CLASSIFICAÇÃO DO CICLO CIRCADIANO DA PLANTA DE SOJA ATRAVÉS DO MONITORIAMENTO DE LONGO PRAZO DO ELECTROMA EM CAMPO

THIAGO FRANCISCO DE CARVALHO OLIVEIRA[1]; RODRIGO TORRES MARQUES[1]; GABRIELA NIEMEYER REISSIG[1]; GUSTAVO MAIA SOUZA[1]

[1]Universidade Federal de Pelotas – fthicar@gmail.com
[1]Universidade Federal de Pelotas – rodrigotorres198@gmail.com
[1]Universidade Federal de Pelotas – gabriela.niemeyer.reissig@gmail.com
[1]Universidade Federal de Pelotas – gumaia.gms@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) se tornou uma das principais culturas agrícolas do mundo, constituindo uma significativa participação na alimentação humana e animal. Porém, a soja, assim como as grandes culturas mundiais, está sujeita a problemas que cada vez mais trazem desafios para os produtores e pesquisadores. Sejam de natureza biótica, como insetos e patógenos, ou de origem abiótica, como seca, salinidade e alagamento, esses problemas são responsáveis por grandes perdas de produtividade, impactando gravemente a biodiversidade, a segurança alimentar, a saúde e o desenvolvimento econômico (POZEBON *et al.*, 2020).

Como uma das formas de tentar sobreviver a estes estresses, as plantas evoluíram de forma a apresentar estruturas modulares. Por serem organismo sésseis, ou seja, incapazes de se afastarem das condições desfavoráveis, as informações locais podem ser transmitidas para diversos módulos e juntos atuarem de forma sistêmica. Para que isso ocorra, uma rede de sinalização de curta e longa distância percebe, processa e responde rapidamente a qualquer estresse. Estes sinais podem ser de natureza hidráulica, química e elétrica. Além de coordenar as respostas planta/ambiente, a sinalização de longa distância também atua na regulação do ciclo circadiano, através de íons como o cálcio, que parecem desempenhar papel importante na sinalização iônica por trás da “cronometragem” (*timekeeping*) circadiana (MARTÍ RUIZ *et al.*, 2018).

Uma forma de sinalização que se pode destacar é via sinais elétricos. Eles provém do desbalanço transiente no potencial de membrana, causado pelo influxo/efluxo de íons e H^+ por canais de íons, transportadores de membrana plasmática e bombas eletrogênicas (CUIN; DREYER; MICHARD, 2018; DE TOLEDO *et al.*, 2019). Em especifico, existem os potenciais de ação (PAs) que só são ativados caso atinja um limiar específico de estímulo; os potenciais de variação (PVs), que geralmente estão ligados a injurias físicas, mas provavelmente sejam eles os potenciais ligados a mudanças na taxa fotossintética e na respiração; os potencias elétricos locais (PELs), que podem surgir de fatores externos, como mudanças de temperatura, umidade do ar, estresse hídrico ou osmótico; além do mais recente descoberto, os potenciais sistêmicos (PSs) que podem percorrer distancias moderadas e serem disparados por estímulos de baixa intensidade, mesmo estímulos fracos que não iniciariam PAs ou PVs podem desencadeá-los.

No entanto, a análise de sinais específicos de potenciais pode ser prejudicada, devido à sobreposição de ondas elétricas que criam uma teia complexa de informações sistêmicas em que vários sinais elétricos podem ser superpostos em camadas no tempo e no espaço. Neste sentido, foi proposto o termo “electroma vegetal”, que se baseia na definição geral de “electroma” de De Loof (2016) (DE

TOLEDO *et al.*, 2019; SARAIVA; FERREIRA; SOUZA, 2016). A caracterização do electroma não é algo trivial e técnicas modernas de classificação de sinais, como as baseadas em aprendizado de máquinas (do inglês *Machine Learning*) (ML), podem auxiliar no entendimento deste complexo fenômeno.

Assim, o objetivo deste trabalho foi coletar séries temporais bioelétricas de plantas de soja cultivadas em condições de campo (sem utilização de uma gaiola de Faraday), através de um sensor bioelétrico prototipado em nosso laboratório, para a obtenção de perfis de eletrofitogramas de diversas plantas simultaneamente, durante todo o ciclo da cultura. Após, definir três características para classificar o sinal elétrico da planta e tornar o aprendizado supervisionado possível: a média das frequências retornada dos cálculos da transformada rápida de Fourier (FFT); o resultado do cálculo da entropia aproximada (ApEn); o resultado do cálculo de Análise de Flutuação Destendenciada (DFA). Com as características do electroma utilizar os modelos de ML para classificação de padrões entre as séries coletadas durante o dia e a noite.

2. METODOLOGIA

As sementes de soja utilizadas foram da cultivar DS 5916 IPRO da Brevant®, com ciclo total de 115 dias e grau de maturação de 5.9. Elas foram semeadas na área experimental da Stoller do Brasil na cidade de Engenheiro Coelho/SP, Brasil (22° 29' 16" S 47° 12' 54" O). O plantio foi realizado em duas parcelas de 120m² (24m X 5m), sendo uma com sistema de irrigação e outra não.

Para aquisição dos sinais elétricos foram utilizados sensores bioelétricos desenvolvidos LACEV-UFPel em parceria com a Stoller do Brasil Ltda. A taxa de captação de sinais de variação de microvoltagem (µV) utilizada no estudo foi de 50 Hz. As medições de séries temporais (ST) foram de aproximadamente 48 h. Foram monitorados 10 eletrofitogramas, distribuídos igualmente nas duas parcelas avaliadas. Os eletrodos foram inseridos na região do hipocótilo, a 5 cm do solo, no estádio V5, permanecendo até o final do ciclo de cultura.

Para analise de ML foram criados grupos a partir das ST obtidas nos dois campos (C1 irrigado e C2 não irrigado). Após, foram usados dados de latitude e longitude dos campos para calcular os horários precisos de pôr-do-sol e nascer-do-sol referentes a exata localização dos campos C1 e C2. Com esses horários foi possível dividir as ST entre dia e noite e, ao final, construir-se os seguintes subgrupos: C1Day, C1Night, C2Day e C2Night.

Com o intuito de aumentar o espaço amostral, e já preparar um modelo de ML apto para um trabalho em campo, cada ST foi subdivida em intervalos de 5 min intercambiáveis, com um atraso de 20%. Para cada amostra foi definida 3 características: A FFT (*Fast Fourier Transform*); A ApEn (*Approximate Entropy*); A análise de DFA (*Detrended Fluctuation Analysis*).

Com o desenvolvimento do espaço amostral concluído, foi seguido os mesmo protocolos de ML e seus respectivos hiperparâmetros e modelos utilizados por Parise et al. (2021) e Reissig *et al.* (2021).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1-A estão os resultados de acurácia (%) obtidos para classificação de todos contra todos para os grupos C1Day, C1Night, C2Day e C2Night. Como esperado, a ML não obteve êxito em classificar o mesmo grupo contra si mesmo. Nos outros casos foi possível classificar todos os grupos, com valores acima de 70

% de acurácia, resultados significativos quando comparados com o Dummy. É válido ressaltar que os valores obtidos pelo C2Night foram os maiores encontrados, obtendo 88 % de acurácia. O Dummy ficou entorno de 50 % em todos os casos (Fig. 1-B), indicando a qualidade da distribuição de dados usados no treinamento e teste da ML.

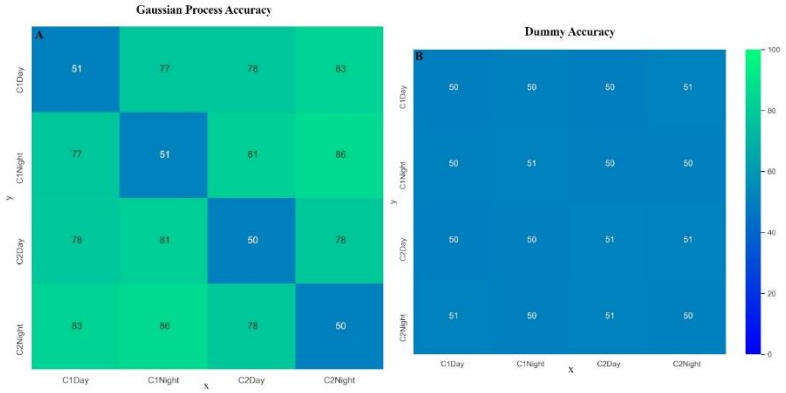

Figura 1 - Na matriz de confusão (A) os maiores valores de acurácia obtidos para classificação de x vs y pelo método *Gaussian Process* para os grupos C1Day, C1Night, C2Day e C2Night. Na matriz de confusão (B) os maiores valores de acurácia obtidos pelo método *Dummy* para x vs y para os grupos C1Day, C1Night, C2Day e C2Night. A escala de cores vai de 0% a 100% de acurácia.

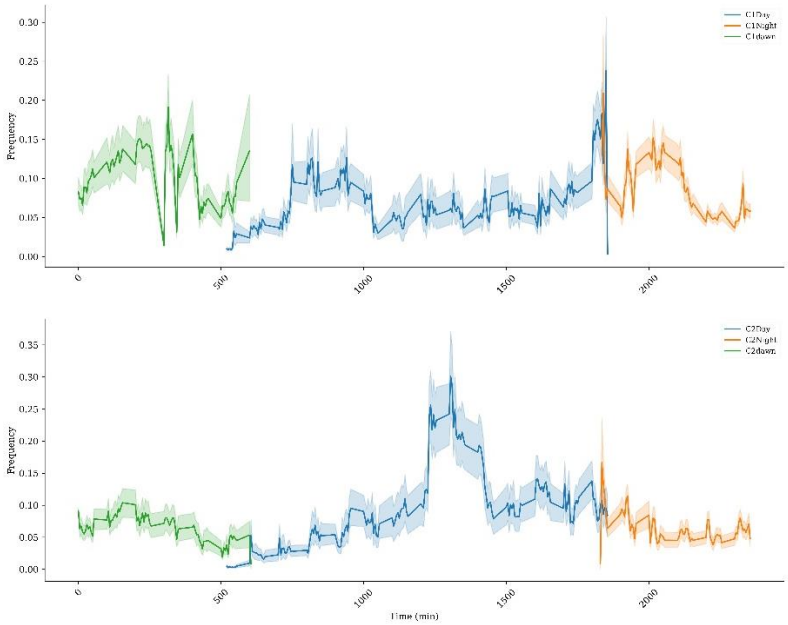

Figura 2 - Feature FFT (frequência) encontrada para os campos C1 e C2 disposta na mesma ordem que a serie temporal de 24 horas.

O ciclo circadiano tem um importante impacto no desenvolvimento e funcionamento das plantas, e estudos mostram como o sinal elétrico possui uma relação com este comportamento fisiológico (MARTÍ RUIZ *et al.*, 2018; TRAN *et al.*, 2019). No presente estudo foi possível diferenciar entre o dia e a noite, com uma acurácia significativa de 83 % para o campo C1 e 78 % para o campo C2, não apenas entre as mesmas plantas, mas também entre as plantas de campos diferentes. Na Fig. 2 podemos ver o comportamento de uma das features utilizadas, a FFT, e como o comportamento dos campos difere entre si, demostrando que o resultado encontrado pela ML está dentro do esperado.

4. CONCLUSÕES

A partir de características quantizáveis (FFT, DFA, ApEn) nas séries temporais eletrofisiológicas medidas nas plantas de soja durante todo o ciclo de cultura, foi possível treinar e testar métodos supervisionados de Machine Learning que foram utilizados para classificar as séries medidas durante o dia e a noite. Mesmo com as medições sendo feitas em campo aberto e sujeitas a ruído e intempéries, foi possível obter resultados satisfatórios utilizando um protótipo para captação de dados, sem a utilização da gaiola de Faraday. Com isto, foi possível demonstrar que as features utilizadas são bons marcadores e que a utilização de tal tecnologia em campo tem um grande potencial para o diagnóstico em tempo real do desenvolvimento de uma cultura agrícola.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUIN, Tracey; DREYER, Ingo; MICHARD, Erwan. The Role of Potassium Channels in Arabidopsis thaliana Long Distance Electrical Signalling: AKT2 Modulates Tissue Excitability While GORK Shapes Action Potentials. **International Journal of Molecular Sciences**, [*s. l.*], v. 19, n. 4, p. 926, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms19040926

DE LOOF, Arnold. The cell's self-generated "electrome": The biophysical essence of the immaterial dimension of Life? **Communicative & Integrative Biology**, [*s. l.*], v. 9, n. 5, p. e1197446, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1080/19420889.2016.1197446

DE TOLEDO, Gabriel R.A. A. *et al.* Plant electrome: the electrical dimension of plant life. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, [*s. l.*], v. 31, n. 1, p. 21–46, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s40626-019-00145-x

MARTÍ RUIZ, María Carmen *et al.* Circadian oscillations of cytosolic free calcium regulate the Arabidopsis circadian clock. **Nature Plants**, [*s. l.*], v. 4, n. 9, p. 690–698, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41477-018-0224-8

PARISE, André Geremia *et al.* Detection of Different Hosts From a Distance Alters the Behaviour and Bioelectrical Activity of Cuscuta racemosa. **Frontiers in Plant Science**, [*s. l.*], v. 12, n. March, p. 1–21, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fpls.2021.594195

POZEBON, Henrique *et al.* Arthropod Invasions Versus Soybean Production in Brazil: A Review. **Journal of Economic Entomology**, [*s. l.*], v. 113, n. 4, p. 1591–1608, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1093/jee/toaa108

REISSIG, Gabriela Niemeyer *et al.* FRUIT HERBIVORY ALTERS PLANT ELECTROME: EVIDENCE FOR FRUIT-SHOOT LONG-DISTANCE ELECTRICAL SIGNALING IN TOMATO PLANTS. **Front. Sustain. Food Syst.**, [*s. l.*], 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.657401

SARAIVA, G F R; FERREIRA, A S; SOUZA, G M. Beyond {APs} and {VPs}: evidences of chaos and self-organized criticality in electrical signals in plants. [*s. l.*], 2016. Disponível em: http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/064790

TRAN, Daniel *et al.* Electrophysiological assessment of plant status outside a Faraday cage using supervised machine learning. **Scientific Reports**, [*s. l.*], v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-019-53675-4