

УДК 004.896:504.064

НЕЙРОСЕТЕВОЙ ПОДХОД ПРИ АВТОМАТИЗАЦИИ ПОДБОРА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

¹Ивашук О.А., ¹Щербинина Н.В., ²Забнин С.А.

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
Белгород, e-mail: ivaschuk@bsu.edu.ru;

²ООО «Интерактивные технологии и системы», Москва, e-mail: ivaschuk@bsu.edu.ru

В данной статье представлены результаты исследований по автоматизации определения оптимальных условий культивирования растений в условиях *in vitro*, являющихся ценными источниками биологически активных добавок, на основе использования нейросетевых технологий моделирования. Для формирования обучающих и тестовых выборок и построения моделей проведены предварительные лабораторные эксперименты, в которых для получения проростков и мини-растений использовали в качестве растительных эксплантов семена шалфея лугового (*Salvia pratensis* L., семейство *Lamiaceae*), собранные в Белгородской области (Центральный регион России). Получены предварительные данные об оптимальных параметрах культивирования на питательных средах, содержащих различные концентрации фитогормонов. Предложен подход к решению задачи автоматизированного управления процессом культивирования *in vitro* растений и оптимизации параметров питательной среды (компонентного состава и концентрации фитогормонов) на основе аппарата искусственных нейронных сетей. Исследованы возможности различных видов нейронных сетей для нейросетевой идентификации. С помощью разработанных адекватных нейросетевых моделей были проведены имитационные эксперименты с целью оптимизации параметров процесса микроклонального размножения на примере *Salvia pratensis* L., на основе которых выбраны оптимальные составы и концентрации питательных сред для получения требуемых параметров мини-растений, выращенных в условиях *in vitro*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что нейросетевой подход на базе многослойного перцептрона является эффективным способом обеспечения автоматизации подбора питательной среды для выращивания растений в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: автоматизация и оптимизация, искусственные нейронные сети, нейросетевая идентификация, микроклональное размножение

NEURAL NETWORK APPROACH TO AUTOMATING THE SELECTION OF NUTRIENT ENVIRONMENT FOR CULTIVATION OF PLANTS UNDER IN VITRO CONDITIONS

¹Ivaschuk O.A., ¹Shcherbinina N.V., ²Zabnin S.A.

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod National Research University», Belgorod, e-mail: ivaschuk@bsu.edu.ru;

²ООО «Interactive technologies and systems», Moscow, e-mail: ivaschuk@bsu.edu.ru

This article presents the results of studies on the automation of determining the optimal conditions for the cultivation of plants *in vitro*, which are valuable sources of dietary supplements, based on the use of neural network modeling technologies. For the formation of training and test samples and the construction of models, preliminary laboratory experiments were carried out in which seeds of sage meadow (*Salvia pratensis* L., family *Lamiaceae*) collected in the Belgorod Region (Central Region of Russia) were used to obtain seedlings and mini-plants. Preliminary data on the optimal cultivation parameters on nutrient media containing various concentrations of phytohormones were obtained. An approach is proposed to solve the problem of automated control of the cultivation process *in vitro* of plants and optimization of the parameters of the nutrient medium (component composition and concentration of phytohormones) based on the apparatus of artificial neural networks. The possibilities of various types of neural networks for neural network identification are investigated. Using the developed adequate neural network models, simulation experiments were conducted to optimize the parameters of the process of microclonal propagation using the example of *Salvia pratensis* L., on the basis of which the optimal composition and concentration of nutrient media were selected to obtain the required parameters of mini-plants grown *in vitro*. The analysis of the results suggests that the neural network approach based on multi-layer perceptron is an effective way to ensure the automation of the selection of nutrient medium for growing plants *in vitro*.

Keywords: automation and optimization, artificial neural networks, neural network identification, microclonal reproduction

В настоящее время использование современных методов и средств интеллектуального моделирования, в частности аппарата искусственных нейронных сетей (ИНС), является крайне актуальным в целях разработки инструментария для проведения необходимого количества имитационных

компьютерных экспериментов и обеспечения автоматизированного подбора параметров различных нелинейных стохастических процессов, особенно в тех случаях, когда натурные опыты связаны со значительными затратами материальных и трудовых ресурсов [1, 2]. К подобным процессам

относится микроклональное размножение растений (*in vitro*), которое, с одной стороны, является качественным способом получения достаточного количества безвирусного посадочного материала. С другой стороны, данный процесс при реализации его в лабораторных условиях является длительным, трудоемким и затратным, требует проведения значительного числа опытов. Кроме того, при анализе его результатов необходимо обрабатывать значительные объёмы разнородной, иногда слабоструктурированной, информации.

Ранее авторами уже была проведена успешная апробация использования нейросетевых методов идентификации процесса микроклонального размножения с последующей разработкой эффективной нейросетевой стратегии оптимизации параметров одного из основных этапов этого процесса – стерилизации растительных эксплантов [3, 4].

Цель исследования: обеспечение автоматизации процесса микроклонального размножения растений за счет построения нейросетевой модели, позволяющей подобрать оптимальный компонентный состав питательных сред для получения требуемых характеристик выращиваемых мини-растений в условиях *in vitro* без проведения серии дорогостоящих натурных опытов.

Материалы и методы исследования

Для формирования обучающих и тестовых выборок и реализации процесса моделирования были проведены эксперименты с представителем семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), произрастающим на территории Белгородской области и являющимся лекарственным растением, а также природным источником биологически активных веществ (БАВ) – Шалфей луговой (*Salvia pratensis* L.). Шалфей луговой – эфирномасличное и декоративное растение, обладающее антибактериальным, противовоспалительным, отхаркивающим, тонизирующим, вяжущим, мочегонным, спазмолитическим и ранозаживляющим действием [5, 6].

С помощью ранее разработанной авторами нейросетевой модели оценки и прогнозирования результатов этапа стерилизации [3, 4] были получены параметры для этапа стерилизации, которые обеспечивают наиболее оптимальное соотношение количества стерильных растительных эксплантов (80 и 100%) к количеству жизнеспособных семян (42 и 25% соответственно). Это стерилизующий агент раствор биоцида (с = 3%), время стерилизации $t = 10$ мин; раствор хлорамина Б (с = 10%), $t = 10$ мин. Для получения асептического растительного материала использовались среды Мурасиге – Скуга [7], в которые были добавлены фитогормоны, в различных концентрациях и сочетаниях, как это показано в табл. 1.

Достоверность исследований проверялась с применением точного критерия Фишера. Статистическая обработка полученных данных проводилась по общепринятым методам, принятым в биометрии.

Оптимальной средой для получения мини-растений определена среда MS₃, при использовании которой растения отличаются большим числом появившихся листьев, более развитой корневой системой и более жизнеспособным состоянием. В табл. 2 показаны результаты, полученные для данной среды.

Построение нейросетевой модели

Способность ИНС к обучению позволяет получить более простые решения, при этом нейросетевые стратегии управления остаются эффективными как в условиях действия помех, так и при изменении параметров исследуемых процессов. В настоящее время при построении систем управления нелинейными процессами и объектами наибольшую популярность получили ИНС типа многослойный персептрон (МП), радиально-базисные сети (РБС), СМАС-контроллеры, а также нейро-фаззи сети [8, 9]. Следует особо отметить, что, благодаря способности ИНС к самообучению, для систем управления построенных на основе нейроконтроллеров, наличие большого объема априорной информации не требуется.

В ходе исследований использовалась последовательно-параллельная модель, позволяющая делать прогноз поведения объекта на необходимое количество тактов вперед. Расчет выходных значений сигнала $\hat{y}(k+1)$ определяется по формуле

$$\hat{y}(k+1) = f(y(k), y(k-1), \dots, u(k), u(k-1), \dots), \quad (1)$$

где $u(k), u(k-1), \dots$ – входные сигналы объекта; $y(k), y(k-1), \dots$ – выходные сигналы объекта.

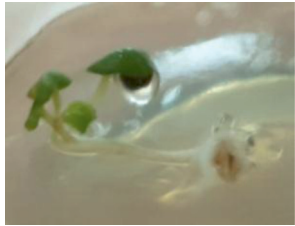


Таблица 1

Используемые питательные среды

Концентрации фитогормонов (мг/л) \ Название питательной среды	MS ₁	MS ₂	MS ₃	MS ₄	MS ₅	MS ₆	MS ₇	MS ₈	MS ₉	MS ₁₀	MS ₁₁
6-бензиламинопурин	1	3	0	0	0	1	0,5	1	0	1	2
индолил-3-уксусная кислота	0	0	1	0	2	0	0	2	20	0	0,5
индолил-3-масляная кислота	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0
кинетин	0	0	0	0	0,2	0,1	0	1	2	0	0
а-нафтилуксусная кислота	0	0	0	0	0	0,5	0	2	0	12	0
2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0

Таблица 2

Характеристика роста проростков вида *S. pratensis* на среде MS₃

Питательная среда	Результаты контроля растений		
	Через 7 дней	Через 14 дней	Через 21 день
MS ₃	Длина стебля – 2,5 см; число листьев – 4 шт.; цвет – насыщенный зеленый 	Длина стебля – 3,5 см; число листьев – 6 шт.; цвет – насыщенный зеленый 	Длина стебля – 4 см; число листьев – 8 шт.; цвет – насыщенный зеленый 

Для построения нейросетевой модели процесса микроклонального размножения в работе применены ИНС типа МП, которые позволяют аппроксимировать любую непрерывную функцию с заданной точностью [10, 11]. Нелинейный оператор объекта (2) аппроксимируется сетью системой базисных функций $\{\Phi_i(u)\}$, реализуемой нейронами, образующими слой сети. При этом задача идентификации сводится к обучению сети, то есть настройке параметров сети на основе предъявления обучающей выборки.

$$\hat{y}(k) = \sum_{i=1}^N w_i \Phi_i(u(k)), \quad (2)$$

где w_i – весовые параметры сети;

$$u(k) = (y(k-1), \dots, y(k-m), u(k-1), \dots, u(k-n))^T.$$

Для настройки весовых коэффициентов нейросетевых моделей процесса микроклонального размножения использовался один из наиболее эффективных алгоритмов обучения МП – модификация метода Ньютона – метод Левенберга – Марквардта [12]. Обучение МП считалось успешным, когда сетевая ошибка достигала допустимого значения.

Результаты исследования и их обсуждение

Процесс микроклонального размножения относится к классу ММО-процессов. Входной сигнал нейросетевой модели $u(k)$ представляет собой вектор, содержащий информацию о составе модифицированной питательной среды Мурасиге – Скуга для получения мини-растений в условиях *in vitro* для растений шалфея лугового (*Salvia pratensis* L.) – концентрации шести фитогормонов (табл. 1); выходной векторный сигнал нейросетевой модели $y^*(k)$ содержит информацию о трех контролируемых параметрах растений – длине стебля (см), количество листьев (шт.), кодируемый цвет корня (ед.). В качестве функции активации

нейронов в скрытом слое использовался гиперболический тангенс, а в выходном слое – линейная функция. Настройка сети осуществлялась на основании 7560 обучающих пар, требуемая точность составляла $1 \cdot 10^{-6}$. Инициализация весов и смещений осуществлялась согласно правилу, при котором каждый вес равномерно распределен в диапазоне $[-\alpha, \alpha]$, где α задается формулой [9]:

$$\alpha(w_{ij}^{lm}) = \frac{1}{N^m + 1}, \quad (3)$$

где N^m – число нейронов в слое m .

Предварительно было проведено центрирование и нормирование входных и выходных переменных:

$$\bar{u}_{jk} = \frac{u_{jk} - m_{u_j}}{\sigma_{u_j}},$$

$$\bar{y}_{ik} = \frac{y_{ik} - m_{y_i}}{\sigma_{y_i}}, \quad j=1,6, i=1,3, k=1,7560, \quad (4)$$

где m_{u_j} – среднее выборки u_{jk} , $k=1,7560$; m_{y_i} – среднее выборки y_{ik} , $k=1,7560$; σ_{u_j} , σ_{y_i} – дисперсии выборок u_{jk} и y_{ik} соответственно.

При построении нейросетевых моделей проводились эксперименты с различными структурами сетей, начиная от простейшей сети 6–3 без обратных связей, состоящей из двух слоев, с шестью нейронами в скрытом слое и тремя нейронами в выходном слое и заканчивая сетями, включающими задержки по входным сигналам.

Рис. 1, а, отражает динамику обучения двухслойной нейросетевой модели 6–3,

структура которой показана на рис. 2, а. Как видно из рис. 1, а, сеть не достигла требуемой точности, величина ошибки стабилизировалась на уровне 0,0356. На рис. 1, б, показана кривая обучения для трехслойной нейросетевой модели 50–50–3, показавшей наилучший результат. Архитектура модели показана на рис. 2, б. Заданной точности выбранная ИНС достигла за 260 итераций за 13 минут 10 секунд. Результаты идентификации объекта представлены на рис. 3. Здесь сплошной зеленой линией показаны выходы нейросетевой модели, а ромбиками – значения контролируемых параметров процесса микроклонального размножения – длина стебля, количество листьев, цвет корня. Как видно из рисунка, сеть способна с высокой точностью воспроизводить параметры идентифицируемого процесса.

Выводы

Построена адекватная нейросетевая модель (МП 50-50-3), обеспечивающая автоматизированный подбор параметров питательной среды для размножения *in vitro* растений, являющихся источниками БАВ. Входными параметрами данной модели являются концентрации шести фитогормонов в различных сочетаниях, выход – параметры растений, характеризующие их состояние как посадочного материала: длина стебля (см), количество листьев (шт.), кодируемый цвет корня (ед.). Для обучения и тестирования сети проведена серия предварительных экспериментальных исследований по микроклональному размножению растений с использованием семян шалфея лугового, собранного в 2017–2018 гг. на территории Белгородского региона.

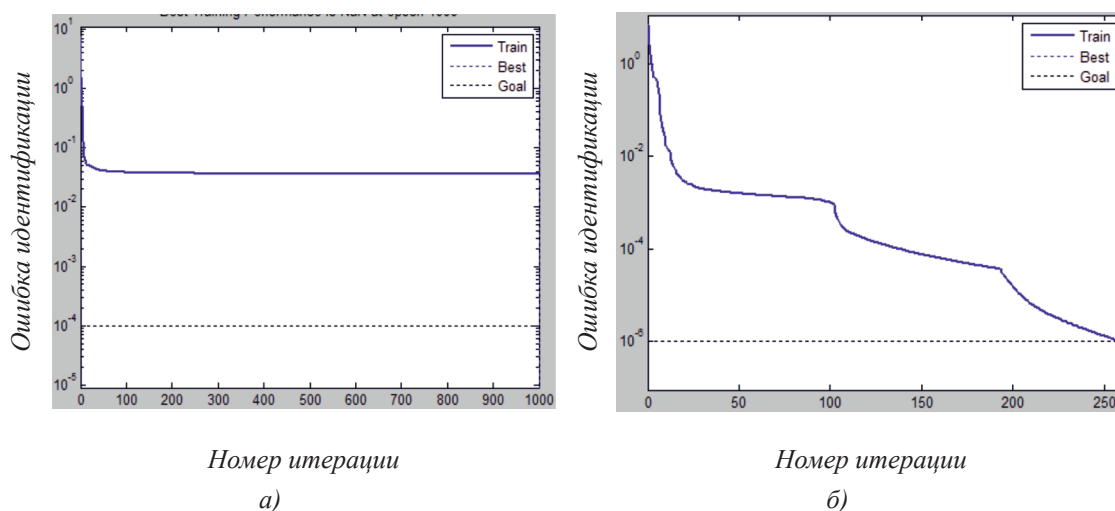


Рис. 1. Динамика обучения нейросетевых моделей: сеть 6–3 а), сеть 50–50–3 б)

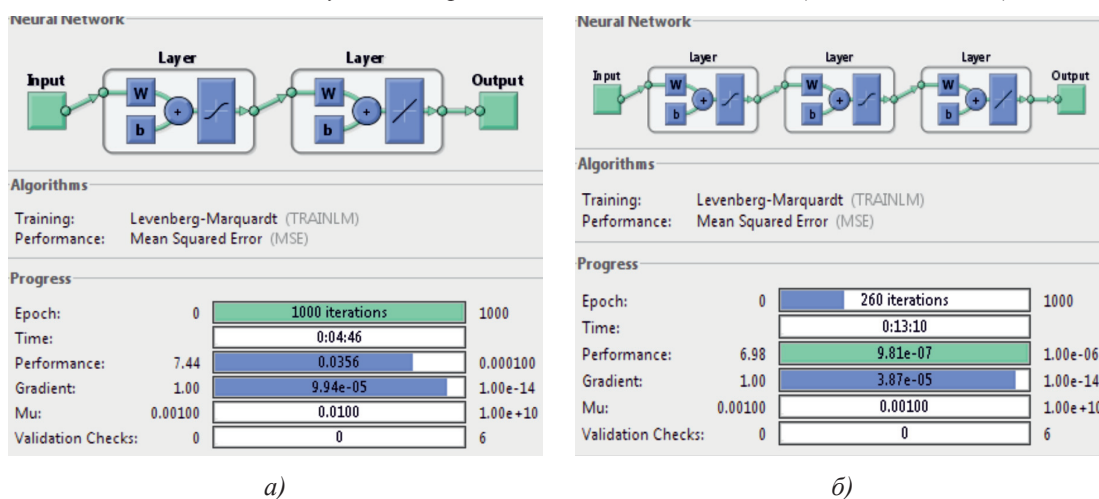


Рис. 2. Структура нейросетевых моделей: сеть 6–3 а), сеть 50–50–3 б)

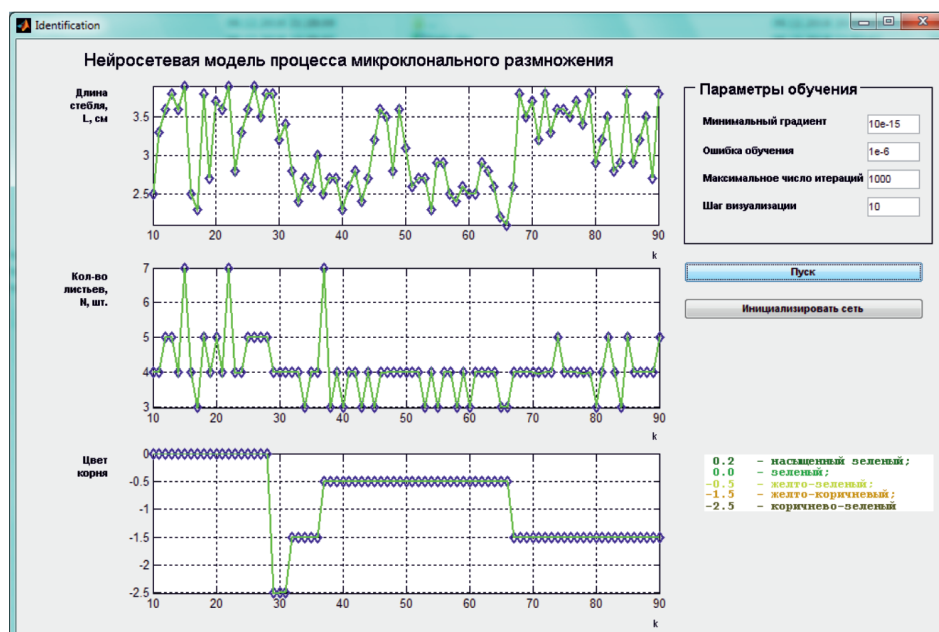


Рис. 3. Результаты нейросетевой идентификации процесса микроклонального размножения

Практическое использование разработанной нейросетевой модели позволит без проведения дорогостоящих натуральных опытов в автоматизированном режиме определять необходимый состав питательных сред для выращивания в условиях *in vitro* качественных безвирусных лекарственных растений семейства Lamiaceae.

Список литературы

1. Бессонов А.А., Руденко С.О. Идентификация нелинейных нестационарных объектов с помощью эволюционного многослойного персептрона // Вестник ХНТУ. 2012. № 1 (44). С. 130–135.
2. Сигеру Омату, Марзуки Халид, Рубия Юсоф. Нейроуправление и его приложения. М.: ИПРЖР, 2000. 272 с.
3. Ivashchuk O.A., Batlutskaia I.V., Maslova E.V., Shcherbinina N.V., Shamraev A.A., Gaidai P.A. Approaches to Conservation of Biodiversity of Rare and Endangered Medicinal Plants on the Basis of Microclonal Multiplication With Optimization of Parameters by Methods of Neural Network Modeling. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018b. № 9(5). P. 2347–2356.
4. Ivashchuk O.A. Maslova E.V., Batlutskaia I.V., Shcherbinina N.V., Degtyareva K.A., Gulya N.I., Zhuravlev M.D. Optimization of sterilization process of plant explants when introduced into culture *in vitro* based on artificial neural networks (by the example of the family Labiatae Juss. (Lamiaceae)). International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR). 2017. Vol. 8. Issue 4. P. 1698–1707.
5. Bremer B., Bremer K., Chase M.W., Fay M.F., Reveal J.L., Soltis D.E., Soltis P.S., Stevens P.F., Anderberg A.A., Moore M.J., Olmstead R.G., Rudall P.J., Sytsma K.J., Tank D.C., Wurdack K., Q.-Y J. Xiang, S. Zmarzlet. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society. 2009. Vol. 161. P. 105–121.
6. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 635 с.
7. Murashige T., Skoog F.A. A revised medium for rapid growth and with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15(3). P. 473–497.
8. Каллан Роберт. Основные концепции нейронных сетей. М.: Издательский дом Вильямс, 2001. 287 с.
9. Удовенко С.Г., Шамраев А.А., Дибе Г. Цифровое нейро-нечеткое управление блоками линейного сильноточного ускорителя электронов // Радиотехника, информатика, управление. 2009. № 2. С. 101–106.
10. Duc Truong Pham, Xing Liu. Neural Network for Identification, Prediction and Control. Springer London Ltd. 2012. 258 p.
11. Bosque G., I. del Campo, J. Echanobe. Fuzzy systems, neural networks and neuro-fuzzy systems: A vision on their hardware implementation and platforms over two decades. Engineering Applications of Artificial Intelligence. 2014. Vol. 32. P. 283–331.
12. Бессонов А.А., Руденко О.Г. Робастная нейроэволюционная идентификация нелинейных нестационарных объектов // Кибернетика и системный анализ. 2014. № 1. С. 21–36.