

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

УДК [597.442-113.32:639.371.2.041.2/045.3]:[004.946:004.8.032.26]

А. С. Мартьянов, Д. А. Бедняков, А. Н. Неваленный

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-АМИЛАЗЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА СИБИРСКОГО ОСЕТРА С ПОМОЩЬЮ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

Проведено определение уровня активности альфа-амилазы слизистой оболочки кишечника сибирского осетра (*Acipenser baerii*) в широком диапазоне значений температуры с помощью стандартных физиолого-биохимических методов. Для аппроксимации исследуемой зависимости выбран класс искусственных нейронных сетей под названием «многослойный персептрон». Использовалась двухслойная модель с одним скрытым слоем, содержащим 7 нейронов. Среднеквадратичная ошибка обучения модели составила 0,294 для обучающей выборки, 0,317 для контрольной и 0,602 для тестовой. Температурный оптимум для исследуемого фермента, в соответствии с результатами лабораторных и вычислительных экспериментов, находится в диапазоне 25–30 °С и имеет размытый, нечеткий характер. Важной особенностью результатов моделирования является достаточно плавное изменение уровня активности фермента с повышением температуры для большей части исследуемого диапазона, обуславливающее сравнительно пологий характер кривой температурной функции изучаемого фермента. Помимо вычисления среднеквадратичной ошибки для тестовой, обучающей и контрольной выборок, качество предлагаемой компьютерной нейросетевой модели исследовалось с помощью построения гистограммы распределения ошибок моделирования, а также путем построения линейной регрессии значений для результатов моделирования относительно полученных экспериментальных данных. Анализ подтверждает достаточно хорошее качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом объема выборки, используемой для обучения. Достигнутая точность моделирования позволяет сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза уровня активности пищеварительного фермента при температурном воздействии. Учитывая полученные результаты, целесообразно расширить спектр применения нейроинформационных технологий для исследований в области экзотрофии. Созданную модель и результаты ее работы целесообразно в дальнейшем использовать в качестве компонента более сложных моделирующих систем.

Ключевые слова: мембранное пищеварение, температура, экологические факторы, пищеварительные ферменты, искусственные нейронные сети, моделирование, сибирский осетр.

Введение

В настоящее время задача моделирования воздействия факторов окружающей среды на те или иные физиологические показатели животных часто оказывается достаточно сложной в силу принципиально нелинейного характера зависимостей. К числу таких сложных явлений можно отнести механизмы, реализующие процессы экзотрофии организмов на физиолого-биохимическом уровне, прежде всего с помощью организованных ансамблей пищеварительных ферментов [1]. Задача усложняется при исследовании адаптаций таких ферментных систем к действию различных экологических факторов [1, 2]. В основе таких адаптаций лежат три универсальных механизма: изменение типа молекул, изменение концентрации макромолекул и адаптивная регуляция функций макромолекул (Hochachka, Somero, 1973, цит. по [1]). Взаимодействие же таких механизмов в их конкретных проявлениях с учетом видовых особенностей, как правило, приводит к нелинейным эффектам, наблюдаемым в экспериментальной работе. В отечественной и зарубежной литературе представлено значительное количество методических подходов и базовых принципов, а также конкретных алгоритмов для создания моделей, достаточно полно учиты-

вающих и отражающих нелинейный характер исследуемых зависимостей и явлений [3–6]. Одним из достаточно перспективных методов, позволяющих создавать прогностические модели при достаточном объеме статистических данных о поведении моделируемой системы, являются нейросетевые технологии [6–8]. Нейронные сети – весьма обширный класс моделей, в рамках которого выделяют несколько подтипов, объединяемых общностью архитектуры [9, 10]. Нейросетевой подход позволяет получить решение сразу в виде функции, удовлетворяющей требуемым условиям гладкости и, если нужно, обладающей заданным поведением на бесконечности. Важно отметить также устойчивость нейронных сетей по отношению к ошибкам в данных и естественное распараллеливание вычислений, что позволяет реализовать предлагаемые методы в случае сложной геометрии области, в которой осуществляется поиск решения [7, 8].

Целью нашего исследования являлось создание компьютерной нейросетевой модели воздействия температуры инкубации на уровень активности альфа-амилазы сибирского осетра.

Материал и методы исследования

Объектами исследования служили годовики сибирского осетра (*Acipenser baerii*), выращенные в искусственных условиях. Из слизистой оболочки, отделяемой от кишечника с помощью специального скребка, с помощью раствора Рингера для холоднокровных животных готовился гомогенат в разведении 1 : 100. Все эксперименты проводились в условиях *in vitro*. Для исследования воздействия на фермент гомогенат и субстрат инкубировали в диапазоне значений температуры для сибирского осетра 0–60 °С. Уровень активности фермента определяли с использованием стандартных физиолого-биохимических методик с помощью колориметрического определения убыли крахмала при ферментативном гидролизе по изменению окраски йод-крахмальных комплексов [11].

Компьютерное моделирование осуществлялось с помощью математического пакета MATLAB 8.0.0, нейросетевые модели создавались с помощью расширения Neural Network Toolbox. Нейронная сеть определяется правилом построения (вид сети), числом элементов и способом их соединения друг с другом (структура сети) и коэффициентами, которые определяют конкретную функцию, моделирующую исследуемую зависимость (веса сети) [8]. Выбор вида сети, а также ее структуры и числа ее элементов в данном случае производился эмпирически – с учетом доказанных сведений о том, что выбранная структура относится к классу универсальных аппроксиматоров [9]. Общая структура сформированной искусственной нейронной сети изображена на рис. 1.

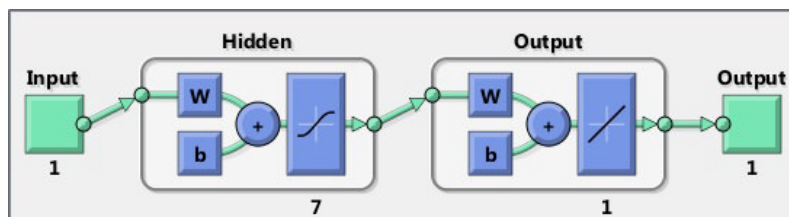


Рис. 1. Структура сформированной нейронной сети:
Input – вход сети, Output – выходной слой искусственных нейронов
и выходная переменная модели, Hidden – скрытый слой искусственной нейронной сети;
цифрами обозначено количество переменных/нейронов в слое

В качестве типа используемой архитектуры был выбран многослойный персептрон, а именно двухслойная сеть с одним скрытым слоем, в котором было размещено 7 нейронов.

Результаты исследований и их обсуждение

Для обучения сети было зарезервировано 70 % исходной выборки экспериментальных данных, по 15 % было выделено для тестовой и контрольной выборок. Обучение искусственной нейронной сети производилось методом Левенберга – Марквардта. Ход обучения сформированной искусственной нейронной сети изображен на рис. 2. Обучение заняло 6 циклов (эпох), ошибка обучения составила:

- для обучающей выборки – 0,294;
- для контрольной выборки – 0,317;
- для тестовой выборки – 0,602.

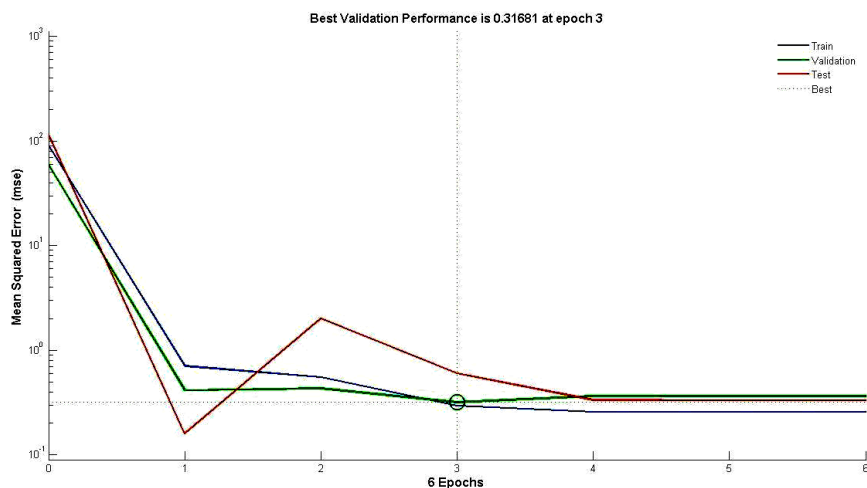


Рис. 2. Отображение хода обучения нейронной сети:
по горизонтали – количество эпох (циклов обучения),
по вертикали – значения общей среднеквадратической ошибки для обучающей (train),
контрольной (validation) и тестовой (test) выборок

Результаты обучения модели в виде нелинейной зависимости изображены на рис. 3, где отображены также точки, соответствующие исходным экспериментальным данным, формировавшим обучающую, тестовую либо контрольную выборки.

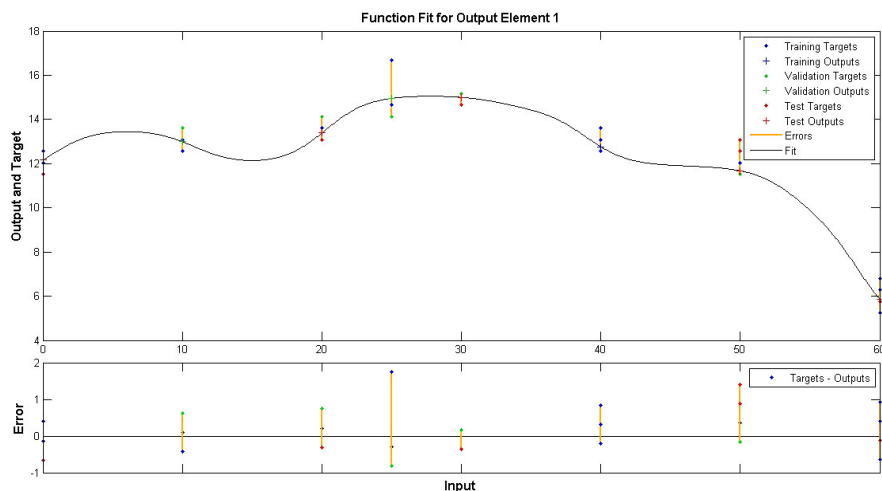


Рис. 3. Результаты обучения модели: по горизонтали – значения температуры;
по вертикали – на верхнем графике уровень активности исследуемого фермента;
точками отмечены экспериментальные данные, линия – результат моделирования;
на нижнем графике по вертикали – вычисленные значения ошибок

На рис. 3 видно, что температурный оптимум для альфа-амилазы сибирского осетра находится в области 25–30 °С. При этом в области оптимума, как и на большей части исследуемого температурного диапазона, кривая температурной зависимости имеет достаточно пологий характер, в силу чего, в частности, оптимум оказывается относительно «размытым». С учетом того, что экспериментальное определение уровня активности в диапазоне от 20 до 30 °С проводилось с интервалом в 5 градусов, а не в 10, как в остальных случаях, данный эффект не может быть объяснен разреженностью точек измерения. Существенное снижение уровня активности наблюдается при значениях температуры свыше 50 °С, и на этом участке относительно пологий характер функции сменяется существенно убывающим. Падение активности фермента при таком температурном воздействии часто наблюдается для пойкилотермных организмов и вызывается денатурирующим эффектом высокотемпературного воздействия.

Результат моделирования отражает значительную температурную лабильность исследуемого фермента, при этом верхний температурный диапазон (50–60 °С) оказывает более существенное угнетающее действие на уровень активности по сравнению с нижним диапазоном (0–10 °С).

Гистограмма распределения ошибок моделирования изображена на рис. 4. Анализ данной гистограммы позволяет заключить, что в целом величины распределены достаточно равномерно и симметрично относительно нулевого уровня ошибок.

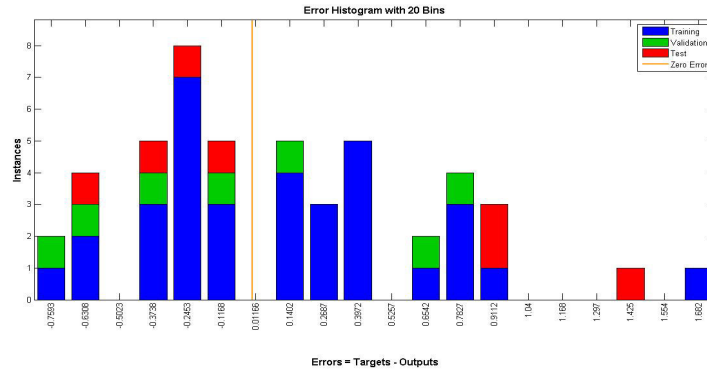


Рис. 4. Гистограмма распределения ошибок моделирования. Вертикальная линия соответствует нулевому значению погрешности

Для более детальной оценки качества обучения модели был проведен регрессионный анализ воспроизведенных данных в отношении к экспериментальным, результаты изображены на рис. 5. Данные, полученные в ходе экспериментальных исследований, позиционировались при этом в качестве независимой переменной Y, а результаты моделирования для тех же значений температуры – в качестве зависимой X. Уравнения регрессии и коэффициенты детерминации R для каждой из подвыборок данных и общего массива данных в целом выглядят следующим образом:

- обучающая выборка: $Y = 0,97X + 0,23$; $R = 0,98$;
- контрольная выборка: $Y = 0,98X + 1,7$; $R = 0,91$;
- тестовая выборка: $Y = 0,95X + 0,36$; $R = 0,96$;
- общий массив данных: $Y = 0,97X + 0,24$; $R = 0,97$.

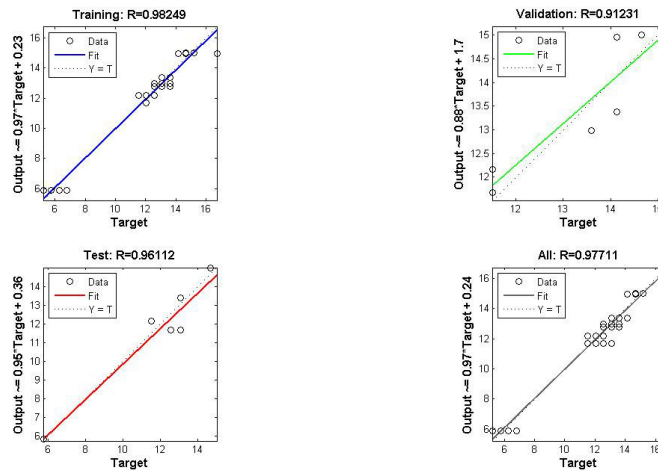


Рис. 5. Результат регрессионного анализа. На каждом графике по горизонтали – экспериментальные данные, по вертикали – значения, полученные с помощью моделирования. Слева направо и сверху вниз изображены результаты для обучающей выборки, контрольной выборки, тестовой выборки; общего объема выборки

Анализ подтверждает достаточно хорошее качество обучения созданной искусственной нейронной сети с учетом ограниченного объема выборки, используемой для обучения. Данный показатель свидетельствует о достаточно хорошем качестве обучения, а сопоставление значений ошибки для обучающей, тестовой и контрольной выборок позволяет сделать вывод об отсутствии эффекта переобучения.

Выводы

1. Применение методологии искусственных нейронных сетей возможно при решении задач экологической физиологии пищеварения рыб. Искусственные нейронные сети уже достаточно широко применяются в биологических и экологических исследованиях (ряд примеров приведен в [6], а также в работах зарубежных авторов [3–5]), и, по-нашему мнению, с учетом полученных ранее результатов в области моделирования и многомерного статистического анализа целесообразно расширить спектр их применения и для задач экзотрофии рыб.

2. Рассмотренная модель была создана на относительно небольшой выборке данных, что заставило использовать ряд дополнительных методов оценки ее качества. Достигнутая точность моделирования при этом позволяет сделать вывод о существенной ценности модели как средства прогноза уровня активности пищеварительного фермента при температурном воздействии.

3. С учетом сказанного выше необходимо отметить, что рассматриваемая методика по своей сути является одним из вариантов построения нелинейной регрессии. Созданную модель и результаты ее работы целесообразно в дальнейшем использовать в качестве компонента более сложных моделирующих систем, отражающих не только особенности поведения, но и структурные особенности моделируемых механизмов мембранного пищеварения.

4. Температурный оптимум для альфа-амилазы сибирского осетра оказался по результатам исследования и моделирования достаточно нечетко выраженным, а температурная функция в целом имеет достаточно пологий характер.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузьмина В. В. Физиолого-биохимические основы экзотрофии рыб / В. В. Кузьмина. М.: Наука, 2005. 300 с.
2. Неваленный А. Н. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб / А. Н. Неваленный, А. В. Туктаров, Д. А. Бедняков. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2003. 152 с.
3. Bolker B. Ecological models and data in R / B. Bolker. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2008. 517 p.
4. Bloomfield V. Computer simulation and data analysis in molecular biology and biophysics: an introduction using R / V. Bloomfield. New York: Springer, 2009. 321 p.
5. Borcard D. Numerical ecology with R / D. Borcard, G. Francois, P. Legendre. New York: Springer, 2011. 319 p.
6. Розенберг Г. С. Введение в теоретическую экологию / Г. С. Розенберг. Тольятти: Кассандра, 2013. Т. 1. С. 345–351.
7. Васильев А. Н. Принципы и техника нейросетевого моделирования / А. Н. Васильев. СПб.: Нестор-История, 2014. 218 с.
8. Тархов Д. А. Нейросетевые модели и алгоритмы. Справочник / Д. А. Тархов. М.: Радиотехника, 2014. 352 с.
9. Хайкин С. Нейронные сети: полный курс / С. Хайкин. М.: Изд. дом «Вильямс», 2006. С. 219–341.
10. Дьяконов В. П. MATLAB 6.5 SP1/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Инструменты искусственного интеллекта и биоинформатики / В. П. Дьяконов, В. В. Круглов. М.: СОЛОН-ПРЕСС, 2006. 456 с.
11. Неваленный А. Н. Энзимология / А. Н. Неваленный, Д. А. Бедняков, И. С. Дзержинская. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2005. 74 с.

Статья поступила в редакцию 1.12.2015

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мартьянов Александр Сергеевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук; младший научный сотрудник лаборатории физиологии питания рыб; martalex.84@list.ru.

Бедняков Дмитрий Андреевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук, доцент; зав. лабораторией «Физиология питания рыб»; bednyakovd@rambler.ru.

Неваленный Александр Николаевич – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры «Гидробиология и общая экология»; nevalennyu@rambler.ru.



A. S. Martyanov, D. A. Bednyakov, A. N. Nevalennyu

**SIMULATION OF THE INCUBATION TEMPERATURE INFLUENCE
ON THE ACTIVITY LEVEL OF THE ALPHA-AMYLASE
OF THE INTESTINAL MUCOUS TUNIC OF SIBERIAN STURGEON
BY MEANS OF ARTIFICIAL NEURAL NETWORK**

Abstract. The level of the activity of alpha-amylase of the intestinal mucosa of the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) in a wide temperature range using standard physiological and biochemical methods is determined. To approximate this dependence, the class of artificial neural network, called "a multilayer perceptron", was selected. The two-layer model with one hidden layer containing 7 neurons was used. Mean square error of the learning model was 0.294 for the training sample, 0.317 and 0.602 for the validation and for the test. The temperature optimum for the enzyme under study according to the results of laboratory and computational experiments is within the range 25–30 °C with a vague, fuzzy character. An important feature of the simulation results is quite smooth change in the level of enzyme activity with increasing temperature for most of the range causing the relatively shallow nature of the function of the temperature curve of the studied enzyme. In addition to calculating the mean square error for the test, training and control samples, the quality of the computer neural network model was investigated by constructing a histogram of distribution of modeling errors and by constructing a linear regression values for the simulation results with respect to the experimental data. The analysis confirms the good quality of training of the developed artificial neural network based on the volume of the training sample. The obtained accuracy of the simulation suggests significant value model as a means of forecasting the level of activity of the digestive enzyme at temperature impact. Taking into account these results, it is appropriate to expand the range of application of neural informative technologies for research in exotrophy. The created model and the results of its work in future should be used as a component of more sophisticated modeling systems.

Key words: membrane digestion, temperature, environmental factors, digestive enzymes, artificial neural networks, simulation, Siberian sturgeon.

REFERENCES

1. Kuz'mina V. V. *Fiziologo-biokhìmicheskie osnovy ekzotrofii ryb* [Physiological and biochemical bases of fish exotrophy]. Moscow, Nauka Publ., 2005. 300 p.
2. Nevalennyi A. N., Tuktarov A. V., Bedniakov D. A. *Funktsional'naiia organizatsiia i adaptivnaia reguliatsiia protsessov pishchevareniiia u ryb* [Functional organization and adaptive regulation of the fish digestion]. Astrakhan, Izd-vo AGTU, 2003. 152 p.
3. Bolker B. *Ecological models and data in R*. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2008. 517 p.
4. Bloomfield V. *Computer simulation and data analysis in molecular biology and biophysics: an introduction using R*. New York: Springer, 2009. 321 p.
5. Borcard D., Francois G., Legendre P. *Numerical ecology with R*. New York: Springer, 2011. 319 p.
6. Rozenberg G. S. *Vvedenie v teoreticheskuiu ekologiiu* [Introduction to theoretical ecology]. Tolyatti, Kassandra Publ., 2013. Vol. 1, pp. 345–351.
7. Vasil'ev A. N. *Printsipy i tekhnika neirosетеvogo modelirovaniia* [Principles and techniques of neural network modeling]. Saint-Petersburg, Nestor-Istoriia, 2014. 218 p.
8. Tarkhov D. A. *Neirosетеvye modeli i algoritmy. Spravochnik* [Neural network models and algorithms. Reference]. Moscow, Radiotekhnika, 2014. 352 p.

9. Khaikin S. *Neironnye seti: polnyi kurs* [Neural networks: full course]. Moscow, Izdatel'skii dom «Vil'iams», 2006. P. 219–341.
10. D'iakonov V. P., Kruglov V. V. *MATLAB 6.5 SP1/7 SP1/7 SP2 + Simulink 5/6. Instrumenty iskusstvennogo intellekta i bioinformatiki* [Tools of artificial intellect and bioinformatics]. Moscow, SOLON-PRESS, 2006. 456 p.
11. Nevalennyi A. N., Bedniakov D. A., Dzerzhinskaia I. S. *Enzimologiya* [Enzymology]. Astrakhan, Izd-vo AGTU, 2005. 74 p.

The article submitted to the editors 1.12.2015

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Martyanov Alexander Sergeevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Candidate of Biology; Junior Researcher of the Laboratory "Physiology of Fish Nutrition"; martalex.84@list.ru.

Bednyakov Dmitriy Andreevich – Russia, 414056, Astrakhan; State Technical University; Candidate of Biology, Assistant Professor; Head of the Laboratory "Physiology of Fish Nutrition"; bednyakovd@rambler.ru.

Nevalenny Alexander Nickolaevich – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; nevalenny@rambler.ru.

