

ABORDAGEM DIY PARA DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTOS DE ELETROFISIOLOGIA EM PLANTAS

LUIZ GUSTAVO SCHULTZ SENKO¹; ERNANE JOSÉ XAVIER DA COSTA²;
GUSTAVO MAIA SOUZA³

¹*Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica –*
luiz_gustavo_schultz@hotmail.com

² *Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, LAFAC -*
ernane@usp.br

³*Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica –*
gumaia.gms@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Estudos recentes têm demonstrado e caracterizado funções da sinalização elétrica em plantas associadas a diferentes estados fisiológicos em resposta a estímulos ambientais (Gallé et al., 2015). A sinalização elétrica é uma das maneiras mais efetivas para integrar respostas em longas distâncias, compartilhando a informação local pelos módulos da planta (Gallé et al, 2015; Souza et al., 2017). Equipamentos para captura de sinais elétricos são essenciais na rotina de laboratórios de eletrofisiologia. Normalmente estes equipamentos são caros e obtidos sob encomenda, o que dificulta a aquisição. Além disso maioria de eletrofisiologistas de plantas atualmente são fadados a usar equipamentos desenvolvidos para estudos em animais, visto que equipamentos voltados para estudos em plantas não são comuns no mercado. Estes equipamentos normalmente não são portáteis ou não são resilientes o suficiente para estudos a campo, sendo que alguns ainda são operados conectados a rede elétrica sem possibilidade de uso de baterias.

O Objetivo principal deste projeto é auxiliar a construção de amplificadores de sinais para captação de sinais bioelétricos em plantas, com componentes de fácil aquisição, para pesquisa em eletrofisiologia vegetal e outras pessoas interessadas, mostrando resultados obtidos com um protótipo seguindo estes preceitos.

2. METODOLOGIA

Sabendo-se que a sinalização bioelétrica das plantas são compostos de sinais fracos na ordem de micro volts (uV) e analógicos (variação de potencial elétrico), precisamos convertê-lo para sinal digital para que possamos fazer análises computacionais nos dados futuramente. Independente da técnica usada, passos como: Captura de dados, amplificação, conversão analógica-digital e alguma interface de comunicação com o computador são requeridos. Sendo assim, diferenciando as técnicas de captura de sinais bioelétricos pela interface com a planta.

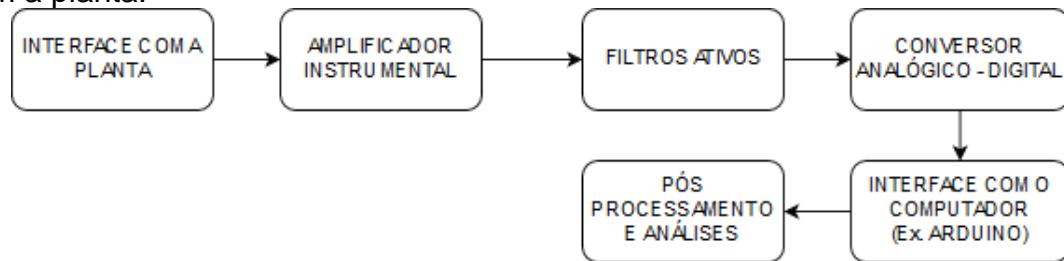


Figura 1. Fluxograma de captura e análises de sinais bioelétricos.

Na maioria dos casos um amplificador instrumental com alta CMRR (Rejeição em Modo Comum) é utilizado. Na maioria das técnicas é usado um eletrodo para captação do sinal e outro para a referência, isso permite colocar um eletrodo na terra e medir a diferença entre a terra e a planta, ou colocar vários eletrodos em uma só planta e capturar a sinalização bioelétrica em cada ponto, mostrando a direção do sinal e a amplitude do mesmo pelo percurso. CMRR é a métrica utilizada para quantificar a habilidade de um amplificador instrumental em bloquear o sinal presente nos dois eletrodos de entrada e amplificar a diferença, assim reduzindo o ruído ambiental, o qual atua sobre os dois eletrodos de entrada. Em nossos testes, usamos o AD623 (Analog Devices), por poder ser operado apenas com uma voltagem positiva, ao contrário do INA128 (Texas Instruments) e do AD620 (Analog Devices) que necessitam de uma voltagem positiva e uma voltagem negativa para operarem. Isso nos permite ligar o circuito com uma bateria de lítio 3.7V de alta capacidade sem problemas. Nesta fase é possível colocar algum ganho no sinal com apenas um resistor.

O sinal captado ainda contém ruídos que podem ser filtrados por filtros ativos antes da etapa de conversão analógica-digital, melhorando a qualidade do sinal futuro e diminuindo o poder de processamento necessário para a filtragem digital. Aqui dentre as muitas topologias usamos a *Butterworth*, por não possuir efeito *ripple*, a qual interferiria em análises de séries temporais que utilizam Transformada Rápida de Fourier considerando a amplitude dos sinais em cada banda de frequência. Composto de 2 resistores, 2 capacitores e um amplificador operacional é de fácil construção, utilizamos o TL072 (Texas Instruments). Nossos testes demonstraram que a maior atividade bioelétrica se encontra na faixa de 0.1 Hz a 20Hz, então utilizamos somente um filtro *Low-pass* de segunda ordem com a frequência de corte em 30Hz, para ter um intervalo de segurança em relação ao 20Hz ao mesmo tempo que atenua muito as principais frequências interferenciais (50Hz e 60Hz). Nesta fase é possível colocar algum ganho no sinal com o uso de dois resistores.

O sinal após filtrado passa por um conversor analógico-digital (ADC), que converte a variação de voltagem obtida pelo amplificador instrumental em valores digitais, necessários para posterior análises computacionais. Um ADC tem dois parâmetros principais: Resolução e a taxa de amostragem (SPS). A resolução em bits, podemos descrever como “Escada de intervalos de valores analógicos, onde cada degrau é um *byte*”, quanto maior a resolução, menor é esse intervalo, possibilitando criar um equipamento que necessite de menos ganho na entrada. A taxa de amostragem é a velocidade de conversão dos valores analógicos para os digitais. Como nosso interesse são os sinais até 30Hz, qualquer valor maior que 60 amostras por segundo funcionaria, valor este provindo do Teorema da amostragem de Shannon mostra que um sinal analógico, limitado em banda, que foi amostrado, pode ser perfeitamente recuperado a partir de uma sequência infinita de amostras, se a taxa de amostragem for maior que duas vezes a frequência de amostragem. Esta fase pode ser desenvolvida com uma placa Arduino qualquer, com seus 10Bits de resolução, mas nós usamos um ADS1115 (Texas Instruments) com 16bits e uma taxa de amostragem teórica de 860 SPS, mas no laboratório o máximo conseguido foi 440 SPS sem causar erros no FFT. Após capturado os dados, a comunicação com o computador feita via uma placa Arduino, e comunicação serial via USB, mas poderia ser feita também com transmissores de rádio ou via conexão WIFI.

Após conseguir estabelecer a comunicação com o computador, a etapa de pós processamento e análise poderá ser feita com o software que desejar.

Utilizamos para isso um algoritmo feito por nós na linguagem Python com as bibliotecas: Matplotlib (para plotar os gráficos), Scipy (para análises de Processamento digital de sinais), Numpy (para análises numéricas)(MILLMAN; AIVAZIS, 2011; OLIPHANT, 2007) e ObsPy (é uma biblioteca voltada para sismografia, com várias funções gráficas interessantes, nela que fizemos as Wavelets) (BEYREUTHER et al., 2010).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando estas recomendações construímos um protótipo que ao ser comprado com um equipamento comercial (BIOPAC MP36), se mostrou superior nos quesitos: qualidade de sinal, mobilidade, modularidade e resistência eletromagnética.

O Equipamento comercial pesa aproximadamente 2Kg, enquanto nosso protótipo pesa menos de 150g. O equipamento comercial opera conectado à rede de energia AC, o nosso protótipo pode operar desde pilhas e baterias á carregamento solar e capacitores. O equipamento comercial não permite modularidade, nosso protótipo permite inclusão de novos canais e outros sensores, viabilizando a correlação da sinalização elétrica com fatores ambientais diversos de forma fácil. O equipamento comercial em questão necessita de uma gaiola de Faraday para realizar a captura de dados sem interferências da rede elétrica (60Hz), mesmo usando os filtros digitais incluídos em seu software. Nossa protótipo mesmo utilizando tecnologia de montagem defasada (Through-hole) e com vários cabos expostos atuando como antenas, conseguiu captar dados com baixíssima interferência da rede elétrica (60Hz), ficando próximo do *baseline* do ruído de fundo, com distribuição aleatória, sendo assim não necessitando o uso de uma gaiola de Faraday, sendo muito interessante para a captura de sinais de plantas de médio porte como a cana-de-açúcar ou medidas a campo.

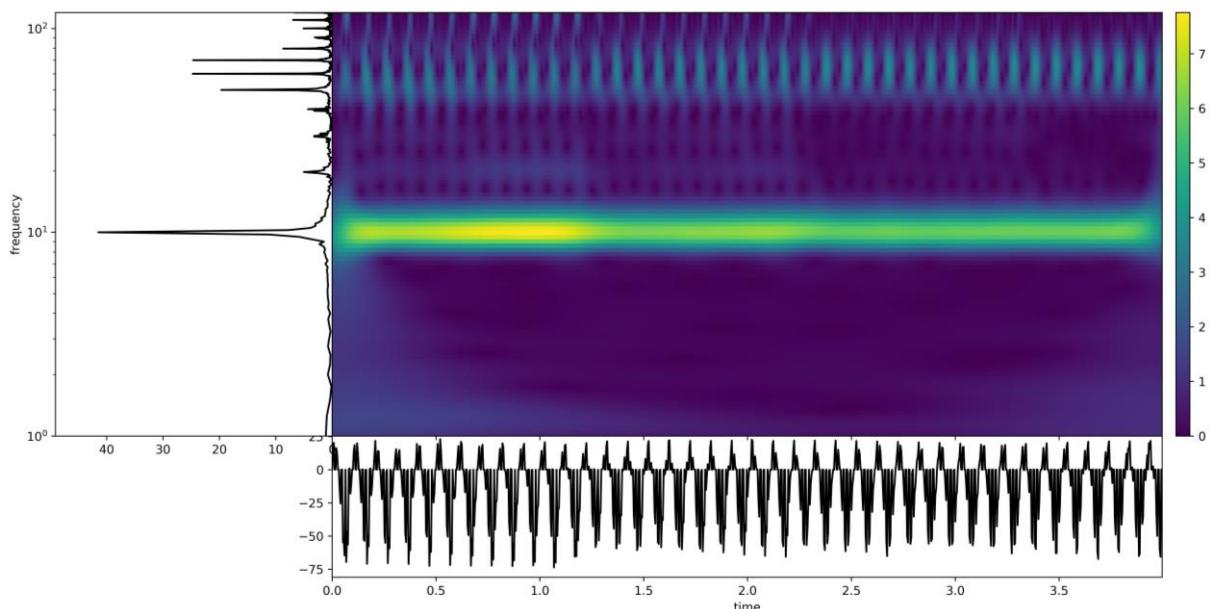


Figura 2. Wavelet da captura do equipamento comercial BIOPAC MP36.
Equipamento conectado a um gerador de frequência configurado para 10Hz.
Grande interferência de 60Hz e interação entre frequências harmônicas durante
toda a série temporal.

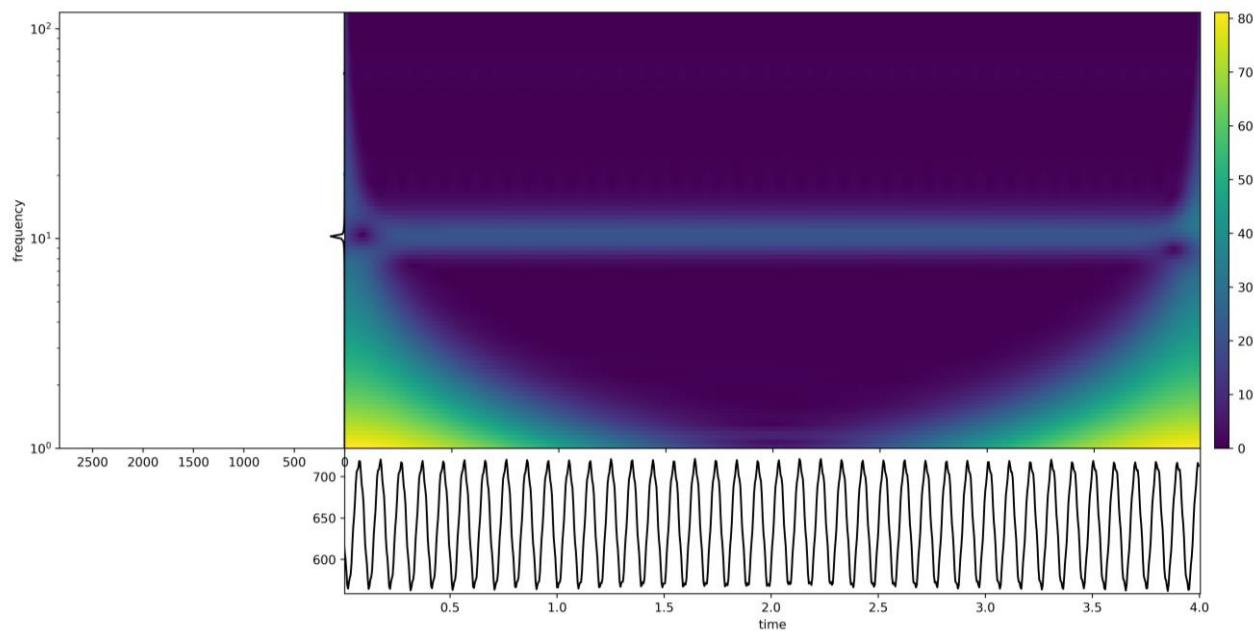


Figura 3. Wavelet da captura do nosso protótipo. Equipamento conectado a um gerador de frequência configurado para 10Hz.

4. CONCLUSÕES

Utilizando estas recomendações dadas neste resumo conseguimos montar um protótipo com o custo total de material próximo a R\$ 60,00 (com a cotação do dólar a R\$4,15), muito inferior ao custo do equipamento comercial BIOPAC MP36 que custa aproximadamente R\$30.000,00, ao mesmo tempo que teve superior performance e vantagens em vários quesitos.

A possibilidade de utilização de protocolos customizados e a modularidade dada pela técnica “*do it yourself*”, abre novas possibilidades de experimentos e estudos nas relações planta – ambiente, ao mesmo tempo facilita a inclusão de novos cientistas a esta área de pesquisa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GALLÉ, A., LAUTNER, S., FLEXAS, J., FROMM, J. Environmental stimuli and physiological responses: The current view on electrical signaling. *Environmental and Experimental Botany*. v.114, p.15-21, 2015.
- SOUZA, G.M., SILVA, A.F., SARAIVA, G.F.R., TOLEDO, G.R.A. Plant “electrome” can be pushed toward a self-organized critical state by external cues: evidences from a study with soybean seedlings subject to different environmental conditions. *Plant Signaling and Behavior*. v. 12, e1290040, 2017.
- BEYREUTHER, M. et al. ObsPy: A Python Toolbox for Seismology. *Seismological Research Letters*, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 530–533, 2010.
- MILLMAN, K. J.; AIVAZIS, M. Python for Scientists and Engineers. *Computing in Science & Engineering*, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 9–12, 2011.
- OLIPHANT, T. E. Python for Scientific Computing. *Computing in Science & Engineering*, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 10–20, 2007.