

Espectrorradiometria para detecção de alterações na assinatura espectral de folhas de videiras por doenças de causa fúngica e viral

Amanda Heemann Junges¹
Marcus André Kurtz Almança²
Jorge Ricardo Ducati³
Cristian Scalvi Lampugnani¹

¹Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – FEPAGRO
Caixa Postal 44 - 95330-000 - Veranópolis - RS, Brasil
amanda-junges@fepagro.rs.gov.br, CsL7516@hotmail.com

²Instituto Federal do Rio Grande do Sul – IFRS *Campus* Bento Gonçalves
Av. Osvaldo Aranha 540 - 95700-206 - Bento Gonçalves - RS, Brasil
marcus.almanca@bento.ifrs.edu.br

³Centro Estadual de Pesquisa em Sensoriamento Remoto e Meteorologia, Universidade
Federal do Rio Grande do Sul – CEPARM/UFRGS
Av. Bento Gonçalves 9500 - 91501-970 - Porto Alegre - RS, Brasil
ducati@if.ufrgs.br

Abstract. Considering the causal agents of grapevine decline and death in vineyards, we can highlight the Grapevine Trunk Diseases, such as the Esca fungal complex and the *Grapevine leafroll-associated virus* (GLRaV). The identification and quantification of changes in leaf spectral signature by remote sensing can improve the vineyard diseases diagnosis. The aim of this study was to characterize the spectral features of vine leaves by spectroradiometry, to detect changes due to the occurrence of Esca fungal complex and the *Grapevine leafroll-associated virus*. For this, grapevine leaves were collected in May, 2015 and May, 2016 in a 'Merlot' vineyard located in Veranópolis, Rio Grande do Sul, Brazil. The reflectance measurements were performed using a spectroradiometer in 350 to 2500 nm wavelengths. The treatments consisted of asymptomatic leaves (1), (2) leaves with symptoms of GLRaV and leaves with initial (3) and final (4) symptoms of the Esca fungal complex. The results indicated that the spectral reflectance of vine leaves with GLRaV and Esca symptoms were distinct from the asymptomatic leaves spectral reflectance. There were increase of reflectance at wavelengths near 700 nm, that indicated reduction in leaf chlorophyll concentration and photosynthetic activity due to the pathogens. Leaves with GLRaV symptoms showed spectral changes at wavelengths near to 550 nm, that can be used to discriminate this disease.

Palavras-chave: *Vitis vinifera*, doenças de tronco da videira, Esca, vírus do enrolamento da folha da videira, *Vitis vinifera*, grapevine trunk diseases, Esca, *Grapevine leafroll-associated virus*.

1. Introdução

A viticultura é a principal atividade agrícola desenvolvida nos municípios localizados na Encosta Superior da Serra do Nordeste, região conhecida como Serra Gaúcha, maior e mais importante pólo vitivinícola brasileiro (Protas e Camargo, 2011). A região é responsável por 85% da produção nacional de vinhos (IBRAVIN, 2016) e é onde estão localizadas as áreas certificadas de produção de vinhos do País. A implantação da Indicação de Procedência (IP) Vale dos Vinhedos e sua recente elevação à Denominação de Origem (DO) fez surgir uma viticultura focada, principalmente, na produção de uvas de cultivares *Vitis vinifera* para elaboração de vinhos finos de qualidade (Protas e Camargo, 2011). Atualmente, um dos maiores entraves para produção de uvas de alta qualidade são as doenças relacionadas ao declínio e morte precoce de vinhedos, causadas por um complexo de agentes causais e frequentemente associadas a doenças fúngicas e virais.

Em levantamento realizado na região da Serra Gaúcha, Garrido et al. (2004) constataram que 66% das amostras de videiras apresentavam pelo menos um fungo causador de doenças associados aos sintomas de declínio e morte de plantas, as quais representam um problema para viticultura devido à gravidade e prejuízos. Dentre as doenças causadas por fungos podemos citar a doença de Petri, causada por *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp., que ocorre em plantas jovens (até 5 anos); o do complexo Esca, causada por *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp. e *Fomitiporia* spp., que ocorre em plantas velhas (acima de 5 anos); a podridão descendente, causada por *Botryosphaeria* spp. e outros fungos da família *Botryosphaeriaceae* e o Pé preto (*Cylindrocarpon* spp.). Descritas na maioria das áreas de produção de uvas do mundo, os fungos parasitam o tecido lenhoso das raízes ou do colo e desencadeiam infecções e podridões que comprometem ou impedem a sobrevivência da planta (Cavalcanti et al., 2013; Almança et al., 2014). Uma característica importante relacionada a essas doenças diz respeito a dificuldade de monitoramento das plantas infectadas, dado que sintomas, especialmente os do complexo Esca, podem não ocorrer todos os anos nas mesmas plantas (Fontaine et al., 2016).

Para cultura da videira, além de doenças fúngicas, merecem destaque aquelas causadas por vírus, especialmente o complexo de vírus do enrolamento da folha da videira (*Grapevine leafroll-associated virus*), que, em virtude de perdas produtivas de até 60%, é considerada a mais importante doença viral em videiras no mundo (Naidu et al., 2009). Os efeitos negativos da infecção viral em videiras consistem em redução do potencial fotossintético, maturação irregular e incompleta da uva, enfraquecimento e atraso das brotações, redução da longevidade e declínio das plantas infectadas (Giribaldi et al., 2011).

Dada importância cada vez maior que as doenças causadoras de declínio e morte de plantas têm obtido no contexto da produção de uvas na região da Serra Gaúcha, bem como da importância social e econômica da cultura para o Estado e para o País, torna-se fundamental a caracterização e identificação precoce de plantas afetadas. Nesse sentido, o sensoriamento remoto é uma importante tecnologia para identificação de alterações causadas por estresses, dado que, em plantas submetidas à ocorrência de doenças, as modificações no processo fotossintético ou nas estruturas celulares dos tecidos vegetais, alteram a interação da vegetação com a energia eletromagnética e, conseqüentemente, a reflectância de folhas ou dosséis (Prabhakar et al., 2012). A análise da resposta espectral obtida por espectrorradiometria, ao caracterizar a reflectância da vegetação em um amplo intervalo de comprimentos de onda, permite detectar sutis diferenças na fisiologia da planta decorrentes de doenças ou outros fatores causadores de estresse.

Para cultura da videira, Naidu et al. (2009) verificaram diferenças de reflectância em folhas de videiras ‘Merlot’ e ‘Cabernet Sauvignon’, com e sem presença do complexo de vírus do enrolamento foliar, nos comprimentos de onda verde (550 nm) e infravermelho próximo (900 nm) e médio (1600 e 2200 nm). Incrementos de reflectância nos comprimentos de onda do verde e do vermelho, bem como decréscimo no infravermelho próximo (740 nm), foram associados a classes de severidade do fungo *Plasmopara viticola* em folhas de ‘Cabernet Franc’ (Calcante et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o comportamento espectral de folhas de videiras por espectrorradiometria, para detecção de alterações decorrentes da ocorrência de doenças relacionadas ao declínio e morte de plantas (complexo Esca e virose do enrolamento).

2. Metodologia de Trabalho

Foram realizadas em laboratório medições de reflectância espectral de folhas de videiras coletadas em vinhedo da cultivar ‘Merlot’, conduzido em sistema espaldeira e localizado em Veranópolis, Rio Grande do Sul, Brasil. As medidas de reflectância (350 nm a 2500 nm) foram realizadas com espectrorradiômetro portátil (FieldSpec Pro FR) no laboratório do

Centro Estadual de Pesquisa em Sensoriamento Remoto e Meteorologia (CEPSRM/UFRGS). As amostras corresponderam a cinco folhas por tratamento, coletadas em maio de 2015 e maio de 2016, no final do ciclo vegetativo das safras 2014/2015 e 2015/2016. Os tratamentos consistiram em folhas (1) assintomáticas (sem sintomas), (2) folhas com sintomas de complexo de vírus do enrolamento foliar e folhas com sintomas iniciais (3) e finais (4) do complexo Esca (Figura 1).

A identificação das folhas foi por diagnose visual de acordo com a sintomatologia descrita em literatura. Nesse sentido, folhas com sintomas de complexo de vírus do enrolamento foliar apresentam enrolamento dos bordos para baixo, limbo foliar com coloração vermelha-violácea e nervuras principais na cor verde (Figura 1B) (Sônego et al., 2005). Plantas afetadas pelo complexo Esca apresentam folhas com cloroses ou necroses intervenais e descoloração avermelhada/arroxeadada circundada por descoloração amarelada, característico do sintoma padrão de “listras tigradas” (Figura 1D). Também podem ocorrer necroses das extremidades da folha (Letousey et al., 2010, Di Gennaro et al., 2016). Por sua vez, os sintomas iniciais do complexo Esca são caracterizados por discreto amarelecimento da folha e início da descoloração entre nervuras (Figura 1C).

Com o espectrorradiômetro foram realizadas três medidas em duas porções da face adaxial de cada uma das folhas, com auxílio do leitor *leaf clip*. A média das seis medidas por folha foi empregada na obtenção de perfis espectrais médios normalizados para cada tratamento e data de coleta.

Para identificação de alterações no comportamento espectral de folhas de videira foram estabelecidos os perfis-diferença por meio da subtração dos espectros de reflectância médio de folhas com sintomas das doenças analisadas em relação ao espectro médio das folhas assintomáticas.

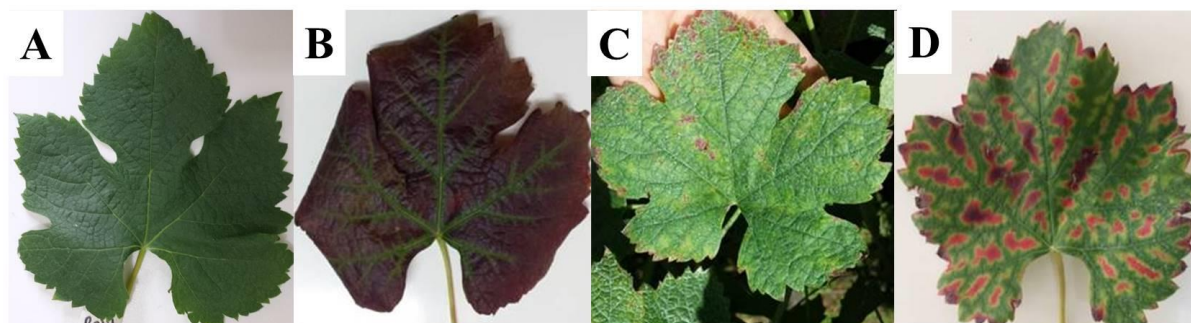


Figura 1. Exemplos de folhas de videira (A) assintomáticas, (B) com sintomas de vírus do enrolamento foliar (*Grapevine leafroll-associated virus*), com sintomas iniciais (C) e finais (D) do complexo Esca, coletadas em vinhedo da cultivar ‘Merlot’ na região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil. Veranópolis, 2016.

3. Resultados e Discussão

Os resultados indicaram que os espectros de reflectância de folhas com sintomas de doenças relacionadas ao declínio e morte de plantas em vinhedos foram distintos dos perfis de folhas assintomáticas, especialmente nos comprimentos de onda da luz visível e no infravermelho próximo (Figura 2). Folhas assintomáticas de ‘Merlot’ apresentaram curva espectral típica de vegetação verde: bandas de absorção da radiação eletromagnética pelas clorofilas no azul (450 nm) e vermelho (650 nm), pico de refletância no verde (550 nm) e maiores valores de reflectância, comparativamente aos da luz visível, na porção do espectro referente ao infravermelho próximo (900 nm) (Jensen, 2009).

Folhas com sintomas de doenças apresentaram alteração de reflectância nos comprimentos de onda do verde e do vermelho (Figura 2). No caso do complexo Esca, foi

verificado aumento dos valores de reflectância no verde e no vermelho, tanto em folhas com sintomas iniciais quanto nas com sintomas finais, indicando redução da absorção da energia eletromagnética pelas clorofilas. Esse comportamento espectral indica alteração na atividade fotossintética da folha causada pela presença dos fitopatógenos ou de toxinas produzidas por estes fungos (Fontaine et al., 2016). Folhas com sintomas finais de doença de tronco não apresentaram o pico de reflectância no verde, resultado esperado em virtude do aspecto visual dessas folhas apresentarem o sintoma padrão de listras tigradas, caracterizado pela descoloração avermelhada/arroxeadada circundada por descoloração amarelada (Letousey et al., 2010; Di Gennaro et al., 2016). Folhas com sintomas de vírus do enrolamento foliar caracterizaram-se pelos menores valores de reflectância na luz visível, comparativamente as demais folhas analisadas, e ausência do pico de reflectância no verde típico de folhas assintomáticas.

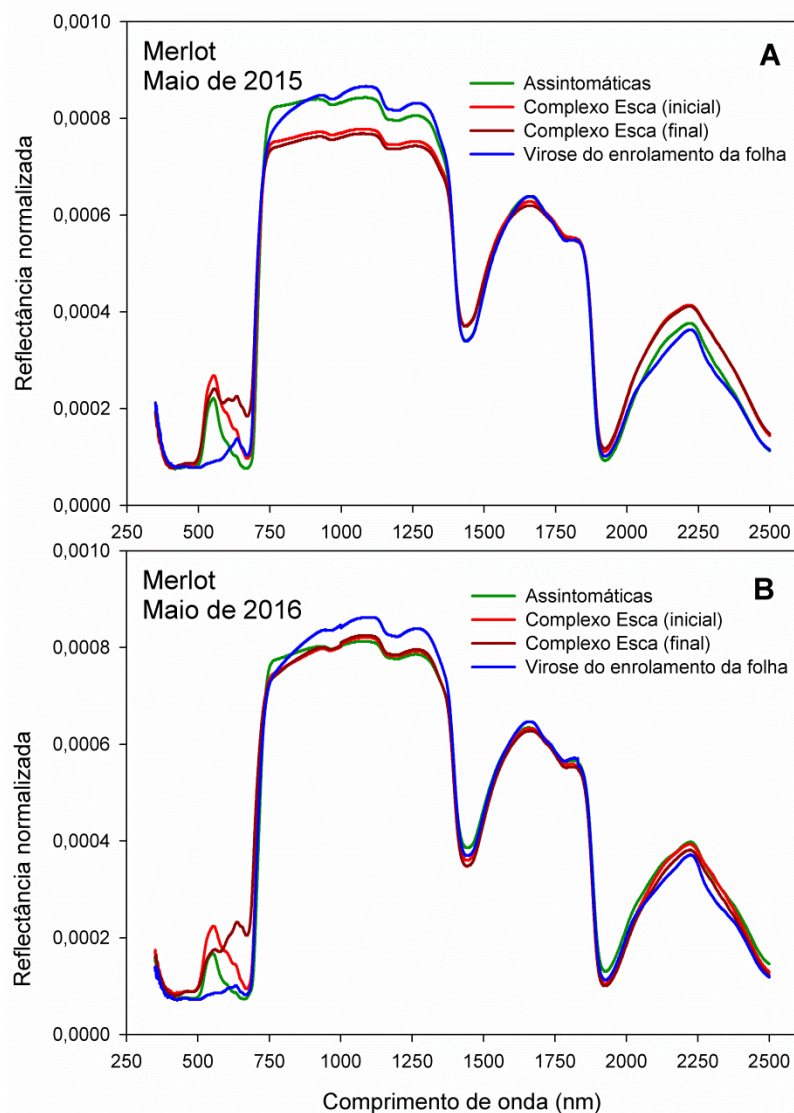


Figura 2. Reflectância espectral de folhas de videira assintomáticas, com sintomas de virose do enrolamento foliar, com sintomas iniciais e finais do complexo Esca, coletadas em maio de 2015 (A) e maio de 2016 (B) em vinhedo da cultivar ‘Merlot’ na região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil. Veranópolis, 2016.

As folhas com sintomas das doenças analisadas caracterizaram-se pelo aumento de reflectância em comprimentos de onda próximos a 700 nm, comparativamente as folhas

assintomáticas, de maneira que os espectros diferença mostraram sempre uma relação negativa nessa faixa de comprimento de onda (Figura 3). Maiores valores de reflectância nas proximidades de 700 nm estão associados a menor concentração de clorofila, concordando com Carter e Knapp (2001) que indicaram que as propriedades espectrais da vegetação em comprimentos de onda próximos a 700 nm podem ser empregados em estimativas de clorofila foliar e na detecção de estresses em plantas. Os resultados desse trabalho indicaram que, tanto a virose do enrolamento foliar (*Grapevine leafroll associated vírus*) quanto fungos do complexo Esca, promovem alteração na assinatura espectral de folhas de videiras. Nesse sentido, comprimentos de onda próximos aos 700 nm, embora não tenham discriminado as doenças entre si, podem ser empregados na discriminação espectral de videiras com e sem sintomas de doenças relacionadas ao declínio e morte de plantas em vinhedos. Esse resultado indica a potencialidade de emprego destes comprimentos de onda no mapeamento de vinhedos por técnicas e ferramentas de sensoriamento remoto com foco na quantificação e monitoramento de áreas afetadas. Além disso, incrementos de reflectância em comprimentos de onda próximos a 700 nm também ocorreram em folhas com sintomas iniciais do complexo Esca, embora com valores menores, indicando a possibilidade de detecção de doenças em estágios precoces e consequente antecipação da utilização de medidas de controle, concordando com Di Gennaro et al. (2016).

A relação entre espectros de reflectância de folhas assintomáticas e de folhas com sintomas de doenças, representada nesse trabalho na forma de espectros diferença, indicou que, além das alterações na assinatura espectral em comprimentos de onda próximos de 700 nm para ambas doenças, folhas com sintomas de virose do enrolamento foliar apresentaram alteração na assinatura espectral em comprimentos de onda próximos a 550 nm, os quais podem vir a ser empregados na identificação e discriminação dessa doença especificamente. Esse resultado está de acordo com Naidu et al. (2009), que verificaram que as maiores diferenças de reflectância em folhas de videiras Merlot e Cabernet Sauvignon com e sem a presença desse complexo viral ocorreram no verde (550 nm) e no vermelho (680), dada a menor absorção da radiação eletromagnética pelas clorofilas em folhas infectadas.

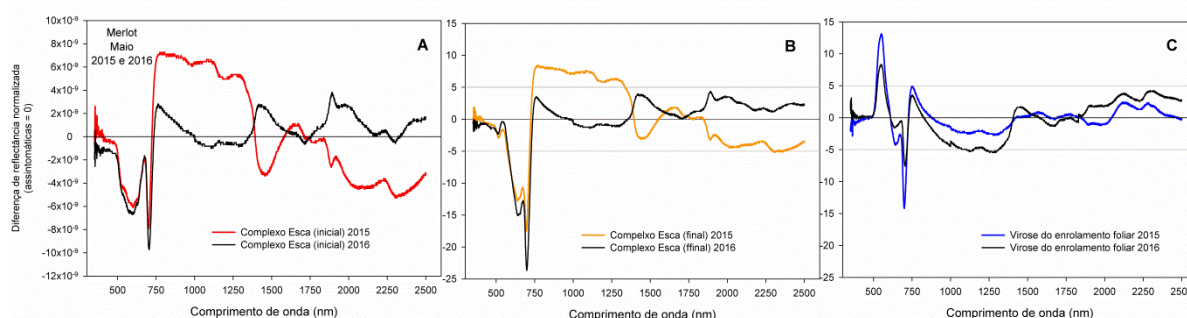


Figura 3. Diferença de reflectância espectral de folhas de videira com sintomas iniciais (A) e finais (B) do complexo Esca e sintomas de virose do enrolamento foliar (C) em relação à reflectância espectral de folhas assintomáticas (eixo y = 0), coletadas em maio de 2015 e maio de 2016 em vinhedo da cultivar ‘Merlot’ na região da Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil. Veranópolis, 2016

Para as folhas assintomáticas, a reflectância é maior na faixa de comprimento de onda do infravermelho próximo (700 a 1300 nm), comparativamente à reflectância do visível, em função da estrutura interna da folha (mesófilo) (Jensen, 2009). Os resultados indicaram alterações na resposta espectral de folhas de videira com sintomas de doenças nos comprimentos de onda do infravermelho, especialmente para folhas com virose do enrolamento foliar (Figura 3C), nas quais houve incremento nos valores de reflectância. Nesse

trabalho, alterações no infravermelho foram verificadas nas assinaturas espectrais de folhas com sintomas iniciais e finais do complexo Esca apenas em 2015, de maneira que mais estudos são necessários para caracterização da resposta espectral de folhas de videiras nessa faixa de comprimento de onda, as quais, possivelmente estejam associadas às alterações estruturais nas folhas causadas pelos fitopatógenos.

4. Conclusões

Os resultados desse trabalho indicaram que doenças associadas ao declínio e morte de plantas em vinhedos, causadas por fungos (complexo Esca) ou vírus (virose do enrolamento foliar), são fatores de estresse e as alterações fisiológicas decorrentes da presença desses fitopatógenos causam alterações no comportamento espectral de folhas de videiras. Nesse sentido, incrementos de reflectância em comprimentos de onda próximos a 700 nm, que podem ser associados à diminuição do teor de clorofila foliar e da atividade fotossintética, ocorrem em ambas doenças analisadas e podem distinguir folhas sintomáticas das assintomáticas. Folhas com sintomas de virose do enrolamento foliar apresentam diminuição de reflectância em comprimentos de onda próximos a 550 nm, indicando potencial de discriminação de plantas ou dosséis nesses comprimentos de onda. Embora com diferença em termos de valores, folhas com sintomas iniciais do complexo Esca apresentaram diferenças de reflectância, em relação a folhas assintomáticas, semelhante à de folhas com sintomas finais, demonstrando que mesmo os estágios iniciais de desenvolvimento da doença promovem alterações estruturais e fisiológicas e podem ser identificadas via espectrorradiometria.

Agradecimentos

À família Marin, proprietária do vinhedo empregado nesse estudo, ao pesquisador da Embrapa Uva e Vinho Thor Vinicius Martins Fajardo pela análise de presença de estirpes de vírus nas amostras e ao CNPq (473398/2013-3) pelo suporte financeiro.

Referências Bibliográficas

- Almança, M.A.K., Rusin, C., Giotto, G. Martineli, G.T., Oliveira, M.R., Cavalcanti, F.R., Halleen, F. Occurrence of *Phaeoconiella chlamydospora* in *Vitis vinifera* and *V. labrusca* vineyards of the Serra Gaúcha region of the Rio Grande do Sul state in Southern Brazil. **Phytopathologia Mediterranea**, v.53, n.3, p. 574, 2014.
- Calcante, A., Mena, A., Mazzetto, F Evaluation of “ground sensing” optical sensors for diagnosis of *Plasmopara viticola* on vines. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 10, p. 619-630, 2012.
- Carter, G.S., Knapp, A.K. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. **American Journal of Botany**, v.88, p. 677-684, 2001.
- Cavalcanti, F.R., Bueno, C.J., Almança, M.A.K. **Declínio e morte de plantas de videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Documentos 82. 2013.
- Di Gennaro, S.F., Battisto, E., Di Marco, S., Facini, O., Matese, A., Nocentini, M., Palliotti, A., Mugnai, L. Unmanned Aerial Vehicle (UAV)-based remote sensing to monitor grapevine leaf stripe disease within a vineyard affected by esca complex. **Phytopathologia Mediterranea**, v.55, n.2, p.262–275, 2016.
- Fontaine F., C. Pinto, J. Vallet, C. Clément, A.C. Gomes and A. Spagnolo. The effects of grapevine trunk diseases (GTDs) on vine physiology. **European Journal of Plant Pathology**, v.144, p. 707-721, 2016.
- Giribaldi, M., Purrotti, M., Pacifico, D., Santini, D., Mannini, F., Caciagli, P., Rolle, L., Cavallarin, L., Giuffrida, M.G.; Marzachi, C. A multidisciplinary study on the effects of phloem limited viruses on the agronomical performance and berry quality of *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. **Journal of Proteomics**, v.75, p.306-315, 2011.

IBRAVIN. **Instituto Brasileiro do Vinho: O Brasil Vitivinícola**. Disponível em: <<http://www.ibravin.org.br>>. Acesso em: 25 out. 2016.

Jensen, J. R. Sensoriamento remoto da vegetação. In: Jensen, J.R., Epiphanyo, J.C.N. (coord.). **Sensoriamento remoto do ambiente: uma perspectiva em recursos terrestres**. São José dos Campos: Editora Parêntese. 2009. cap.11, p. 357-410.

Letousey, P., Baillieul, F., Perrot, G., Rabenoelina, F., Boulay, M., Vaillant-Gaveau, N., Clément, C., Fontaine, F. Early events prior to visual symptoms in the apoplectic form of grapevine esca disease. **Phytopathology**, v.100, n.5, p. 424-431, 2010.

Mello, L.M.R., Machado, C.E., Silva, S.M.R. Dados cadastrais da viticultura do Rio Grande do Sul: 2008 a 2012. In: Mello, L.M.R., Machado, C.E. **Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul: 2008 a 2012**. Brasília: Embrapa, 2013.1CD-ROM.

Naidu, R.A., Perry, E.M., Pierce, F.J., Mekuria, T. The potential of spectral reflectance technique for the detection of *Grapevine leafroll-associated virus* in two red-berried wine grape cultivars. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.66, p.38-45, 2009.

Prabhakar, M., Prasad, Y. G., Rao, M.N. Remote sensing of biotic stress in crop plants and its applications for pest management. In: VENKATESWARLU, B., SHANKER, A. K., SHANKER, C., MAHESWARI, M. (Eds.). **Crop stress and its management: perspectives and strategies**. New York: Springer, 2012. pp. 517-549.

Protas, J.F.S., Camargo, U.A. **Viticultura brasileira: panorama setorial de 2010**. Brasília: SEBRAE, Bento Gonçalves: IBRAVIN: Embrapa Uva e Vinho, 2011.110 p.

SÔNEGO, O.R., GARRIDO, L.R., JÚNIOR, A.G. **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Circular técnica 56. 2005.