

# КОМП'ЮТЕРНІ ЗАСОБИ, МЕРЕЖІ ТА СИСТЕМИ

V. Hrusha

## ANALYSIS OF DATA MEASURED BY PORTABLE FLUOROMETER "FLORATEST"

*The results of the chlorophyll fluorescence experiments are given. Portable fluorometer "Floratest" was used to measure the fluorescence. Some statistical methods and neural networks were used for data analysis.*

*Key words: fluorescence of chlorophyll, neural networks.*

*Рассмотрены результаты экспериментальных исследований индукции хлорофилла, что измерялась с помощью портативного флуорометра «Флоратест». Данные обрабатывались с использованием статистических методов и нейронных сетей.*

*Ключевые слова: флуоресценция хлорофилла, нейронные сети.*

*Розглянуто результати експериментальних досліджень флуоресценції хлорофілу, яка вимірювалась з допомогою портативного флуорометра «Флоратест». Дані досліджень оброблялися з використанням статистичних методів та з використанням нейронних мереж.*

*Ключові слова: флуоресценція хлорофілу, нейронні мережі.*

© В.М. Груша, 2015

УДК 004.75

В.М. ГРУША

## ОБРОБКА РЕЗУЛЬТАТІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, ПРОВЕДЕНИХ З ВИКОРИСТАННЯМ ПОРТАТИВНОГО ФЛУОРОМЕТРА «ФЛОРАТЕСТ»

**Вступ.** При освітленні хлорофілу синім світлом виникає явище під назвою флуоресценція хлорофілу. Найвищий, помітний рівень флуоресценції реєструється у червоній області спектру. Форма кривої індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) чутлива до різноманітних впливаючих факторів на стан рослин та відображає процеси, що відбуваються в фотосинтетичному апараті рослин [1]. Для вимірювання даного явища використовують спеціальні прилади – флуорометри. Один із таких флуорометрів – «Флоратест», що розроблений в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України.

Потенційну користь методу ІФХ для промислового рослинництва підтверджено рядом наукових досліджень, що здійснювалась переважно в контрольованих умовах. Проте в польових умовах дослідники стикаються з низкою проблем. Зокрема, чи не основною проблемою біологічних досліджень є нелінійні залежності біологічних об'єктів від факторів різної природи (параметрів ґрунту, повітря, освітлення, а також факторів техногенного походження). Причому дані фактори не завжди можна врахувати через відсутність відповідного обладнання, дороговизну проведення фізико-хімічних та мікробіологічних аналізів ґрунтів. Через це загалом важко однозначно встановити взаємозалежності між вхідними і вихідними даними на базі звичайних аналітичних методів.

**Вплив погодних умов та гербіцидів на індукцію флуоресценції хлорофілу.** Протягом 2012–2014 рр. в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова проводилися дослідження впливу гербіциду на індукції флуоресценції хлорофілу. Для проведення експериментальних досліджень вибрано гербіцид суцільної дії «Раундап», який є одним з найбільш застосовуваних гербіцидів, що використовується перед посівом або появою всходів сільськогосподарських рослин для знищення бур'янів. Під час експерименту гербіцид наносився на рослини бур'яну дурману звичайного. Рослини дурману поділено на три групи: контрольний варіант і два дослідні варіанти відмінних за дозами обприскування гербіцидом. Експеримент проводився в наближених до природних умовах. Під час вимірювань ІФХ за допомогою приладів «Флоратест» також вимірювались параметри навколишнього середовища: температура повітря та ґрунту, вологість повітря та ґрунту, кислотність ґрунту. Це дозволило оцінити вплив навколишніх умов на параметри кривої ІФХ [2, 3].

В 2012 році виявлено, що різкі зміни погодних умов впливають на індукцію флуоресценції хлорофілу, зокрема на початковий відрізок кривої. Дія гербіциду призводить до поступового зростання рівня флуоресценції у оброблених групах рослин [2]. В 2013 році вимірювання проводилися у дні без контрастних змін погодних умов, тобто без значних коливань вологості повітря. Температура повітря знаходилася в межах від 25 – 30 градусів. Розрахунок лінійної кореляції між параметрами кривих ІФХ, параметрами ґрунту та повітря не показав настільки значних залежностей у порівнянні з вимірюваннями 2012 року. Проте незначна кореляція з вологістю ґрунту та кислотністю відмічалася в інтервалі 500 – 1000 мс на рівні 0,6. В інтервалі 3000 – 15000 мс. присутня кореляція на рівні 0,6 – 0,7 із температурою повітря і пов'язаною з нею температурою ґрунту. Дані залежності показано на рис. 1 та 2.

В табл. 1 наведені ділянки кривої, в яких коефіцієнт кореляції  $R > 0,5$ .

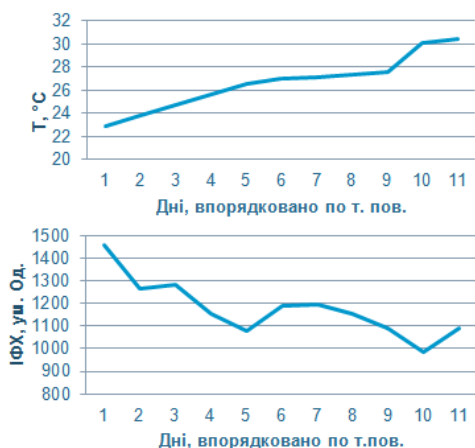


РИС. 1. Залежність ІФХ на 5 с від температури повітря



РИС. 2. Залежність ІФХ на 748 мс від вологості ґрунту

ТАБЛИЦЯ 1. Кореляції ділянок кривих ІФХ дурману із параметрами навколишнього середовища

Фактор	Максимальний рівень кореляції (R)	Час, с (R>0,5)
Температура повітря	- 0,73	3,0 – 21
Вологість повітря	0,41	-
Кислотність	0,60	0,3 – 1,6
Вологість ґрунту	- 0,58	0,3 – 1,3
Температура ґрунту	- 0,67	3,0 – 21

Слід зазначити, що температура повітря та температура ґрунту взаємопов'язані, також взаємопов'язаними є кислотність та вологість ґрунту.

Результатом обробки гербіцидом стало підвищення середнього рівня індукції флуоресценції хлорофілу на обох дослідних варіантах. Уже на 13-й день різниця в усереднених кривих ІФХ була підтверджена критерієм Стюдента. При чому у варіанті з більшою дозою рівень флуоресценції був вищий. Проте в наступних днях, в яких робилися вимірювання, дана різниця не була настільки відчутною, це можна пояснити впливом зовнішніх умов на криву ІФХ, та внутрішніми процесами в рослині. Однозначна різниця між варіантом з найбільшою дозою обприскування та контрольним варіантом була відмічена на 20-й день після обприскування (рис. 3). Наступні дні вимірювання також підтверджували дану різницю.

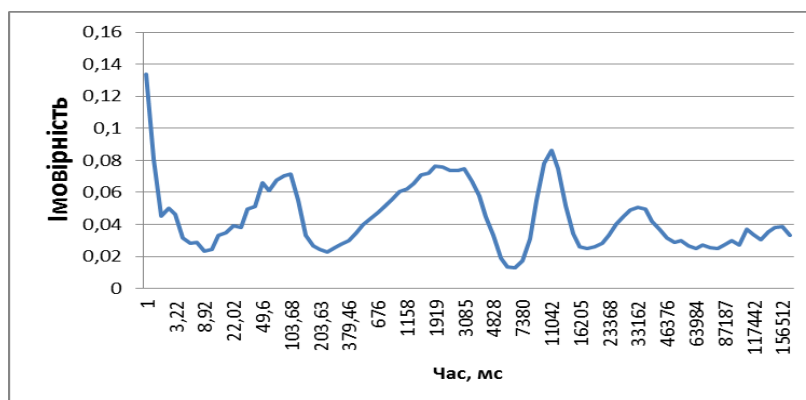


РИС. 3. Імовірності того, що точки на кривих ІФХ з дослідної вибірки не відрізняються від точок кривих контрольної вибірки

**Використання нейронних мереж.** Нейронні мережі є привабливою альтернативою статистичним методам. У даний час нейронні мережі знаходять все ширше застосування при аналізі даних, отриманих внаслідок біологічних і сільськогосподарських досліджень. Зокрема, їх застосовують для прогнозування

урожайності, діагностики бактеріологічних та вірусних захворювань рослин, наявності шкідників, оцінки споживання води, оцінка якості рослин тощо [4].

Щодо використання ІФХ та нейронних мереж, то цікавими в даному напрямку є роботи по: 1) прогнозуванню стану декоративних рослин через декілька тижнів після придбання у залежності від умов середовища утримання та змін в індукції флуоресценції хлорофілу [5]; 2) застосуванню нейронних мереж для таксономічного розрізнення рослин по кривих флуоресценції хлорофілу [6]; 3) передбаченню урожайності рослин при впливі посухи [7].

У даний час немає необхідності самому реалізовувати нейронні мережі у коді. Уже існує чимало засобів для розробки та дослідження нейронних мереж. Багато програмних засобів надають зручні графічні інструменти для роботи з нейронними мережами. Так для науковців корисними будуть можливості пакетів для наукових та інженерних розрахунків як Matlab та R. Існує ряд бібліотек (фреймворків) для мов програмування. Наприклад, для Java існують бібліотеки: Joone, Encog, Neuroph. Розробники Neuroph на базі безкоштовного середовища NetBeans розробили засіб з графічним інтерфейсом NeurophStudio. Для дослідження даних отриманих вимірювань за допомогою нейронних мереж вибрано програмний пакет чисельних обчислень Matlab, через наявність реалізацій великої кількості видів нейронних мереж, алгоритмів та функцій для роботи з нейронними мережами.

Для розпізнавання кривих за варіантами вибрано двошарову нейронну мережу з прямим поширенням сигналів (feed-forward network). Нейронні мережі даного виду найкраще підходять для задач класифікації. Нейронна мережа містить 89 входів та 3 виходи (оскільки кожна крива флуорометра «Флоратест» складається з 90 точок, але при цьому в отриманих кривих вирішено перші точки відкидати). Останній, вихідний шар складається з трьох нейронів (три варіанти кривих). Для вирішення необхідної кількості нейронів прихованого рівня проведено тренування нейронної мережі з різною кількістю нейронів прихованого шару від 1 до 364. За день вимірювань отримувалося 40-45 кривих вимірних двома флуорометрами. Для навчання було взяти 43 криві по трьох варіантах, що були виміряні 18.07.2013, які випадковим чином ділилися на тренувальну, тестову та валідаційну вибірки. Умовами закінчення навчання НМ є досягнення нульової середньо квадратичної похибки, або ж градієнту навчання  $1.0 \cdot 10^{-15}$ , або ж 100 неправильних порівнянь з валідаційними кривими, час навчання – необмежений, максимальна кількість епох навчання – 1000. На початку тренування нейромережі, її ваги ініціалізуються випадковим чином, що відповідно проводить до різних результатів навчання. Для врахування даного фактору нейронну мережу повторно донавчали. Загальна кількість навчань 30. Кожного разу вибірка розділялася на три і навчання проводилося за модифікованою навчальною вибіркою. В Matlab для цих цілей використовувалася функція train. Ефективність навчання оцінювалася за середньоквадратичною похибкою, яка обчислюється за формулою:

$$P = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \sum_{i=1}^k (t_{ij} - y_{ij})^2,$$

де  $n$  – кількість кривих навчальної вибірки,  $k$  – кількість класів (виходів нейронної мережі)  $t_{ij}$  – елементи матриці цілей  $T$  (матриці з правильними результатами)  $y_{ij}$  – елементи матриці виходів нейромережі.

На рис. 4 показано середні значення середньоквадратичної похибки (вектор  $P_{mean}$ ) при навчанні нейромережі з різною кількістю нейронів та тридцятьма навчаннями кожної мережі. Як видно з рис. 4 вже при трьох нейронах у прихованому шарі мережа може вирішити поставлену перед нею задачу. Найбільш ефективно мережа навчається, коли у прихованому шарі від 8 до 100 нейронів. Після чого середньоквадратична похибка лише зростає. Якщо ж до вектора  $P_{mean}$  додати вектор із значеннями середньоквадратичного відхилення  $P_{std} * 3$ , то можна точніше оцінити наскільки мінливим є навчання мережі, що показано на рис. 5.



РИС. 4. Залежність середньоквадратичної похибки навчання нейромережі від кількості нейронів

Найбільш ефективним є навчання мереж з порівняно невеликою кількістю нейронів у прихованому шарі, до 70. Для подальшого використання вибрано мережу з двадцятьма нейронами прихованого шару. Структура нейромережі показана на рис. 6. Як передавальна функція в прихованому шарі використовується сигмоїдна функція, а на вихідному – нормалізована експоненційна функція (softmax function). В Matlab даний тип нейронних мереж носить назву patternnet.



РИС. 5. Мінливість навчання нейронної мережі

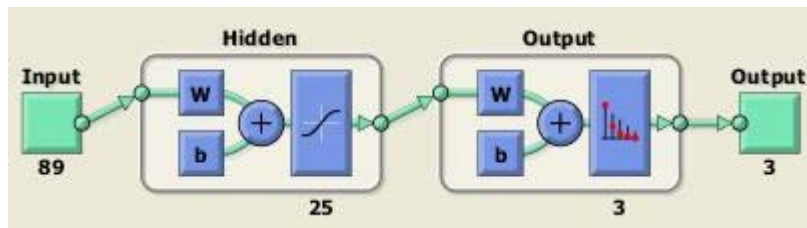


РИС. 6. Структура нейронної мережі

В подальшому вибрана мережа навчалася на даних з різних днів вимірювань. Результати навчання наведені в табл. 2.

ТАБЛИЦЯ 2. Навчання нейронної мережі на даних отриманих у різні дні експерименту, де  $E$  – похибка навчання,  $E_v$  – похибка валідації,  $E_t$  – похибка тестування,  $E_m$  – середня похибка обчислена на основі трьох попередніх помилок

Дата	Кількість виміряних кривих	$E$ , %	$E_v$ , %	$E_t$ , %	$E_m$ , %	Примітки
02.07.2013	40	64,3	66,7	33,3	60,0	До обприскування
05.07.2013	43	16,1	33,3	66,7	25,6	До обприскування
08.07.2013	41	0	33,3	50,0	12,2	3-й день після обприскування
10.07.2013	43	80,6	66,7	83,3	79,1	5-й день після обприскування
12.07.2013	43	0	0	33,3	4,7	7-й день після обприскування
16.07.2013	30	0	0	20	3,2	11-й (лише 2 варіанти)
18.07.2013	43	19,4	16,7	66,7	25,7	13-й день
25.07.2013	21	3,2	0	66,7	11,6	20-й день

Як видно з табл. 2 найменші похибки розпізнавання отримані на 7-й та 11-й день. Саме після 6-го дня "Раундап" порушує синтез амінокислот. А через два тижні починається в'янення та пожовтіння. На 13-й та 20-й день відмічено значну відмінність у формі кривих з одного і того ж варіанта, що можна пояснити, що різні ділянки листа дещо по іншому деградують. В результаті варіювання кривих у межах одного дослідного варіанту значно посилюється. Тож нейронні мережі можуть вловити відмінності у флуоресценції обприсканих і не обприсканих варіантах у період другого тижня досліду, проте уже через 12 днів розпізнавання погіршується. Водночас критерій Стюдента при попарному порівнянні варіантів, навпаки, більш кращі результати дає уже наприкінці другого тижня після обприскування.

**Використання декількох флуорометрів.** Для напрацювання методичного забезпечення кількома приладами необхідний однаковий рівень освітлення хлорофілу оскільки від цього залежить рівень індукції флуоресценції. Через фізичні процеси, що відбуваються у світлодіодах та фотоприймачах при експлуатації та як результат фізичного зношування листотримача (кліпси) флуорометра, не завжди вдається отримати однаковий рівень освітлення. Дані наведені в табл. 2 отримувалися двома дещо відмінними флуорометрами. При проведенні навчання нейромережі на кривих вимірних двома флуорометрами, розпізнавання тестових кривих доволі результативне. Проте при навчанні мережі на кривих вимірних одним флуорометром, розпізнавання кривих погіршується при представленні нейронній мережі кривих вимірних іншим флуорометром. Так при навчанні нейронної мережі на половині навчальної вибірки від 12.07.2013 зробленої флуорометром 1 і подальшій перевірці нейромережі на даних флуорометра 2, точність розпізнавання становила 61,9 %. Покращити результат можна за допомогою нормування. Нормування кривих з кожного флуорометра проводилося окремо по кожній групі кривих, це збільшило точність розпізнавання до 71.4 %. Нормування проводилось за формулою:

$$n_{i,j} = \frac{x_{ij}}{\max(\bar{x}_i) + 2 \cdot \max(\sigma_i)},$$

де  $i = 1..n$  – стовпці матриці,  $j = 1..k$  – рядки матриці,  $n_{i,j}$  – елементи вихідної матриці  $N$ ,  $x_{ij}$  – елементи початкової матриці  $X$ ,  $\bar{x}_j$  – середнє обчислене по кожному рядку,  $\sigma_j$  – максимальне середньоквадратичне відхилення у кожному рядку

Спроби навчати нейронну мережу на кривих 2013 року і застосувати її для розпізнавання кривих вимірних у 2012 році показали доволі значні похибки розпізнавання  $E > 50$  %, що скоріш за все пов'язане з різними умовами навколишнього середовища в дні вимірювання. Виходом є навчання мережі на можливо більших вибірках взятих у дні з різними погодними умовами або ж необхідне врахування параметрів навколишнього середовища (температури повітря,

температури ґрунту, вологи повітря, вологи ґрунту тощо) шляхом введення додаткових нейронів вхідного шару. Також корисним буде мінімізувати модель нейронної мережі зменшивши кількість вхідних нейронів, що можна досягти залишивши найбільш значимі точки на кривій ІФХ.

**Висновки.** Наведені деякі результати експериментальних досліджень впливу гербіциду та погодних умов на криву ІФХ. Подані результати застосування критерію Стюдента та нейронних мереж для реєстрації дії гербіциду. Дослідження індукції флуоресценції хлорофілу, з метою подальшого використання ефекту ІФХ в промисловому рослинництві, вимагає значної кількості тривалих експериментів для набору репрезентабельних статистичних сукупностей. Цього вимагають як статистичні, так і нейромережеві методи обробки даних. При проведенні експериментів та обробці отриманих даних, слід зважати на різкі зміни погодних умов, які впливають на окремі ділянки кривих. Застосування нейронних мереж показали, що вони можуть використовуватися для розрізнення кривих ІФХ з різних варіантів досліду, проте використання даних вимірювань різними флуорометрами потребує подальших досліджень з метою зменшення похибки розпізнавання навченою мережею кривих вимірювань іншим флуорометром, криві якого не застосовувалися при навчанні нейронної мережі.

1. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. – К.: Альтерпрес, 2002. – 188 с.
2. Груша В.М. Інформаційні технології для дослідження індукції флуоресценції хлорофілу // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2014. – № 13. – С. 109–116.
3. Груша В.М., Ковирьова О.В. Дослідження чутливості флуорометра «Флоратест» до дії стресових факторів на стан рослин // Там само. – 2012. – № 11. – С. 119–126.
4. Samborska I., Alexandrov V., Sieczko L. et al. Artificial neural networks and their application in biological and agricultural research. Signpost Open Access J. NanoPhotoBioSciences, 14-30. Volume 02, 17 p. 2014. <http://signpostejournals.com>.
5. Chlorophyll fluorescence spectral discrimination by artificial neural network methods. DEFRA project code NH1530SPC. – 2002.
6. Kirova M., Ceppi G., Chernev P. et al. Using Artificial Neural Networks for Plant Taxonomic Determination Based on Chlorophyll Fluorescence Induction Curves // Biotechnology@Biotechnological Equipment. XI Anniversary Scientific Conference 120 Years of Academic Education in Biology 45 Years Faculty of Biology. – P. 941–946.
7. Goltsev V. et al. Drought-induced modification of photosynthetic electron transport in intact leaves: Analysis and use of neural network as a tool for a rapid non-invasive estimation // Biochimica et Biophysica Acta 1817. – 2012. – P. 1490–1498.

Одержано 06.10.2015