 - 786.

367. Uhr L. // Pattern Recognition, Learning and Thought, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1973, p. 126 – 131.

368. Wakamoto, Y. et al. // Dynamic persistence of antibiotic-stressed mycobacteria. Science 2013.vol. 339, p. 91–95.

369. Wehy E.L. // Moocrn Fluorescence Spectroscopy. New York - London. Plenum Press. Vol. 1, 1976, XVI, p. 238.

370. Wraight C.A. // Delayed fluorescence and the high - energy state of chloroplasts. «Eur. J. Biochem.», 1971, vol. 19, № 36, p. 57 - 60.

371. Wricke G. // Uber eine Methode zur Erfassung der okologische straubeite in Feldverssuchen. Z. Pllanzenzucht, 1962, vol. 47, p. 125 - 145.

372. Whipple H.E. // Forms of Water in Biobogic System, Annals of the New York Academy of Scienceces. 1965, vol. 125, p. 249 - 772.

373. Young G, Householder A. S. // Discussion of a Set of Points m Terms of Their Mutual Distances, Psychometnka, 3, 19, 1938, p. 78 – 97.

Прилож. 1. Перечень использованных аббревиатур

Сокращенно	Содержание аббревиатуры
FLA	Фотолюминесцентный анализатор растительных объектов
PCI-X	Шина ввода/вывода
USB	Универсальный интерфейс
V	Скорость нагрева
АНИ	Автоматизация научных исследований
АПС	Адаптационные компоненты или плановые структуры гомеорезов
АТФ	Аденозинтрифосфорная кислота
АЦ	Аналого-цифровой
АЦП	Аналого-цифровой преобразователь
БВП	Блок высоковольтного питания
БС	Биологическая система
БЭ	Биофизический эксперимент
ВПФД	Высокочувствительный полифункциональный фотометрический детектор
ВЦШ	Внешняя цифровая шина
ГК	Гиббереллиновая кислота
ДС	Допустимые состояния
ЗФ	Замедленная флуоресценция
ИАМФ	Импульсный амплитудно-модулирующий флуориметр
ИКЗФ	Индукционная кинетика замедленной флуоресценции
ИС	Измерительный свет
К	Контроллер
КАМАК	Стандарт, определяющий организацию магистрально-модульной шины, предназначенной для связи измерительных устройств с цифровой аппаратурой обработки данных в системах сбора данных
КК	Критерий качества
КПД	Коэффициент полезного действия
ЛЖ	Лабораторный журнал
МПЭ	Многофакторное планирование эксперимента

МЭК	Международная электротехническая комиссия по стандартизации электрических, электронных и смежных технологий
ОБЭ	Организация биофизического эксперимента
ПГ	Протонный градиент
ПК	Персональный компьютер
ПКП	Полифункциональные компьютеризированные приборы
ПО	Программное обеспечение
ПСД	Платы сбора данных
ПУ	Программируемый усилитель
ПФД	Пламенно-фотометрический детектор
ПФП	Полифункциональные фотометрические приборы
Р	Реле
РП	Релейный переключатель
РЦ	Реакционный центр
СД	Синхронный детектор
ТКЗФ	Температурная кинетика замедленной флуоресценции
ТМЗФ	Температурный максимум замедленной флуоресценции
ТП	Темновой промежуток
ТТЛ	Транзисторно-транзисторная логика (международный стандарт)
ТУ	Технические условия эксплуатации
УП	Ультрабыстрые платы
УС	Устройства сопряжения
Ф	Фосфороскоп
ФизИ	Физические интерфейсы
ФЛ	Фотолюминесценция
ФНЧ	Фильтр низких частот
ФС	Фотосистема
ФЧД	Фазочувствительный демодулятор
ФЭУ	Фотоэлектронный умножитель
ХЛ	Хемилюминесценция
ЦА	Цифро-аналоговый
ЦАП	Цифро-аналоговый преобразователь
ЦОС	Цифровая обработка сигналов
ЭВМ	Электронно-вычислительная машина - компьютер

More Books!

yes

I want morebooks!

Покупайте Ваши книги быстро и без посредников он-лайн - в одном из самых быстрорастущих книжных он-лайн магазинов!
Мы используем экологически безопасную технологию "Печать-на-Заказ".

Покупайте Ваши книги на
www.morebooks.de

Buy your books fast and straightforward online - at one of the world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at
www.morebooks.de

OmniScriptum Marketing DEU GmbH
Bahnhofstr. 28
D - 66111 Saarbrücken
Telefax: +49 681 93 81 567-9

info@omniscriptum.com
www.omniscriptum.com

OMNIScriptum