

В СОДЕРЖАНИЕ

Лекция №1. ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ

План:

1. Фундаментальные и прикладные научные исследования в аквакультуре
2. Поисковые исследования.
3. Прикладная наука

1. Фундаментальные и прикладные научные исследования в аквакультуре

Фундаментальные научные исследования – теоретические и (или) экспериментальные исследования, направленные на получение новых знаний об основных закономерностях развития природы, человека, общества, искусственно созданных объектов. Фундаментальные научные исследования могут быть ориентированными, то есть направленными на решение научных проблем, связанных с практическими приложениями.

Фундаментальная наука – это наука, имеющая своей целью создание теоретических концепций и моделей, практическая применимость которых неочевидна. Задачей фундаментальных наук является познание законов, управляющих поведением и взаимодействием базисных структур природы, общества и мышления. Эти законы и структуры изучаются в «чистом виде», как таковые, безотносительно к их возможному использованию.

Согласно официально принятому определению: к фундаментальным исследованиям относятся экспериментальные и теоретические исследования, направленные на получение новых знаний без какой-либо конкретной цели, связанной с использованием этих знаний. Их результат – гипотезы, теории, методы и т.п. Фундаментальные исследования могут завершаться рекомендациями по постановке прикладных исследований для выявления возможностей практического использования полученных результатов, научными публикациями и т.д.

Национальным научным фондом США дано такое определение понятия фундаментального исследования: фундаментальные исследования – это часть научно-исследовательской деятельности, направленная на пополнение общего объема теоретических знаний. Они не имеют заранее определенных коммерческих целей, хотя и могут осуществляться в областях, интересующих или способных заинтересовать в будущем бизнесменов-практиков.

Фундаментальные исследования имеют обычно общий (абстрактный характер) без углубления в область конкретного применения научных результатов. Их цель – открытие новых явлений, закономерностей и принципов, которые впоследствии могут быть использованы при создании новой техники, технологии организации производства и потребления. Результаты фундаментальных исследований служат основой для проведения исследова-

ний поискового и прикладного характера. Итоги фундаментальных научных работ оформляются в виде теорий, гипотез и т.п.

Важной особенностью фундаментальных исследований является ярко выраженный индивидуальный характер труда, большая зависимость результатов работы от индивидуальных склонностей и способностей ученых. Другой, не менее важной чертой фундаментальных работ является высокая степень неопределенности содержания научного поиска, а также непредсказуемости конечных результатов этого поиска. В то же время данный вид исследований способен дать результаты, имеющие огромное общенаучное и общегосударственное значение. В России фундаментальные исследования сосредоточены, главным образом, в государственном секторе науки – институтах Академии наук РФ, ведомственных научно-исследовательских учреждениях, высших учебных заведениях.

Фундаментальное знание в науке – сравнительно небольшая часть проверенных на опыте научных теорий и методологических принципов либо аналитических приемов, которыми пользуются ученые в качестве руководящей программы. Остальное знание – результат текущих эмпирических и прикладных исследований, совокупность объяснительных моделей, принятых пока что в качестве гипотетических схем, интуитивных концепций и так называемых «пробных» теорий.

Фундаментальная наука занимается исключительно приращением нового знания, прикладная – только приложением апробированного знания. Добывание нового знания – это авангард науки, апробация нового знания – ее арьергард, т.е. обоснование и проверка однажды добытых знаний, превращение текущих исследований в «твердое ядро» науки. Практическое приложение – это деятельность по применению знаний «твердого ядра» к реальным жизненным проблемам. Как правило, «твердое ядро» науки отображается в учебниках, учебных пособиях, методических разработках и всевозможных руководствах.

Фундаментальная наука имеет своей целью познание объективной действительности такой, как она есть сама по себе. Прикладные науки имеют совершенно другую цель – изменение природных объектов в нужном для человека направлении. Именно прикладные исследования непосредственно связаны с инженерией и технологией. Фундаментальные исследования обладают относительной независимостью от прикладных разработок.

В фундаментальной работе движущий мотив научного поиска – уточнение, совершенствование или создание новых понятий и концепций, открытие новых фактов, которые только во вторую очередь помогают решению конкретной проблемы.

2. Поисковые исследования.

Поисковые исследования направлены на изучение более конкретных проблем. Они обычно базируются на результатах фундаментальных исследований и преследуют цель создания научного задела для будущих прикладных научных работ. Потребность в поисковых работах возникает при отсутствии

ясности в путях использования материалов фундаментальных исследований, способах их трансформации для решения конкретных научных и технических проблем.

Основными задачами поисковых исследований являются:

- оценка и прогнозирование развития отдельных направлений науки, техники и технологии;
- анализ возможности применения известных или вновь открытых явлений и закономерностей для создания новой техники, технологии или материалов;
- поиск сфер применения новых решений и открытий (так называемые аппликационные исследования).

Итогом поисковых исследований являются новые направления конструирования, новые виды технологий и способы управления производственными (общественными) процессами. Цели и задачи поисковых исследований формулируются более конкретно, чем в фундаментальных работах. Планирование и организация поисковых работ характеризуются меньшей неопределенностью.

Результатом поисковых исследований является научно-техническая информация, которая во многих случаях имеет материально-техническое воплощение. При положительных результатах выводы поисковых работ имеют вполне конкретный характер и выдаются в виде отчетов, технической документации, макетов, экспериментальных образцов.

3. Прикладная наука

Прикладная наука – это наука, направленная на получение конкретного научного результата, который актуально или потенциально может использоваться для удовлетворения частных или общественных потребностей.

Непосредственная цель прикладных наук – применение результатов фундаментальных наук для решения не только познавательных, но и практических проблем. Поэтому здесь критерием успеха служит не только достижение истины, но и мера удовлетворения социального заказа. Как правило, фундаментальные науки опережают в своём развитии прикладные, создавая для них теоретический задел. В современной науке на долю прикладных наук приходится до 80-90% всех исследований и ассигнований. Действительно, фундаментальная наука составляет только малую часть общего объема научных исследований.

Проведение прикладных научно-исследовательских работ позволяет, с одной стороны, решить определенную научно-техническую проблему, а с другой – создать задел для проведения опытно-конструкторских работ, конструкторской и технологической подготовки производства.

Важную роль выполняют разработки, которые переводят результаты прикладных наук в форму технологических процессов, конструкций, социоинженерных проектов.

У академической и прикладной науки различные методы и предмет исследования, различные подходы и угол зрения на социальную действитель-

ность. Прикладная наука отличается от фундаментальной (а в нее необходимо включать теоретическое и эмпирическое знание) практической направленностью.

Лекция №2. МОДЕЛЬНЫЕ ОБЪЕКТЫ В ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ В АКВАКУЛЬТУРЕ

План:

1. Понятие модельный организм
2. Важные модельные организмы и области их использования

1. Понятие модельный организм

Модельные организмы – организмы, используемые в качестве моделей для изучения тех или иных свойств, процессов или явлений живой природы. Модельные организмы интенсивно изучаются, причём одна из причин этого – надежда на то, что открытые при их изучении закономерности окажутся свойственны и другим более или менее похожим организмам, в том числе и человеку. Часто модельные организмы используются в тех случаях, когда проведение соответствующих исследований на человеке невозможно по техническим или этическим причинам. Использование модельных организмов основано на том, что все живые организмы имеют общее происхождение и сохраняют много общего в механизмах хранения и реализации наследственной информации, метаболизме и др.

Выбор модельных организмов

Модельными становятся организмы, по которым уже накоплено много научных данных. Обычно модельным организмом специально занимаются несколько лабораторий или исследовательских групп, а по результатам его изучения опубликовано от нескольких сотен до многих тысяч статей.

В качестве модельных выбирают обычно организмы, которых легко содержать и разводить в лабораторных условиях (*Escherichia coli*, *Tetrahymena thermophila*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*). Дополнительными преимуществами является короткое время генерации (быстрая смена поколений), возможность генетических манипуляций (наличие инбредных линий, в случае многоклеточных возможность получения стволовых клеток, разработанные методы генетической трансформации).

Дополнительными причинами для выбора данного объекта в качестве модельного может служить его положение на филогенетическом древе: например, макак-резус является важным модельным организмом для медицинских исследований из-за своего относительно близкого родства с человеком (по той же причине для полной расшифровки был выбран геном шимпанзе).

Наконец, для некоторых областей исследований выбор объекта в качестве модельного определяется прежде всего особенностями его строения.

Так, при изучении «простых нервных систем» в качестве моделей используются такие организмы, у которых нейроны идентифицируемые, относительно немногочисленные и (желательно) крупные – например, аплизия.

Исторически сложилось, что модельные организмы (кишечная палочка, дрожжи, дрозофила) стали первыми среди соответствующих групп организмами, геном которых был полностью секвенирован. В дальнейшем наличие полностью секвенированного и расшифрованного генома стало важным требованием для использования организма в качестве модельного в биохимии, генетике, молекулярной биологии и большинстве других областей. По этой причине иногда выбор организма был обусловлен особенностями его генома: так, рыба-фугу *Fugu rubripes* была выбрана в качестве модели для изучения генома благодаря его малым размерам (низкий процент некодирующих последовательностей).

Ещё один критерий для выбора модельного организма – его экономическая значимость. Поэтому, например, кроме *Arabidopsis thaliana* в качестве модельных видов растений используются рис *Oryza sativa* L., люцерна *Medicago truncatula* и др.

2. Важные модельные организмы и области их использования

Черви

Лжересничный червь *Symsagittifera roscoffensis* (syn. *Convoluta roscoffensis*), представитель примитивной группы «бескишечных турбеллярий» (ныне подтип *Acoelomorpha*) – изучение эволюции плана строения двустороннесимметричных животных.

Триклада *Schmidtea mediterranea* – биология развития, регенерация; геном частично секвенирован.

Нематода *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) – генетический контроль развития и физиологических процессов (первый многоклеточный организм, чей геном был полностью секвенирован; в настоящее время секвенирован геном второго вида из этого рода, *C. briggsae*).

Членистоногие

Дрозофилы (род *Drosophila*), в частности вид Дрозофила фруктовая (*Drosophila melanogaster*) – плодовая мушка, знаменитый объект генетических исследований. Легко содержится и разводится в лаборатории, имеет быструю смену поколений и множество мутаций с различным фенотипическим выражением. Во второй половине XX века один из основных объектов биологии развития. Геном полностью секвенирован. Недавно стала использоваться для нейрофармакологических исследований.

Восковую моль, в частности вид Большая восковая моль, разводят в лабораторных условиях как модельный объект для физиологических и биохимических исследований.

Моллюски

Аплизия *Aplysia californica*, заднежаберный моллюск – нейробиология, молекулярные механизмы памяти, перестройки цитоскелета.

Кальмар *Loligo pealei* – классический объект для изучения работы нервных клеток и их цитоскелета (имеет гигантские аксоны диаметром до 1 мм).

Иглокожие

Морские ежи *Arbacia punctulata* и *Strongylocentrotus purpuratus* – классические объекты эмбриологии.

Хордовые

Асцидия *Ciona intestinalis* – эмбриология, эволюция генома хордовых.

Гнюсы (*Torpedo*) – используются в биомедицинских исследованиях.

Обыкновенная кошачья акула (*Scyliorhinus canicula*) – используется при сравнительном анализе гаструляции.

Фугу (*Takifugu rubripes*), рыба из семейства *Tetraodontidae*, – имеет компактный геном с небольшим количеством некодирующих последовательностей. Геном секвенирован.

Полосатый данио (*Danio rerio*) – почти прозрачная на ранних стадиях развития пресноводная рыбка; важный объект биологии развития, водной токсикологии и токсикопатологии. Геном секвенирован.

Африканская шпорцевая лягушка (*Xenopus laevis*) – один из основных объектов биологии развития; ооциты используются также для изучения экспрессии генов. Геном секвенирован.

Курица (*Gallus gallus domesticus*) – модельный объект эмбриологии амниот, используется с древнейших времен до наших дней, на цыплятах изучают механизмы памяти и обучения.

Зебровая амадина (*Taeniopygia guttata*) – разновидность ткачиков, объект исследования генетики поведения, механизмов обучения.

Домовая мышь (*Mus musculus*) – главный модельный объект среди млекопитающих. Получено множество инбредных чистых линий, в том числе отобранных по признакам, представляющим интерес для медицины, этологии и др. (склонность к тучности, повышенный и пониженный интеллект, склонность к потреблению алкоголя, различная продолжительность жизни и т. п.). Геном полностью секвенирован. Разработаны методы получения трансгенных мышей с использованием стволовых клеток. Дополнительный интерес представляет как объект для изучения популяционной генетики и процессов видообразования, так как имеет сложную внутривидовую структуру (множество подвидов, различающиеся по кариотипу хромосомные расы).

Серая крыса (*Rattus norvegicus*) – важная модель для токсикологии, нейробиологии и физиологии; используется также, наряду с мышью, в молекулярной генетике и геномике. Геном полностью секвенирован.

Кошка домашняя (*Felis domesticus*) – используется в исследованиях физиологии мозга, дешевле в содержании по сравнению с обезьянами.

Макак-резус (*Macaca mulatta*) – медицинские исследования (в том числе изучение инфекционных болезней), этология, нейробиология.

Шимпанзе (два вида, шимпанзе обыкновенный (*Pan troglodytes*) и шимпанзе карликовый (*Pan paniscus*)) – ближайшие родственники человека среди ныне живущих видов. Сейчас используется в основном для изучения

сложных форм поведения и познавательной деятельности животных. Геном *Pan troglodytes* секвенирован.

Различные врановые (*Corvidae*) – этология, сложные формы поведения. Геном *Corvus brachyrhynchus* секвенирован.

Человек разумный (*Homo sapiens*) – геном полностью секвенирован. В широком смысле не является модельным организмом. Для человека известен наиболее полный список наследственных заболеваний. Важность для нейрофизиологических исследований определяется способностью сообщать о своих ощущениях и выполнять инструкции экспериментатора.

Лекция №3. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЫБ В НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

План:

1. Основы нейробиологии.
2. Использование рыбы данио рерио в нейробиологических исследованиях

1. Основы нейробиологии.

Нейробиология (англ. neurobiology) – это научная специальность и дисциплина, связанная с биологическими исследованиями, направленными на изучение структуры, функций и развития нервной системы в норме и при патологии.

Часто задаваемые вопросы по нейробиологии

Что такое нейробиология?

Нейробиология – это наука, которая стремится понять, как устроена и функционирует нервная система. Нервная система позвоночных включает как центральную, так и периферическую нервную систему. Центральная нервная система состоит из головного и спинного мозга. Периферическая нервная система состоит из нервов, находящихся за пределами центральной нервной системы.

Фундаментальная нейробиология на тканевом уровне предполагает изучение нейронов, глиальных клеток и внеклеточного матрикса. Нейроны – это клетки нервной системы, которые участвуют в обработке информации. Глиальные клетки обеспечивают питание, защиту и структурную поддержку нейронов. Внеклеточный матрикс в головном мозге обеспечивает жизнедеятельность на молекулярном уровне как нейронов, так и глиальных клеток. Специализированный тип глиальных клеток – астроциты – представляют особый интерес для исследователей, т.к. являются самой многочисленной популяцией и осуществляют множество важных функций: поддержание внеклеточного гомеостаза, формирование гематоэнцефалического барьера, запасание гликогена, участвуют в нейрогенезе¹ и синаптогенезе² и т.д. Эти клетки и внеклеточный матрикс являются составляющими нервной системы.

Исследования в области нейробиологии изучают межнейронные взаимодействия, синаптическую передачу сигнала посредством нейротрансмиттеров, функциональную организацию нервной системы, механизмы обработки информации. Научные исследования филогенеза и ранних этапов онтогенеза нервной системы исследуют процессы формирования нервных клеток, приобретение функций в норме и патологии

Изучается организация афферентной и эфферентной систем высших позвоночных и человека, биомеханизмы высших интегративных и поведенческих функций.

Каждая область мозга влияет на разные аспекты поведения, и нейробиология стремится понять эту связь. Нейробиологические исследования выявили роль лобной доли в формировании личности, эмоций, суждений, решения проблем, абстрактного мышления, внимания и планирования. В лобной доле выделяется так называемая область Брока, которая ответственна за речь. В интерпретации информации играют важную роль теменная и затылочная доли. Теменная доля участвует в расшифровке языка, визуальных сигналов и пространственного восприятия, тогда как в затылочной доле находится зрительная кора. Височная доля включает в себя слуховую кору и область Вернике – ключевую часть мозга, необходимую для понимания языка.

Нейротрансмиттеры выделяются нейронами и осуществляют три функции: возбуждение, торможение и модуляцию других нейронов. Большинство нейробиологических расстройств связано с нарушением этих функций. Расстройства могут быть вызваны изменениями в синтезе, секреции и рецепции нейромедиаторов нейронами, либо повреждением самих нейронов.

Виды нейробиологических исследований:

Поведенческая нейробиология: междисциплинарный раздел поведенческой нейробиологии. Также называется биологической психологией, биопсихологией, психобиологией или нейроэтологией. Специалисты в этой области исследуют как биологические механизмы в центральной нервной системе управляют поведением, обучением и памятью.

Нейробиология развития: специализированный раздел нейробиологии. Ученые в этой области изучают процессы, которые способствуют развитию и функционированию мозга. Все начинается с нескольких специализированных эмбриональных клеток, которые трансформируются в нервную систему. Специалисты изучают, как эти клетки изменяются, прежде чем сформировать функциональную нервную систему. Такие исследования могут улучшить понимание механизмов развития некоторых неврологических расстройств.

Молекулярная биология. Исследователи в этой области изучают нейроанатомию на молекулярном уровне и то, как молекулярные взаимодействия способствуют работе нервной системы. Они также изучают влияние генетики на развитие нейронов и молекулярную основу нейропластичности и нейродегенеративных заболеваний. Это относительно новая и динамичная область.

Нейробиология зависимости: специализированный раздел нейробиологии, который изучает механизмы нарушений нейронных связей при развитии зависимости. Исследования с использованием нейровизуализации играют

важную роль в понимании ключевых изменений в мозге человека, которые способствуют развитию зависимости.

Нейробиология старения: специализированный раздел нейробиологии. Исследователи в этой области изучают процессы физиологического старения мозга, основное внимание уделяется механизмам изменений нервной системы с возрастом или заболеваниям, связанным с возрастом, такими как эпилепсия, болезнь Альцгеймера и возрастное нарушение памяти. В данных исследованиях уделяют внимание изменениям в синаптических связях по мере отмирания нейронов, влиянию эндокринной системы и электролитов, в частности кальция, как на нормальное старение мозга, так и при нейродегенеративных заболеваниях.

Нейробиология тревожных расстройств. Исследователи в этой области изучают изменения в активности нейронов, нейроэндокринной системы и нейротрансмиттеров при тревоге и депрессии. В первую очередь ученых интересуют те области мозга, в которых происходят наибольшие изменения. Данные исследования способствуют разработке эффективных методов лечения и профилактики тревожных расстройств.

Нейробиология аутизма: специализированный раздел нейробиологии, изучающий факторы развития нервной системы, которые способствуют возникновению расстройств аутистического спектра (РАС). Исследования направлены на генетические механизмы, процессы развития мозга и взаимосвязь между нейроанатомическими областями мозга, связанные с возникновением аутизма.

Нейробиология психических расстройств: Исследователи в этой области стремятся понять роль нейротрансмиттеров в формировании психических расстройств с применением методов молекулярной генетики. Одна из проблем, с которой исследователи сталкиваются при изучении этой области – это отсутствие пациентов для группы контроля, которые в настоящее время не принимают психотропные препараты при рецидиве заболевания.

Нейробиология биполярного расстройства: специализированный раздел нейробиологии и исследований психических расстройств. Сложный характер колебаний биполярного расстройства между манией и депрессией затрудняет для исследователей выявление его причин. Исследователи изучают связи головного мозга и системы нейротрансмиттеров, которые способствуют развитию этого заболевания.

Нейробиология психических травм. Исследователи в этой области изучают взаимосвязи различных областей мозга с эндокринными и нейромедиаторными реакциями на травмирующее воздействие. Эти эффекты изучаются в краткосрочной и долгосрочной перспективе на молекулярном, клеточном и поведенческом уровнях. Исследования в этой области пересекаются с нейробиологией развития при детских травмах или негативном детском опыте (НДО).

Нейробиология сна. Исследователи в этой области изучают функции нервной системы, задействованные в процессах сна и бодрствования, генетические и поведенческие факторы, регулирующие сон. Открытия в этой об-

ласти способствуют пониманию и лечению нарушений циркадных ритмов и сна.

2. Использование рыбы данио рерио в нейробиологических исследованиях

Пресноводные рыбы данио рерио (*Danio rerio*) в последнее время являются очень популярным модельным объектом в различных биомедицинских исследованиях, направленных на изучение процессов функционирования генов, развития организма, анатомии, физиологических и поведенческих особенностей, а также в экотоксикологии, нейробиологии, онкологии и аквакультуре. К примеру, за последние два десятилетия исследователи начали все больше использовать данио рерио в качестве модели для понимания того, как нейронные цепи генерируют поведение, фундаментальную цель в нейробиологии. Несмотря на низкое сходство с человеком, многие системы данио, например сердечно-сосудистая система, взаимодействует как у человека с низкомолекулярными соединениями. Методами генной инженерии разрабатываются модели данио рерио, имитирующие заболевания человека.

Следует отметить, что использование данио рерио в качестве модельного объекта в медико-биологических исследованиях еще не получило достаточно популярности в научной сфере Беларуси.

Целью является описание перспективных направлений использования данио рерио, в качестве модельного объекта для медицины, биологии, ветеринарии и сельского хозяйства, на базе созданной лаборатории «Физиология рыб» при кафедре ихтиологии и рыбоводства УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» (г. Горки).

В настоящее время основными направлениями исследований лаборатории «Физиология рыб» является использование данио рерио в области токсикологии (в т. ч. эмбриотоксикологии), нейрохимии, нейробиологии, биофизики, эмбриологии, репродуктивной физиологии, кормления животных, аквакультуры. Кроме того, осуществляется апробация и освоение международных протоколов содержания данио рерио в искусственных условиях, а также их совершенствования.

В области токсикологии ведутся исследования по установлению токсичности (в т. ч. эмбриотоксичности) пестицидов. Изучаются нейротоксические эффекты хлорорганических, пиретроидных, фосфорорганических и карбаматных пестицидов, а также растворителей. Изучаются перспективы повышения диагностического и прогностического потенциала модельных эмбрионов данио рерио для обнаружения нейротоксических соединений. В области нейрохимии осуществляются исследования нейрохимических механизмов влияния антистрессовых и анестезирующих веществ на рыб. В области нейробиологии исследуется роль M1/M2 микроглии в развитии воспаления в стресс-индуцированном патогенезе мозга. В области биофизики исследуется влияние низкоинтенсивного оптического излучения на развития рыб. В области репродуктивной физиологии, кормления животных и аквакульту-

ры осуществляется изучения влияние различных биологически активных веществ на рост и развития данио рерио, исследование физиологических и эпигенетических эффектов микотоксинов на рыб и др. Кроме того, сотрудниками лаборатории были освоены международные протоколы содержания данио рерио в искусственных условиях, кормления, управления качеством водной среды, получения эмбрионов и их инкубации, стартового кормления личинок и др.

Благодаря простоте содержания и ухода и их относительной дешевизне, у данио рерио имеются большие перспективы для использования их в качестве модельных объектов в различных направлениях медико-биологических исследований в Беларуси. Ожидается, что в ближайшие годы, данный объект займет свое достойное место в лабораториях различных НИИ и ВУЗов Беларуси. Созданная на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» в настоящее время осуществляется апробацию и совершенствование международных протоколов содержания и разведения данио рерио, а также комплекс исследований в области токсикологии, нейрохимии, нейробиологии, биофизики, эмбриологии, репродуктивной физиологии, кормления животных, аквакультуры.

Лекция №4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЫБ В ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ

План:

1. Преимущество данио рерио в исследованиях биологии развития
2. Использование данио рерио при поиске и тестировании лекарств от рака
3. Данио рерио в исследованиях по изучению депрессии и расстройства аутистического спектра.

1. Преимущество данио рерио в исследованиях биологии развития

Аквариумные рыбы данио рерио долгое время были объектом биологии развития. Однако в последние годы их стали использовать и нейробиологи, и физиологи более широкого профиля, и специалисты по изучению рака.

Первые ГМ-питомцы

Небольшие рыбы с латинским названием *Danio rerio*, типичные для южноазиатских рек, относятся к семейству карповых. На теле у данио темные и светлые полосы, видимо, поэтому англоговорящие называют ее *zebrafish*. Данио неприхотливы в содержании и много двигаются, за это их любят аквариумисты.

Данио могут быть не только полосатыми, но и розовыми, и золотистыми, и пятнистыми. Эти формы вывели «обычной» селекцией. А бывают рыб-

ки флуоресцирующие. Методами генной инженерии им добавили один или два гена – либо GFP (зеленого флуоресцентного белка) от медузы, либо RFP (красного флуоресцентного белка) от коралла, или же и тот и другой. В первом случае данио светятся зеленым, во втором – красным, а при наличии обоих генов – желтым. Запатентованное название таких светящихся рыб – GloFish, и на рынке они появились в США в 2003 году. Жаль, что теперь во многих странах мира их ввоз и содержание запрещены из-за боязни генномодифицированных объектов. И тем не менее именно GloFish стали первыми ГМ-домашними животными.

Изначально *Danio rerio* были незаменимы в исследованиях биологии развития. Во-первых, эмбрионы рыб развиваются не в организме матери и не в яйце с плотной скорлупой, а в икринке, что упрощает манипуляции и наблюдения. Во-вторых, мальки данио практически прозрачны, что, опять же, удобно для эксперимента. Наконец, развиваются они быстро: от нереста до вылупления из икринок проходит всего четыре дня. Не нужно ждать три недели, как в случае курицы, и вскрывать яйца не требуется.

Да, эмбриогенез рыб отличается от человеческого сильнее, чем птичий, но и степень детализации в случае данио выше, и возможностей для экспериментальных манипуляций больше. На протяжении десятков лет специалисты по биологии развития воздействовали на гены эмбрионов рыб, выявляя изменения, к которым такие воздействия приведут. В итоге развитие данио расписано по часам и выявлены сотни факторов, влияющих на превращение оплодотворенной яйцеклетки в маленькую рыбку. Многим генам, участвующим в эмбриогенезе данио, нашли соответствия в геноме человека (гены-гомологи у разных видов, выполняющие одну и ту же функцию, принято называть ортологами), а значит, можно полагать, что и на наше внутриутробное развитие они влияют.

Конечно, лабораторных мышей тоже используют в исследованиях биологии развития, однако у них есть большой недостаток: мыши непрозрачны. Сейчас существуют технологии, исправляющие это. Но, во-первых, после их применения эмбрионы не остаются живыми, а во-вторых, они подходят не для всех тканей. По крайней мере, если речь идет о CLARITY – методике с использованием акриламидных гидрогелей, используемой для фиксации тканей головного мозга. Кстати, препарат нужно фиксировать несколько недель, чтобы добиться нужного результата. А кроме того, хотя мыши размножаются весьма быстро, данио обгоняют их по этому параметру. Самка этой рыбы может откладывать сотни икринок каждую неделю.

2. Использование данио рерио при поиске и тестировании лекарств от рака

Не только мальки *Danio rerio* полезны науке. Взрослые рыбы тоже приносят немало ценных сведений.

Геном данио секвенировали и сравнили с человеческим. Оказалось, что около 70% кодирующих белки генов человека имеют ортологи у этой рыбы, а это значит, что большинство патологических состояний человека теоретиче-

ски можно смоделировать на рыбах. Новые значимые модели появляются практически каждый год. Существуют рыбы аналоги анемий, порфирии, кардиомиопатий, мышечной дистрофии, рака яичек, печени и даже болезнью Паркинсона и Альцгеймера.

Одной из первых была создана модель порфирии – наследственного заболевания, при котором нарушается биосинтез гема, главного компонента гемоглобина. Выяснилось, что ген фермента уропорфириногендекарбоксилазы, чьи мутации провоцируют порфирию у людей, имеет такую же функцию и у данио. В дальнейшем были созданы мутанты *Danio rerio* с отклонениями эмбрионального развития, приводящими к проблемам с синтезом гема. У них, как и у людей с порфирией, нарушен обмен пигментов, а значит, окраска чешуи отличается от нормальной.

Наблюдать за развитием пересаженных от человека опухолей на рыбах оказалось весьма удобно из-за большей прозрачности их тканей. Ранее ксенотрансплантацию человеческих раковых клеток проводили почти исключительно мышам. Стоит отметить, что на рыбах изучают не только солидные (твердые), но и «жидкие» опухоли. Это, например, Т-клеточные лейкозы: они возникают из-за избыточной экспрессии онкогена Мус, которую смоделировали на рыбах с помощью трансгенных технологий.

С помощью данио можно находить и тестировать новые лекарства. Существует модель меланомы на этих рыбах. Известно, что клетки таких опухолей обладают многими свойствами клеток нервного гребня, а нервный гребень одна из важнейших частей эмбриона.

Исследователи выясняли, какие вещества могут замедлять образование нервного гребня данио, предполагая, что эти же молекулы смогут остановить развитие меланом. Таким образом открыли, что противоревматический препарат лефлуномид тормозит синтез пиримидина, а заодно и элонгацию транскрипции генов, активных при формировании нервного гребня. В культурах клеток меланомы лефлуномид в сочетании с вемурафенибом показал себя весьма эффективным. Исследования на животных эта пара тоже прошла, и в 2012 году начались клинические испытания комбинированной терапии. Через два года они закончились, однако их результаты еще не опубликовали.

3. Данио рерио в исследованиях по изучению депрессии и расстройства аутистического спектра.

Удивительно, но данио помогают изучать даже такие, казалось бы, чисто человеческие болезни, как депрессия и расстройства аутистического спектра.

Поведение рыб в моделях этих заболеваний оценивают после записи на видео – совсем как в исследованиях на грызунах. Только если мыши и крысы в тесте «открытое поле» перемещаются в двух плоскостях, рыбы в аквариуме движутся еще и в третьем измерении. Они могут опуститься поглубже, а могут плавать близко к поверхности. Как правило, попадая в новый аквариум, данио предпочитают держаться рядом с его дном и стенками. Однако если в

воду добавить антидепрессант флуоксетин, также снимающий тревожность, они плавают в верхней части аквариума, а уровень «гормона стресса» кортизола у таких рыб снижен. Эти данные весьма интересны не только в плане фармакологического лечения депрессии, но и для экологических исследований. Ведь в США и ряде других стран концентрация флуоксетина в воде естественных водоемов далека от нулевой, а стало быть, обитатели озер и рек постоянно подвержены действию этого антидепрессанта. Какие эффекты он на них оказывает, еще только предстоит уточнить.

Danio rerio – рыбы социальные и охотно взаимодействуют друг с другом. Они могут сбиваться в стайки, а когда мирно общаются, в норме обращены друг к другу головами. Данио, на которых моделируют расстройства аутистического спектра, будто бы не обращают на соседей внимания и почти никогда не поворачиваются к ним, а также держатся от сородичей на почти-тельном расстоянии. Кстати, в разработке моделей «рыб-аутистов» принимают участие и ученые из Санкт-Петербурга и Екатеринбурга.

Есть у данио и аналог эпилепсии. Выявить его можно с помощью электроэнцефалографии и по видеозаписям поведенческих актов. Во время «припадка», вызванного действием конвульсантов, электрическая активность мозга рыбы меняется определенным образом. Меняется также траектория движения.

Ни одна модель не идеальна. Данио, конечно, довольно близки к человеку, но есть между нами и отличия, и не только в числе конечностей. Часть генов у этих рыб дублирована, у их гематоэнцефалического барьера есть особенности строения, которых нет у нашего. Некоторые регионы мозга, играющие важную роль в поведении человека и других млекопитающих, у рыб практически не развиваются. Кроме того, данио не присуща забота о потомстве, а это существенное ограничение для исследований аутизма.

Лекция №5. СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ АКВАКУЛЬТУРЫ

План:

1. Передовые технологии в аквакультуре
2. Искусственный интеллект для принятия решений

1. Передовые технологии и аквакультура

Аквакультура, также известная как аквафермерство, является самой быстрорастущей пищевой промышленностью в мире. Рост спроса на белок и постоянно растущее население объясняют этот рост. По данным Allied Market Research, ожидается, что пять основных рынков аквакультуры (США, Европа, Китай, Россия и Япония) достигнут 87,6 млрд долларов к 2025 году, увеличившись с годовым темпом роста в 4,9% с 2018 по 2025 год.

Хотя аквакультура существует уже 4000 лет, эта отрасль все еще молода и растет. Она многому может научиться у животноводства и имеет ряд проблем, которые нужно решить, таких как борьба с болезнями, производство с низким воздействием на окружающую среду, корма и питание. Однако передовые технологии протянули руку помощи. Появление Интернета вещей (IoT) открыло прибыльные возможности для повышения эффективности и поддержания здоровья водных организмов. Наряду с IoT, вот пять основных инноваций, которые вот-вот изменят работу индустрии аквакультуры.

Дистанционно управляемые аппараты (ROV)

Появление ROV является наиболее выгодным, поскольку они обеспечивают видимость под водой и позволяют осуществлять мониторинг рыбоводческих хозяйств без привлечения людей. Кроме того, ROV могут выполнять различные задачи, требующие квалифицированной рабочей силы и дорогостоящего защитного подводного снаряжения. С помощью ROV фермеры могут быстро и не вставая со своего рабочего места осматривать сети. Требуется около 30 минут, чтобы записать видео на 270 градусов для осмотра сетей сверху донизу. Более того, боковые камеры позволяют легко проводить боковые осмотры.

Роботизированные садки для разведения рыбы

Наиболее распространенными проблемами для рыбоводов являются паразиты и болезни. Обе эти проблемы возникают из-за тесноты на рыбоводческих фермах. Это приводит к снижению урожайности и высоким затратам на обслуживание и производство. С другой стороны, рыбоводство в автономных роботизированных клетках-акваподах может стать следующим большим событием в аквакультуре.

Хотя такие роботизированные клетки требуют высоких инвестиционных затрат, технология в конечном итоге экономит деньги. Акваподы выращивают рыбу в открытом море, а роботы могут проверять и, при необходимости, ремонтировать сети, предлагая более безопасный и эффективный способ разведения рыбы и управления операциями. Более того, **Rolls Royce** уже вышел на рынок аквакультуры и заявил, что грузовые суда могут быть более эффективными и чистыми для судоходства.

Дроны для погружения

Подобно роботам, дроны могут использоваться для выполнения человеческой работы. Мониторинг морских рыбных ферм требует квалифицированной рабочей силы и сопряжен с определенными рисками для людей. Однако дроны могут заменить дорогостоящее вмешательство человека и могут погружаться под воду несколько раз для проверки сетей и мониторинга состояния рыбных ферм.

Несколько компаний вышли на рынок, чтобы обеспечить анализ рыбоводческих хозяйств с помощью сенсорной технологии. Кроме того, дроны могут предложить фермерам потоковую передачу видео в реальном времени для проверки здоровья водных организмов без какого-либо риска. В то время как дроны предлагают необходимые данные, такие технологии, как анализ больших данных, могут помочь распознать закономерности и предупредить

фермеров о проблемах с обслуживанием. Анализ рыбных запасов и анализ окружающей среды могут помочь распознать риски до того, как будет нанесен ущерб всей ферме.

Датчики для устойчивого рыбоводства

Технологические достижения в области датчиков открыли несколько возможностей в рыбоводстве. Вышеупомянутые дроны и роботы требуют передовых датчиков не только для видеосъемки, но и для подводной навигации, сбора данных о pH воды и сбора различных данных, включая уровень кислорода, соленость, загрязняющие вещества и мутность.

В зависимости от вида рыбы фермеры должны поддерживать правильный уровень pH, температуры воды и кислорода. Биосенсоры могут помочь фермерам в анализе таких параметров. Кроме того, современные передовые датчики могут помочь контролировать частоту сердечных сокращений и метаболизм. С помощью этих данных фермеры могут легко создать идеальную среду для своей аквакультуры и получить лучшие урожаи.

Одной из самых передовых технологий, доступных на рынке, является **eFishery**, которая помогает контролировать уровень голода у рыб и помогает фермерам кормить их соответствующим образом. Такие технологии могут помочь фермерам предпринять необходимые шаги для повышения урожайности их рыбоводческих хозяйств.

2. Искусственный интеллект для принятия решений

В то время как интеллектуальные датчики собирают важные данные, несколько компаний стремятся использовать возможности искусственного интеллекта (ИИ) для принятия решений. ИИ может помочь в предиктивном анализе и предложить улучшенное принятие решений на основе данных.

ИИ может помочь обнаружить подводное загрязнение и предупредить фермеров до того, как окружающая среда нанесет вред аквакультуре. Таким образом, рыбоводы могут отправлять роботов для исправления ситуации. Хотя нынешние технологии требуют незначительного вмешательства человека, в будущем большинство решений будут приниматься автономно. Спрос на устойчивость возрос за эти годы. ИИ может помочь сократить чрезмерно эксплуатируемые виды рыб посредством сбора данных и может использоваться при внедрении устойчивых методов добычи.

Помимо этого, дополненная реальность (AR), виртуальная реальность (VR) и блокчейн проникли в аквакультурную отрасль. Хотя первоначальные инвестиции в эти технологии больше, чем в обычные практики, технология может сократить расходы на техническое обслуживание и повысить урожайность в долгосрочной перспективе.

Лекция №6. АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ

План:

1. Использование цифровой фотографии рыб
2. Необходимое оборудование для фотосъемки рыб
3. Обработка снимков

1. Использование цифровой фотографии рыб

Морфометрия включает анализ формы тела или формы отдельных морфологических структур, особенностей и различий размеров или частей тела. Сбор морфологических данных рыб в полевых условиях обычно сопряжен со значительными трудностями и занимает много времени. Учитывая необходимость проведения морфопатологического анализа, сбора возрастрегистрирующих структур (чешуи, отолитов, жаберных крышек, клейтрума и др.), взятие навески икры и фиксации желудка, взятие проб на генетический и биохимический анализ и т. д., время обработки одной особи может достигать получаса и более. При этом время на обработку пробы рыб, в том числе и для морфологического анализа, ограничено 0,5–3 ч после ее вылова, в зависимости от условий хранения и вида анализа. В дальнейшем рыба пригодна лишь для измерения линейно-весовых характеристик, поскольку с момента гибели в организмах рыб происходят необратимые процессы, изменяющие не только физиологические и биохимические, но и морфологические характеристики. В связи с этим вызывают большие сомнения результаты измерений фиксированных образцов. Наиболее затратные промеры рыб небольших размеров и ранних стадий онтогенеза. В то же время сравнительный анализ морфологических данных рыб предполагает их статистическую обработку, достоверность результатов которых при повторяющихся измерениях во многом определяется объемами выборок и единообразием методов измерений.

Одним из решений возникающих противоречий может стать использование цифровой фотографии рыб в стандартизованных условиях съемки с дальнейшей обработкой изображений в лабораторных условиях. Анализ изображений способствует быстрому сбору данных больших объемов, что имеет решающее значение, поскольку стабильность многомерного анализа зависит от отношения наблюдений (n) к переменным (p); n должно быть больше p – аналитическая мощность растет с увеличением числа наблюдений. В целях идентификации и разделения группировок быстрая обработка живых образцов также может устранить необходимость «приносить в жертву» или покупать образцы. Кроме того, полученная цифровая информация позволяет формировать единые базы данных, охватывающие весь ареал обитания вида, и доступные широкому кругу исследователей. К сожалению, огромный объем уникальной первичной ихтиологической информации, собранный исследователями в XIX–XX вв., безвозвратно утерян и не может быть применен для анализа произошедших изменений. Нередко после проведения морфологического или молекулярно-генетического анализа к некоторым образцам

рыб, например относящимся к таким сложным в таксономическом плане «комплексным видам» *Coregonus lavaretus sensu lato*, *Salvelinus alpinus sensu lato*, необходимо возвращаться повторно для уточнения принадлежности к той или иной «форме» или «расе», оценки морфологии особей, имеющих гибридный генотип и т. д. В случае отсутствия фотографий этих образцов дополнительную информацию получить невозможно. Тщательное фотодокументирование материала предоставляет такую возможность.

За последние десятилетия разработка методов захвата и обработки цифровых изображений произвела революцию в морфометрических исследованиях. Метод цифровой фотографии с дальнейшей компьютерной обработкой в настоящее время широко применяется в биологии и облегчает получение морфологических данных рыб. Он используется как один из методов полевого анализа ихтиологического материала, позволяющий зафиксировать в относительно короткий период большой объем первичной информации, пригодной для дальнейшей обработки и хранения. Далее даются рекомендации по использованию цифровой фотографии для морфологических исследований рыб, которые позволяют с минимальными материальными затратами стандартизировать данный метод. Эти рекомендации дадут возможность непрофессиональным фотографам получать качественные изображения ихтиологических объектов.

2. Необходимое оборудование для фотосъемки рыб

Фотокамера. Для получения кадров приемлемого (для дальнейших измерений) качества стоит использовать камеры со сменной оптикой (желательно макро). Под «качеством» мы понимаем техническое качество – высокие разрешение и резкость, малые искажения и низкая шумность. Зеркальную камеру желательно выбирать с режимом предподъема зеркала, который можно заменить режимом LiveView – он превращает зеркальную камеру в беззеркальную. Беззеркальная камера – хороший вариант: зеркало добавляет ненужные сотрясения во время съемки, что и решается предподъемом зеркала. Пока беззеркальная техника более дорогая по оптике и неудобна в условиях яркого освещения (что решается в дорогих моделях наличием цифрового видоискателя). Матрица желательна без антимуарового фильтра, так как последний уменьшает резкость. Размер матрицы имеет значение, но так называемый «кроп» (у разных производителей он имеет разные значения) – вполне пригодный вариант для съемки рыб. Большой размер матрицы, с одной стороны, увеличивает свободу действий и возможное качество кадров, с другой – усложняет съемку, особенно для начинающих. В целом же техника не обязательно должна быть дорогой: неплохой вариант – дешевый Nikon с «кропнутой» матрицей и самым дешевым «хоботным» макрообъективом.

Оптика. Объектив – любой с хорошей разрешающей способностью, но лучше макрообъектив с фиксированным фокусным расстоянием («фикс»). Самый дешевый «фикс» даст лучшее качество картинки, чем самый дорогой зум-объектив («зум»). Макрообъективы со средним фокусным расстоянием

(50–60 мм) в средней ценовой категории практически полностью исправляют сферические искажения кадра. Длиннофокусный объектив (100 мм и более) предпочтительнее (он даст еще меньше искажений), но дороже. В случае с «зумом», фокусное расстояние в средней части диапазона объектива даст наилучшее качество снимка. Бленда необязательна. Фильтры необязательны, но лучше поставить так называемый «защитный» фильтр – при случайном повреждении сменить фильтр намного дешевле. Не стоит использовать кольца и насадки (линзы), лучше купить специализированный, пусть и самый дешевый макрообъектив.

Штатив. Подойдет любой, выдерживающий вес камеры. Удобнее использовать специализированный макроштатив или хотя бы штатив с переворачиваемой штангой – так удобнее изменять расстояние от камеры до объекта. Наличие отделяемой от штатива головы необязательно, но желательно. Удобнее всего использовать шаровую голову с длинными фокусирующими рельсами: шаровый шарнир обеспечивает большую свободу, точность и удобство позиционирования, а наличие рельсов (имеются в виду простые встроенные рельсы, а не дорогие устройства для так называемого «стекинга») позволит достаточно тонко и при этом быстро задавать высоту объектива.

Пульт дистанционного управления. Лучший вариант съемки – съемка с дистанционным управлением. Подойдет любой совместимый ИК-пульт. Если пульта нет, то придется вести съемку в режиме «задержка спуска».

Настройка камеры и оптики. Если есть функция «подавление вибраций», ее надо отключить, на штативе она не работает и может ухудшить результат. В большинстве случаев подойдет режим «приоритет диафрагмы», в случае необходимости рассеивать вспышку – «ручной». ISO – лучше не более 100–200. Большие значения приведут к шуму. Диафрагма – не менее 14, лучше – 18. На «кропнутой» матрице значения выше 18 дадут уже заметное размытие. Меньшие значения не будут способствовать необходимой глубине резкости. Формат файлов – внутренний JPG + RAW. Если место не позволяет (находитесь в длительной экспедиции и взяли всего одну карту памяти), лучше только RAW, чем только JPG. При низкой освещенности возможны большие выдержки. Если съемка происходит в помещении, в городе, то вибрации здания (от людей или техники на улице) приведут к микросмазам при выдержках больше 1/60 сек. В данном случае стоит прибегнуть к увеличению освещенности. В условиях отсутствия тряски (в поле, без ветра, когда штатив и объект ничего не сотрясает) допустима выдержка до нескольких секунд, однако выдержек более 1 сек. лучше избегать: при длинных выдержках увеличивается шумность кадра. Режим фокусировки на камере и в объективе должен быть выставлен на «ручной».

Свет. На улице в солнечную погоду надо снимать или в светлой палатке, или закрыв объект небольшим куском любого рассеивающего материала (белый зонт, тент, кусок тонкого пенополиэтилена и т. п., неокрашенные материалы). В облачную погоду можно снимать без ухищрений. В сумерках или ночью, а также в помещении даже штативная съемка должна вестись с дополнительным освещением. Можно использовать вспышку, но тогда ее на-

до рассеивать (куском бумаги или пенополиэтилена, примотанным на скотч на вспышку). В этом случае режим съемки должен быть ручной, опытным путем надо будет подобрать необходимую выдержку (так как камера «не знает», как сильно рассеиватель затемняет вспышку). Лучше организовать внешнее дополнительное освещение: бытовой светодиодной лампы или фонарика с рассеивателем (обычные бытовые лампы – уже с рассеивателем) на 20–40 Вт будет достаточно. Лучше, когда лампы две. Располагать лампы надо так, чтобы они находились чуть выше нижней границы объектива (то есть не светили в объектив), при этом как можно ближе к объекту (чтобы свет не терялся). В случае с рыбой темную спинку стоит освещать сильнее, чем светлое брюшко.

3. Обработка снимков

Фотографирование рыбы. Рыба выкладывается на однотонный пенополипропиленовый коврик (или кусок пенополипропилена, покрытого однотонной матовой «плащевкой») левым боком вверх. Рыба (или ее часть, которую фотографируют) должна занимать большую часть кадра, с «запасом» 1–2 см от левого и правого краев кадра. То есть расстояние от объектива должно быть минимальным из возможных: это дает наибольшую детальность из возможных для данной оптики (с наибольшими сферическими искажениями, но, как уже было отмечено, все современные макрообъективы даже в средней ценовой категории эти искажения исправляют). Конечно, большое расстояние до объекта дает проекцию ближе к теоретически идеальной, однако даже на объективах с фокусным расстоянием в 60 мм, с условием покрытия объектом большей части кадра, получается достаточно «правильная» проекция. Фокусировка (лучше ручная, автофокус на таких расстояниях обычно работает некорректно) в случае съемки целой рыбы производится на рыбий глаз, части рыбы – на самый выступающий, верхний участок объекта. Под отклоняющиеся от горизонтали голову и хвостовой стебель подкладываются какие-либо подходящие по высоте предметы. Плавники расправляются и при необходимости фиксируются булавками. Оптическая ось объектива должна быть перпендикулярна плоскости подложки. Центр кадра должен находиться примерно в точке пересечения линий, проходящих через половины длины и высоты рыбы. Рядом выкладывается мерная линейка и карточка с номером рыбы. Как правило, делается несколько фотографий, в частности: общий вид, голова (в том числе и с максимально открытым ртом). Для некоторых видов нужно делать кадры головы с вентральной и дорсальной сторон. При необходимости фотографируются хвостовой стебель, плавники, жаберная дуга и другие диагностические органы.

Подготовка полученных снимков. Если снимки получились приемлемые по свету и их не надо готовить к выставке в формате A0, то для измерений рыбы внутрикамерного JPG будет достаточно. Массовая конвертация RAW в JPG с увеличением резкости и локального контраста возможна в любых современных программах типа Lightroom или Darktable, а также без графического интерфейса программами типа UFRaw.

Измерения. Измерения цифровых изображений рыб проводятся в программе Image J, либо аналогичной ей. Перед измерением каждой рыбы в программе Image J производится масштабирование фотографии – пиксели переводятся в миллиметры или сантиметры.

При «натурном» измерении пластических признаков часто проявляются объективные (условия полевых работ, состояние ихтиологического материала) и субъективные (индивидуальные навыки операторов, усталость) ошибки измерений, которые в дальнейшем исправить невозможно. К должным образом организованной библиотеке цифровых изображений всегда можно вернуться и выполнить недостающие или дополнительные, описывающие ту или иную морфологическую структуру, промеры повторно. В результате такого сбора и обработки морфологических данных получаем более точные размерные показатели признаков и исключаем случайное попадание ошибочных данных. Использование для измерений штангенциркуля, по существу, сводит измеряемое тело рыбы к плоской линейной модели, поскольку не учитываются объемные искажения, что нивелирует все преимущества «натурных измерений» над цифровыми.

Таким образом, исследования морфологической изменчивости на разных группах животных, включая рыб, с использованием данного подхода показали несколько положительных моментов:

1. Значительно ускоряется сбор морфологического материала.
2. Создаются библиотеки цифровых изображений видов рыб и других животных из различных регионов.
3. Возможна организация материала в виде банка данных.
4. Возможен сбор дополнительных морфологических признаков.
5. Возможность неоднократного обращения к фотографии объекта.
6. Быстрый обмен материалом с коллегами.
7. Любой автор может самостоятельно обработать любой образец, имеющийся в банке данных.
8. Повышается точность получаемых данных.
9. Возможность обработки данных методами геометрической морфометрии.
10. Привлекательность морфологических работ за счет упрощения первичной обработки материала.
11. Возможность согласования морфологических исследований, выполненных разными операторами.

К минусам данного метода можно отнести искажения, которые неизбежно присутствуют в фотографии, однако при должной тщательности и однообразном выполнении фотографирования их можно минимизировать.

Лекция №7. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОЙ СРЕДЫ R ПРИ СТАТИСТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

План:

1. Появление программной среды R
2. Основные задачи и возможности программной среды R

1. Появление программной среды R

R – это среда для статистических расчетов. R задумывался как свободный аналог среды S-Plus, которая, в свою очередь, является коммерческой реализацией языка расчетов S. Язык S – довольно старая разработка. Он возник еще в 1976 году в компании Bell Labs и был назван, естественно, «по мотивам» языка C. Первая реализация S была написана на FORTRAN и работала под управлением операционной системы GCOS. В 1980 г. реализация была переписана под UNIX, и с этого момента S стал распространяться в основном в научной среде. Начиная с третьей версии (1988 г.), коммерческая реализация S называется S-Plus. Последняя распространялась компанией Insightful, а сейчас распространяется компанией TIBCO Software. Версии S-Plus доступны под Windows и различные версии UNIX – естественно, за плату, причем весьма и весьма немаленькую (версия для UNIX стоит порядка \$6500). Собственно, высокая цена и сдерживала широкое распространение этого во многих отношениях замечательного продукта. Тут-то и начинается история R.

В августе 1993 г. двое молодых новозеландских ученых анонсировали свою новую разработку, которую они назвали R (буква «R» была выбрана просто потому, что она стоит перед «S», тут есть аналогия с языком программирования C, которому предшествовал язык B). По замыслу создателей (это были Robert Gentleman и Ross Ihaka), это должна была быть новая реализация языка S, отличающаяся от S-Plus некоторыми деталями, например обращением с глобальными и локальными переменными, а также работой с памятью. Фактически они создали не аналог S-Plus, а новую «ветку» на «дереве S» (многие вещи, которые отличают R от S-Plus, связаны с влиянием языка Scheme). Проект вначале развивался довольно медленно, но когда в нем появилось достаточно возможностей, в том числе уникальная по легкости система написания дополнений (пакетов), все большее количество людей стало переходить на R с S-Plus. Когда же, наконец, были устранены свойственные первым версиям проблемы работы с памятью, на R стали переходить и «любители» других статистических пакетов (прежде всего тех, которые имеют интерфейс командной строки: SAS, Stata, SYSTAT). Количество книг, написанных про R, за последние годы выросло в несколько раз, а количество пакетов уже приближается к трем с половиной тысячам!

2. Основные задачи и возможности программной среды R

Коротко говоря, R применяется везде, где нужна работа с данными. Это не только статистика в узком смысле слова, но и «первичный» анализ (графики, таблицы сопряженности) и продвинутое математическое моделирование. В принципе, R может использоваться и там, где в настоящее время принято использовать специализированные программы математического анализа, такие как MATLAB или Octave. Но, разумеется, более всего его применяют для статистического анализа от вычисления средних величин до вейвлет-преобразований и временных рядов. Географически R распространен тоже очень широко. Трудно найти американский или западноевропейский университет, где бы не работали с R. Очень многие серьезные компании (скажем, Boeing) устанавливают R для работы.

У R два главных преимущества: невероятная гибкость и свободный код. Гибкость позволяет создавать приложения (пакеты) практически на любой случай жизни. Нет, кажется, ни одного метода современного статистического анализа, который бы не был сейчас представлен в R. Свободный код – это не просто бесплатность программы (хотя в сравнении с коммерческими пакетами, продающимися за совершенно безумные деньги, это, конечно, преимущество, да еще какое!), но и возможность разобраться, как именно происходит анализ, а если в коде встретилась ошибка – самостоятельно исправить ее и сделать исправление доступным для всех.

У R есть и немало недостатков. Самый главный из них – это трудность обучения программе. Команд много, вводить их надо вручную, запомнить все трудно, а привычной системы меню нет. Поэтому порой очень трудно найти, как именно сделать какой-нибудь анализ. Если функция известна, то узнать, что она делает, очень легко, обычно достаточно набрать команду `help(название функции)`. Увидеть код функции тоже легко, для этого надо просто набрать ее название без скобок или (лучше) ввести команду `getAnywhere(название функции)`. А вот что делать, если «задали» провести, скажем, дисперсионный анализ, а функция неизвестна?

Не стоит забывать, однако, что сила R – там же, где его слабость. Интерфейс командной строки позволяет делать такие вещи, которых рядовой пользователь других статистических программ может достичь только часами ручного труда. Вот, например, простая задача: требуется превратить выборку, состоящую из цифр от 1 до 9, в таблицу из трех колонок (допустим, это были данные за три дня, и каждый день делалось три измерения). Чтобы сделать это в программе с визуальным интерфейсом, скажем в STATISTICA, требуется: (1) учредить две новые переменные, (2–3) скопировать дважды кусок выборки в буфер, (4–5) скопировать его в одну и другую переменную и (6) уничтожить лишние строки. В R это делается одной командой:

```
> b <- matrix(1:9, ncol=3)
```

Второй недостаток R – относительная медлительность. Некоторые функции, особенно использующие циклы, и виды объектов, особенно списки и таблицы данных, «работают» в десятки раз медленнее, чем их аналоги в

коммерческих пакетах. Но этот недостаток преодолевается, хотя и медленно. Новые версии R «умеют» делать параллельные вычисления, создаются оптимизированные варианты подпрограмм, работающие много быстрее, память в R используется все эффективнее, а вместо циклов рекомендуется применять векторизованные вычисления.

R обладает примечательными характеристиками, которые делают его привлекательным для использования. Он может работать с различными парадигмами программирования, но лучше всего проявляет себя в объектно-ориентированном программировании. В R функции и таблицы представляют собой объекты, которые могут взаимодействовать друг с другом. Благодаря этому, создание сложных распределённых программ становится возможным, а повторное использование функций и объектов становится удобным и эффективным.

Язык R интерпретируемый, что означает, что программа, написанная на нём, готова к исполнению сразу же, без необходимости компиляции в исполняемый файл. Также, в процессе написания кода можно проверять его работу по частям, что гарантирует более удобную отладку.

Синтаксис R прост и понятен. В его основе отсутствуют сложные конструкции и запутанные функции. Язык имеет всего четыре типа данных: символьные, числовые, логические и комплексные. Однако, эти простые типы и функции языка R могут быть организованы в сложные структуры и конструкции данных. Подобно строительным блокам LEGO, которые сами по себе просты, но при совместном использовании могут составить как игрушечную машинку, так и боевой вертолёт.

Язык R обладает удобными интерактивными инструментами. Например, есть среда разработки RStudio, которая обеспечивает подсветку синтаксиса, навигацию по тексту программы, сортировку таблиц и отображение графиков в отдельном окне. Кроме того, существует приложение-блокнот Jupyter Notebook, позволяющее создавать и обмениваться программами на R прямо в веб-браузере. Не следует забывать и о дистрибутиве Anaconda, который включает в себя широкий набор популярных библиотек, упрощая работу с языком R.

Существует огромное количество библиотек и расширений, доступных для использования. Они предоставляют готовые функции для обработки и визуализации данных, проведения быстрых статистических операций, распознавания текстов, проведения A/B-тестирования и обслуживания различных областей науки.

Язык R предоставляет множество возможностей для обработки данных и проведения анализа. В отличие от классических сервисов с графическим интерфейсом, R чаще используется для написания программного кода, который выполняет определенные задачи и выводит результаты или графики. Давайте рассмотрим некоторые из основных возможностей языка R.

Первая возможность – очистка и обработка данных. Например, вы можете написать программу на R, которая сгруппирует данные о покупках по товарам, удалит дубликаты и подготовит таблицу для дальнейшего анализа.

Это очень полезно, когда у вас есть большой массив информации, который требует предварительной обработки.

Вторая возможность – проведение статистических тестов. С помощью R вы можете вычислить среднюю продолжительность и определить, есть ли статистически значимая разница между несколькими показателями. Это помогает в проведении анализа данных и выявлении взаимосвязей.

Третья возможность – объединение данных из разных таблиц. R позволяет объединять таблицы разных форматов и работать с ними как с единым файлом. Это удобно, когда вам нужно объединить данные из разных источников для проведения комплексного анализа.

Четвертая возможность – создание интерактивных графиков. R предоставляет широкие возможности для визуализации данных. Вы можете распределить данные на графике, настроить параметры и создать интерактивные графические элементы, которые позволят вам взаимодействовать с данными.

Пятая возможность – анализ регрессионных моделей. R позволяет выявлять отношения между переменными и строить регрессионные модели. Например, вы можете исследовать, как доход магазина зависит от различных факторов, таких как цена товаров, рекламный бюджет и т.д.

Шестая возможность – выполнение других математических операций. R позволяет объединять многомерные массивы, прогнозировать значения и даже распознавать текст. Для большинства задач уже существуют готовые библиотеки, но вы также можете написать свой собственный код, используя широкий математический инструментарий, доступный в R.

Язык R предоставляет множество возможностей для обработки данных и проведения анализа. Он позволяет очищать и обрабатывать данные, проводить статистические тесты, объединять таблицы, создавать интерактивные графики, анализировать регрессионные модели и выполнять другие математические операции. Это мощный инструмент для работы с данными и исследования их характеристик.

В R существуют два отличных пакета для работы с данными – `dplyr` и `data.table`. Каждый из них имеет свои сильные стороны. `Dplyr` более элегантен и напоминает естественный язык, в то время как `data.table` является более лаконичным и позволяет выполнять множество операций в одной строке. Кроме того, в некоторых случаях `data.table` демонстрирует более высокую скорость выполнения, что может быть решающим фактором при наличии ограничений на память или производительность.

`Dplyr` предоставляет пять основных функций для работы с данными. Функция `select` используется для выбора одного или нескольких столбцов. Функция `filter` позволяет выбрать строки на основе заданных критериев. Функция `arrange` служит для сортировки данных по одному или нескольким столбцам в порядке возрастания или убывания. Функция `mutate` используется для добавления новых столбцов к данным. А функция `summarise` позволяет суммировать часть данных.

`Data.table` использует компактный формат `dt[i, j, by]`, который можно интерпретировать следующим образом: возьмите таблицу `dt`, выберите стро-

ки, используя условие i , и произведите вычисления, указанные в операторе j , сгруппировав данные по условию by .

Теперь перейдем к `ggplot2`. Можно считать, что у библиотеки `ggplot2` есть своя философия, поняв которую, строить графики гораздо легче.

Во-первых, графики `ggplot` многослойные, то есть строятся они поэтапно, по слоям. Сначала указывается датафрейм, с которым мы работаем, и интересующие нас показатели (первый слой), затем указывается тип графика (второй слой), затем настройки для подписей, легенды и прочее (остальные слои). Все слои добавляются через `+`.

Во-вторых, для любого графика указывается функция `aes`, сокращенно от `aesthetics`, в качестве аргументов которой задаются переменные интереса (которые хотим отобразить на графике), а также элементы оформления графика, которое непосредственно связано с переменными в датафрейме.

Лекция №8. АЛГОРИТМЫ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ В СТАТИСТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

1. Методы машинного обучения
2. Возможности алгоритмов машинного обучения

1. Методы машинного обучения

Алгоритмы машинного обучения – это фрагменты кода, которые помогают пользователям исследовать и анализировать сложные наборы данных и находить в них смысл. Каждый алгоритм – это конечный набор однозначных пошаговых инструкций, которые компьютер может выполнять для достижения определенной цели. В модели машинного обучения цель заключается в том, чтобы установить или обнаружить закономерности, с помощью которых пользователи могут создавать прогнозы либо классифицировать информацию.

В алгоритмах машинного обучения используются параметры, основанные на учебных данных (подмножество данных, представляющее более широкий набор). При расширении учебных данных для более реалистичного представления мира с помощью алгоритма вычисляются более точные результаты.

В различных алгоритмах применяются разные способы анализа данных. Они часто группируются по методам машинного обучения, в рамках которых используются: контролируемое обучение, неконтролируемое обучение и обучение с подкреплением. В наиболее популярных алгоритмах для прогнозирования целевых категорий, поиска необычных точек данных, прогнозирования значений и обнаружения сходства используются регрессия и классификация.

Методики машинного обучения

По мере изучения алгоритмов машинного обучения вы обнаружите, что они обычно относятся к одной из трех методик:

Контролируемое обучение

При контролируемом обучении алгоритмы обеспечивают прогнозирование на основе набора помеченных примеров. Эта методика полезна, если вы знаете, как должен выглядеть результат.

Например, вы предоставляете набор данных, в котором указано население городов за последние 100 лет, и хотите узнать численность населения определенного города через четыре года. При получении результата используются метки, которые уже есть в наборе данных: население, город и год.

Неконтролируемое обучение

При неконтролируемом обучении точки данных помечать не нужно. Алгоритм помечает их автоматически, упорядочивая данные или описывая их структуру. Этот метод полезен, если неизвестно, каким должен быть результат.

Например, вы указываете данные о клиентах и хотите создать сегменты клиентов, которым нравятся похожие продукты. Данные, которые вы предоставляете, не помечаются. Метки в результатах формируются на основе сходств, обнаруженных между точками данных.

Обучение с подкреплением

При обучении с подкреплением используются алгоритмы, которые обучаются на результатах и определяют, какое действие следует предпринять. После каждого действия алгоритм получает отзыв, помогающий определить, является ли сделанный выбор правильным, нейтральным или неправильным. Этот метод удобно использовать в автоматизированных системах, которые должны принимать много мелких решений без вмешательства человека.

Например, вы разрабатываете беспилотный автомобиль, который должен соблюдать правила дорожного движения и обеспечивать безопасность людей. По мере того, как автомобиль накапливает опыт и историю подкрепления, он обучается соблюдать рядность движения, не превышать ограничение скорости и тормозить перед пешеходами.

2. Возможности алгоритмов машинного обучения

Алгоритмы машинного обучения помогают ответить на вопросы, на которые сложно ответить с помощью анализа, выполняемого вручную. Есть множество типов алгоритмов машинного обучения, но варианты их использования обычно относятся к одной из указанных ниже категорий.

Прогнозирование целевой категории

Алгоритмы двухклассовой (двоичной) классификации позволяют разделить данные на две категории. Такие алгоритмы полезны для решения вопросов, у которых есть только два возможных взаимоисключающих ответа, включая ответы "Да" и "Нет". Вот примеры:

- Выйдет ли из строя эта шина на следующих 1000 км: да или нет?
- Что привлекает больше клиентов: 10 долл. США на счете или скидка 15%?

С помощью алгоритмов *многоклассовой (полиномиальной) классификации* можно разделить данные на три категории или более. Такие алгоритмы полезны для решения вопросов, у которых есть не менее трех взаимоисключающих ответов. Вот примеры:

- В каком месяце большинство путешественников покупают авиабилеты?
- Какую эмоцию выражает лицо человека на этой фотографии?

Поиск необычных точек данных

Алгоритмы обнаружения аномалий позволяют определить точки данных, которые выходят за пределы заданных параметров «нормы». С помощью алгоритмов обнаружения аномалий, к примеру, можно получить ответы на такие вопросы:

- Какие детали из этой партии бракованные?
- Какие покупки с помощью кредитной карты могут быть мошенническими?

Прогнозирование значений

С помощью *алгоритмов регрессии* можно спрогнозировать значение новой точки данных на основе исторических данных. Эти алгоритмы помогают получить ответ на такие вопросы:

- Какой будет средняя стоимость дома с двумя спальнями в моем городе в следующем году?
- Сколько пациентов примет клиника во вторник?

Изменение значений со временем

Алгоритмы временных рядов показывают, как заданное значение изменяется с течением времени. При анализе и прогнозировании временных рядов данные собираются через регулярные интервалы времени и используются для прогнозирования и определения тенденций, сезонности, цикличности и неравномерности. С помощью алгоритмов временных рядов можно получить ответы на такие вопросы:

- В следующем году цена определенной акции с большей вероятностью повысится или понизится?
- Какие у меня будут расходы в следующем году?

Обнаружение сходства

Алгоритмы кластеризации позволяют разделить данные на несколько групп, определяя степень сходства между точками данных. Алгоритмы кластеризации подходят для решения таких вопросов:

- Какие зрители предпочитают одинаковые типы фильмов?
- Какие модели принтеров выходят из строя аналогичным образом?

Классификация

Алгоритмы классификации используют прогнозные вычисления для присвоения данных предварительно заданным категориям. Алгоритмы классификации обучаются на входных данных и используются для получения ответов на такие вопросы:

- Это письмо – спам?

- Какова тональность (положительная, отрицательная или нейтральная) определенного текста?

С помощью алгоритмов *линейной регрессии* отображается либо прогнозируется связь между двумя переменными или факторами путем вписывания в представление данных непрерывной прямой линии. Эта линия часто вычисляется с помощью функции Squared Error Cost (Стоимость среднеквадратической погрешности). Линейная регрессия – один из наиболее популярных типов регрессионного анализа.

Алгоритмы *логистической регрессии* позволяют вписывать в представление данных непрерывную S-образную кривую. Логистическая регрессия – это еще один популярный тип регрессионного анализа.

Упрощенные алгоритмы Байеса позволяют вычислить вероятность какого-либо события в зависимости от связанного события.

С помощью *метода опорных векторов* создается гиперплоскость между двумя ближайшими точками данных. Это позволяет маргинализировать классы и увеличить расстояния между ними для более четкой дифференциации.

Алгоритмы *дерева принятия решений* позволяют разбить данные на два однородных набора или более. В таких алгоритмах используются правила if-then для разделения данных на основе наиболее значимого различия между точками данных.

При использовании алгоритмов *k-ближайших соседей* сохраняются все доступные точки данных и каждая новая точка данных классифицируется на основе ближайших к ней точек данных, определенных с помощью функции расстояния.

Алгоритмы *случайного леса* основаны на деревьях принятия решений. Но вместо одного дерева с их помощью создается лес деревьев. Затем деревья в этом лесу рандомизируются. После этого голоса от различных случайных построений деревьев принятия решений объединяются для определения конечного класса тестового объекта.

Алгоритмы *градиентного усиления* позволяют создать модель прогнозирования, в которой ненадежные модели прогнозирования (обычно деревья принятия решений) объединены с помощью процесса сборки, повышающего общую эффективность модели.

Алгоритмы кластеризации методом k-средних позволяют классифицировать данные и группировать их в кластеры, где k равно количеству кластеров. В пределах каждого кластера точки данных являются однородными, а по отношению к точкам данных в других кластерах – разнородными.

Библиотека машинного обучения – это набор функций, платформ, модулей и подпрограмм, написанных на определенном языке. Разработчики используют код в библиотеках машинного обучения в качестве стандартных блоков при создании решений машинного обучения, которые могут выполнять сложные задачи. Вместо того чтобы вручную кодировать каждый алгоритм и формулу в решении машинного обучения, разработчики могут найти нужные функции и модули в одной из множества доступных библиотек ма-

шинного обучения. С помощью этих средств можно создавать решения, которые соответствуют текущим потребностям.