

## Тема 1. РАЗРАБОТКА ПЛАНА ЭКСПЕРИМЕНТА В ЭКОЛОГИИ

**Объяснение.** Проведение научного исследования можно условно разделить на четыре этапа: планирование, выполнение, обработка и обобщение полученных данных, подготовка публикации.

В общем случае планирование включает разработку гипотезы, которая подвергается экспериментальной проверке, и схемы для анализа результатов эксперимента.

Планирование начинают с выбора генеральной совокупности, которую предполагается изучить и к которой должны быть применимы результаты планируемого исследования. Затем важно определить точность, с которой требуется определить величину каждого измеряемого параметра, минимальную величину эффекта, который планируется обнаружить. При этом выбирают методы статистического анализа, которые будут использованы при анализе эмпирических данных, поскольку разным методам анализа соответствуют разные типы планов экспериментов.

Планирование эксперимента является частью научного исследования. Ошибки, допущенные при планировании невозможно исправить в дальнейшем.

Искусство располагать наблюдения в определенном порядке или проводить специально спланированные проверки с целью полного использования возможностей этих методов и составляет содержание предмета «планирование эксперимента». В настоящее время экспериментальные методы широко используются как в науке, так и в различных областях практической деятельности. Обычно основная цель научного исследования состоит в том, чтобы показать статистическую значимость эффекта воздействия определенного фактора на изучаемую зависимую переменную. Как правило, основная цель планирования экспериментов заключается в извлечении максимального количества объективной информации о влиянии изучаемых факторов на интересующий исследователя показатель (зависимую переменную) с помощью наименьшего числа дорогостоящих наблюдений. К сожалению, на практике, в большинстве случаев, недостаточное внимание уделяется планированию исследований. Собирают данные (столько, сколько могут собрать), а потом уже проводят статистическую обработку и анализ. Но сам по себе правильно проведенный статистический анализ недостаточен для достижения научной достоверности, поскольку качество любой информации, получаемой в результате анализа данных, зависит от качества самих данных. Поэтому планирование экспериментов находит все большее применение в прикладных исследованиях. Целью методов планирования экспериментов является изучение влияния определенных факторов на исследуемый процесс и поиск оптимальных уровней факторов, определяющих требуемый уровень течения данного процесса.

Эксперимент, в котором реализуются все возможные сочетания уровней факторов называется полнофакторным. Каждый фактор может иметь два уровня: нижний уровень обозначают  $-1$ , верхний  $+1$ . План такого эксперимента для изучения влияния двух уровней двух факторов (ПФЭ  $2^2$ ) представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Опыт с двумя уровнями двух факторов

№ опыта	Уровни факторов	
	$X_1$	$X_2$
1	–	–
2	+	–
3	–	+
4	+	+

При составлении матриц планирования первая строка всегда будет содержать все факторы на нижнем уровне, т. е. состоять только из «–». Последняя строка будет состоять только из знаков «+». В столбце фактора  $X_1$  знаки «+» и «–» чередуются через один, во втором столбце следуют сначала два знака «–», потом два знака «+» и т. д. до конца. В третьем столбце чередование знаков идет группами по четыре, в четвертом – группами по восемь. Добавление каждого нового фактора приводит к удвоению числа опытов, так что обозначение  $2n$  указывает, что  $n$  факторов варьирует на двух уровнях каждый и испытывает все возможные комбинации этих уровней  $N = 2n$  (таблица 2 и 3).

Таблица 2– Опыт с двумя уровнями трех факторов

№ опыта	Уровни факторов		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	–	–	–
2	+	–	–
3	–	+	–
4	+	+	–
5	–	–	+
6	+	–	+
7	–	+	+
8	+	+	+

Таблица 3 – Опыт с двумя уровнями четырех факторов

№ опыта	Уровни факторов			
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$
1	–	–	–	–
2	+	–	–	–
3	–	+	–	–
4	+	+	–	–
5	–	–	+	–
6	+	–	+	–
7	–	+	+	–
8	+	+	+	–
9	–	–	–	+

10	+	–	–	+
11	–	+	–	+
12	+	+	–	+
13	–	–	+	+
14	+	–	+	+
15	–	+	+	+
16	+	+	+	+

Существуют специальные методы для обработки полученных таким образом экспериментальных данных. При необходимости применяют более сложные экспериментальные планы (метод латинского квадрата и прямоугольника, метод греко-латинского квадрата, метод расщепленных делянок, смешивание, метод рендомизированных повторений и др.), которые описаны Монтгомери, Д. К. (1980), Максимовым, В. Н. (1980) и др.

Этапы работы:

### ***1. Выбор темы и объекта исследования***

Вопросов, которыми может заняться исследователь, чрезвычайно много, важно уметь выделить наиболее перспективные из них. Первым и основным источником тем для исследования являются прямые заказы производства, но их не нужно ждать, а самим выявлять потребности практики в тех или иных научных разработках, систематически интересоваться проблемами производства, заглянуть в его будущее, предвидеть возможные потребности. Это и позволяет экспериментатору наметить наиболее перспективные темы для научной работы.

Важно, чтобы тема исследований была определенной, а не расплывчатой, соответствовала сущности исследований и имеющейся материально-технической базе.

*Объектом исследования* являются живые организмы и их системы различных уровней организации.

***2. Изучение научной литературы.*** Опыты невозможно заложить, пока не изучена и не проанализирована история и современное состояние вопроса. Один только критический анализ литературного материала может иногда дать частичное или полное решение вопроса. Для этого нужно изучить монографии, журнальные статьи, диссертации, научные отчеты и др. Чтобы быть на уровне современных требований, специалист должен систематически затрачивать более 25% своего времени на ознакомление с научно-технической информацией, ибо знания, полученные ранее, не развиваемые и не дополняемые очень быстро обесцениваются (на 10% в год). Как правило, это ведет к повторным изобретениям: 2/3 новых заявок на изобретения не регистрируются как новые. Знание литературы дает возможность создать рабочую гипотезу, разработать программу и методику исследований.

***3. Постановка цели и задач.*** Первым результатом обработки значительного количества информации путем сравнения, обобщения, систематизации должна быть постановка цели и определение задач исследования.

Цель – одна большая (это конечный результат, на который ориентируется исследователь), задачи – более мелкие, это этапы, которые необходимо выполнить для достижения цели.

**4. Рабочая гипотеза** – это научное предположение о развитии явлений, на котором основывается объяснение ожидаемых в опыте результатов. Она строится на основании всех ранее установленных закономерностей изучаемого явления и тех новых идей (предположений), которые вносит исследователь в данную проблему. При построении рабочей гипотезы не нужно бояться новизны, оригинальности идей, надо пытаться идти новыми путями. Ведь даже ложная гипотеза приносит свою долю пользы: в случае ее опровержения становится одним возможным объяснением меньше, ограничивается число возможных решений, сужается круг возможных действий, приближающий нас к единственному центру – истине. В этом состоит ценность всякой гипотезы.

**5. Разработка программы исследований.** Программа исследований – это проект намеченного хода эксперимента, в котором указывают точные границы опытной работы, схемы опытов, описывают условия осуществления опытов, приводят методику и основные элементы техники проведения экспериментов. Для чего:

5.1 Определяют объект исследования.

5.2 Определяют вид опыта (наблюдение, вегетационный, полевой и т. д.).

5.3 Определяют условия проведения опыта, время, необходимое для проведения наблюдений и учетов (метеорологические условия, время года и т.д.).

5.4 Разрабатывают схему и методику опыта.

5.5 Планируют наблюдения и учеты.

Наиболее трудный вопрос, который приходится решать исследователю при составлении программы – это схемы будущих опытов. Следует иметь в виду два основных момента: во-первых, варианты в опыте могут различаться качественно: опыты по улучшению и сравнительной оценке сортов и культур, способов посева и обработки почвы, предшественников, различных форм удобрений, пестицидов и т.д.; во-вторых, количественные градации факторов: дозы удобрений, нормы полива, глубина обработки почвы и т.д.

В схемах, где варианты различаются качественно, важно выдержать принцип единственного различия, правильно выбрать контрольный вариант (стандарт) и определить сопутствующие, не учитываемые в опыте оптимальные агротехнические условия (фон).

В опытах с количественной градацией признаков, кроме перечисленных выше требований, необходимо правильно установить единицу варьирования для доз изучаемого фактора (шаг) и число градаций (доз), чтобы по результатам эксперимента можно было построить кривую отклика, которая будет характеризовать зависимость изучаемой величины от градаций фактора.

Целесообразно иметь 5 – 8 уровней (доз, градаций) фактора, чтобы эксперимент охватил лимитирующую, стационарную и ингибирующую область кривой. Успешное решение поставленной перед экспериментатором задачи зависит от удачного выбора основного уровня (центра эксперимента) и единицы (шага)

варьирования изучаемого фактора. Если неправильно установлен центр эксперимента и приняты недостаточные различия в дозах, то результаты эксперимента могут охватить только лимитирующую или стационарную область кривой и, следовательно, на основании этих данных нельзя установить оптимальный уровень изучаемого в опыте фактора. С другой стороны, если шаг выбран слишком большим, то можно «проскочить» точку максимума (минимума).

При постановке многофакторных опытов можно установить не только действие изучаемых факторов, но и величину их взаимодействия при совместном применении, однако, для этого схема должна предусматривать испытание всех возможных сочетаний намеченных для изучения факторов и их градаций. При этом может изучаться действие и взаимодействие как количественных, так и качественных факторов.

При разработке методики опыта необходимо установить наиболее рациональное направление, форму, площадь делянки, повторность, систему расположения повторений, вариантов и делянок.

Метод размещения вариантов должен обеспечивать проведение опыта с минимальными ошибками независимо от вероятных случайностей (порча некоторых растений, их гибель от болезней и вредителей и т. д.), а также обеспечивать гибкость опыта, т. е. возможность введения новых вариантов вместо старых, уже не представляющих интереса.

Варианты в опытах можно размещать стандартным, систематическим методом, методами рендомизированных повторений, латинского квадрата, латинского прямоугольника, полной рендомизации, расщепленных делянок и т. д. в зависимости от варьирования плодородия почвы, других условий выращивания, урожая растений, показателей их роста.

Стандартный метод - размещение контроля (стандарта) рядом с каждым опытным вариантом.

Случайный метод – размещение вариантов в опыте в определенной последовательности, с учетом закономерности.

Рендомизированные повторения - случайное размещение всех вариантов опыта в пределах каждого повторения. При этом в каждом повторении каждый вариант встречается только один раз.

Рендомизированный латинский квадрат. При этом размещении в каждом ряду и в каждом столбце имеется полный набор вариантов и ни один из них не повторяется. Благодаря такому размещению при различных окраинах опыта - продольная или торцовая стены, центральная дорога и т.д. - все варианты будут находиться в одинаковых условиях и средние арифметические по вариантам будут объективными.

Рендомизированный латинский прямоугольник - это рендомизированное размещение вариантов в пределах каждого ряда и по отдельным блокам. Такое размещение позволяет уменьшить влияние неизучаемых факторов, действующих в трех направлениях: взаимно перпендикулярных и по диагонали.

Метод полной рендомизации применяют: 1) когда индивидуальное варьирование роста и урожая растений превышает варьирование плодородия почвы,

как это бывает у многолетних растений; 2) в опытах с небольшим числом вариантов и небольшой площадью делянок, т. е. при ограниченной площади участка; 3) когда коэффициент варьирования по повторностям сведен к нулю, а сумма квадратов дисперсии повторения минимальна. Для размещения вариантов методом полной рендомизации пользуются таблицей случайных чисел.

Метод рендомизированных расщепленных делянок - это рендомизированное размещение вариантов факторов первого порядка на основных делянках, а факторов второго и третьего порядков на субделянках, на которые расщепляют основные делянки. Такой метод размещения применяют: 1) в многофакторных опытах; 2) если в опыте внимание акцентируют на взаимодействиях факторов, а не на каждом из них отдельно, например взаимодействии глубины обработки и влажности грунта, удобрения и полива; 3) если в опыт надо ввести группу новых дополнительных вариантов; 4) если надо увеличить точность исследований для каких-то определенных более важных факторов, несколько снизив ее для второстепенных. Расщепление делянок лучше проводить в таком порядке: делянки первого порядка - гибриды и сорта; делянки второго порядка - обработка почвы; делянки третьего порядка - удобрение или опрыскивание пестицидами.

При пространственном размещении экспериментальных единиц в условиях активного эксперимента важно учитывать следующее:

При проведении лабораторных экспериментов экспериментальные единицы, как правило, более сходны друг с другом, чем в полевых экспериментах. Однако лабораторные условия сами по себе создают неоднородную среду, вынуждая исследователя принимать меры для уменьшения риска воздействия неучтенных факторов и случайных (неконтролируемых) событий на результаты экспериментов.

В некоторых случаях во время лабораторного эксперимента, помимо исходной рендомизации целесообразно время от времени изменять расположение экспериментальных единиц в пространстве. Случайная перестановка обеспечивает выравнивание средних условий, в которых в течение опыта находится каждая экспериментальная единица. Соответственно, уменьшается случайная изменчивость между экспериментальными единицами, что облегчает обнаружение исследуемого эффекта.

Существуют особенности при выборе экспериментальных единиц в условиях пассивного эксперимента, например, при описании последствий воздействия промышленного загрязнения на различные параметры экосистем. Необходимо сочетать два подхода: первый – абсолютно случайный способ закладки пробных площадей; второй – тщательный подбор типичного места. На первом этапе следует сформировать набор потенциальных пробных площадей, пригодных для характеристики исследуемого варианта биотопа. На втором этапе – из большого набора потенциально подходящих участков, выбрать те, которые составят итоговую выборку.

Полевые опыты сопровождаются однократными или периодическими количественными и качественными наблюдениями за объектами исследований и состоянием окружающей среды. Основное требование к наблюдениям –

целенаправленность, необходимость для понимания действия изучаемого фактора. В связи с этим экспериментатор должен определить:

- какие наблюдения, анализы и учеты включить в программу исследований,
- в какие сроки проводить наблюдения и учеты,
- определить оптимальный объем выборок,
- обеспечить представительность отбираемых выборок (проб).

**6. Составление рабочего плана.** Планирование эксперимента завершается составлением рабочего плана исследований, в котором достаточно полно, но лаконично описывают все этапы опытной работы, указывают количество опытов, затраты времени и средств для достижения основной цели исследований.

При планировании эксперимента оговаривают также и способы статистической обработки данных (однофакторный, двухфакторный дисперсионный анализ, корреляционно-регрессионный анализ и т. д.), устанавливают необходимый уровень точности (95% или 99%).

Предвидеть все детали будущего исследования не так просто, поэтому в процессе работы программу и рабочий план дополняют и редактируют.

**Задание.** Разработать план эксперимента в соответствии с темой магистерской исследовательской работы.