

A INTELIGÊNCIA COMPUTACIONAL DISCRIMINA GENÓTIPOS DE ALFACE COM SEMENTES TERMOINIBIDAS SOB ALTAS TEMPERATURAS E PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO?

FAGUNDES, Júlia Peixoto^{1*}; FARIA, Gabriel Policarpo Tavares¹; NEVES, Flávia de Oliveira Borges Costa²; FERREIRA, Victoria Cristina¹; PELIZARRO, Gabriel Berteli¹; PONTES, Brenda Santos¹; SANTOS, Thaís Farias¹; VIEIRA, Rafael Miguel Gonçalves¹; ZANETTI, Rossana Bertaglia¹; CARVALHO, Matheus Ferreira¹; CATÃO, Hugo César Rodrigues Moreira³

^{1*}Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica.

¹Graduando (a) em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: juliap_11@hotmail.com; gabrielpolicarpo28@hotmail.com; victoriaferreira@ufu.br; gabriel_pelizarro@yahoo.com.br; brendinha_spontes@hotmail.com; thaisfarias.ufu@gmail.com; rafael.vieira@ufu.br; rossana_bertaglia_zanetti@hotmail.com; math.10.carvalho1912@gmail.com

²Eng.a Agrônoma, Mestranda em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: flavia.neves@ufu.br

³Prof. Dr. Produção e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, E-mail: hugo.catao@ufu.br

RESUMO

A termoinibição é um fator importante, no qual trás perdas para os produtores, que não dispõem de cultivares comerciais com sementes termotolerantes. Objetivou-se avaliar o uso de inteligência computacional para discriminar diferentes níveis de termoinibição em sementes de genótipos de alface sob altas temperaturas e períodos de armazenamento. Foram avaliadas sementes de 18 cultivares quanto à termoinibição considerando às características de primeira e última contagem de germinação e índice de velocidade de germinação, em sementes submetidas às temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C. As análises foram realizadas imediatamente após a colheita das sementes e repetidas após seis meses de armazenamento. A análise discriminante e o Mapa de Auto Organização de Kohonen (SOM) por Redes Neurais Artificiais (RNAs) foram realizados por meio de inteligência computacional. O Mapa Auto-Organizável de Kohonen é capaz de detectar diferenças e organizar as semelhanças entre as cultivares de alface, formando um maior grupo que possui sementes termoinibidas. Na análise discriminante também foi possível indentificar, de maneira coerente, genótipos (Everglades) tolerantes a termoinibição. A inteligência computacional foi eficiente na detecção de dissimilaridade de sementes de alface com termoinibição logo após a colheita e armazenamento.

Palavras-Chave: *Lactuca sativa* L.; termoinibição; redes neurais; armazenamento.

1. INTRODUÇÃO

A alface enfrenta dificuldades de adaptação em locais com altas temperaturas (Aquino et al., 2014), tanto no que diz respeito ao florescimento, quanto à germinação das sementes. Em temperaturas superiores a 22°C, a planta é induzida a florescer precocemente (Azevedo et al., 2014), resultando na depreciação do produto causando prejuízos financeiros.

Por outro lado, as sementes quando expostas a temperaturas elevadas durante a embebição e/ou o armazenamento tem a sua germinação inibida de forma significativa (Catão et al., 2018). Essa inibição pode ser temporária (termoinibição) ou completa (termodormência). Isso foi observado em alguns trabalhos que mostraram tolerância à germinação em temperaturas de 35°C de sementes da cultivar Everglades (*Lactuca sativa* L.) (Nascimento et al., 2012).

Além disso, independentemente da temperatura de germinação, algumas cultivares podem apresentar em períodos próximos à pós-colheita, sementes com dormência primária. Os mecanismos que levam a esta dormência são genéticos, de forma que as sementes não germinam logo após a colheita (Lopes e Nascimento, 2012). Dessa maneira, é necessário que as sementes sejam armazenadas por alguns meses para a superação da dormência (Catão et al., 2018).

Atualmente é necessário o aprimoramento das técnicas capazes de selecionar plantas de alface que apresentem sementes termotolerantes e termosensíveis. Uma forma de viabilizar esse tipo de análise pode ser por meio da Inteligência Computacional, com destaque para as Redes Neurais Artificiais (RNA's) (Cruz; Nascimento, 2018).

Nos experimentos agrícolas as RNA's são utilizadas na classificação e agrupamento, predição de caracteres de interesse, estimação da diversidade genética, ajuste de modelos, estudo da adaptabilidade e estabilidade e na seleção genômica ampla, dentre outros (Oliveira et al., 2013; Hu et al., 2019), sendo escassos estudos em germoplasma de alface.

Uma vertente das RNA's são os Mapas Auto-Organizáveis de Kohonen (SOM), que é capaz de detectar diferenças e organizar as semelhanças entre as cultivares de alface, formando um maior grupo que possui sementes termoinibidas.

Cultivares comerciais de alface tolerantes à termoinibição não se encontram registradas no RNC/MAPA (Brasil, 2021), logo existe demanda para programas de melhoramento. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o uso de inteligência computacional para discriminar diferentes níveis de termoinibição em sementes de alface imediatamente após a colheita e armazenamento.

2. METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Realizou-se a produção de sementes de alface das cultivares: Tipo Lisa (Everglades, Babá de Verão, Elisa, Lídia, Luiza, Regina 71, Regina 2000); Tipo crespas (Colorado, Floresta, Grand Rapids, Hortência, Marianne, Verônica); Tipo americana (Salinas 88, Laurel, Raider Plus, Rubete, Yuri). A cultivar Everglades foi utilizada como testemunha tolerante à termoinibição (Catão et al., 2016) e a cultivar Grand Rapids utilizada como sensível à termoinibição (Catão et al., 2018). Em seguida, uma parte das sementes foi analisada imediatamente após a colheita, enquanto outra parte, foi armazenada em câmara fria sendo as análises conduzidas com seis meses de armazenamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. A análise estatística dos dados foi em esquema fatorial 18 x 4 (18 cultivares x 4 temperaturas de germinação). A qualidade fisiológica das sementes foi determinada mediante as seguintes avaliações:

Germinação e primeira contagem: quatro repetições de 50 sementes de cada cultivar foram semeadas sobre duas folhas de papel mata-borrão, umedecida com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato seco, em caixas plásticas transparentes (tipo gerbox). As caixas com as sementes foram mantidas em quatro câmaras do tipo BOD reguladas previamente nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35 °C sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação constou de duas contagens de plântulas normais, aos quatro e sete dias e os resultados expressos em porcentagem (Brasil, 2009). *Índice de Velocidade de germinação*: realizada simultaneamente ao teste de germinação, computando-se, diariamente e no mesmo horário, o número de sementes germinadas.

Por meio da inteligência computacional realizou-se a análise discriminante e o Mapa Auto-Organizável de Kohonen (SOM) utilizando as Redes Neurais Artificiais (RNA's). A arquitetura da SOM é do tipo *feedforward* com uma camada de entrada e uma de saída, denominada mapa topológico sendo dividido em três etapas (CRUZ;NASCIMENTO, 2018).

A análise discriminante foi realizada por meio de RNAs utilizando uma rede neural do tipo *Multilayer Perceptron* (MLP) formada por duas camadas contendo entre dois e cinco neurônios em cada camada, utilizando a função de ativação logarítmica.

As análises de variância foram realizadas e analisadas pelo Teste F e as médias comparadas entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade por meio do Programa estatístico (GENES), integrado ao software R e Matlab (CRUZ, 2016).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre as cultivares e as temperaturas de germinação logo após a colheita e com seis meses de armazenamento (Teste F, 5% de significância). As sementes da maioria das cultivares de alface mostraram-se sensíveis à termoinibição ou à falha na germinação. Foi possível observar a redução da germinação das sementes a partir de 25°C devido a elevação da temperatura independentemente da época de avaliação (Tabela 1), sendo este fato também relatado por Nascimento et al. (2012).

Tabela 1. Percentuais médios de primeira contagem, germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de alface logo após a colheita e com seis meses de armazenamento em diferentes temperaturas.

Cultivares	LOGO APÓS A COLHEITA											
	Temperatura											
	20°C			25°C			30°C			35°C		
	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG
B. Verão	44B	47B	9,0B	29B	31B	11,7B	27B	29B	10,8B	7B	7B	3,0B
Colorado	96A	98A	29,4A	93A	95A	32,3A	50A	77A	14,1B	1B	2B	0,1B
Elisa	90A	92A	23,6A	78A	85A	22,9A	22B	27B	5,5B	6B	16B	2,0B
Everglades	94A	96A	32,7A	92A	94A	40,9A	91A	93A	33,9A	82A	73A	23,3A
Floresta	90A	94A	23,9A	90A	93A	30,9A	26B	28B	7,8B	10B	11B	2,9B
G. Rapids	27B	37B	9,1B	20B	24B	7,3B	12B	18B	5,2B	1B	1B	0,1B
Hortência	95A	97A	26,2A	86A	92A	29,8A	58A	74A	17,4A	1B	1B	0,1B
Laurel	29B	33B	8,4B	48B	52B	15,3B	26B	39B	5,5B	0B	1B	0,1B
Lídia	63A	65A	15,8B	44B	47B	18,6B	13B	18B	3,6B	2B	3B	0,4B
Luiza	87A	90A	35,0A	40B	49B	11,9B	21B	24B	8,8B	10B	19B	3,6B
Marianne	61A	67A	29,1A	37B	40B	17,2B	25B	30B	5,5B	6B	7B	2,1B
R. Plus	66A	68A	28,3A	46B	40B	14,9B	32B	39B	7,9B	3B	5B	0,6B
Reg. 2000	90A	91A	30,3A	68A	81A	22,5A	52A	58A	20,1A	20B	4B	6,4B
Regina 71	25B	31B	13,9B	17B	29B	4,2B	8B	15B	1,8B	3B	3B	0,7B
Rubete	43B	44B	17,6B	26B	28B	8,4B	1B	1B	0,1B	0B	1B	0,1B
Salinas 88	63A	67A	20,2A	57A	62A	18,4B	30B	44B	8,8B	0B	1B	0,1B
Verônica	83A	87A	33,4A	78A	83A	24,1A	64A	76A	22,4A	1B	1B	0,1B
Yuri	82A	86A	27,6A	77A	80A	30,9A	71A	78A	20,1A	1B	2B	0,2B
CV (%)	15,37	11,39	25,69									

Cultivares	SEIS MESES DE ARMAZENAMENTO											
	Temperatura											
	20°C			25°C			30°C			35°C		
	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG	PCG	G	IVG
B. Verão	100A	100A	46,4A	96A	97A	43,9A	94A	99A	38,3A	38B	40B	14,2B
Colorado	100A	100A	43,2A	93A	99A	45,0A	87A	91A	40,2A	7C	8C	1,7C
Elisa	89A	90A	42,7A	88A	93A	41,8A	43D	43D	17,0C	7C	9C	2,3C
Everglades	94A	95A	45,5A	97A	97A	47,5A	88A	92A	43,6A	72A	84A	28,7A
Floresta	73B	87A	28,5B	71B	81B	22,7C	14E	18E	3,7D	4C	5C	1,0C
G. Rapids	80B	82A	31,6B	68B	72B	19,8C	56C	63C	20,0C	31B	31B	13,1B
Hortência	91A	92A	30,1B	86A	86A	40,1A	54C	62C	14,9C	10C	13C	3,6C
Laurel	74B	76B	33,1B	71B	72B	30,3B	67B	67B	31,9B	10C	10C	3,3C
Lídia	89A	91A	34,5B	82A	92A	32,0B	58C	60C	22,1C	6C	8C	1,6C
Luiza	74B	80A	34,5B	74B	75B	33,8B	69B	75B	25,9C	61A	63A	28,4A
Marianne	72B	77B	34,4B	70B	73B	28,3B	65B	72B	26,3C	5C	8C	1,8C
R. Plus	91A	91A	42,9A	89A	91A	43,7A	89A	89A	39,8A	17C	18C	7,6C
Reg. 2000	93A	95A	33,5B	80A	88A	24,5C	69B	82B	20,7C	31B	32B	13,3B
Regina 71	89A	92A	32,2B	80B	87A	25,8C	61C	67C	19,9C	27B	33B	12,0B
Rubete	64B	66B	24,2B	60B	63B	25,0C	49D	52D	22,7C	6C	9C	3,1C
Salinas 88	72B	73B	34,1B	61B	65B	29,0B	44D	48D	18,1C	1C	2C	0,5C
Verônica	87A	88A	38,2A	69B	73B	23,9C	42D	49D	11,8D	5C	6C	2,0C
Yuri	83A	84A	39,5A	71B	76B	33,6B	71B	75B	25,7C	2C	2C	0,7C
CV (%)	15,83	13,22	27,88									

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância.

Segundo Brasil (2009), a temperatura considerada ideal para a germinação de sementes de alface é de 20°C e a germinação padrão utilizado para a comercialização de sementes desta espécie é de 80%. Contudo, é possível verificar que as cultivares Babá de Verão, Grand Rapids, Laurel, Lídia, Mariane, Raider Plus, Regina 71, Rubete e Salinas 88, logo após a colheita, apresentam germinação inferior a este padrão (Tabela 1). Provavelmente sementes destas

cultivares apresentam dormência primária. É possível verificar que as sementes das cultivares Laurel, Marianne, Rubete e Salinas 88 também não atenderam ao padrão de comercialização com seis meses de armazenamento (Tabela 1).

Conforme Kano et al. (2011), a dormência primária é comum na maioria das cultivares de alface, o que impede ou prejudica a germinação logo após a colheita das sementes. Essa dormência pode ser superada naturalmente após o quarto mês de armazenamento das sementes.

Nas temperaturas de 30 e 35°C houve a termoinibição da germinação das sementes. Foi verificado que ocorreu a embebição, mas a germinação das sementes da maioria das cultivares foi extremamente baixa, causando redução do potencial fisiológico.

O maior incremento foi observado na cultivar Grand Rapids (9%). Ademais, Catão et al. (2018) consideraram a cultivar Grand Rapids como sensível à termoinibição, baseado na redução do potencial fisiológico das sementes e na baixa atividade da enzima endo- β -mananase em temperaturas elevadas.

A maior porcentagem de germinação a 35°C foi verificada em sementes da cultivar Everglades, 73 % e 84 %, logo após a colheita e com seis meses de armazenamento, respectivamente. Almeida et al. (2019), Catão et al. (2018) e Catão et al. (2016) analisaram a germinação da cultivar Everglades a 35 °C e relataram que esta cultivar mesmo sendo tolerante a termoinibição ocorre diminuição da germinação, porém com menor intensidade se comparado a outras cultivares. A cultivar Luiza não diferiu estatisticamente de Everglades (tolerante à termoinibição) quanto ao percentual de germinação a 35°C quando realizado seis meses após o armazenamento (Tabela 1). Porém vale ressaltar que a germinação da cultivar Luiza foi superior quando comparada às demais cultivares sob altas temperaturas. Catão et al. (2016) consideraram que a cultivar Luiza apresenta moderada tolerância à termoinibição sendo recomendado um estudo mais detalhado.

Segundo Braga et al. (2011) e Cruz e Nascimento (2018), o Mapa Auto Organizável de Kohonen (SOM) usando RNA's tem a capacidade de detectar e organizar as semelhanças dos padrões de entrada por meio de aprendizagem competitiva, simulando o córtex cerebral com conexões entre os neurônios mais fortes devido à sua proximidade.

Em conformidade com Cardoso et al. (2021), cores claras apresentam menor distância entre os neurônios o que significa que as características têm mais importância, para a distinção dos grupos. Por outro lado, as cores escuras representam distâncias maiores (Figura 1). Os maiores agrupamentos não foram responsivos às temperaturas de 30-35°C, ou seja, 97% das cultivares, tiveram sua germinação inibida, sendo determinante apenas para os agrupamentos de Everglades, Luiza e Babá de Verão, representadas pelas cores mais claras.

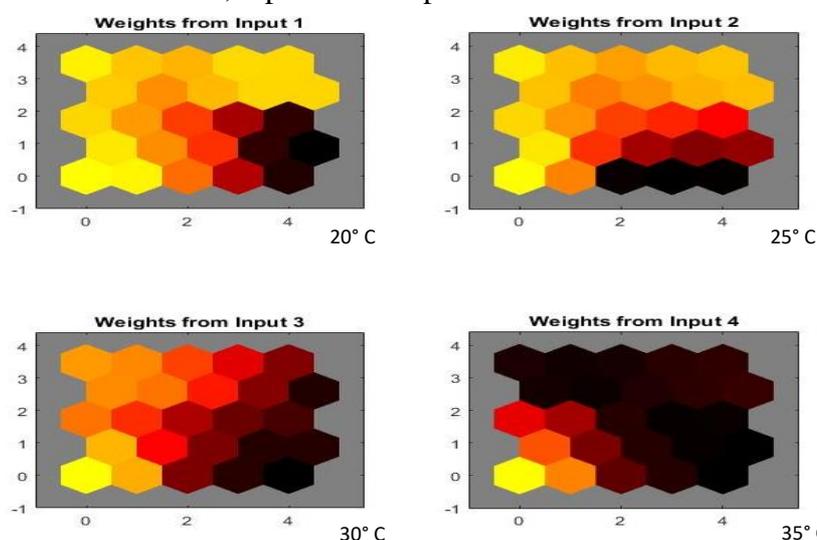


Figura 1 – Número de sementes remanescentes (viáveis e mortas) do teste de germinação de cultivares de alface submetidas a diferentes temperaturas com seis meses de armazenamento.

Altas temperaturas de germinação influenciaram na ativação de cada neurônio definindo os agrupamentos. É possível verificar que as temperaturas 20 e 25°C possuem

correlação entre si por possuírem o mesmo padrão de cores, ou seja, a germinação se comporta de forma similar. De modo generalizado estas são as melhores temperaturas para a germinação de sementes de alface. As sementes da cultivar Everglades foi a única cultivar ativada na temperatura de 35°C, seguido pela cultivar Luiza apresentando tolerância a termoinibição.

As cultivares foram agrupadas aos pares, sendo o par de indivíduos correspondente a germinação após colheita e após seis meses de armazenamento. Com isto, na Figura 2, é possível observar a resposta da germinação em relação ao tempo de armazenamento, sugerindo a presença de dormência primária oriunda de herança materna em 73% das cultivares, pois, a maioria das cultivares não foram alocadas dentro do mesmo agrupamento, nos diferentes tempos.

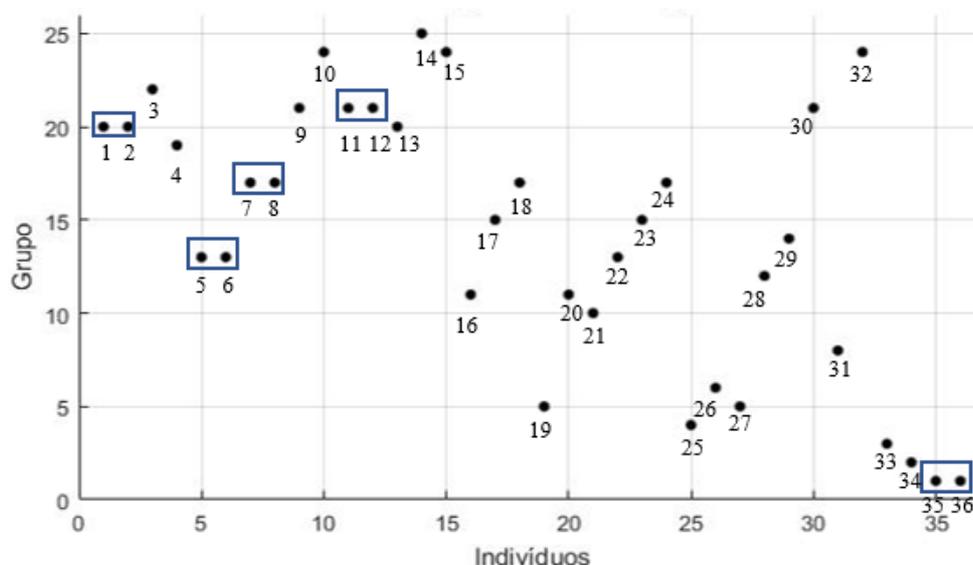


Figura 2. Classificação de cultivares em cada agrupamento pelos SOM. 1₀-2₆ Floresta, 3₀-4₆ Veronica, 5₀-6₆ Salinas 88, 7₀-8₆ Yuri, 9₀-10₆ Hortência, 11₀-12₆ Colorado, 13₀-14₆ Elisa, 15₀-16₆ Regina2000, 17₀-18₆ Laurel, 19₀-20₆ Regina71, 21₀-22₆ Rubete, 23₀-24₆ Marianne, 25₀-26₆ Babá de Verão, 27₀-28₆ Grand Rapids, 29₀-30₆ Raider Plus, 31₀-32₆ Lídia, 33₀-34₆ Luiza e 35₀-36₆ Everglades. Cultivares classificados no mesmo agrupamento independente do tempo: logo após colheita e com seis meses de armazenamento.

As cultivares Floresta, Verônica, Salinas 88, Hortência e Everglades não foram responsivas ao tempo de armazenamento, sugerindo ausência de dormência primária para estas cultivares, nas condições experimentais, resultado que corrobora com Catão et al. (2018) que verificou altas taxas de germinação a 35°C.

4 CONCLUSÕES

O Mapa Auto-Organizador de Kohonen é capaz de detectar diferenças e organizar as semelhanças entre as cultivares de alface, formando um maior grupo que possui sementes termoinibidas, sendo a inteligência computacional eficiente na detecção de dissimilaridades de sementes de alface com termoinibição.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e concessão de bolsa ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. A.; SILVA-MANN, R.; SANTOS, H. O.; PEREIRA, R. W.; BLANK, A. F. Germination temperatures affect the physiological quality of seeds of lettuce cultivars. *Bioscience Journal*, v. 35, n. 4, p. 1143-1152, 2019.
- AQUINO, C. R.; SEABRA JUNIOR, S.; CAMILI, E. C.; DIAMANTE, M. S.; PINTO, E. S. C. Produção e tolerância ao pendoamento de alface-romana em diferentes ambientes. *Revista Ceres*, v. 61, n. 4, p. 558-566, 2014.
- AZEVEDO, A. M.; ANDRADE JÚNIOR, V. C.; CASTRO, B. M. C.; OLIVEIRA, C. M.; PEDROSA, C. E.; DORNAS, M. F. S.; VALADARES, N. R. Parâmetros genéticos e análise de trilha para o florescimento precoce e características agrônômicas da alface. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, n. 2, p. 118-124, 2014.
- BRAGA, A. P.; CARVALHO, A. C. L. F.; LUDEMIR, T.B. *Redes Neurais Artificiais: Teoria e aplicações*. 2th ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011
- BRASIL. *Registro Nacional de Cultivares*. RNC. 2021. Disponível em: http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. 2009. *Regras para análises de sementes*. Brasília, BR: SNDA/ DNDV/CLAV. 398p.
- CATÃO, H. C. R. M.; GOMES, L. A. A.; GUIMARÃES, R. M.; FONSECA, P. H. F.; CAIXETA, F.; MARODIN, J. C. Physiological and isozyme alterations in lettuce seeds under different conditions and storage periods. *Journal of Seed Science*, v. 38, n. 4, p. 305-313, 2016.
- CATÃO, H. C. R. M.; GOMES, L. A. A.; GUIMARÃES, R. M.; FONSECA, P. H. F.; CAIXETA, F.; GALVÃO, A. G. Physiological and biochemical changes in lettuce seeds during storage at different temperatures. *Horticultura Brasileira*, v. 36, n. 1, p. 118-125, 2018.
- CRUZ, C. D.; NASCIMENTO, M. *Inteligência computacional aplicada ao melhoramento genético*. 1th ed. Viçosa: UFV, 2018.
- CRUZ, C. D. Genes Software: extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.
- HU, Z.; ZHAO, Q; WANG, J. The Prediction Model of Cotton Yarn Quality Based on Artificial Recurrent Neural Network. In: ABAWAJY, J.; CHOO, K. K.; ISLAM, R.; XU, Z.; ATIQUZZAMAN, M. International Conference on Applications and Techniques in Cyber Security and Intelligence ATCI 2019. ATCI 2019. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, v. 1017, p. 857-866. Springer, Cham.
- KANO, C.; CARDOSO, A. I. I.; VILLAS BÔAS, R. L.; HIGUTI, A. R. O. Germinação de sementes de alface obtidas de plantas cultivadas com diferentes doses de fósforo. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 32, n. 2, p. 591-598, 2011.
- LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. M. Dormência em sementes de hortaliças. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 28 p. – (*Documentos / Embrapa Hortaliças*; 136).
- NASCIMENTO, W. M; CRODA, M. D.; LOPES, A. C. A. Seed production, physiological quality and identification of thermotolerant lettuce genotypes. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 34, n. 3, p. 510-517, 2012.
- OLIVEIRA, A. C. L.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; LACERDA, W. S.; SILVA, S. Use of mathematical modeling (artificial neural networks) in classification of banana autotetraploid (*Musa acuminata* colla). *Bioscience Journal*, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2013.