

بکارگیری پردازش تصویر دیجیتال در تعیین ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده با مقایسه بین مدل‌های مختلف شبکه عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ

ماندانا محفلی^۱، سعید مینایی^{۲*}، علی فدوی^۳ و شیرینی دیانته دیلمی^۴

چکیده

فناوری بذر مصنوعی یک فناوری در حال رشد در حوزه زیست‌فناوری گیاهی است که قابلیت قابل توجهی برای تکثیر و محافظت از گونه‌های نادر و در معرض خطری را دارد که ازدیاد آن‌ها به روش معمول مشکل است. در این مطالعه، از نرم‌افزار Image J برای پردازش تصویر دیجیتال کپسوله‌ها و تعیین درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم در بذر مصنوعی استفاده شد. عملکرد شبکه‌های مصنوعی MLP و RBF و روش سطح پاسخ (RSM) برای پیش‌بینی و بهینه‌سازی ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده فالانوپسیس، بر اساس مجموع مربعات خطا (SSE) و ضریب همبستگی (R) برای هر متغیر خروجی مقایسه شد. غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم (۳، ۴ و ۵ درصد)، کلرید کلسیم (۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و ارتفاع سقوط قطره (۱، ۱/۵ و ۲ سانتی‌متر)، به عنوان متغیرهای ورودی و درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم به عنوان متغیرهای خروجی مدل در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که پردازش تصویر یک روش موثر برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی است. متغیرهای ورودی در سطح احتمال ۵ درصد رابطه مثبت و معنی‌داری با هر سه متغیر خروجی داشتند. طبق نتایج به دست آمده شبکه عصبی MLP از نظر قابلیت‌های پیش‌بینی و مدل‌سازی آن در مقایسه با مدل‌های RBF و RSM برتری قابل توجهی نشان داد. شرایط بهینه برای پیش‌بینی درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم، به ترتیب با بیشترین ضرایب همبستگی ۰/۷۹، ۰/۵۷ و ۰/۶۷ و حداقل مجموع مربعات خطای ۰/۰۱۴، ۰/۰۳۱ و ۰/۰۴۲ در ساختارهای MLP 3-14-1، MLP 3-10-1 و MLP 3-14-1 انتخاب شد. نتایج نشان داد که شبکه عصبی مصنوعی MLP ابزاری مناسب جهت پیش‌بینی و بهینه‌سازی ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده فالانوپسیس است.

واژه‌های کلیدی: پردازش تصویر، پروتوکورم، روش سطح پاسخ، شبکه عصبی مصنوعی، کپسوله‌سازی.

ارجاع: محفلی م. مینایی س. علی فدوی ع. و دیانته دیلمی ش. ۱۴۰۱. بکارگیری پردازش تصویر دیجیتال در تعیین ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده با مقایسه بین مدل‌های مختلف شبکه عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ. نشریه پژوهش‌های مکانیک ماشین‌های کشاورزی. ۲۴: ۱۰۲-۹۱. <https://dx.doi.org/10.22034/JRMAM.2022.10104.544>

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۲- استاد گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۳- دانشیار گروه مهندسی ماشین‌های صنایع غذایی، پردیس ابرویحان دانشگاه تهران، تهران.

۴- استادیار گروه باغبانی، پردیس ابرویحان دانشگاه تهران، تهران.

* نویسنده مسئول: minaee@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۸

مقدمه

فناوری بذر مصنوعی^۱ برای تهیه بذر با پوشش حفاظتی به عنوان جایگزینی برای بذرهای واقعی و تکثیر کلونی‌های گیاهی، با استفاده از جنین‌های سنتی و سایر ریزافزونه‌های توسعه یافته است. این فناوری با تکیه بر روش کپسوله‌سازی، در جهت محافظت از ژرم پلاسماهای نادر و افزایش تولید گونه‌های در معرض خطر گیاهان، بکار می‌رود. بذرهای مصنوعی با تکثیر انبوه ژنوتیپ‌ها در زمان کوتاه، امکان کاشت موفقیت‌آمیز گیاه را به صورت تجاری، در شرایط مزرعه و گلخانه‌ها و سایر ساختارهای کشت فراهم ساخته و همچنین اهمیت خود را در ذخیره‌سازی طولانی مدت نشان می‌دهند (Nugrahani et al., 2018). فن‌آوری بذر مصنوعی که با کپسوله کردن پروتوکورم^۲ و یا جنین پیکری^۳ تولید می‌شود، می‌تواند به تکثیر انبوه و تجاری سازی گیاهانی که قابلیت تبدیل به یک گیاه کامل را در شرایط درون شیشه‌ای یا برون شیشه‌ای دارند و این قابلیت را بعد از ذخیره‌سازی و نگهداری حفظ می‌کنند کمک شایانی نماید. مواد گیاهی که برای تولید بذرهای مصنوعی به کار می‌روند می‌توانند شامل جنین‌های بدنی، جوانه‌های روی ساقه یا قسمت‌هایی جدا شده از گیاه مادر باشند که همگی قابلیت تبدیل شدن به یک گیاه کامل را دارند. برای پانزده سال گذشته، تلاش‌های فراوان تحقیقاتی بر روی تولید بذر مصنوعی در تعدادی از گونه‌های گیاهی صورت گرفته است. علی‌رغم این تحقیقات، پیاده‌سازی عملی این فناوری تا به امروز به دلیل محدودیت‌های تولید، توسعه، بلوغ و تبدیل متوالی ریزافزونه‌ها^۴ به گیاهان کامل در شرایط درون شیشه‌ای^۵ یا برون شیشه‌ای^۶، کاملاً تکمیل نشده است. در حال حاضر فن‌آوری جدید، بر روی دستاوردها و چشم‌اندازهای تولید بذر مصنوعی و همچنین محدودیت‌های استفاده از فناوری بذر مصنوعی تمرکز دارد (Ara et al., 2000). ارکیده‌ها (زینتی و وحشی) تکامل یافته‌ترین و یکی از بزرگ‌ترین گروه‌ها را در میان نهان‌دانگان و گیاهان گل‌دار نشان می‌دهند. آنها از اهمیت زیادی از نظر زینتی و همچنین دارویی برخوردارند و قیمت بسیار بالایی را در بازار بین‌المللی دارند. آنها

همچنین نقش بسیار مفیدی برای تعادل اکوسیستم جنگل ایفا می‌کنند. تقاضا برای کیفیت بالای ارکیده روز به روز با توجه به محبوبیت آن در صنعت باغبانی افزایش می‌یابد (Chugh et al., 2009). به دلیل زیبایی منحصر به فرد، قرینه بودن گل‌ها و داشتن گل‌های بزرگ، رنگارنگ و با دوام و همچنین سازگاری بالا به عنوان گل شاخه بریده و یا گیاه گلدانی از محبوب‌ترین جنس‌های ارکیده در صنعت باغبانی هستند. امروزه ارکیده‌ها به صنعت میلیون دلاری در کشورهایی مثل تایلند، استرالیا، سنگاپور، مالزی و چند کشور دیگر تبدیل شده‌اند و برخی ارقام آن در حال حاضر سهم قابل توجهی از تجارت کل گل در دنیا را دارد که فروش سالیانه آن بیش از ۴ میلیارد دلار است (Chugh et al., 2009).

عوامل ژله‌ای که برای کپسوله‌سازی در تولید بذرهای مصنوعی استفاده می‌شود به عنوان پوشش محافظتی عمل می‌کنند. بدین منظور بعضی از مواد مانند آلژینات پتاسیم، آلژینات سدیم، کاراژینان، آگار، ژلیت، پلات سدیم و غیره به عنوان هیدروژل مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، اما ژل آلژینات سدیم به دلیل داشتن سمیت کمتر برای جنین، استحکام مناسب و محافظت بهتر از جنین‌های آسیب‌پذیر و حساس در طی عملیات انتقال، کاشت و ذخیره‌سازی و در شرایط مزرعه‌ای نامطلوب، مطلوب‌ترین آن‌ها برای تولید بذر مصنوعی است (Bekheet, 2006). در نمونه‌ای از مطالعات انجام شده برای کپسوله‌سازی ارکیده دندروبیوم سونیا^۷، محققان از غلظت آلژینات سدیم (۵-۲٪) و غلظت کلرید کلسیم (۲۵-۱۰۰ میلی مولار) و در محیط کشت MS، برای تولید بذر مصنوعی از پروتوکورم ارکیده استفاده کردند. بهترین پاسخ کپسوله‌سازی در غلظت‌های ۳٪ آلژینات سدیم و ۷۵ میلی مولار کلرید کلسیم مشاهده شد. نتایج نشان داد که قابلیت زنده ماندن در بیش از ۸۵٪ از بذرهای مصنوعی ارکیده به مدت ۷۵ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس وجود دارد (Saiprasad & Polisetty, 2003).

پردازش تصویر توسعه یافته، روشی نوین در تعیین خصوصیات فیزیکی اجسام است که بعد از شناسایی اشکال ذرات مختلف، ابعاد را از یک تصویر دیجیتالی استخراج می‌کند و خصوصیات ظاهری آن‌ها نظیر ابعاد، مساحت، حجم و ... را تعیین می‌کند. مطالعات گذشته نشان داده

1- Artificial seed technology
2- Protocorm
3- Somatic Embryogenesis
4- Micropropagules
5- In-vitro
6- Ex-vitro

برای محافظت از آنتوسیانین زغال اخته در برابر تخریب در حین حرارت، مؤثر است (Tao et al., 2017). در تحقیقی مشابه، محققان از روش پردازش تصویر برای استخراج خواص فیزیکی سیب‌زمینی استفاده کردند. هدف از این مطالعه تعیین کیفیت سیب‌زمینی با ارزیابی خواص فیزیکی و با استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی بود. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای برای سه الگوریتم پس انتشار خطا^۷، پرسپترون^۸ و آرتمپ فازی^۹ به منظور طبقه‌بندی خواص استخراج شده ارائه شد. نتایج نشان داد که آرتمپ فازی به دلیل پایداری و سرعت همگرایی با زمان‌های کمتر از ۱ میلی‌ثانیه در هر الگو از سایر مدل‌ها بهتر عمل کرده است که مناسب بودن آن را برای بررسی خواص فیزیکی سیب‌زمینی به صورت پیوسته، نشان می‌دهد (Rios-Cabrera et al., 2008). همچنین در برخی مطالعات از روش پردازش تصویر Image J جهت درجه‌بندی و تعیین خصوصیات ظاهری میوه‌ها و دانه‌ها استفاده شده است (Igathinathane et al., 2009; Kumari & Rana, 2015). در مطالعات بسیاری از روش سطح پاسخ (RSM) جهت بهینه‌سازی فرایند ارزیابی شاخص‌های فیزیکی محصولات کشاورزی استفاده شده است. در یک پژوهش، با استفاده از پردازش تصویر و روش‌های آماری به درجه‌بندی میوه انار بر اساس رنگ و اندازه گل‌های انار پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که روش سطح پاسخ با دقت ۷۵/۵ درصد و ضریب همبستگی ۰/۶۲۲ روشی مناسب جهت بهینه‌سازی فرایند درجه‌بندی انار است (Fashi et al., 2019).

در مطالعه‌ای دیگر تأثیر فرآیند هیدروترمودینامیکی (HTD) در محدوده دمای ۷۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس و محدوده زمانی صفر تا ۱۰ دقیقه بر کیفیت فیزیکی و شیمیایی پوره قره‌قاپ، با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مدل‌های توسعه یافته با RSM برای بررسی تأثیر تأثیرات متغیرهای ورودی بر ویسکوزیته، اندازه ذرات و محتوای آنتوسیانین به اندازه کافی دقیق بودند. دما و زمان نگهداری اثر منفی بر روی محتوای آنتوسیانین نشان داد، اما اثرات مثبت بر روی سایر متغیرهای پاسخ داشت (Chen & Martynenko, 2016).

است که تعیین خواص فیزیکی برنج مانند ویژگی‌های ابعاد و تعیین پارامترهای کیفیت برنج آسیاب شده با روش‌های پردازش تصویر در نرم‌افزارهای مختلف مانند MATLAB، تسهیل خواهد شد که در نتیجه نظارت منظم بر فرآیند آسیاب دانه‌ها را به شیوه‌ای عینی امکان‌پذیر می‌کند (Varnamkhasti et al., 2008). نرم‌افزار Image J نسخه 1.52a برای اندازه‌گیری ابعاد (حجم کپسوله‌ها و خواص فیزیکی (درصد کرویت و شاخص مرکزیت) بذر مصنوعی ارکیده فالانوپسیس استفاده شد.

روش‌های مختلفی برای پیش‌بینی و بهینه‌سازی خواص محصولات مختلف، با استفاده از بررسی تصاویر آن‌ها وجود دارد که از آن جمله می‌توان به شبکه‌های عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ اشاره کرد. با توجه به جنبه‌های منحصر به فرد شبکه‌های عصبی در شناسایی الگو از داده‌های پیچیده، می‌توان از آن برای ارائه راه حل در مسائل پیچیده استفاده کرد که ممکن است با روش‌های رایج قابل حل نباشند. مدل‌سازی خروجی‌های شبکه، با انتخاب مدل و معماری بهینه قابل پیش‌بینی است. شبکه‌های پرسپترون چند لایه (MLP)^۱ و عملکرد شعاعی (RBF)^۲ به عنوان دو معماری شبکه‌های عصبی مصنوعی، می‌توانند برای شبیه‌سازی خروجی‌های فرایند مشکلات رگرسیون با دقت بالا مورد استفاده قرار گیرند (Kumar & Yadav, 2011). در تحقیقی، در فرآیند کپسوله‌سازی^۳ مواد مختلفی از جمله مالتودکسترین^۴، بتا-سیکلوکودکسترین^۵، پروتئین جدا شده آب پنیر و صمغ عربی برای کپسوله‌سازی عصاره آنتوسیانین^۶ زغال اخته استفاده شد. شبکه عصبی مصنوعی (ANN) همراه با الگوریتم ژنتیک (GA) با موفقیت برای مدل‌سازی تأثیرات تأثیرات ماده بر عملکرد کپسوله‌سازی (EP) و بازده محصورسازی (EE) و همچنین به دست آوردن فرمولاسیون بهینه استفاده شد. چهار رابطه بهینه‌سازی با روش ANN-GA ارائه شد. با استفاده از روابط بهینه‌سازی، مقادیر EP بالاتر از ۹۶ و مقادیر EE از ۸۲ فراتر بود. از همه مهم‌تر، نتایج نشان داد که کپسوله‌سازی با استفاده از فرمولاسیون بهینه بدست آمده

1- Multilayer perceptrons
2- Radial basis function network
3- Encapsulation
4- Maltodextrin
5- β -cyclodextrin
6- Anthocyanin

7- Backpropagation
8- Perceptron
9- FuzzyARTMAP

محاسبه درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص

مرکزیت پروتوکورم

کپسوله به همراه یک خط‌کش در جعبه مخصوص عکس‌برداری قرار گرفته و پس از تصویربرداری به منظور استخراج ویژگی‌های ابعادی و حجم بذر مصنوعی با استفاده از نرم افزار پردازش تصاویر دیجیتال Image J، فیلترهای لازم بر روی آن اعمال شد. پس از تنظیم روشنایی و وضوح و مشخص شدن لبه‌های تصویر، با انتخاب دستی مرزهای کپسول در تصویر و کالیبره کردن واحد اندازه‌گیری نرم‌افزار بر اساس واحدهای مندرج روی خط‌کش قرار گرفته در تصاویر کپسوله‌ها، مناسب‌ترین بیضی بر اساس محیط اطراف شکل انتخاب شد (شکل ۲). با استفاده از ابزار ROI manager، خروجی حجم کپسوله‌ها با محاسبه محورهای اولیه و ثانویه بیضی و تعیین بزرگ‌ترین و کوچک‌ترین بعد کپسوله در حالت قرار گیری طبیعی^۲ آن مشخص شد. هم‌چنین درصد کرویت کپسوله‌ها با تعیین میزان Roundness در نتایج تعیین شد. برای هر یک از بذرها به طور مشابه، سه بعد اصلی یک مستطیل محاط شده بر تصویر عبارتند از طول (L)، عرض (W) و ضخامت (T) ($L > W, T$)، که با استفاده از آن‌ها می‌توان متغیر قطر هندسی متوسط (D_g) را محاسبه کرد (معادله (۱)):

$$D_g = \sqrt[3]{LWT} \quad (1)$$

با فرض اینکه کپسول‌های بیضی دارای عرض و ضخامت یکسانی باشند، قطر هندسی متوسط و حجم هر دانه مصنوعی کروی توسط معادلات زیر محاسبه می‌شود (معادلات (۲) و (۳)) (Mohsenin, 1970):

$$D_g = \sqrt[3]{LW^2} \quad (2)$$

$$V = \left(\frac{\pi D_g^3}{6} \right) \quad (3)$$

که در آن: V حجم برحسب میلی‌متر مکعب است.

هدف از این پژوهش، تعیین ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده با پردازش تصویر دیجیتال و پیش‌بینی و بهینه‌سازی متغیرهای کپسوله‌سازی شامل درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت با استفاده از روش سطح پاسخ و شبکه عصبی مصنوعی (MLP و RBF) است.

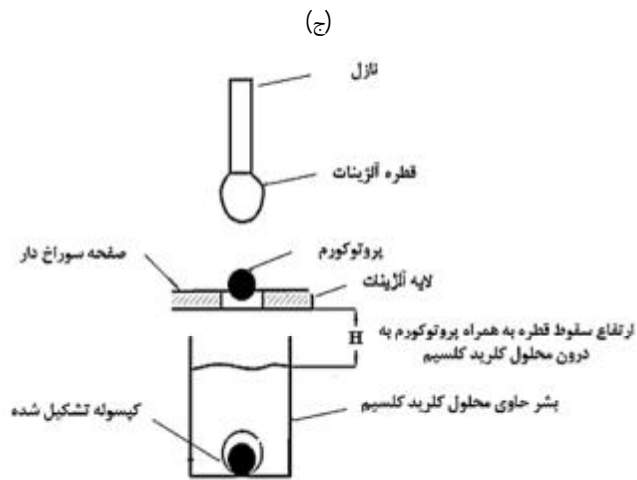
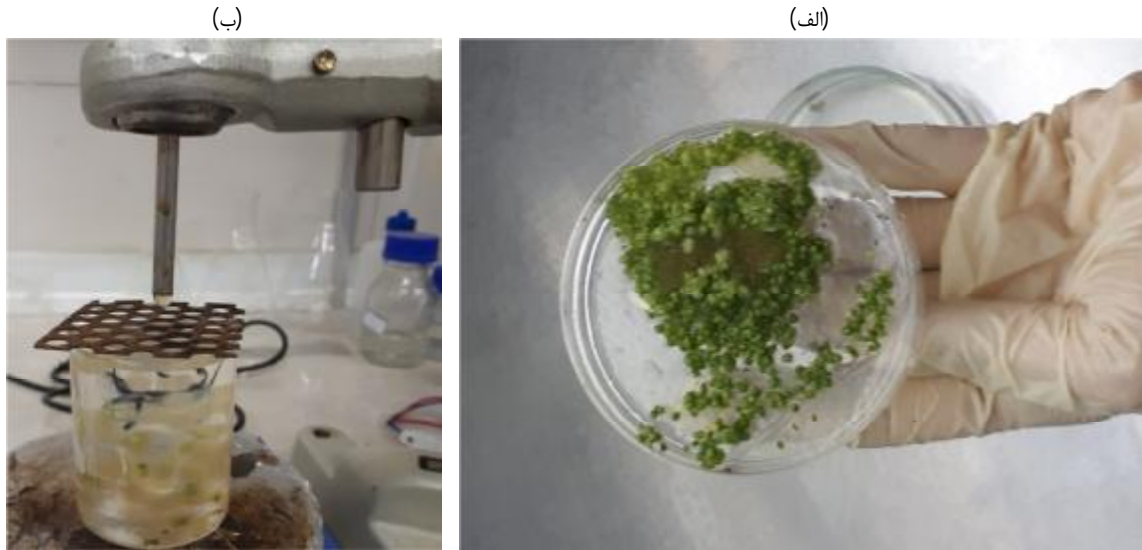
مواد و روش‌ها

در آزمایش‌های انجام شده، ارکیده‌های گلدانی فالانوپسیس^۱ رقم بیچینگ از گلخانه‌ای واقع در شهرستان پاکدشت خریداری و سه ماه پس از تلقیح گل‌ها، کشت بذر در آزمایشگاه تکثیر و اصلاح ارکیده گروه باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام شد. پس از یک ماه از پروتوکورم‌های ۲-۳ میلی‌متری تشکیل شده و به عنوان ریزنمونه جایگزین جنین، برای تولید بذر مصنوعی استفاده شد (شکل ۱-الف).

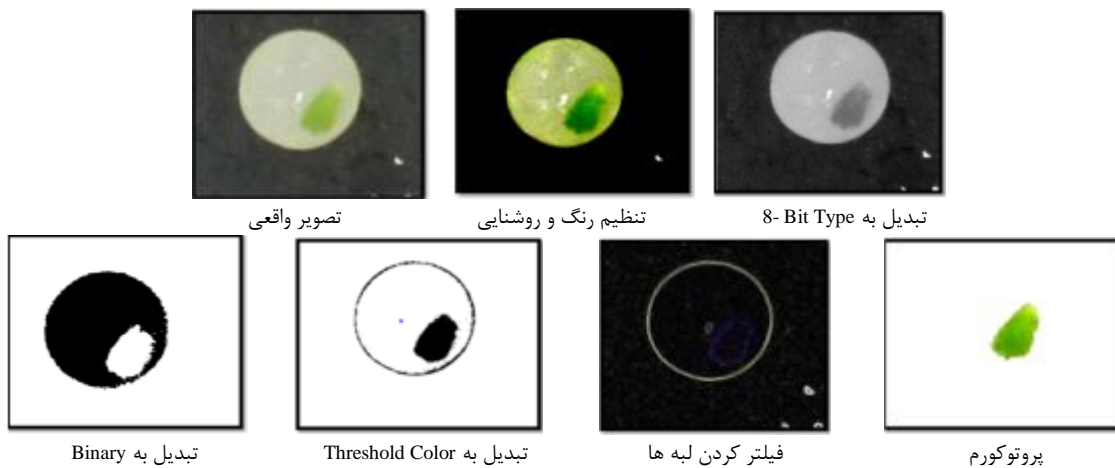
کپسوله‌سازی

ماتریس کپسوله‌سازی با استفاده از محلول آلژینات در سه غلظت ۳، ۴ و ۵ درصد و کلرید کلسیم در سه غلظت ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار ایجاد شد. برای تولید هر کپسوله حاوی پروتوکورم، یک لایه آلژینات روی سوراخ شبکه فلزی سامانه دست‌ساز بذر مصنوعی با قطر ۴ میلی‌متر ایجاد گردید و پروتوکورم ارکیده از محیط کشت جدا شده و توسط پنس روی لایه آلژینات قرار گرفت (شکل ۱-ب). سپس با رهاسازی قطره‌های آلژینات سدیم از ارتفاع (۱، ۱/۵ و ۲ سانتی‌متر) بر روی پروتوکورم درون سوراخ، کپسوله‌های رقیق تشکیل شده به همراه پروتوکورم، درون محلول کلرید کلسیم فرو می‌افتادند (شکل ۱-ج).

پس از بیست دقیقه کپسوله‌ها درون کلرید کلسیم سفت و سپس از محلول جدا شده و برای استخراج ابعاد و حجم با روش پردازش تصاویر دیجیتال، توسط جعبه مخصوص از آن‌ها عکس‌برداری شد. لازم به ذکر است که حجم بذر مصنوعی از جمله ویژگی‌های فیزیکی تأثیرگذار و یک شاخص مهم در تعیین کیفیت بذرهای مصنوعی تولید شده است (Priya & Shakila, 2003).



شکل ۱ - تولید بذر مصنوعی، الف) جنین پروتوکورمی ب) آزمایش پرتاب کیسوله از ارتفاع معین بر روی شبکه، ج) شماتیک فرآیند کیسوله‌سازی و تشکیل بذر مصنوعی از کیده فالانوپسیس



شکل ۲ - مراحل پردازش تصویر و استخراج ابعاد و حجم تصویر بذر مصنوعی

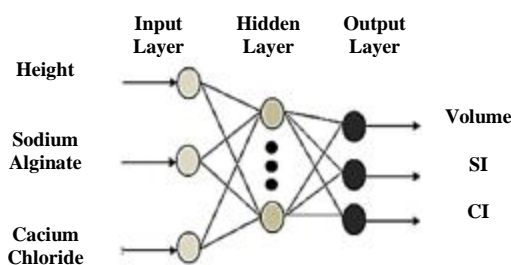
شاخص مرکزیت پروتوکورم (CI)

به منظور تغذیه یکنواخت و رشد بهتر، پروتوکورم در کپسوله لازم است که در مرکز کپسوله‌ها قرار بگیرد. بنابراین، شاخصی به نام شاخص در مرکز قرارگیری پروتوکورم (CI) یا به اختصار «شاخص مرکزیت» (Concentricity Index) بر اساس فاصله بین مراکز کپسول و پروتوکورم در نظر گرفته شد. ابزار ROI manager مختصات مرکز مناطقی که به صورت دستی در اطراف کپسول و پروتوکورم انتخاب شده را با استفاده از ابزار انتخاب آزاد، ارائه می‌دهد. پارامتر CI به صورت زیر بیان می‌شود (معادله (۴)):

$$CI = \sqrt{(x_c - x_p)^2 + (y_c - y_p)^2} \quad (4)$$

که در آن: x_c و y_c مختصات مرکز کپسوله؛ x_p و y_p مختصات مرکز پروتوکورم است.

مرکزیت پروتوکورم، مقایسه شد. برای مدل‌سازی و شبیه‌سازی، داده‌های نرمال شده به ترتیب در سه مجموعه ۷۰٪، ۱۵٪، ۱۵٪ برای آموزش، اعتبار سنجی و آزمون طبقه‌بندی شدند. ساختار شبکه سه لایه پیشخوان مورد مطالعه در این مقاله شامل یک لایه ورودی (۳ نورون)، یک لایه مخفی (۲۰ نورون برای MLP و ۲۰ نورون برای RBF) و سه لایه خروجی در شکل ۳ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل به کمک نرم افزار STATISTICA 12 انجام شد. برای لایه پنهان، اعداد نورون در ابتدا از سری آزمایشی شبکه های متشکل از ۱ تا ۲۰ نورون انتخاب شدند تا بهترین دقت با حداقل خطا در شبکه به دست آید (Yilmaz & Kaynar, 2011).



شکل ۳- ساختار شبکه های عصبی MLP و RBF توسعه داده شده در تحقیق

نتایج و بحث

پس از فرآیند کپسوله‌سازی تحت شرایط مختلف غلظت آلژینات سدیم و کلرید کلسیم و ارتفاع سقوط قطره، نمونه بذرهای مصنوعی ساخته شده برای تعیین ویژگی‌های درصد کرویت، حجم و شاخص مرکزیت پروتوکورم عکس‌برداری شد و به کمک نرم افزار Image J متغیرهای پاسخ استخراج شد. مدل‌های پیش‌بینی رگرسیونی برای هر یک از ویژگی‌های فیزیکی کپسوله با روش سطح پاسخ در جدول ۱ آمده است.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، حجم کپسوله‌ها در سطح احتمال ۵ درصد رابطه مستقیم و معناداری با اثر متقابل تمام متغیرهای ورودی دارد. همچنین، شاخص مرکزیت پروتوکورم به طور معناداری نسبت به اثر متقابل غلظت کلرید کلسیم و غلظت آلژینات سدیم رابطه مستقیم دارد.

پیش‌بینی و بهینه‌سازی به روش سطح پاسخ

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از روش‌های ریاضی و آماری است که برای توسعه و بهینه کردن فرایندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر تحت تأثیر تعدادی از متغیرها قرار می‌گیرد و هدف، توصیف رابطه بین پاسخ و متغیرهای مستقل توسط مدل‌های ریاضی و بهینه‌سازی این پاسخ است (Baş & Boyacı, 2007). برای بهینه‌سازی سیستم چند متغیره این پژوهش، از طرح RSM (Box Behnken) برای تعیین مدل رگرسیون و همچنین رابطه بین تابع پاسخ (حجم و درصد کرویت کپسوله‌ها) و متغیرهای مستقل (غلظت آلژینات سدیم، کلرید کلسیم و ارتفاع سقوط قطره) استفاده شد.

شبکه عصبی مصنوعی (MLP و RBF)

شبکه‌های عصبی MLP و RBF برای پیش‌بینی خواص فیزیکی کپسوله‌ها، به کار برده شد. مقادیر غلظت آلژینات، غلظت کلرید سدیم و ارتفاع پرتاب قطره به عنوان ورودی شبکه و مقادیر درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم، به عنوان خروجی شبکه در نظر گرفته شد. در شبکه RBF، تابع گوسین و تابع همانی به عنوان توابع انتقال لایه پنهان و لایه خروجی شبکه به کار برده شد. عملکرد دو شبکه مختلف MLP و RBF برای پیش‌بینی درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص

جدول ۱- مدل‌های رگرسیونی حجم و درصد کرویت کپسوله و شاخص مرکزیت پروتوکورم بر حسب ارتفاع سقوط قطره، غلظت آلزینات سدیم و غلظت کلرید کلسیم

R	مدل رگرسیونی
0.73	Volume= 2.61- 90.0H- 0.20S- 0.02A+ 0.005HS+ 0.001HA+0.002SA+ 0.23H ² - 0.005S ² + 0.001A ²
0.56	CI= 1.64+ 0.12H- 0.51S- 0.009A- 0.04HS- 0.001HA+0.001SA+ 0.04H ² + 0.05S ² + 0.001A ²
0.49	Sphericity= -0.47+0.31H+0.40S+0.002A+0.02HS+0.001HA-0.001SA-0.20H ² - 0.05S ² - 0.001A ²

Volume: حجم کپسوله، CI: شاخص مرکزیت پروتوکورم، Sphericity: درصد کرویت، H: ارتفاع سقوط قطره، S: غلظت کلرید کلسیم و A: غلظت آلزینات سدیم.

توجه به نتایج در تابع tansig و الگوریتم آموزش، پیش‌بینی حجم کپسوله‌ها با بهترین ضریب همبستگی (R=۰/۷۹) و کمترین خطا (SSE=۰/۰۰۱۴) در ساختار MLP 3-14-1 به عنوان شبکه بهینه انجام شد. بهترین مدل‌های پیش‌بینی شاخص مرکزیت پروتوکورم و درصد کرویت به ترتیب با ضرایب همبستگی (R=۰/۵۷) و (R=۰/۶۷) و خطاهای (SSE=۰/۰۰۳۱) و (SSE=۰/۰۰۴۲) در ساختارهای MLP 3-10-1 و MLP 3-14-1 انتخاب شد. ارتباط میان مقادیر واقعی درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم، با مقادیر پیش‌بینی شده در مدل MLP به ترتیب در نمودارهای پراکندگی زیر ارائه شده است (شکل ۴).

با توجه به بیشینه ضریب رگرسیون در ارتباط متقابل مشاهده شده بین مقادیر پیش‌بینی و اندازه‌گیری شده در شکل ۵، می‌توان نتیجه گرفت که مدل MLP برای پیش‌بینی حجم کپسوله‌ها مناسب‌تر از سایر متغیرهای خروجی است. در سال ۲۰۱۷ تحقیقی مشابه در مورد کپسوله‌سازی بذرها انجام شد. نتایج تحقیق نشان داد که شبکه عصبی مصنوعی ابزاری قدرتمند در تشخیص همبستگی متغیرهای اندازه‌گیری و پیش‌بینی شده و مدل‌سازی فرآیند کپسوله‌سازی بذرهاست (Tao et al., 2017).

طبق نتایج به دست آمده، درصد کرویت کپسوله‌ها، رابطه معنادار و مستقیمی با مقادیر غلظت آلزینات سدیم و اثرات متقابل ارتفاع سقوط قطره با غلظت آلزینات سدیم و غلظت کلرید کلسیم داشت. نتایج نشان می‌دهند که، بیشترین مقدار ضریب همبستگی برای ویژگی حجم کپسوله‌ها با مقدار ۰/۷۳ به دست آمد. در مطالعه مشابهی دانشمندان تأثیر سطوح مختلف غلظت آلزینات سدیم (در ۱۰۰ میلی مولار کلرید کلسیم) را بر کپسوله‌سازی گیاه دارویی راولفیا سرپنتینا^۱ مطالعه کردند. نتایج نشان داد که غلظت آلزینات سدیم به طور معنی‌داری بر خواص فیزیکی کپسوله‌ها از نظر اندازه و شکل و قوام تأثیرگذار است (Ara et al., 2000).

مدل‌سازی فرآیند تولید بذر مصنوعی با شبکه

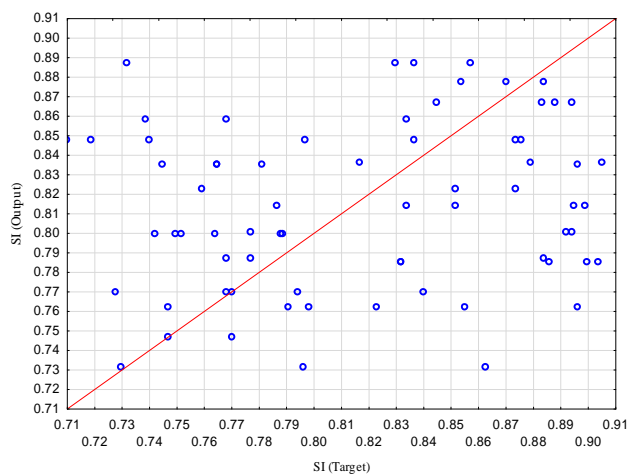
عصبی مصنوعی

شبکه MLP

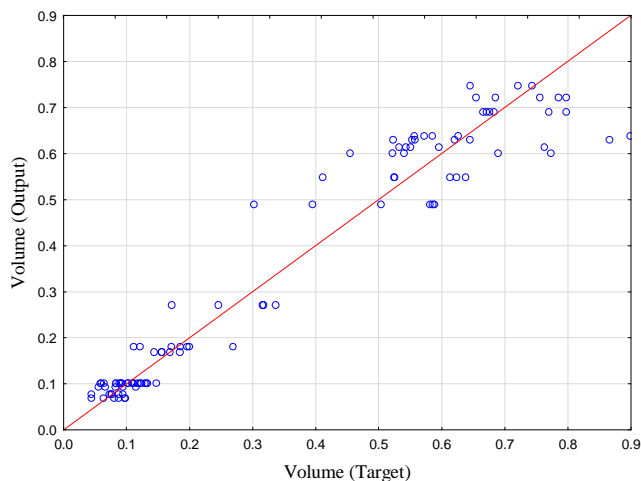
شبکه‌های عصبی چند لایه پرسپترون MLP برای مدل‌سازی فرآیند تولید بذر مصنوعی با یک یا دو لایه و با ۱ تا ۲۰ نورون در لایه مخفی اجرا، آموزش و اعتبارسنجی شد. برای تعیین بهترین تابع عملکرد، مدل‌ها به صورت جداگانه برای هر یک از متغیرهای خروجی تعمیم داده شد. مقادیر غلظت آلزینات، غلظت کلرید سدیم و ارتفاع سقوط قطره به عنوان ورودی شبکه و مقادیر درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت پروتوکورم بصورت خروجی شبکه در نظر گرفته شد. در شبکه MLP، تابع تانژانت هایپربولیک و تابع همانی به عنوان تابع انتقال لایه پنهان و لایه خروجی شبکه به کار برده شد. در جدول ۲ نتایج پیش‌بینی ویژگی‌های فیزیکی کپسوله‌ها با توسعه مدل شبکه عصبی مصنوعی آورده شده است.

جدول ۲- پیش‌بینی خواص فیزیکی کپسوله بذر مصنوعی با توسعه مدل شبکه عصبی مصنوعی MLP

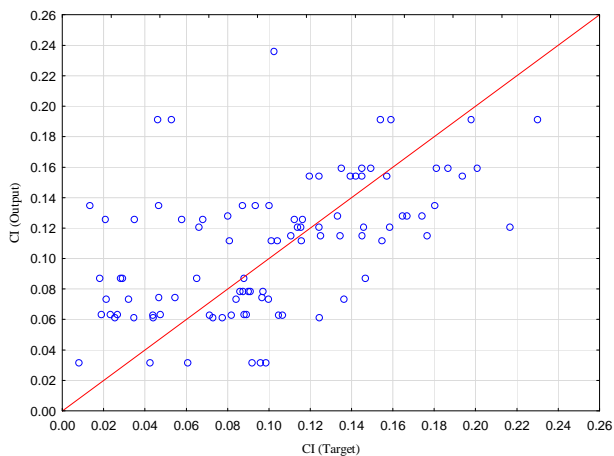
SSE×10 ⁻²	R	ساختار شبکه MLP	خواص فیزیکی کپسوله
آموزش	آموزش		
۰/۱۴	۰/۷۹	MLP 3-14-1	حجم (mm ³)
۰/۱۵	۰/۷۶	MLP 3-20-1	
۰/۱۶	۰/۷۵	MLP 3-13-1	
۰/۱۷	۰/۷۳	MLP 3-12-1	
۰/۱۶	۰/۷۱	MLP 3-14-1	
۰/۳۱	۰/۵۷	MLP 3-10-1	شاخص مرکزیت پروتوکورم (mm)
۰/۳۶	۰/۵۵	MLP 3-18-1	
۰/۳۹	۰/۵۳	MLP 3-16-1	
۰/۳۴	۰/۵۱	MLP 3-13-1	
۰/۳۳	۰/۴۹	MLP 3-16-1	
۰/۴۲	۰/۶۷	MLP 3-14-1	کرویت (%)
۰/۴۴	۰/۶۶	MLP 3-20-1	
۰/۴۵	۰/۶۴	MLP 3-17-1	
۰/۴۸	۰/۶۲	MLP 3-20-1	
۰/۵۵	۰/۵۳	MLP 3-6-1	



(b)



(a)



(c)

شکل ۴- همبستگی میان مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی حجم کپسوله‌ها (a)، شاخص مرکزیت پروتوکورم (b) و درصد کرویت (c) برای

مدل MLP

شبکه RBF

در جدول ۳ نتایج پیش‌بینی خواص فیزیکی کپسوله‌ها، با توسعه شبکه عصبی مصنوعی RBF آورده شده است. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهند بر اساس پارامترهای به دست آمده از مدل منتخب نهایی، مدل RBF با نتایج قابل قبولی قادر به پیش‌بینی حجم کپسوله‌ها با بهترین ضریب همبستگی ($R^2=0/67$) و کمترین خطا ($SSE=0/018$) در ساختار RBF 3-12-1 به عنوان شبکه بهینه است. همچنین مناسب‌ترین ساختار برای شاخص مرکزیت پروتوکورم و درصد کرویت کپسوله‌ها به ترتیب در ساختارهای RBF 3-11-1 و RBF 3-19-1 با ضرایب همبستگی ($R=0/55$) و ($R=0/60$) و خطاهای ($SSE=0/033$) و ($SSE=0/049$) انتخاب شد. به منظور تعیین همبستگی میان مقادیر واقعی شاخص مرکزیت پروتوکورم، درصد کرویت و حجم کپسوله‌ها، با مقادیر پیش‌بینی شده در مدل RBF، نمودارهای پراکندگی برای هر یک از متغیرهای خروجی به ترتیب در شکل ۵ آورده شده است (شکل ۵).

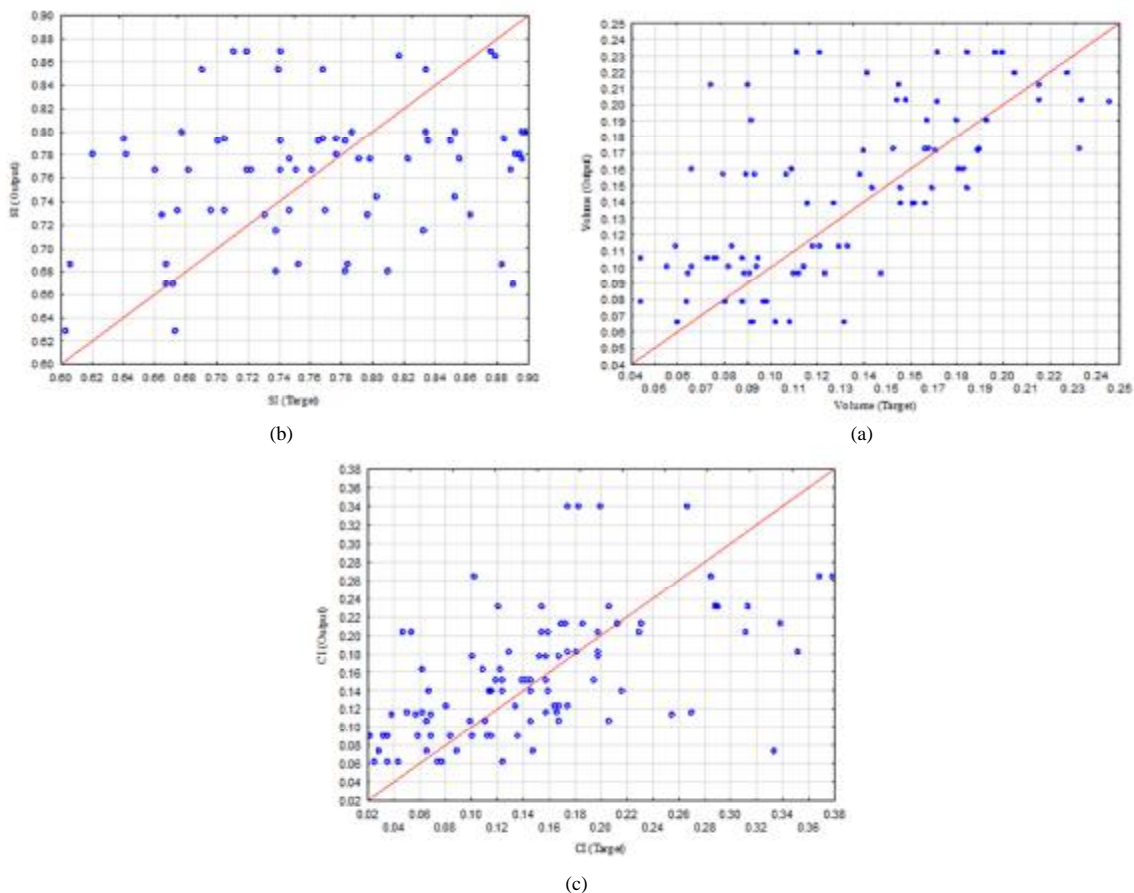
با توجه به ضرایب همبستگی، نتایج نشان داد که تابع عملکرد شعاعی برای پیش‌بینی حجم کپسوله‌ها با دقت بیشتری نسبت به سایر متغیرهای خروجی، قابل تعمیم

است. با توجه به مقایسه نتایج برای پیش‌بینی خواص فیزیکی کپسوله‌ها در مدل‌های شبکه عصبی با مدل رگرسیون چندگانه، نتایج بطور کلی نشان داد که شبکه عصبی MLP با بهترین ضریب همبستگی و کمترین خطا بسیار بهتر از شبکه عصبی RBF و مدل رگرسیونی RSM در هر سه متغیر خروجی درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها، شاخص مرکزیت پروتوکورم، عمل کرده است. در مطالعه مشابهی برای درجه‌بندی میوه انار بر اساس رنگ و اندازه رگه‌ها با استفاده از پردازش تصویر و هوش مصنوعی، مدل‌های شبکه عصبی مصنوعی و روش سطح پاسخ توسعه داده شد (Fashi et al., 2019). نتایج نشان داد که مدل شبکه عصبی مصنوعی (ANN) با دقت ۹۸٪، ضریب همبستگی ۰/۹۴ و میانگین مربعات خطای ۰/۰۰۸، به عنوان مدل بهینه بهترین روش برای پیش‌بینی خواص فیزیکی انار بود.

در نهایت، برای رسیدن به مقادیر بهینه متغیرهای کپسوله‌سازی بصورت بیشترین مقدار درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و کمترین مقدار شاخص مرکزیت پروتوکورم، شرایط بهینه به صورت جدول ۴ به دست آمده است.

جدول ۳- پیش‌بینی خواص فیزیکی کپسوله بذر مصنوعی با توسعه شبکه عصبی مصنوعی RBF

SSE×10 ⁻²	R	ساختار شبکه RBF	خواص فیزیکی کپسوله
آزمایش	آزمایش		
۰/۱۸	۰/۶۷	RBF 3-12-1	حجم (mm ³)
۰/۱۹	۰/۶۷	RBF 3-10-1	
۰/۲۰	۰/۶۶	RBF 3-17-1	
۰/۲۱	۰/۶۳	RBF 3-4-1	
۰/۲۱	۰/۶۳	RBF 3-11-1	
۰/۳۳	۰/۵۵	RBF 3-11-1	شاخص مرکزیت پروتوکورم (mm)
۰/۳۴	۰/۵۴	RBF 3-10-1	
۰/۳۴	۰/۵۳	RBF 3-5-1	
۰/۳۹	۰/۵۱	RBF 3-7-1	
۰/۳۹	۰/۵۰	RBF 3-2-1	
۰/۴۹	۰/۶۰	RBF 3-19-1	کرویت (%)
۰/۵۱	۰/۵۸	RBF 3-16-1	
۰/۵۲	۰/۵۷	RBF 3-18-1	
۰/۵۳	۰/۵۶	RBF 3-15-1	
۰/۵۳	۰/۵۵	RBF 3-16-1	



شکل ۵- همبستگی بین مقادیر پیش‌بینی شده و واقعی حجم کپسوله‌ها (a)، شاخص مرکزیت پروتوکورم (b) و درصد کرویت کپسوله‌ها (c) برای مدل RBF

جدول ۴- مقادیر پیشنهادی بهینه متغیرهای کپسوله‌سازی تحت سطوح مختلف ارتفاع سقوط قطره، غلظت آلژینات سدیم و کلرید کلسیم

شماره	ارتفاع (cm)	آلژینات سدیم (%)	کلرید کلسیم (mM)	حجم (mm ³)	شاخص مرکزیت (mm)	شاخص کرویت (%)	مطلوبیت
۱	۱/۰۰	۳/۹۱	۱۰۰/۰۰	۰/۲۹۲	۰/۱۱۴	۰/۷۵۴	۰/۵۶۲
۲	۱/۰۰	۳/۹۰	۱۰۰/۰۰	۰/۲۹۲	۰/۱۱۵	۰/۷۵۴	۰/۵۶۱
۳	۱/۰۰	۳/۹۳	۱۰۰/۰۰	۰/۲۹۰	۰/۱۱۳	۰/۷۵۵	۰/۵۶۱
۴	۱/۰۰	۳/۸۹	۱۰۰/۰۱	۰/۲۹۳	۰/۱۱۵	۰/۷۵۳	۰/۵۶۰
۵	۱/۰۰	۴/۰۳	۱۰۰/۰۰	۰/۲۸۵	۰/۱۰۹	۰/۷۵۷	۰/۵۶۰
۶	۱/۰۰	۳/۷۵	۱۰۰/۰۰	۰/۳۰۱	۰/۱۲۳	۰/۷۴۸	۰/۵۵۹
۷	۱/۰۲	۳/۹۵	۱۰۰/۰۰	۰/۲۸۴	۰/۱۱۳	۰/۷۵۷	۰/۵۵۸

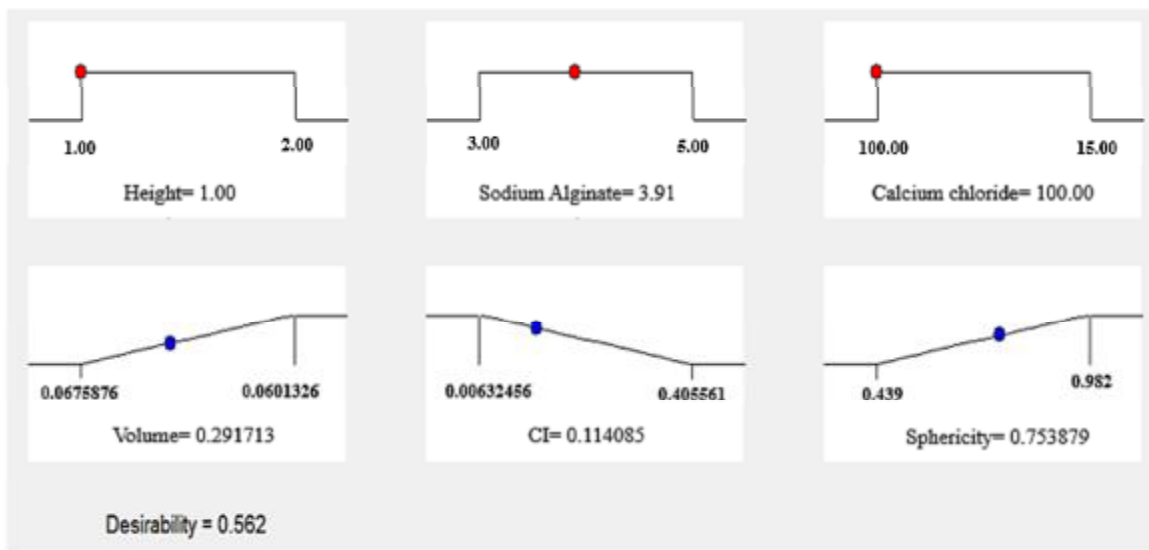
شرایط بهینه با میزان رضایت ۰/۵۶۲ برای حجم کپسوله‌ها ۰/۲۹۲ mm³، شاخص مرکزیت پروتوکورم ۰/۱۱۴ mm و درصد کرویت کپسوله‌ها ۰/۷۵۴ وقتی که ارتفاع سقوط قطره، غلظت آلژینات سدیم و غلظت کلرید

ارتفاع سقوط قطره، غلظت آلژینات سدیم و غلظت کلرید کلسیم

کپسوله‌های شفاف و یکنواخت در حین کپسوله شد (Pattnaik & Chand, 2000). برای اعتبارسنجی شرایط بهینه تولید بذر مصنوعی ارکیده فالانوپسیس به دست آمده توسط روش سطح پاسخ، حالت بهینه در آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اختلاف مقادیر پیش بینی شده با مقادیر واقعی ۴/۳۶ درصد بود.

کلسیم به ترتیب ۱ سانتی‌متر، ۳/۹۱ درصد و ۱۰۰ میلی‌مولار بود، به دست آمد (شکل ۶). این می‌تواند به دلیل تبادل یونی بهتر در غلظت‌های بالاتر آلزینات سدیم تا حد مطلوب باشد که در نتیجه منجر به بهبود پارامترهای فیزیکی کپسوله خواهد شد.

نتایج مشابهی با بذر مصنوعی توت یافت شد که در آن آلزینات سدیم با غلظت بالاتر (۴ درصد) منجر به تشکیل



شکل ۶- شرایط بهینه تولید کپسوله ارکیده فالانوپسیس

فالانوپسیس باشد. شبکه عصبی MLP با بیشترین ضریب همبستگی (R) و کمترین مجموع مربعات خطا (SSE)، بهترین معماری شبکه را برای پیش‌بینی ویژگی‌های فیزیکی کپسوله در مقایسه با مدل‌های RBF و RSM داشت. شرایط بهینه برای متغیرهای خروجی شامل درصد کرویت، حجم کپسوله‌ها و شاخص مرکزیت، به ترتیب با ضرایب همبستگی ۰/۷۹، ۰/۵۷ و ۰/۶۷ و حداقل مجموع مربعات خطای ۰/۰۰۱۴، ۰/۰۰۳۱ و ۰/۰۰۴۲ در ساختارهای MLP 3-14-1، MLP 3-10-1 و MLP 3-14-1 انتخاب شد. به طور کلی نتایج نشان دادند که شبکه عصبی مصنوعی MLP با معماری مشخص در این پژوهش، راهکاری مناسب برای مدل‌سازی و پیش‌بینی ویژگی‌های فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده فالانوپسیس است.

منابع

Ara, H., Jaiswal, U., & Jaiswal, V. (2000). Synthetic seed: prospects and limitations. *Current science*, 1438-1444.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، شبکه‌های عصبی مصنوعی MLP و RBF و همچنین روش سطح پاسخ برای مدل‌سازی و پیش‌بینی خواص فیزیکی بذر مصنوعی ارکیده توسعه داده و مقایسه شدند. طبق معادلات رگرسیونی به دست آمده از روش سطح پاسخ، حجم کپسوله‌ها در سطح احتمال ۵ درصد رابطه مستقیم و معناداری با اثر متقابل تمام متغیرهای ورودی داشته و شاخص مرکزیت پروتوکومر به طور معناداری نسبت به اثر متقابل غلظت کلرید کلسیم و غلظت آلزینات سدیم رابطه مستقیم دارد. همچنین طبق نتایج به دست آمده، درصد کرویت کپسوله‌ها، رابطه معنادار و مستقیمی با مقادیر غلظت آلزینات سدیم و اثرات متقابل ارتفاع سقوط قطره با غلظت آلزینات سدیم و غلظت کلرید کلسیم داشت. به طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از پردازش تصویر می‌تواند روشی غیرمخرب، دقیق، سریع و کم هزینه برای ارزیابی ابعاد، شاخص کرویت و شاخص مرکزیت بذر مصنوعی ارکیده

- Saiprasad, G., & Polisetty, R. (2003). Propagation of three orchid genera using encapsulated protocorm-like bodies. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 39(1): 42-48.
- Tao, Y., Wang, P., Wang, J., Wu, Y., Han, Y., & Zhou, J. (2017). Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties. *Powder Technology*, 311: 77-87.
- Varnamkhasti, M. G., Mobli, H., Jafari, A., Keyhani, A., Soltanabadi, M. H., Rafiee, S., & Kheiralipour, K. (2008). Some physical properties of rough rice (*Oryza Sativa* L.) grain. *Journal of Cereal Science*, 47(3): 496-501.
- Yilmaz, I., & Kaynar, O. (2011). Multiple regression, ANN (RBF, MLP) and ANFIS models for prediction of swell potential of clayey soils. *Expert Systems with Applications*, 38(5): 5958-5966.
- Baş, D., & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3): 836-845.
- Bekheet, S. A. (2006). A synthetic seed method through encapsulation of in vitro proliferated bulblets of garlic (*Allium sativum* L.). *Arab J Biotech*, 9(3): 415-426.
- Chen, Y., & Martynenko, A. (2016). Effect of hydrothermodynamic (HTD) processing on physical and chemical qualities of American cranberry puree using response surface methodology (RSM). *LWT*, 70: 322-332.
- Chugh, S., Guha, S., & Rao, I. U. (2009). Micropropagation of orchids: a review on the potential of different explants. *Scientia horticulturae*, 122(4): 507-520.
- Fashi, M., Naderloo, L., & Javadikia, H. (2019). The relationship between the appearance of pomegranate fruit and color and size of arils based on image processing. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 52-57.
- Igathinathane, C., Pordesimo, L., & Batchelor, W. (2009). Major orthogonal dimensions measurement of food grains by machine vision using ImageJ. *Food Research International*, 42(1), 76-84.
- Kumar, M., & Yadav, N. (2011). Multilayer perceptrons and radial basis function neural network methods for the solution of differential equations: a survey. *Computers & Mathematics with Applications*, 62(10), 3796-3811.
- Kumari, R., & Rana, N. (2015). Particle size and shape analysis using Imagej with customized tools for segmentation of particles. *Int. J. Eng. Res*, 4(11): 23-28.
- Mohsenin, N. N. (1970). *Physical properties of plant and animal materials. Vol. 1. Structure, physical characteristics and mechanical properties* (Vol. 1).
- Nugrahani, P., Moeljani, I. R., & Lydiana, I. (2018). Encapsulation and Germination of Synthetic Seeds of Chrysanthemum. International Conference on Science and Technology (ICST 2018),
- Pattnaik, S., & Chand, P. K. (2000). Morphogenic response of the alginate-encapsulated axillary buds from in vitro shoot cultures of six mulberries. *Plant cell, tissue and organ culture*, 60(3): 177-185.
- Priya, B., & Shakila, A. (2003). Synthetic seed production in banana. *ADVANCES IN PLANT SCIENCES*, 16(1): 219-222.
- Rios-Cabrera, R., Lopez-Juarez, I., & Sheng-Jen, H. (2008). ANN analysis in a vision approach for potato inspection. *Journal of applied research and technology*, 6(2): 106-117.