



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Programa de Pós-Graduação em Ciências Cartográficas

LETÍCIA ROSIM PORTO

**CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL DA FOLHA DE CITRUS
CONTAMINADA POR HLB BASEADO EM ESPECTROMETRIA DE
CAMPO**

PRESIDENTE PRUDENTE

2021

LETÍCIA ROSIM PORTO

**CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL DA FOLHA DE CITRUS
CONTAMINADA POR HLB BASEADO EM ESPECTROMETRIA DE
CAMPO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cartográficas da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, campus de Presidente Prudente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Cartográficas.

Orientador: Prof. Dr. Nilton Nobuhiro Imai
Coorientadora: Dra. Érika Akemi Saito Moriya.

PRESIDENTE PRUDENTE

2021

P853c Porto, Letícia Rosim
Caracterização espectral da folha de citrus contaminada por HLB
baseado em espectrometria de campo / Letícia Rosim Porto. --
Presidente Prudente, 2021
89 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente
Orientador: Nilton Nobuhiro Imai
Coorientadora: Érika Akemi Saito Moriya

1. Sensoriamento remoto. 2. Agricultura de precisão. 3. Análise
espectral. 4. Dados hiperespectrais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de
Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

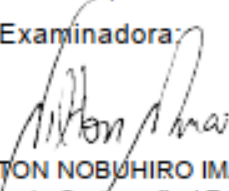
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Caracterização espectral da folha de citrus contaminada por HLB baseado em espectrometria de campo

AUTORA: LETÍCIA ROSIM PORTO

ORIENTADOR: NILTON NOBUHIRO IMAI

COORDINADORA: ERIKA AKEMI SAITO MORIYA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS CARTOGRÁFICAS, área: Aquisição, Análise e Representação de Informações Espaciais pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. NILTON NOBUHIRO IMAI (Participação Virtual)

Departamento de Cartografia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente

VIDEOCONFERÊNCIA

Prof. Dr. LUCAS PRADO OSCO (Participação Virtual)

Faculdade de Engenharias e Arquitetura e Urbanismo / Universidade do Oeste Paulista

VIDEOCONFERÊNCIA

Dra. KELLY PAZOLINI (Participação Virtual)

Departamento de Desenvolvimento de Produto / Lallemand Plant Care Brasil

Presidente Prudente, 13 de maio de 2021

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001 (Processo 88882.433943/2019-01).

Gostaria de agradecer a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita de Mesquita Filho” UNESP (FCT/ UNESP) – Campus Presidente Prudente e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Cartográficas (PPGCC) por todo suporte e infraestrutura para o desenvolvimento dessa pesquisa. Também gostaria de agradecer ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira e a VetorGEO pelo auxílio na realização dos trabalhos de campo.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Nilton Nobuhiro Imai, e a minha coorientadora, Dra. Érika Akemi Saito Moriya, pela orientação e suporte durante o desenvolvimento desse trabalho. Estendo meus agradecimentos aos professores e professoras do PPGCC que, direta ou indiretamente, também contribuíram na realização desse trabalho.

Agradeço também ao grupo de pesquisa SERTIE (Sensoriamento Remoto e Tecnologia de Informação Espacial para Monitoramento Ambiental) pela troca de experiências e conhecimento compartilhado.

Por fim, agradeço imensamente aos amigos e amigas do PPGCC pelo companheirismo, pela troca de experiência, conselhos valiosos e suporte emocional ao longo de todo o mestrado.

“Por um mundo onde sejamos socialmente iguais, humanamente diferentes e totalmente livres.”

Rosa Luxemburgo

RESUMO

O Brasil, como maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo, tem enfrentado dificuldades em combater a doença Huanglongbing (HLB) em seus pomares de citros. São mais de 197 milhões de pés de laranja na região que mais produz no país, o cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro. Atualmente, o combate à doença é realizado por meio de vistorias realizadas por técnicos e se mostra como um método oneroso, demorado e ineficiente. O uso de sensores remotos acoplados em drones pode agregar muito numa detecção precoce de árvores doentes, com um custo-benefício atrativo e de forma ágil, evitando que a doença se dissemine nos pomares. Entretanto, a dificuldade de definir comprimentos de onda eficazes na diferenciação entre HLB e outras doenças ou deficiências nutricionais comuns vem sendo um desafio para o setor. A espectrorradiometria de campo pode contribuir nesse aspecto, com um estudo de observação associado a medidas de reflectância de indivíduos infectados em diferentes níveis de comprometimento. Nesse sentido, o presente estudo visa identificar comprimentos de onda e/ou regiões do espectro eletromagnético que sejam eficientes em distinguir folhas de citros infectadas por HLB e folhas saudáveis ou com sintoma de deficiência nutricional, como zinco. Para isso, foram coletadas medidas de radiometria de diversas folhas em dois pomares de citros localizados no interior do estado de São Paulo. A partir dessas medidas, foram calculados espectros de reflectância para cada classe das amostras (assintomática, HLB, saudável, deficiência de zinco, Hamlin, Natal e Pera). Após aplicar métodos de tratamento e análise de dados espectrorradiométricos, verificou-se que a região do *red-edge*, próximo à 700 nm, é importante na diferenciação de folhas com HLB sintomáticas e folhas saudáveis, porém não é eficiente na diferenciação entre folhas com HLB assintomáticas e folhas saudáveis. Apesar da semelhança na condição de clorose, análises de espectrorradiometria demonstraram que folhas sintomáticas de HLB e folhas com deficiência de zinco diferem espectralmente. As análises também demonstraram que as folhas infectadas das variedades de laranja Hamlin, Natal e Pera são semelhantes espectralmente. Em resumo, o estudo indicou que um mesmo sensor multiespectral pode ser utilizado na detecção de citros com HLB para diferentes variedades, porém plantas que ainda são assintomáticas possivelmente não serão diferenciadas das não infectadas por HLB.

Palavras-chave: Análise Espectral, Greening, Sensoriamento Remoto, Agricultura de Precisão, Dados Hiperespectrais, Huanglongbing (HLB).

ABSTRACT

Brazil, as the world's largest producer and exporter of orange juice, has faced difficulties in fighting the Huanglongbing disease (HLB) in its citrus groves. There are more than 197 million orange trees in the region that produces the most in the country, citrus farms in São Paulo and West-Southwest Minas Gerais. Currently, the fight against the disease is carried out through inspections carried out by technicians and is shown to be an expensive, time-consuming and inefficient method. The use of remote sensors coupled to drones can improve early detection of sick trees, with an attractive cost-benefit and in an agile way, preventing the disease from spreading in orchards. However, the difficulty of defining effective wavelengths to differentiate between HLB and other common diseases or nutritional deficiencies has been a challenge for the industry. Field spectroradiometric measurements can contribute in this respect, with an observational study associated with measures of reflectance of infected individuals at different levels of impairment. In this sense, the present study aims to identify wavelengths and/or regions of the electromagnetic spectrum that are efficient in distinguishing citrus leaves infected with HLB and healthy leaves or those with a symptom of nutritional deficiency, such as zinc. For this purpose, radiometric measurements were collected from several leaves in two citrus orchards located in the interior of the state of São Paulo. From these measurements, reflectance spectra were calculated for each class of samples (asymptomatic, HLB, healthy, zinc deficiency, Hamlin, Natal and Pera). After applying treatment methods and analysis of spectroradiometric data, it was found that the red-edge region, close to 700 nm, is important in differentiating symptomatic HLB leaves from healthy leaves, but it is not efficient in differentiating between HLB leaves asymptomatic and healthy leaves. In addition, despite the similarity in the chlorosis condition, spectroradiometric analyzes demonstrated that symptomatic HLB leaves and zinc-deficient leaves differ spectrally. The analyzes also showed that the infected leaves of the Hamlin, Natal and Pera orange varieties are spectrally similar. In summary, this study indicated that the same multispectral sensor can be used to detect citrus with HLB for different varieties, but plants that are still asymptomatic will possibly not be differentiated from those not infected with HLB.

Keywords: Spectral Analysis, Greening, Remote Sensing, Precision Agriculture, Hyperspectral Data, Huanglongbing (HLB).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Espectro de reflectância, absortância e transmitância de uma folha verde sadia	19
Figura 2 – Espectro de reflectância típico de uma folha verde sadia	21
Figura 3 – Total de árvores de laranja no cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro por região no ano de 2020*	23
Figura 4 – Percentual das árvores de laranja infectadas com <i>greening</i> com incidência de sintomas por setor e região no ano de 2020	25
Figura 5 – Material coletado em campo, da esquerda para a direita: duas folhas e um fruto com HLB, duas folhas com sintomas de ataque de larva minadora e cranco cítrico e uma folha com sintomas de deficiência de zinco	26
Figura 6 – Planta infectada com <i>greening</i> destaque na a) folha; b) ramo com folha e fruto; c) fruto cortado no sentido longitudinal	27
Figura 7 – Média das medidas de reflectância das folhas sadias (-) e contaminadas com HLB (+) com clorose (<i>yellow</i>) e sem clorose (<i>green</i>). a) superfície adaxial da folha (representada pela letra U) e b) superfície abaxial da folha (representada pela letra L)	32
Figura 8 – Parâmetros que podem ser extraídos da banda de absorção	38
Figura 9 – a) feições de absorção e respectivas linhas do contínuo e b) feições com o contínuo removido	39
Figura 10 – a) Espectros de reflectância do milho b) e suas respectivas derivadas de primeira ordem	41
Figura 11 – a) Análise de diferença e b) análise de sensibilidade entre folhas de cana-de-açúcar saudáveis, infectadas por patógenos e em estágio de senescência	43
Figura 12 – Fluxograma dos procedimentos metodológicos	45
Figura 13 – Localização aproximada das áreas de estudo	46
Figura 14 – Espaçamento entre as árvores na a) área 1 e na b) área 2	47
Figura 15 – Tabela para registro do estado fitossanitário das árvores de citros onde foram coletadas folhas para amostragem	48
Figura 16 – a) Espectrorradiômetro FieldSpec® Handheld e b) placa Spectralon® utilizados em campo	49
Figura 17 – Registro fotográfico das folhas amostradas	50
Figura 18 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros	57
Figura 19 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros e seus respectivos desvios-padrão	57

Figura 20 – Espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros	57
Figura 21 - Espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros e seus respectivos desvios-padrão	59
Figura 22 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros	60
Figura 23 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros	61
Figura 24 – Contínuo removido do intervalo 555 – 675 nm.....	63
Figura 25 – Contínuo removido do intervalo 550 – 750 nm.....	64
Figura 26 – Diferença entre os espectros de reflectância das folhas saudáveis e as demais condições fitossanitárias	67
Figura 27 – Diferença entre os espectros de reflectância de folhas assintomáticas e folhas com sintomas de deficiência de zinco	69
Figura 28 – Análise de sensibilidade entre os espectros de reflectância das folhas saudáveis e as demais condições fitossanitárias	70
Figura 29 – Coeficiente de correlação entre folhas saudáveis e folhas com HLB sintomático	71
Figura 30 – Coeficiente de correlação entre folhas saudáveis e folhas com HLB assintomático	72
Figura 31 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das três variedades de citros.....	73
Figura 32 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das três variedades de citros e seus respectivos desvios-padrão	74
Figura 33 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância das três variedades de citros	75
Figura 34 – Comparação entre as três variedades com HLB e saudável.....	77
Figura 35 – Diferença entre os espectros de reflectância de folhas da variedade Pera (área 1 – menos comprometida) e folhas de três variedades de citros (área 2 - mais comprometida).....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Pigmentos foliares e seus respectivos picos de absorção	22
Tabela 2 – Escala de nível de severidade de HLB pela Fundecitrus	29
Tabela 3 – Informações sobre as árvores de citros amostradas em campo	48
Tabela 4 – Parâmetros da feição com o contínuo removido no intervalo 555 – 675 nm	63
Tabela 5 – Parâmetros da feição com o contínuo removido no intervalo 550 – 750 nm	65
Tabela 6 – Posição do <i>red-edge</i> (REP) nos espectros de fator de reflectância da face adaxial	66
Tabela 7 – Posição do <i>red-edge</i> (REP) nos espectros de fator de reflectância da face adaxial considerando o desvio padrão	66
Tabela 8 – Posição do <i>red-edge</i> (REP) nos espectros de fator de reflectância de três variedades de citros	76
Tabela 9 – Posição do <i>red-edge</i> (REP) nos espectros de fator de reflectância de três variedades de citros considerando o desvio padrão	76

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 OBJETIVOS	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 COMPORTAMENTO ESPECTRAL DA VEGETAÇÃO	18
2.1.1 Relação da estrutura foliar e energia eletromagnética.....	18
2.2 SETOR CITRÍCOLA BRASILEIRO E A AMEAÇA DO HLB	23
2.2.1 Citricultura no Brasil.....	23
2.2.2 Huanglongbing (HLB).....	24
2.3 SENSORIAMENTO REMOTO APLICADO À DETECÇÃO DO HLB.....	29
2.4 TRATAMENTO DE DADOS ESPECTRORRADIOMÉTRICOS	33
2.4.1 Remoção do ruído a partir do filtro de média móvel.....	34
2.4.2 Análise de agrupamento	35
2.4.3 Remoção do contínuo.....	36
2.4.4 Análise derivativa	39
2.4.5 Posição do <i>red-edge</i>	41
2.4.6 Análise de diferença e sensibilidade	42
2.4.7 Análise de Correlação.....	44
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1 AQUISIÇÃO DE DADOS ESPECTRAIS E FITOSSANITÁRIOS EM CAMPO...46	
3.2 PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE DOS ESPECTROS DE REFLECTÂNCIA.....	50
3.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DOS EXPERIMENTOS	52
3.3.1 Experimento 1.....	52
3.3.2 Experimento 2.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1 EXPERIMENTO 1	55
4.1.1 Análise dos espectros de reflectância	55
4.1.2 Análise derivativa	60
4.1.3 Remoção do contínuo.....	62
4.1.4 Posição do <i>red-edge</i>	65
4.1.5 Análises de diferença e sensibilidade	66
4.1.6 Análise de correlação.....	71

4.2 EXPERIMENTO 2	73
4.2.1 Análise dos espectros de reflectância	73
4.2.2 Análise derivativa	75
4.2.3 Posição do <i>red-edge</i>	75
4.2.4 Comparação entre os espectros de reflectância de variedades de citros contaminadas por HLB e de citros saudáveis	76
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

1. INTRODUÇÃO

De acordo com *World Summit on Food Security*, no ano de 2050 a população mundial deve aumentar para aproximadamente 10 bilhões de pessoas e, nesse contexto, é importante e desafiador garantir a segurança alimentar para a população mundial. Essa situação se agrava com o surgimento recorrente de epidemias, desastres naturais e mudanças climáticas, intensificando a desigualdade social e crises econômicas. Para suprir tal demanda, com o mínimo de impacto possível, a tendência é garantir o aumento da produção de alimentos sem expansão de área e com a menor degradação ambiental possível, incluindo a diminuição drástica no uso de agroquímicos (FAO, 2017).

Para alcançar este cenário, é imprescindível um grande esforço humano e muito investimento na busca por soluções economicamente viáveis e eficazes. O Brasil, na atual conjuntura, desempenha um papel importante, uma vez que teve uma produção de alimentos estimada em 241,5 milhões de toneladas em 2019 e uma população de 209,5 milhões de habitantes (IBGE, 2020a; IBGE, 2020b). Sendo, no mercado mundial, um grande fornecedor de alimentos, o agronegócio é significativamente importante para a economia brasileira. Em 2019, a soma de bens e serviços gerados no setor chegou a 1,55 trilhão de reais, o equivalente a 21,4% do PIB brasileiro (CEPEA, 2020). No mesmo ano, 43% das exportações brasileiras foram de produtos do agronegócio. Além disso, o Brasil é o país que mais exporta açúcar, café, suco de laranja, soja em grãos e carnes bovina e de frango, sendo, também, o maior produtor de café e suco de laranja (USDA, 2020).

Entretanto, o modelo de produção agrícola brasileiro ainda é demasiado conservacionista e tem um altíssimo consumo de agrotóxicos. Em 2013, o Brasil foi o país que, em números absolutos, mais consumiu agrotóxicos no mundo, segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2020). Nota-se, facilmente, a relevância do setor para o país e a necessidade de novas práticas agrícolas serem adotadas, passando a utilizar tecnologias que viabilizem uma produção de alimentos mais sustentável para o meio ambiente, e justa no âmbito social e econômico.

A agricultura é uma atividade dinâmica e necessita de um monitoramento frequente. Considerando as atuais demandas do setor agrícola, o sensoriamento remoto consiste em uma importante ferramenta de monitoramento espacial e temporal de áreas de cultivo agrícola de maneira não destrutiva. O sensoriamento remoto tem sido aplicado com sucesso em diversas situações dentro desse setor, como no monitoramento de terras agrícolas para a previsão de uma determinada safra, na otimização da produção a curto prazo, no planejamento da irrigação e aplicação de insumos em uma determinada área, entre outras situações (Weiss et al., 2020).

Apesar do agronegócio brasileiro ter destaque na produção de soja, milho, algodão, açúcar e carnes, por exemplo, há uma tendência de diversificação da produção no país, com destaque para a intensificação na produção de frutas. Hoje, o Brasil é o maior produtor de laranja no mundo, porém os citricultores têm enfrentado uma ameaça preocupante, o *greening*, cujo combate tem sido um desafio para as produções de citros e para a ciência (USDA, 2020).

O *greening*, designado também como Huanglongbing (HLB), é uma doença associada as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Liberibacter americanus* e *Candidatus Liberibacter africanus*. No Brasil, atualmente, a principal bactéria associada ao *greening* é a *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Atualmente está presente, na forma sintomática ou assintomática, em 20,87% das laranjeiras na região que mais produz no Brasil: o cinturão citrícola de São Paulo e o triângulo/sudoeste de Minas Gerais. Além disso, é considerada a doença mais destrutiva da citricultura mundial (FUNDECITRUS, 2020a).

Uma vez que não há tratamento para plantas infectadas, os produtores realizam o manejo integrado de seus pomares na tentativa de combater o *greening*. As principais ações de manejo são: planejamento e escolha do local de plantio; plantio de mudas saudáveis e de qualidade (produzidas em viveiros certificados); aceleração do crescimento e da produtividade das plantas (na fase inicial a planta é mais suscetível); manejo intensificado na faixa da borda; inspeção de plantas; erradicação das plantas com sintomas; monitoramento do psílídeo vetor da doença; controle do psílídeo; manejo regional e alerta fitossanitário; e ações externas de

manejo. Essas ações são importantes na manutenção da produção de citros no país.

A detecção do HLB em citros utilizando técnicas de sensoriamento remoto é um tema que vem sendo amplamente explorado, embora seja, ainda, uma questão desafiadora para pesquisadores e profissionais da área de sensoriamento remoto. Diferentes estudos tentam definir comprimentos de onda que possam caracterizar espectralmente os sintomas da doença e, assim, colaborar para a automatização da detecção do HLB, principalmente quando os sintomas não se manifestaram por completo ou quando ocorreram de forma sutil, atingindo poucas folhas da árvore (MISHRA et al., 2011; LI et al., 2012; SANKARAN et al., 2013; DADRASJAVAN et al., 2019; WANG et al., 2019).

A dificuldade na detecção do HLB utilizando sensores remotos resultam do fato de que a reflectância da folha não é influenciada somente pela presença do HLB, mas também por condições de crescimento e de estrutura, além de seus elementos constituintes. Assim, é preciso levar em consideração variações nas características externas da folha, como cor, textura, e, em características internas, como concentração de clorofila, umidade e composição do tecido vegetal (WANG et al., 2019). Além disso, um estudo de Imai et al. (2020) indica que há variações nos valores de reflectância de diferentes copas de citros infectados por HLB. Quando as folhas aparentam pouco comprometimento com a doença, os valores de reflectância na região do visível apresentam aumento, porém, não há alteração na região do infravermelho próximo, possivelmente porque ainda não ocorreu a perda de umidade na folha e/ou mudanças na estrutura celular.

Outro fator importante na detecção de HLB em citros é que os sintomas da doença nas folhas podem ser confundidos com outros processos de estresse, como deficiência de nutrientes e outros tipos de doenças, o que torna o processo de identificação do *greening* complexo e desafiador no sistema de produção. Uma característica da doença que representa desafios no manejo do HLB é o fato de que a bactéria não se distribui de forma homogênea no sistema vascular da planta. Na maioria das vezes, há concentração da bactéria, e dos sintomas, no ramo infectado pelo psíldeo e nas raízes da árvore. Ou seja, apesar da planta já ser um foco de HLB dentro do pomar, ela é de difícil identificação, tanto em inspeções visuais

quanto por sensores remotos (BASSANEZI et al., 2010). Por isso, uma demanda importante do setor é a identificação de folhas assintomáticas, aquelas que estão em uma planta infectada, porém, não apresentam sintomas visíveis a olho humano.

Desse modo, compreende-se que o espectro de reflectância pode ser associado com o estado fitossanitário das folhas infectadas por HLB tanto em folhas sintomáticas quanto assintomáticas. Os espectrorradiômetros medem a reflectância do alvo a poucos metros de distância, ou seja, com pouquíssima interferência da atmosfera, e restringem a área medida ao alvo de interesse, no caso, às folhas de citros. Assim, espera-se que com esse procedimento seja possível estabelecer uma relação entre as variações dos espectros de reflectância e o estado de comprometimento da planta com HLB e, então, determinar os comprimentos de onda adequados para identificar a doença nos pomares de citros comerciais do Brasil. A identificação desses comprimentos de onda é uma etapa fundamental na configuração de sensores específicos para discriminação e detecção do HLB.

1.1 OBJETIVOS

Tendo em vista o contexto apresentado, este estudo tem como objetivo estabelecer uma relação entre as variações do grau de comprometimento de laranjeiras com HLB e as variações nos espectros. Entende-se que isso permitirá, assim, determinar comprimentos de onda adequados para a detecção da doença em campo em situação avançada e, também, precocemente com folhas contaminadas, porém assintomáticas. Para tanto, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Criar uma biblioteca espectral de folhas de citros de diferentes espécies contaminadas com HLB em níveis de comprometimento distintos;
- Relacionar características dos espectros de fator de reflectância de amostras de folhas de citros sintomáticas e assintomáticas às condições fitossanitárias observadas em campo;
- Diferenciar espectralmente folhas sintomáticas com HLB e folhas com sintoma de deficiência de zinco, uma vez que ambas apresentam sintomas de clorose;

- Verificar se há variações nos espectros de diferentes variedades de citros contaminadas por HLB.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 COMPORTAMENTO ESPECTRAL DA VEGETAÇÃO

A vegetação é um dos objetos de estudo do sensoriamento remoto. Desde a década de 1970, com o início dos programas de imageamento por satélite, há interesse em avaliar os recursos florestais e de agricultura no mundo todo. O estudo do comportamento espectral da vegetação visa a compreensão e a representação das propriedades e características de reflectância, de absorvância e de transmitância da radiação eletromagnética (REM) por folhas, por plantas individuais e por conjunto de plantas (PONZONI et al., 2015). Para que se possa melhor compreender o comportamento espectral dos pomares de citros infectados por HLB, é necessário, primeiramente, compreender o comportamento de uma única folha verde sadia.

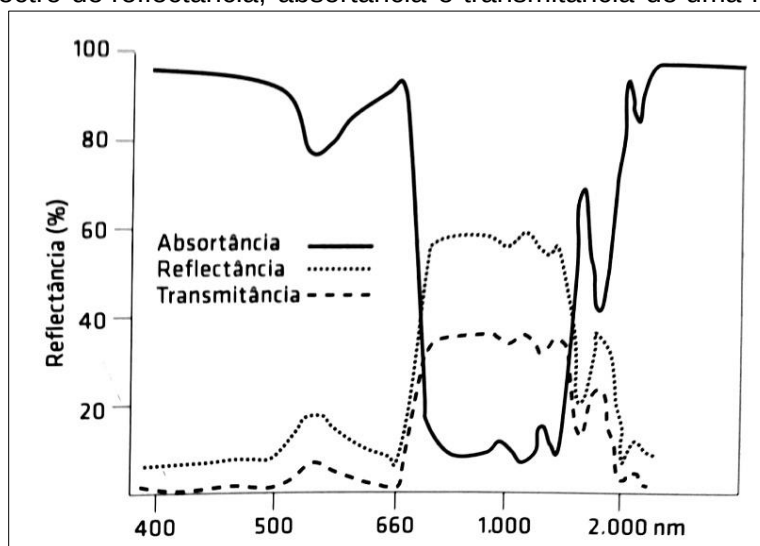
2.1.1 Relação da estrutura foliar e energia eletromagnética

A radiação solar é a fonte primária de energia de muitos processos biológicos que ocorrem nas plantas, sendo que a interação entre a REM do sol e as plantas podem ser dividida em categorias. A primeira se refere aos efeitos termais, já que 70% da radiação solar recebida é convertida em calor e usada para manter a temperatura da planta e para a sua transpiração. Enquanto isso, cerca de 28% da energia é absorvida, a qual é chamada de radiação fotossinteticamente ativa e usada no processo de fotossíntese e na conversão de compostos orgânicos (KUMAR et al., 2001).

A radiação solar que atinge a superfície de uma folha sadia é refletida, absorvida ou transmitida. O quanto e como esses processos ocorrem dependem de algumas variáveis, como o comprimento de onda da radiação, o ângulo de incidência e a diferença nas propriedades ópticas e bioquímicas contidas nas folhas, as quais, por sua vez, são influenciadas pela concentração de clorofila, quantidade de água e estrutura foliar (KUMAR et al., 2001).

A Figura 1 mostra, como essas interações ocorrem em uma folha verde sadia. Observa-se a alta absorptância na região do visível, principalmente no azul e vermelho devido a absorção da radiação solar por pigmentos fotossintetizantes da planta, e pouca reflectância e transmitância em toda região do visível. Além disso, há um pico de reflectância na região do verde e um brusco aumento da reflectância na região do infravermelho próximo e fortes absorções na região do infravermelho de ondas curtas.

Figura 1 – Espectro de reflectância, absorptância e transmitância de uma folha verde sadia



Fonte: Adaptado de Sano et al. (2019).

As folhas possuem numerosas estruturas em seu interior, e os elementos básicos costumam ser os mesmos. Por conseguinte, a variabilidade das propriedades ópticas resultam do arranjo entre as estruturas foliares, dependendo da espécie e das condições ambientais. Uma folha, basicamente, possui três tecidos: epiderme, mesófilo fotossintético e tecido vascular. A epiderme superior costuma refletir pouca REM, pois é revestida por um material translúcido que permite a penetração da REM em direção ao interior da folha (KUMAR et al., 2001; VERDEBOUT; JACQUEMOUD; SCHUMUCK, 1994; SANO et al., 2019).

Abaixo da epiderme, encontra-se o mesófilo fotossintético, que geralmente é dividido em uma ou mais camadas formadas por células paliçádicas, integrantes do tecido vegetal parênquima, onde ficam contidos os cloroplastos. Estes, por sua vez, alojam filamentos longos e finos contendo a clorofila. Na maioria das espécies, a face superior (adaxial) da folha, voltada para o sol, tem a cor verde mais escura

justamente por conter um maior número de cloroplastos. Entre tais células do mesófilo, tem-se um ambiente cheio de gases provindos da respiração e da transpiração da folha, os quais se conectam com o meio externo por intermédio dos estômatos (SANO et al., 2019). Já os tecidos do sistema vascular representam a via por onde os produtos da fotossíntese passam para as demais partes da planta, além de suprir a folha com água e nutrientes advindos do solo (SANO et al., 2019).

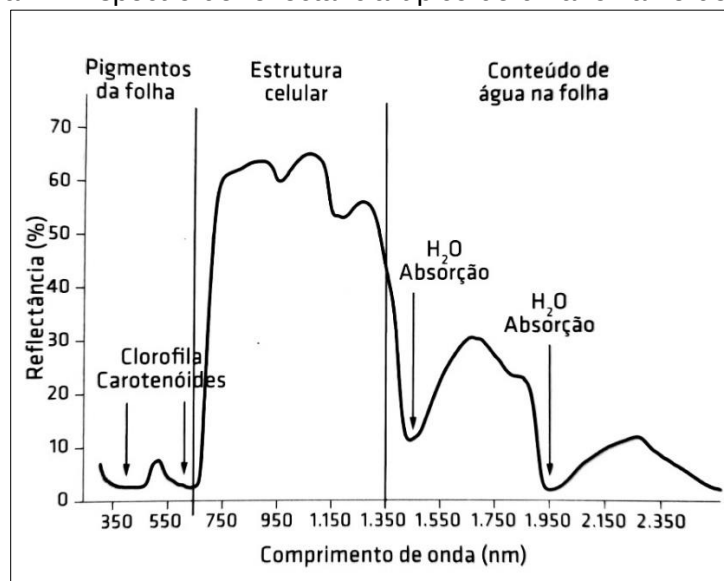
Como a REM percorre essas camadas formadoras da folha também é algo a ser discutido. Em 1918, Willstatter e Stoll (apud SANO et al., 2019, p. 195) desenvolveram uma teoria baseada na estrutura interna da folha e na reflectância potencial de suas superfícies. Os autores alegaram que a variação no índice de refração dos diversos meios presentes na folha (água, oxigênio, membranas celulares e espaços vazios intercelulares) causa uma mudança na trajetória do raio de luz, ou seja, ocorre uma reflexão múltipla e essencialmente aleatória dentro da folha. Assim sendo, um importante parâmetro determinante no nível de reflectância da folha é o número total da área de contato entre os espaços vazios e interfaces de paredes celulares, e não apenas o volume de espaços vazios (KNIPLING, 1970; BUSCHMANN; NAGEL, 1993).

Mais tarde, Gates et al. (1965) afirmaram que a reflectância na região do NIR (infravermelho próximo) ocorria em função do tamanho e da forma das células e da quantidade de espaços intercelulares. Segundo os autores, as folhas jovens possuem mais espaços vazios no mesófilo, favorecendo a reflexão interna, e, com o amadurecimento, esses espaços seriam reduzidos, diminuindo a reflectância da folha. Porém, vale ressaltar que essas características podem variar dependendo da espécie. Segundo Verdebout et al. (1994), espécies monocotiledôneas e dicotiledôneas não se comportam da mesma maneira na região do NIR. Os autores explicam que as monocotiledôneas possuem um mesófilo mais compacto e, por esse motivo, em comparação com as dicotiledôneas, apresentam menor reflectância na região do NIR.

Não obstante, estudos práticos com medidas espectrorradiométricas de campo e laboratório mostram que o comportamento espectral de uma folha é função de sua morfologia, composição e estrutura interna. Ademais, apesar de diferenças entre grupos distintos de vegetação, não haveria mudanças relevantes no padrão

de reflectância de uma folha verde (SANO et al., 2019). Assim, a partir da Figura 2, será apresentada uma breve análise do comportamento espectral de uma folha verde sadia nos intervalos espectrais que vão da região do visível até o infravermelho de ondas curtas (SWIR), passando pela borda vermelha (*red-edge*) e pelo infravermelho próximo.

Figura 2 – Espectro de reflectância típico de uma folha verde sadia



Fonte: Sano et al. (2019).

A região do visível (400 nm a 700 nm) é caracterizada pela baixa reflectância e transmitância devido à forte absorção da REM pelos pigmentos encontrados nos cloroplastos, principalmente nos comprimentos de onda do azul e vermelho, evidenciando, assim, a cor verde da vegetação. Os mais comuns são a clorofila (clorofila a e clorofila b), as xantofilas e os carotenos. A Tabela 1 apresenta os principais pigmentos encontrados e suas máximas absorções (KUMAR et al., 2001; PONZONI et al., 2015; SANO et al., 2019).

A região de transição entre a região do visível e do NIR é chamada de borda vermelha ou *red-edge*. É um intervalo estreito, situado entre 690 nm a 760 nm, aproximadamente, e caracteriza-se por um rápido aumento da reflectância entre os comprimentos de onda do vermelho e NIR. É muito importante para análise da vegetação em processo de estresse, pois costuma ser sensível a pequenas variações que ocorram no tecido vegetal (PONZONI et al., 2015).

Tabela 1 – Pigmentos foliares e seus respectivos picos de absorção

Pigmento	Pico de absorção característico (nm)
Clorofila a	420, 490, 660
Clorofila b	435,643
β -Caroteno	425,450,480
α -Caroteno	420,440,470
Xantofila	425, 450, 475

Fonte: Adaptado de Kumar et al. (2001).

Logo, na região espectral do NIR (760 nm a 1.300 nm), as plantas costumam ter alta reflectância e transmitância devido ao fato de as paredes celulares direcionarem uma alta porcentagem da REM para a superfície da folha. Nesse intervalo espectral, a reflectância se mantém em cerca de 40 a 60%, e é um processo controlado pela estrutura interna e morfologia das folhas, impedindo o aumento da temperatura e evitando danos a proteínas e açúcares. Há, também, influência do conteúdo de água na folha, em torno de 980 e 1.200 nm, com pequenas absorções na curva espectral (Kumar et al., 2001; SANO et al., 2019).

O intervalo entre 1.300 e 2.500 nm é conhecido como SWIR e é a região onde o comportamento espectral é mais influenciado pela água líquida presente nas folhas. Nesse intervalo, há menor reflectância quando comparado ao NIR, bem como duas fortes bandas de absorção nos comprimentos de 1.440 nm a 1.453 nm e de 1.925 nm a 1.935 nm (Kumar et al., 2001; SANO et al., 2019).

Essa reflectância espectral apresentada pode ter alterações caso a vegetação esteja sofrendo algum tipo de estresse. Diversos fatores podem causar estresse em diferentes tipos de vegetações, principalmente ataque de insetos, problemas fisiológicos, doenças, deficiências nutricionais e condições ambientais adversas (longos períodos de seca, por exemplo). Sano et al. (2019) ressaltam algumas dessas alterações, como no conteúdo de pigmentos fotossintetizantes, por exemplo, com influência na reflectância no intervalo do visível, sendo as regiões espectrais mais sensíveis no intervalo de 535 nm a 640 nm e de 685 nm a 700 nm, enquanto necroses e alterações do equilíbrio hídrico foliar afetam a reflectância na região do NIR.

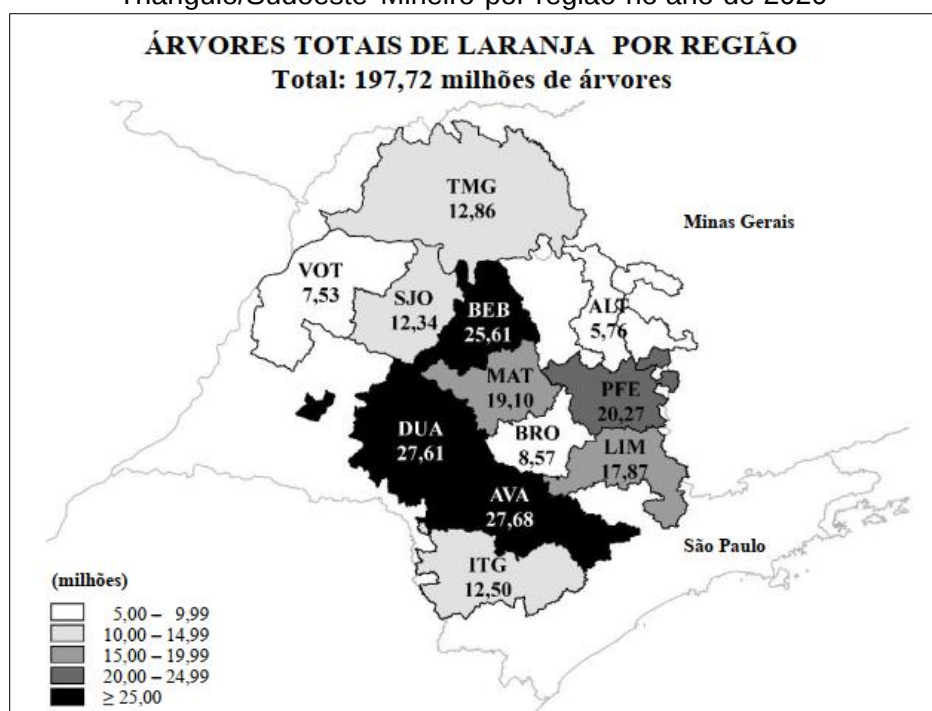
2.2 SETOR CITRÍCOLA BRASILEIRO E A AMEAÇA DO HLB

2.2.1 Citricultura no Brasil

Atualmente, o Brasil é o maior produtor de laranja do mundo. No ano 2017, foram produzidas, aproximadamente, 17 toneladas. Dessa quantia, mais de 13 toneladas dizem respeito ao estado de São Paulo, aquele que mais produz no país (IBGE, 2017). A safra de laranja 2019/20 do cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro foi estimada em 287,76 milhões de caixas de 40,8 kg, contando com cerca de 197,72 milhões de árvores de laranja, de acordo com atualização publicada, em maio de 2020, pelo Fundo de Defesa da Citricultura. Na Figura 3, pode-se observar como essas laranjeiras estão distribuídas entre as regiões do cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro. As variedades de laranja inventariadas nessas regiões foram as seguintes: Hamlin, Westin, Rubi, Valência Americana, Seleta, Pineapple, Pera Rio, João Nunes, Valência, Valência Folha Murcha e Natal (FUNDECITRUS, 2020b).

Segundo a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), a laranja para indústria é o terceiro principal produto do setor agropecuário produzido pelo estado de São Paulo, tendo representado, em 2019, um fluxo 5 bilhões de reais (APTA, 2020). Uma das maiores preocupações do setor de citricultura é o *greening*, doença que, a partir da Região Central de São Paulo, alastrou-se para outras regiões, provocando um aumento considerável no consumo de inseticidas nas culturas desse tipo (NEVES, 2010).

Figura 3 – Total de árvores de laranja no cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro por região no ano de 2020*



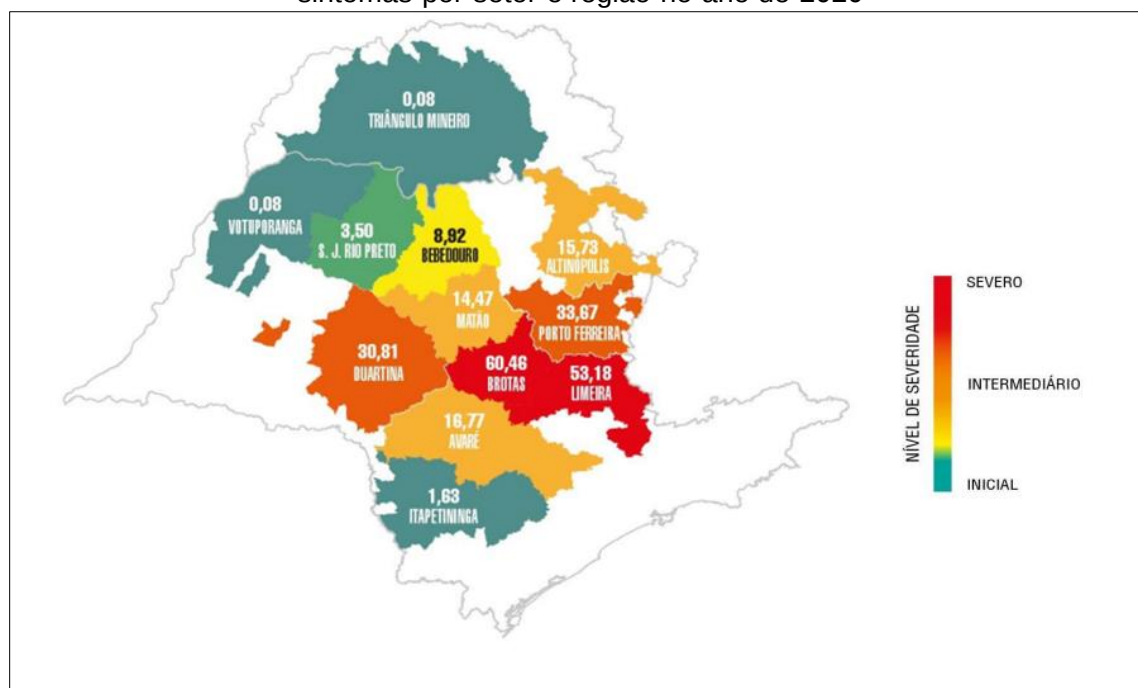
* VOT = Votuporanga; BRO = Brotas; TMG = Triângulo mineiro; MAT = Matão; AVA = Avaré; BEB = Bebedouro; LIM = Limeira; ALT = Altinópolis; SJO = São José do Rio Preto; DUA = Duartina; PFE = Porto Ferreira; ITG = Itapetininga.

Fonte: Adaptado de Fundecitrus (2020a).

2.2.2 Huanglongbing (HLB)

O *greening*, ou Huanglongbing (HLB), que, como já exposto, é uma doença associada principalmente à bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, foi encontrado pela primeira vez na Ásia, há mais de cem anos. No Brasil, foi identificado em 2004, no estado de São Paulo, e, atualmente, a doença está presente também em Minas Gerais e no Paraná, lugares que têm apresentado relativa expansão no número de plantas infectadas e na distribuição geográfica. Além disso, verifica-se, também, a presença da doença em outros países, como Argentina, Paraguai, México, Estados Unidos e na maioria dos países da América Central e no Caribe (MIRANDA, 2018; SULZBACH et al., 2017). A Figura 4 apresenta o percentual das laranjeiras infectadas e sintomáticas por setor e região do cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro, segundo levantamento realizado pela Fundecitrus em 2020.

Figura 4 – Percentual das árvores de laranja infectadas com *greening* com incidência de sintomas por setor e região no ano de 2020



Fonte: Adaptado de Fundecitrus, 2020a.

A bactéria é transmitida pelo psíldeo *Diaphorina citri*, inseto que tem entre 2 a 3 mm e possui asas transparentes com manchas escuras. O psíldeo forma maior população no verão e na primavera, embora esteja presente o ano todo nos pomares, podendo haver, em anos chuvosos, picos populacionais no inverno e no outono. A transmissão da patologia se dá quando o inseto se alimenta de plantas doentes, adquirindo a bactéria e contaminando, posteriormente, plantas saudáveis (MIRANDA, 2018). Em 2020, a Fundecitrus monitorou a flutuação populacional do inseto, por meio de mais de 30 mil armadilhas espalhadas pelas regiões produtoras de citros, e verificou crescimento de 204% em julho e de 337% em agosto em comparação com os mesmos meses do ano anterior. Esses foram os índices mais altos verificados desde 2014, onde se deu início a série histórica (FUNDECITRUS, 2020c).

Segundo Bové (2006), não é uma tarefa simples identificar sintomas específicos do HLB em plantas de citros. Alguns sintomas, como brotos amarelados, manchas nas folhas e frutos com inversão de cor e sementes abortadas, são bem característicos, mas nem sempre ocorrem juntos na mesma árvore. Além disso, os

sinais podem ser confundidos ou mascarados por sintomas de outras doenças e deficiências nutricionais.

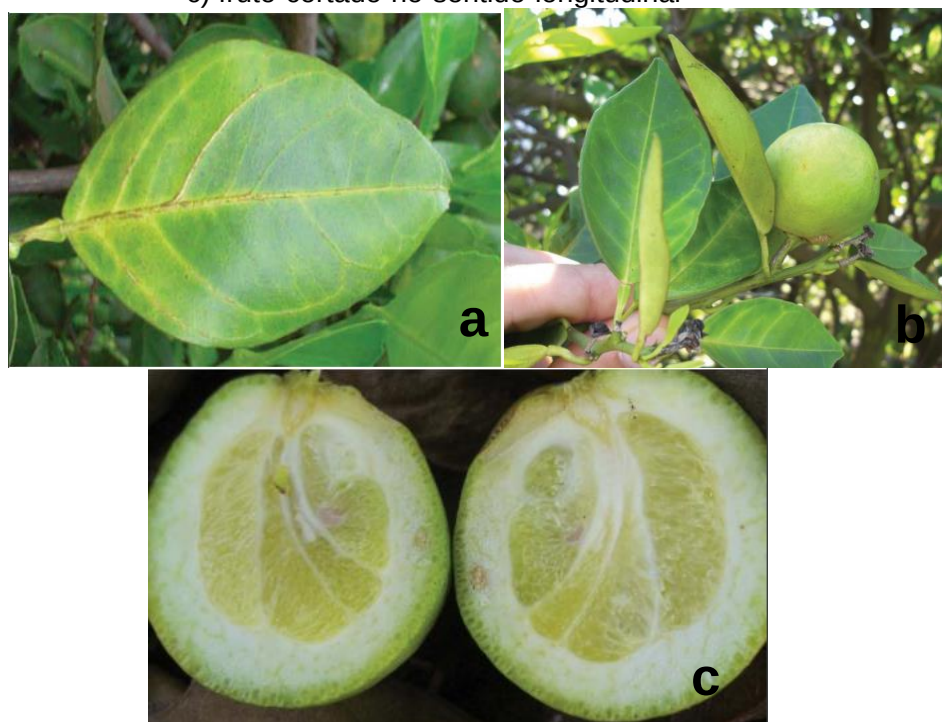
Na Figura 5, é possível observar como os sintomas do HLB podem ser confundidos com outras situações encontradas em pomares, devido ao processo de clorose desencadeado pelo estresse. Da esquerda para a direita, temos duas folhas com sintomas muito iniciais e um fruto infectado pelo HLB levemente amarelado, duas folhas com sintomas de ataque de larva minadora e cranco cítrico também amareladas e, por último, uma folha com clorose intensa, sintoma característico de deficiência de zinco.

Figura 5 – Material coletado em campo, da esquerda para a direita: duas folhas e um fruto com HLB, duas folhas com sintomas de ataque de larva minadora e cranco cítrico e uma folha com sintomas de deficiência de zinco



Outros sintomas do HLB podem ser visualizados na Figura 6. Os sintomas iniciais costumam ser o acúmulo de amido nas folhas devido ao provável entupimento dos floemas. Em alguns casos, as folhas apresentam engrossamento e amarelamento nas nervuras (Figura 6-a e Figura 6-b) (SARKAR et al., 2016). Nos frutos, pode haver assimetria no formato e retardamento no amadurecimento, de modo que permaneçam com uma coloração verde tingida de manchas amareladas (Figura 6-b). No interior, a parte branca da casca pode apresentar uma espessura maior que a de frutos de plantas saudáveis (Figura 6-c).

Figura 6 – Planta infectada com greening destaque na a) folha; b) ramo com folha e fruto; c) fruto cortado no sentido longitudinal



Fonte: adaptado de Fundecitrus (2009).

Killiny e Nehela (2017), em um experimento utilizando cromatografia líquida de alta performance, realizou uma investigação sobre o conteúdo de clorofila e carotenoides em folhas de laranja doce Valência sadias e em folhas da mesma variedade, mas contaminadas por HLB, especificamente pela bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus*. O estudo revelou a presença de 15 pigmentos nas amostras, sendo 3 tipos de carotenos, 8 tipos de xantofilas e 4 clorofilas. As folhas infectadas não apresentaram alteração na concentração de carotenos, em comparação com as amostras de controles (não contaminadas por HBL). Porém, observou-se aumento significativo na quantidade de amido e de ácido abscísico. Sendo que, o ácido abscísico é um hormônio vegetal associado ao comportamento de estresse da planta e atua no seu desenvolvimento, incluindo no controle do tamanho e fechamento dos estômatos.

Outro ponto interessante no trabalho de Killiny e Nehela (2017) é a detecção da clorofilida, substância derivada da clorofila, porém sem a cadeia fitol, também responde na região espectral do verde, solúvel em água e com as mesmas propriedades espectrais da clorofila. Essa substância apresentou aumento de

concentração em folhas que passaram pelo ataque do psílídeo *Diaphorina citri*, pois, segundo os autores, esse aumento seria uma resposta da função anti-herbivoria da planta.

Segundo Bassanezi et al. (2010), outro aspecto da doença é a distribuição não homogênea da bactéria pelo sistema vascular da planta infectada. No geral, ela se concentra no ramo em que o psílídeo infectou o indivíduo e na sua raiz, motivando, na maioria dos casos, sintomas iniciais em apenas um setor (ou região) da árvore, na forma de clorose ao longo das nervuras das folhas, progredindo para amarelecimento do ramo. Ou seja, é possível que amostras de folhas de uma planta infectada não apresentem resultado do teste PCR (*polymerase chain reaction*) positivo para HLB se análise for realizada em amostras de folhas com pouca ou nenhuma presença da bactéria, dificultando ainda mais a identificação da doença no pomar. Também pode ocorrer brotação das folhas com tamanho reduzido apresentando clorose assimétrica, muito semelhante a um sintoma de deficiência de zinco ou ferro, porém nesses casos a clorose é simétrica.

A detecção precoce da doença representa ganhos de eficiência e impacto econômico para as propriedades produtoras de citros, uma vez que a alta produtividade é dependente de muitas práticas de manejo, que incluem mão de obra treinada, utilização simultânea de maquinários agrícolas, inúmeros defensivos agrícolas, entre outros.

Conforme estimativas de Ayres et al. (2018), o controle do HLB representa cerca de 5 a 15% do custo total da produção, variando de região para região. Levando isso em consideração, um rápido e eficaz diagnóstico da doença pode propiciar uma significativa economia para o produtor.

A eliminação das plantas contaminadas é uma das determinações da Instrução Normativa n.º 53, publicada, no Diário Oficial da União, em 17 de outubro de 2008, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008). Como ação de combate e de prevenção ao HLB, o Fundecitrus recomenda a inspeção de 100% dos indivíduos do pomar. As inspeções normalmente são realizadas por técnicos treinados que vistoriam as árvores a pé ou sobre plataforma. A inspeção feita a pé tem um rendimento de 800 a 1.000 plantas/inspetor/dia em pomares de um a quatro anos. Na realizada em plataforma, por sua vez, com a

presença de dois a quatro inspetores, o rendimento pode chegar a 4.000 plantas por dia (BELASQUE JR. et al., 2010).

Considerando que o recomendado é de, no mínimo, quatro inspeções por ano, percebe-se que é um método demorado, trabalhoso e impreciso, e que exige muita mão de obra, o que o torna custoso. Além disso, só no cinturão citrícola de São Paulo e o triângulo/sudoeste de Minas Gerais, o Fundecitrus estima um total de 197,72 milhões de árvores. Irey et al. (2006), ao compararem a detecção visual com a detecção por PCR de indivíduos infectados, observaram que apenas 57,6% das plantas com HLB foram identificadas visualmente, existindo, ainda, cerca de 42,4% de plantas infectadas, porém assintomáticas. Ademais, o Fundecitrus calcula que as inspeções visuais levam a um erro de 30 a 60%, aproximadamente, devido a falhas na detecção dos sintomas (JORGE e INAMASU, 2014).

Uma vez inspecionada, as plantas podem ser classificadas quanto a severidade da doença. Essa classificação tem relação ao percentual da copa da árvore com folhas e/ou frutos sintomáticos. A escala de nível de severidade de HLB vai de 1 a 4 e é apresentada na Tabela 2 (FUNDECITRUS, 2017).

Tabela 2 – Escala de nível de severidade de HLB pela Fundecitrus

	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 4
Percentual de comprometimento da copa	até 25%	26 a 50%	51 a 75%	76 a 100%

2.3 SENSORIAMENTO REMOTO APLICADO À DETECÇÃO DO HLB

O termo “sensoriamento remoto” foi definido por diversos autores nas últimas décadas, e, de maneira geral, pode ser descrito como a aquisição e armazenamento de informações oriundas do espectro eletromagnético de um objeto ou alvo sem contato físico com tais elementos. Essas informações são advindas de diversos tipos de sensores acoplados em diferentes plataformas, orbitais ou sub-orbitais, que, posteriormente, passam por análises de processamento digital de imagens e/ou análises de interpretação visual (JENSEN, 2009).

O emprego de tecnologias de sensoriamento remoto, aliadas à fotogrametria e ao geoprocessamento, permite um tratamento diferenciado de culturas agrícolas

quando associado a parâmetros de caracterização da vegetação, como as propriedades do ambiente e a ação de parasitas. Tais tecnologias contribuem para a identificação de problemas fitossanitários na cultura e que devem ser representados em mapas que definem as zonas de manejo e a variabilidade no campo (YAO et al., 2012). A detecção de doenças em diferentes tipos de culturas a partir do uso de imagens hiperespectrais e multiespectrais de alta resolução espacial tem sido amplamente estudada.

Moriya et al. (2017) mapearam o vírus mosaico em plantação de cana-de-açúcar usando imagens hiperespectrais adquiridas por meio veículo aéreo remotamente pilotado e obtiveram alto grau de acurácia. Foram realizadas medidas espectrais nas folhas de plantas saudáveis e infectadas com um espectroradiômetro, a fim de produzir uma biblioteca espectral e, com base nisso, apresentar uma metodologia para a aplicação de câmera hiperespectral em cultura agrícola.

Já Herwitz et al. (2004) mapearam, no Havaí, 1.500 ha de cultivo de café utilizando um veículo aéreo remotamente pilotado e obtiveram imagens multiespectrais de alta resolução, as quais, segundo os autores, possibilitaram o mapeamento de ervas daninha e revelaram anomalias de irrigação e de fertilização.

Nos últimos anos, pesquisadores do mundo todo buscam soluções eficientes para a detecção do *greening* em pomares de citros utilizando diferentes técnicas de sensoriamento remoto. Destaca-se o uso de câmeras multiespectrais e hiperespectrais terrestres ou acopladas em VARPs, em estudos de espectrometria de campo e de laboratório.

Kumar et al. (2012) utilizaram imagens multiespectrais e hiperespectrais, das câmeras XMV-4021 Illumis LLC e AISA Eagle Spectral Imaging Ltda respectivamente, para detectar áreas infectadas por HLB na cultura de citros, aplicando, para isso, três diferentes métodos de classificação: *mixture tuned matched filter* (MTMF), *spectral angle mapping* (SAM) e *linear spectral unmixing* (LSU). Nesse estudo, foi alcançada uma acurácia de 80% com o uso de MTMF em imagens hiperespectrais e 87% utilizando imagens multiespectrais e o classificador SAM.

Li et al. (2012) empregaram dados de sensoriamento remoto terrestres e de aeronave para encontrar a diferença espectral entre copas de citros saudáveis e de

citros infectados por HLB. Diferentes métodos de classificação e de mapeamento espectral foram utilizados nas imagens multiespectrais e hiperespectrais. Foram tomados dados na área de estudo, incluindo medidas espectrais em campo e em laboratório, além das coordenadas GPS de indivíduos saudáveis e infectados. As medidas espectrais de campo mostraram que copas de indivíduos saudáveis têm maior reflectância na região visível do espectro e menor reflectância no infravermelho próximo, quando comparado a copas infectadas por HLB. Em se tratando dos resultados das classificações, o *spectral feature fitting* (SFF) mostrou melhor resultado em relação a outros métodos testados, porém, não houve consistência entre as imagens hiperespectrais de 2007 e de 2010.

Na abordagem de Garcia-Ruiz et al. (2012), imagens multiespectrais (seis canais entre 530 e 900 nm) tomadas de um sensor acoplado em VARP foram comparadas com imagens tomadas de uma plataforma aérea. Apesar da diferença de resolução espacial, para os dois conjuntos de dados, o canal centrado em 710 nm e o índice de vegetação NIR – Red demonstraram ser importantes parâmetros para a diferenciação de árvores saudáveis das infectadas por HLB. Ademais, os dados adquiridos a partir da câmera acoplada em VARP foram classificadas pelos métodos de análise discriminante e *support vector machine*, e obtiveram uma acurácia entre 67 e 85%, e falsos positivos entre 7 e 32% quando comparados com dados de campo.

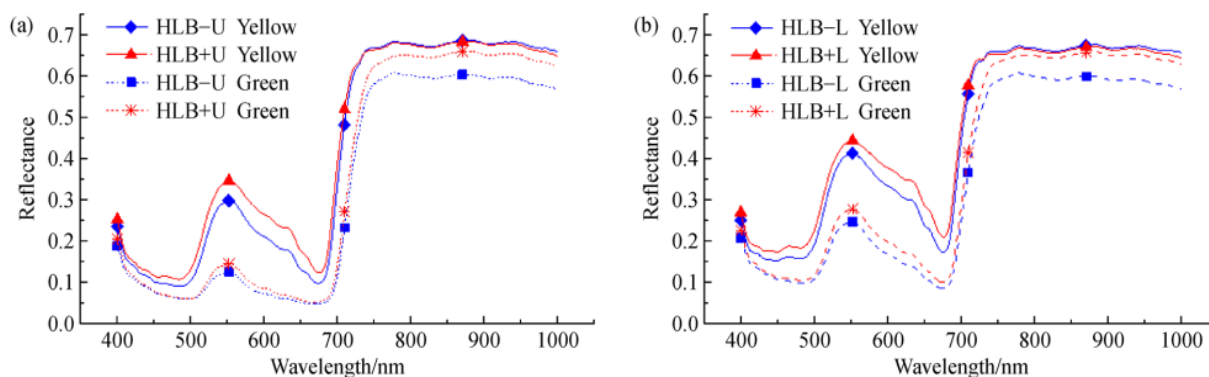
Sankaran et al. (2013) demonstraram a aplicabilidade de imagens multiespectrais e o uso de sensores termais na detecção do HLB em árvores infectadas na Flórida, empregando imagens tomadas por uma plataforma terrestre adaptada com um mastro retrátil, o qual permitiu uma distância de 3 m entre os sensores e as copas das árvores. Os autores notaram que as bandas 560 nm, 710 nm e termal apresentaram máxima separabilidade de classes entre grupos saudáveis e infectados com HLB.

Moriya et al. (2019) fizeram uso de imagens tomadas por uma câmera hiperespectral acoplada em avião e de medidas radiométricas tomadas em campo para produzir um mapa de plantas saudáveis e infectadas por HLB em uma fazenda no interior do estado de São Paulo. O classificador utilizado foi o SAM e as plantas infectadas foram detectadas com 61% de acurácia, sendo que a validação foi com

base em amostras analisadas em laboratórios, as quais confirmaram a contaminação pelo HLB.

Wang et al. (2019) utilizaram dados hiperespectrais das superfícies adaxial e abaxial de folhas de pomares de laranja contaminados com HLB e pomares não contaminados. Foram coletadas folhas de coloração normal, ou seja, verdes e folhas com clorose, condição em que há insuficiência de clorofila, em ambos os pomares. Então, foram realizados testes PCR para confirmar a presença ou a ausência do HLB em cada folha. Na observação do espectro com a reflectância média das medidas (Figura 7), notou-se que as superfícies adaxial e abaxial das folhas contaminadas possuem, em média, maior reflectância na região do visível quando comparadas a folhas não contaminadas e, segundo os autores, isso revela que o tecido vegetal de folhas contaminadas por HLB possui uma resposta espectral distinta e um potencial na detecção de folhas assintomáticas.

Figura 7 – Média das medidas de reflectância das folhas sadias (-) e contaminadas com HLB (+) com clorose (*yellow*) e sem clorose (*green*). a) superfície adaxial da folha (representada pela letra U) e b) superfície abaxial da folha (representada pela letra L)



Fonte: Wang et al. (2019).

Deng et al. (2019) conduziram um estudo para investigar um método de seleção de bandas características na detecção de HLB e comparar a performance de diferentes algoritmos de *machine learning* na classificação das folhas de citros. Para aquisição dos dados, foi utilizado um espectrorradiômetro ASD com capacidade de adquirir dados entre 325 e 1075 nm com 1 nm de resolução espectral e FOV de 25°. Foram adquiridas medidas de três classes de folhas de citros: saudáveis, infectadas com HLB e assintomáticas.

Para eliminar regiões de muito ruído, foram utilizadas apenas as medidas entre 400 e 1000 nm, ou seja, 601 comprimentos de onda distintos. Com o objetivo de reduzir a redundância e aumentar a eficiência na seleção de bandas foi aplicado o método de informação de entropia, onde 20 comprimentos de onda foram pré-selecionados e, em seguida foi realizada a otimização por seleção sequencial inversa (*sequential backward selection*), que resultou nas seguintes bandas: 544, 753, 760, 764, 718, 930, 936, 985, 998, 999, 943, 951 e 969. Para os autores, este resultado mostra o quanto não é eficiente utilizar poucas bandas na detecção do HLB, pois foram necessários 13 comprimentos de onda para representar a heterogeneidade da doença.

Além disso, seis algoritmos de *machine learning* foram comparados: *logistic regression*, *decision tree*, *support vector machine (SVM)*, *k-nearest neighbor*, *linear discriminat analysis (LDA)* e *ensemble learning*. Para comparar os resultados das classificações, os comprimentos de onda resultantes dos métodos de seleção de bandas foram comparados com os dados originais de reflectância (os 601 comprimentos de onda), com a análise de componentes principais (PCA) e com quatro índices de vegetação (NDVI, TVI, MTVI e MCARI).

Os resultados apontaram que:

- Índices de vegetação são úteis para distinguir entre folhas saudáveis e HLB sintomático, porém não são eficazes na distinção entre saudáveis e assintomáticas;
- Para todos os tipos de atributos o classificador *decision tree* mostrou os piores resultados, enquanto o *ensemble learning* mostrou os melhores;
- Para os conjuntos de atributos com os 13 comprimentos de onda selecionados os melhores classificadores foram *logistic regression*, SVM e LDA;
- Classificações utilizando todas as bandas mostraram melhores resultados, porém, na prática, não é viável, uma vez que isso exige maior tempo de processamento e câmeras hiperespectrais e espectrorradiômetros, equipamentos muito caros quando comparados às câmaras multiespectrais.

2.4 TRATAMENTO DE DADOS ESPECTRORRADIOMÉTRICOS

A partir de dados espectrais coletados em campo é possível adquirir espectros de diferentes grandezas, dependendo do objetivo do estudo e do alvo

estudado. Neste trabalho as medidas espectrais são representadas em fator de reflectância. Entretanto, e apesar de todo cuidado na hora da aquisição, é comum que os espectros apresentem ruídos aleatórios, principalmente associados ao equipamento e a pequenas variações de iluminação durante a tomada das medidas. Esses ruídos podem dificultar a análise dos dados e até mesmo mascarar informações importantes, por isso, é comum que técnicas matemáticas sejam aplicadas.

Técnicas de tratamento de dados espectrorradiométricos também atuam na intenção de extrair informações específicas do objeto de interesse que podem estar camufladas por respostas de outros componentes presentes no alvo. A seguir, serão apresentados técnicas e procedimentos comumente adotados no tratamento de dados espectrais e que foram aplicados neste trabalho.

2.4.1 Remoção do ruído a partir do filtro de média móvel

É comum que dados de espectrorradiometria apresentem ruídos no sinal registrado pelo sensor, resultando em espectros com feições que não consistem em informações da radiação refletida pelo alvo, e que podem interferir no resultado de análises e processamentos feitos sobre os espectros de reflectância. Assim, esse ruído deve ser eliminado para que a análise do espectro seja eficiente, para isso, pode-se aplicar técnicas de suavização, como o filtro de média móvel.

Um filtro de média móvel simples assume o valor espectral médio de todos os pontos dentro de uma janela específica como sendo o novo valor do ponto central da janela, como mostra a Equação 1 (TSAI e PHILPOT, 1998).

$$\hat{s}(\lambda_j) = \frac{\sum s(\lambda_i)}{n} \quad (1)$$

Em que $\hat{s}(\lambda_j)$ é o valor obtido para o ponto médio dentro da janela de filtragem; $s(\lambda_i)$ é o sinal do espectro; n é o tamanho do filtro (número de pontos de amostragem); e j é índice do ponto médio do filtro. O tamanho n do filtro pode variar de acordo com os dados originais e o resultado desejado. O critério de escolha deve

se basear na eficiência da remoção dos ruídos sem remover detalhes dos espectros do alvo.

2.4.2 Análise de agrupamento

Ao trabalhar com fenômenos complexos que exigem informações de muitas variáveis, frequentemente, são necessários métodos estatísticos para descrever e analisar dados multivariados. O método estatístico é utilizado com a finalidade da análise exploratória dos dados, no qual os dados são examinados previamente à aplicação de qualquer outro tipo de análise estatística. Neste trabalho, a análise multivariada teve como objetivo reduzir a estrutura dos dados sem sacrificar informações relevantes acerca dos espectros de reflectância e, além disso, contribuir na construção de testes e hipóteses acerca dos experimentos. Para isso, então, foi escolhido o método de análise de agrupamento.

As análises de agrupamento, ou análises de *clusters*, são procedimentos de estatística multivariada que objetivam agrupar objetos semelhantes em categorias de grupos relativamente homogêneos (*clusters*). Esses agrupamentos são meios informais de verificar a dimensionalidade do conjunto de dados, identificar *outliers*, e até mesmo sugerir hipóteses acerca das relações.

Existem dois métodos hierárquicos de agrupamento, aglomerativos ou divisivos, e o resultado desses métodos pode ser apresentado em forma de um diagrama bidimensional conhecido como dendrograma. Os métodos aglomerativos começam com objetos individuais e o par de objetos mais similares é agrupado formando um grupo, em seguida, identifica-se o par mais semelhante, formando um novo grupo e assim ocorre sucessivamente. Já nos métodos divisivos, esse processo ocorre na direção oposta, onde um único grupo de objetos é dividido em 2 grupos, de maneira que os objetos em um grupo estão distantes dos objetos de outro grupo, e essas divisões ocorrem até que o número de subgrupos seja igual ao de objetos.

Neste trabalho, foi utilizado um dos métodos aglomerativos de ligação, ou *linkage*, conhecido como método Ward ou “mínima variância”. Segundo Johnson e Wichern (2007), este é um método de agrupamento fundamentado na mudança de

variação entre as clusters e dentro dos clusters que estão sendo formadas a cada passo do agrupamento. Neste método, cada elemento é considerado como um único conglomerado e em cada passo calcula-se a soma de quadrados dentro de cada conglomerado, sendo que, essa soma é o quadrado da distância euclidiana de cada elemento amostral daquele conglomerado em relação ao correspondente vetor de médias.

Holden e LeDrew (1998), aplicaram a análise de agrupamento em dados hiperespectrais de reflectância de corais saudáveis e corais branqueados e observaram que houve uma distinção nos espectros entre as classes baseada principalmente na magnitude da reflectância. Os autores atribuíram essa distinção devido à presença ou ausência de pigmentos contidos nas zooxantelas, algas que vivem em endossimbiose com os corais.

2.4.3 Remoção do contínuo

A técnica de remoção do contínuo desenvolvida por Clark e Roush (1984) permite acentuar feições, reduzir efeitos externos e identificar elementos, e, assim, remover a componente do sinal causada por substâncias que estão presentes na amostra e que não estão sendo estudadas. O contínuo representa essa absorção devido a diferentes processos em um material específico, ou o efeito conjunto da absorção de diferentes materiais presentes em uma determinada amostra.

A remoção do contínuo é uma formulação matemática utilizada para análise de uma determinada feição de absorção do espectro (Equação 2).

$$\rho_{CR\lambda} = \frac{\rho_{original\ \lambda}}{\rho_{contínuo\ \lambda}} \quad (2)$$

Em que $\rho_{CR\lambda}$ é o fator de remoção do contínuo, $\rho_{original\ \lambda}$ é a reflectância original e $\rho_{contínuo\ \lambda}$ é o espectro do contínuo que pode ser obtido pela formulação matemática da equação de uma reta, como mostra a Equação 3.

$$\rho_{contínuo} = k\lambda + w \quad (3)$$

Em que $\rho_{contínuo}$ é o espectro contínuo para um dado comprimento de onda λ , k é o coeficiente angular dado pela Equação (4) e w é o coeficiente linear dado pela Equação (5).

$$k = \frac{\rho_2 - \rho_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \quad (4)$$

$$w = \frac{[\rho_1 (\lambda_2 - \lambda_1)] + [-\lambda_1 (\rho_2 - \rho_1)]}{\lambda_2 - \lambda_1} \quad (5)$$

Em que ρ_2 e ρ_1 representam a reflectância observada no limite superior e inferior, respectivamente, da feição de absorção; λ_1 e λ_2 representam os comprimentos de onda superior e inferior, respectivamente, da feição de absorção.

Então, a partir do contínuo removido, é possível obter medidas para a caracterização da feição de absorção estudada, como profundidade da banda, área da feição de absorção e assimetria. A Figura 8 ilustra uma feição de absorção e aponta os parâmetros que se pode extrair dela.

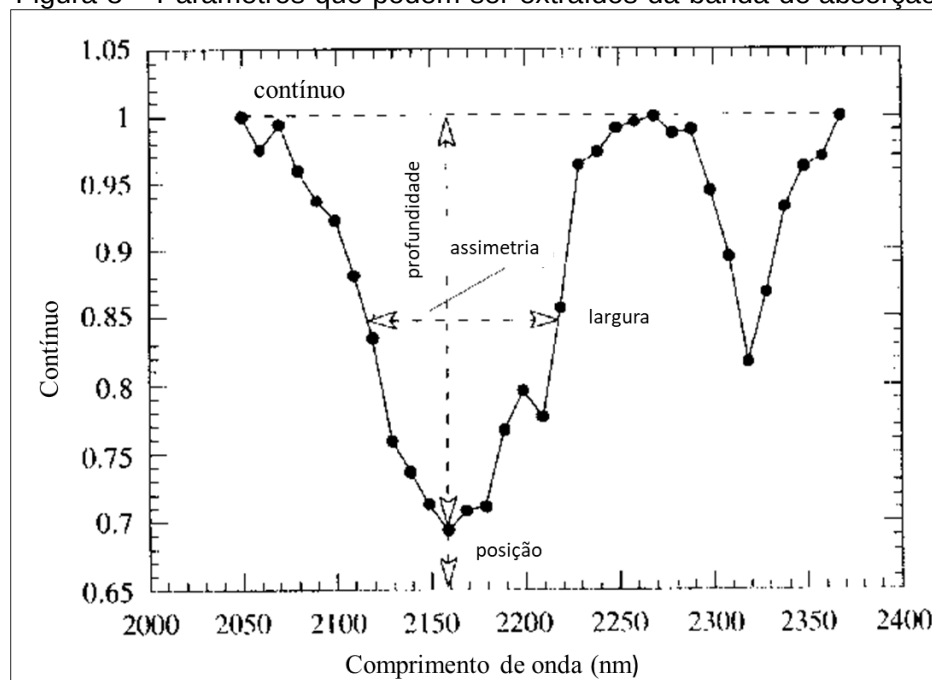
A (6) descreve como obter a profundidade da banda de absorção, ou *Depth Band* (DB). Já a (7) expõe como obter a área da feição de absorção (A_B), conseguida pela aproximação numérica da área de um trapézio.

$$DB = (1 - \rho_{CR\lambda}) \quad (6)$$

$$A_B = \sum_{i=m}^M \frac{(DB_i + DB_{i-1})}{2} (\lambda_i - \lambda_{i-1}) \quad (7)$$

Em que i representa o intervalo de cálculo do limite inferior m ao limite superior M da banda.

Figura 8 – Parâmetros que podem ser extraídos da banda de absorção



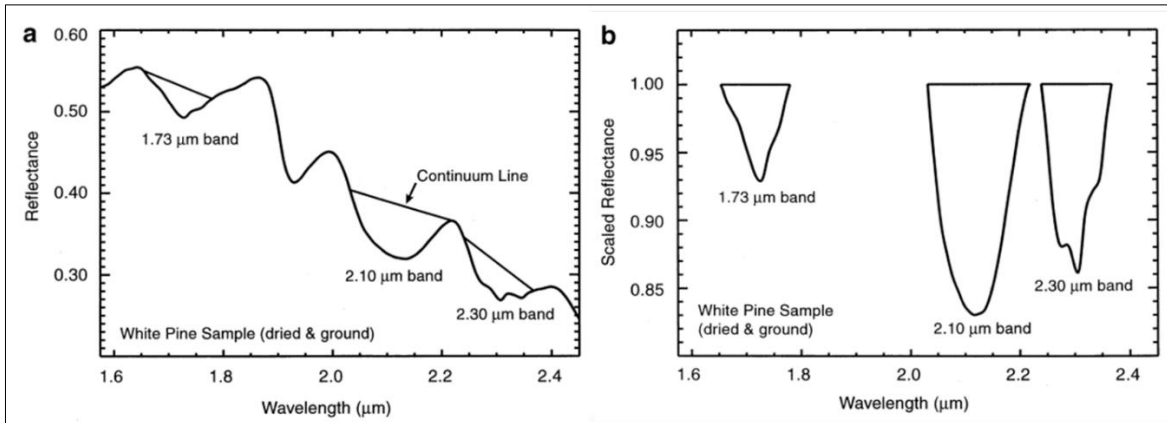
Fonte: Adaptado de Schowengerdt (2007).

Ademais, a assimetria da feição de absorção pode ser obtida a partir da razão entre a soma dos valores de reflectância para a banda da feição de absorção à direita do comprimento de onda de referência e a soma dos valores de reflectância para as bandas de feição de absorção à esquerda do mesmo comprimento de onda de referência. Segundo Kruse et al. (1993), feições simétricas possuem valores de simetria iguais a zero, ou seja, a área à esquerda e à direita do comprimento de onda de referência são iguais. Já feições assimétricas em relação aos comprimentos de onda menores que o de referência possuem valores negativos, enquanto feições assimétricas em relação aos comprimentos de onda maiores que o de referência possuem valores positivos.

Exemplificando o que foi exposto, no trabalho de Kokaly (2001), a técnica de remoção do contínuo foi aplicada para explorar a relação entre o espectro de reflectância nos comprimentos de onda do infravermelho próximo e a concentração de nitrogênio em folhas secas. Os espectros selecionados foram examinados com o objetivo de definir mudanças nas características das feições de absorção associadas ao aumento da concentração de nitrogênio. A Figura 9 mostra o efeito da remoção do contínuo para as maiores feições de absorção em uma amostra de folhas secas. Na Figura 9-a observa-se essas feições e a suas respectivas linhas

do contínuo, na Figura 9-b, as feições espectrais já com o contínuo removido centradas em um comprimento de onda. Já no trabalho de Huang et al. (2004), a metodologia foi testada em um alvo um pouco mais complexo, com dados hiperespectrais de dosséis de árvores de eucalipto adquiridos por aeronaves para a estimativa de nitrogênio nas folhas.

Figura 9 – a) feições de absorção e respectivas linhas do contínuo e b) feições com o contínuo removido.



Fonte: Kokaly (2001).

2.4.4 Análise derivativa

A derivada de um espectro é uma técnica que foi desenvolvida em espectroscopia e mostra-se promissora para uso em dados hiperespectrais, trata-se da taxa de mudança em relação ao comprimento de onda. Esse método aborda muitos problemas de análise quantitativa de uma forma mais eficaz do que razões e diferenças entre bandas (DEMETRIADES-SHAH, 1990).

A aproximação finita pode ser usada para estimar derivadas por esquemas de diferença, de acordo com a resolução da banda finita adotada. Segundo Tsai e Philpot (1998), a primeira derivativa da curva de reflectância pode ser estimada de acordo com a (8).

$$\left. \frac{ds}{d\lambda} \right|_i \approx \frac{s(\lambda_i) - s(\lambda_j)}{\Delta\lambda} \quad (8)$$

Em que $\Delta\lambda = \lambda_j - \lambda_i$ representa os comprimentos de onda adjacentes e $\lambda_j > \lambda_i$, $s(\lambda_i)$ e $s(\lambda_j)$ são os valores do espectro nos comprimentos de onda i e j , respectivamente.

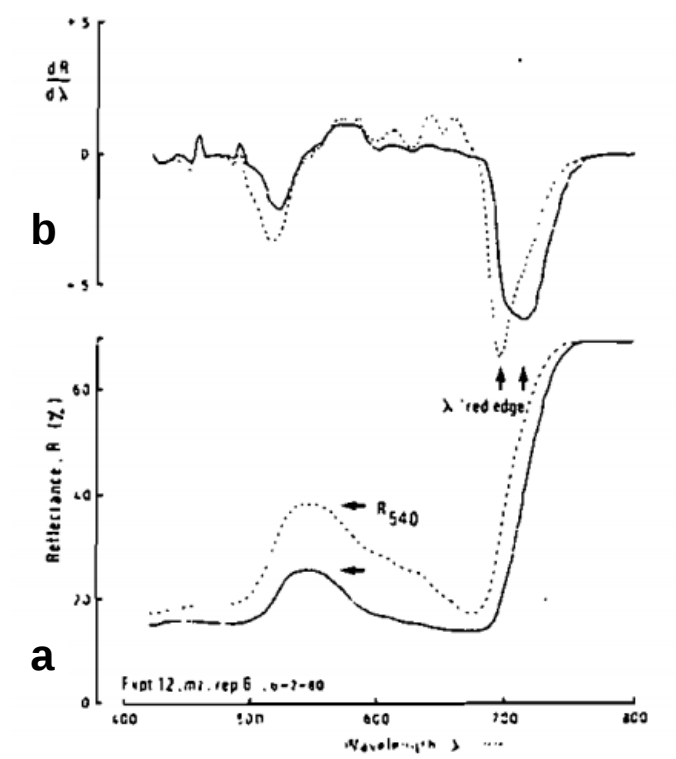
A derivada segunda pode ser estimada a partir da primeira derivada, como mostra a (9) (TSAI e PHILPOT, 1998).

$$\left. \frac{d^2s}{d\lambda^2} \right|_j \approx \frac{s(\lambda_i) - 2s(\lambda_j) + s(\lambda_k)}{(\Delta\lambda)^2} \quad (9)$$

Em que $\Delta\lambda = \lambda_k - \lambda_j = \lambda_j - \lambda_i$ e $\lambda_k > \lambda_j > \lambda_i$.

Em sensoriamento remoto, é possível utilizar a análise derivativa do espectro de reflectância para estimar diferentes pigmentos em dosséis de vegetação. Essas medidas são importantes na detecção de estresse da planta. Horler et al. (1983) mostram que a primeira derivada da reflectância espectral de uma folha também pode ser útil para identificar o comprimento de onda em que o *red-edge* se encontra. A Figura 10 mostra o espectro de reflectância de folhas de milho e sua derivada de primeira ordem, a linha sólida representa as medidas da planta controle sem tratamento com metal, enquanto a linha tracejada representa as plantas tratadas com uma solução nutritiva com cobre. Na Figura 10-b, a partir das feições de absorção, são apontados os comprimentos de onda do *red-edge* para cada curva.

Figura 10 – a) Espectros de reflectância do milho b) e suas respectivas derivadas de primeira ordem



Fonte: Horler et al. (1983).

2.4.5 Posição do *red-edge*

A região de transição entre o vermelho e o infravermelho próximo, ou *red-edge*, representa a mudança abrupta de reflectância entre 690 e 760 nm, aproximadamente, causada pela combinação de fortes efeitos da absorção de clorofila nos comprimentos de onda do vermelho e alta reflectância nos comprimentos de onda do NIR devido a estrutura interna da folha. A posição do ponto de inflexão no *red-edge* é denominada posição do *red-edge* (*red-edge position* – REP). Deslocamentos nessa posição para comprimentos de onda maiores ou menores tem sido usado como um meio para estimar mudanças na concentração de clorofila e como indicador de estresse na vegetação (HORLER et al., 1983; LICHTENTHALER et al., 1996).

A determinação da posição do *red-edge* de maneira acurada exige medidas espectrais de bandas muito estreitas nessa região. Com o desenvolvimento de

equipamentos de espectrometria, que tomam medidas com altíssima resolução espectral, de até 1 nanômetro, isso é possível.

Existem algumas técnicas para determinar a REP, uma delas, utilizada neste trabalho, é a técnica de interpolação linear. Nesse método, assume-se que a reflectância espectral no *red-edge* pode ser simplificada por uma linha reta centrada no ponto médio entre a reflectância no NIR em 780 nm e a reflectância mínima na feição de absorção da clorofila em 670 nm (GUYOT e BARET, 1988).

De acordo com Guyot e Baret (1988), são necessários quatro comprimentos de onda (670, 700, 740 e 780 nm), e a posição do *red-edge* é determinada em duas etapas, de maneira simples. No primeiro momento, é calculado a reflectância no ponto de inflexão (R_{re}), como mostra a (10).

$$\rho_{re} = \frac{(\rho_{670} + \rho_{780})}{2} \quad (10)$$

Em que, ρ é a reflectância no comprimento de onda indicado. E em um segundo passo a posição do *red-edge* é calculada conforme (11).

$$REP = 700 + 40 \left(\frac{\rho_{re} - \rho_{700}}{\rho_{740} - \rho_{700}} \right) \quad (11)$$

2.4.6 Análise de diferença e sensibilidade

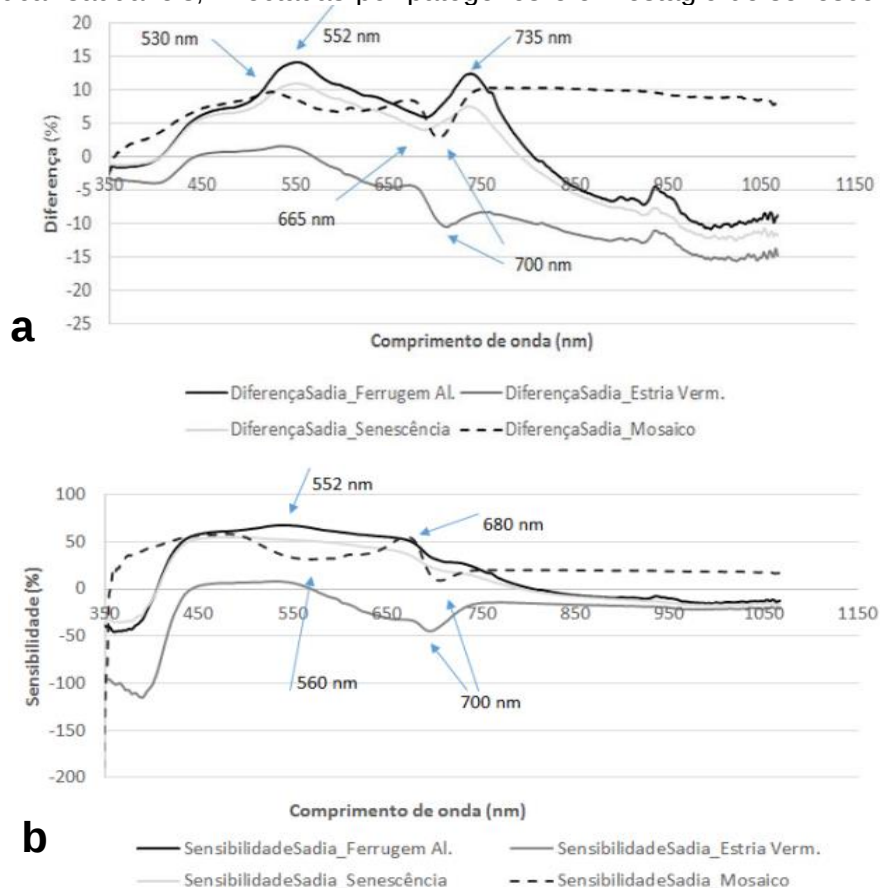
Carter (1991) propôs um método de análise da reflectância espectral para folhas de árvores com os objetivos de identificar as regiões espectrais mais afetadas pelo conteúdo de água contido nela e determinar a importância relativa dos efeitos primário e secundário do conteúdo de água na reflectância. O método consiste em duas análises de reflectância: de diferença e de sensibilidade dos espectros.

A análise de diferença compreende na subtração do espectro com conteúdo de água reduzido pelo espectro da folha original túrgida em água, resultando em um novo espectro. Já a análise de sensibilidade consiste na divisão do espectro resultante da análise de diferença pelo espectro de reflectância da folha original túrgida. Carter (1993) também utilizou esses dois métodos para determinar

comprimentos de onda em que a reflectância da folha é mais responsiva ao estresse provocado por agentes físico-químicos.

Moriya (2015a) aplicou as análises de diferença e sensibilidade para encontrar comprimentos de onda que diferenciam espectralmente folhas de cana-de-açúcar sadias de folhas com senescência e de folhas infectadas por agentes patogênicos causadores das doenças da ferrugem alaranjada, estria vermelha e mosaico. Para a análise de diferença, observou-se que a maior diferença entre os espectros ocorreu na região do visível, principalmente na região da luz verde (Figura 11-a). Na análise de sensibilidade, os maiores valores variaram de acordo com a classe (Figura 11-b). Na amostra de folha infectada com mosaico ocorreu em 347 nm, na amostra de folha infectada com ferrugem em 537 nm, na amostra de folha infectada com estria vermelha ocorreu em 531 e na folha em estágio de senescência em 472 nm.

Figura 11 – a) Análise de diferença e b) análise de sensibilidade entre folhas de cana-de-açúcar saudáveis, infectadas por patógenos e em estágio de senescência



Fonte: Adaptado de Moriya (2015).

2.4.7 Análise de Correlação

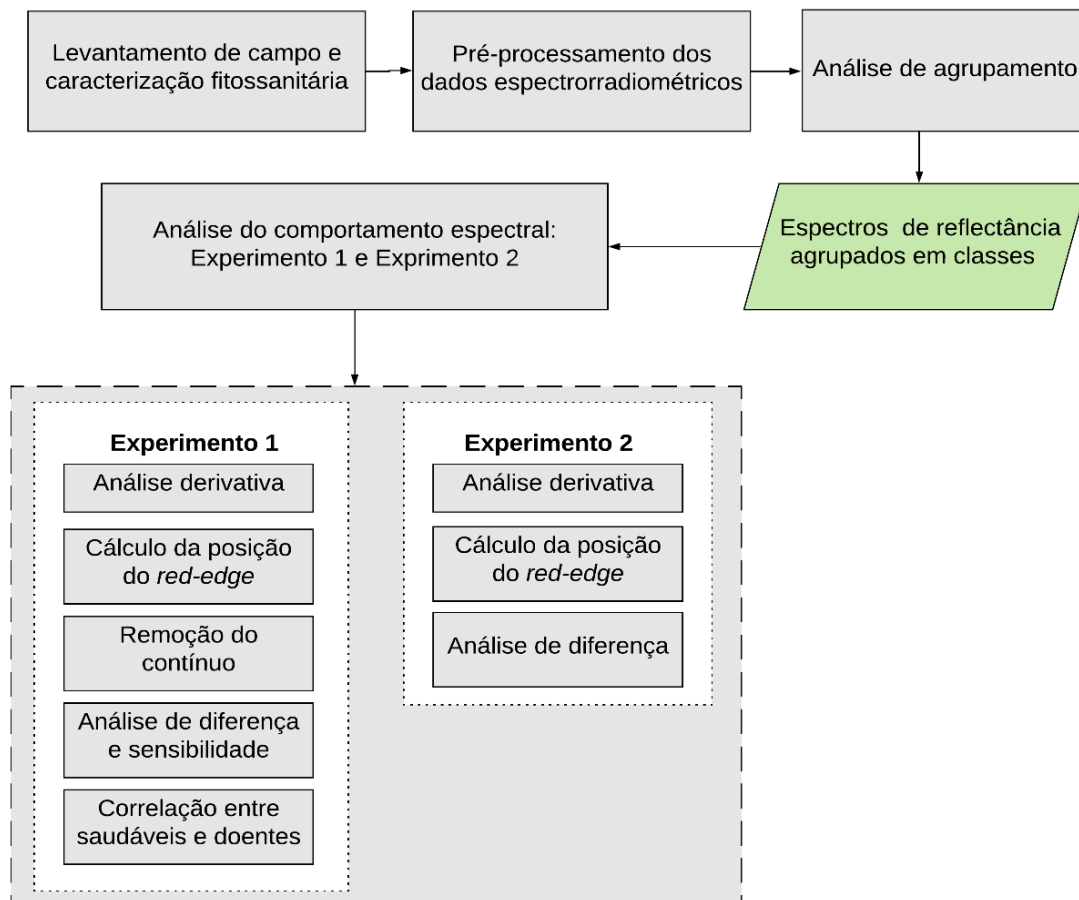
A análise de correlação é realizada a partir do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson em cada comprimento de onda do espectro. O coeficiente é calculado entre as folhas saudáveis e folhas que sofrem algum estresse ocasionado por doenças ou outras deficiências, por exemplo (MALTHUS e MADEIRA, 1993). Prabhakar et al. (2011) utilizou a análise de correlação para definir comprimentos de onda que diferenciassem espectralmente folhas de algodão saudáveis das atacadas pela cigarrinha (*Hemiptera: Cicadellidae*). Os comprimentos de onda com altos valores de coeficiente de correlação absoluto em diferentes picos ao longo do espectro foram consideradas como bandas sensíveis para relacionar os espectros de refletância com a infestação da cigarrinha, enquanto aqueles com pequenos coeficientes de correlação absoluta são considerados não relacionados ao dano ocasionado pela praga.

Moriya (2015b) utilizou a análise de correlação em dados hiperespectrais de folhas de cana-de-açúcar para determinar comprimentos de onda sensíveis na diferenciação espectral entre plantas saudáveis de plantas infectadas por agentes patogênicos e plantas em estágio de senescência. No trabalho de Moriya (2015b), foram avaliadas folhas saudáveis, folhas contaminadas por ferrugem alaranjada, folhas contaminadas por estria vermelha e folhas em estágio de senescência apresentando necroses. A análise de correlação dos espectros permitiu que os autores identificassem comprimentos de onda tanto na região do visível como no infravermelho próximo com potencial de diferenciar as folhas de cana-de-açúcar saudável das folhas infectadas por patógenos e folhas em estágio de senescência.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento metodológico teve início com o trabalho de campo em duas áreas com pomares de citros onde foram adquiridas medidas de reflectância espectral com o espectrorradiômetro e informações fitossanitárias de amostras de folhas provenientes de árvores infectadas por HLB e árvores não sintomáticas, denominadas como saudáveis. Em seguida, iniciou-se o trabalho de processamento dos dados e análises dos espectros de fator de reflectância pelos métodos de tratamento dos dados espectrorradiométricos. A Figura 12, em forma de fluxograma, traz as etapas da metodologia.

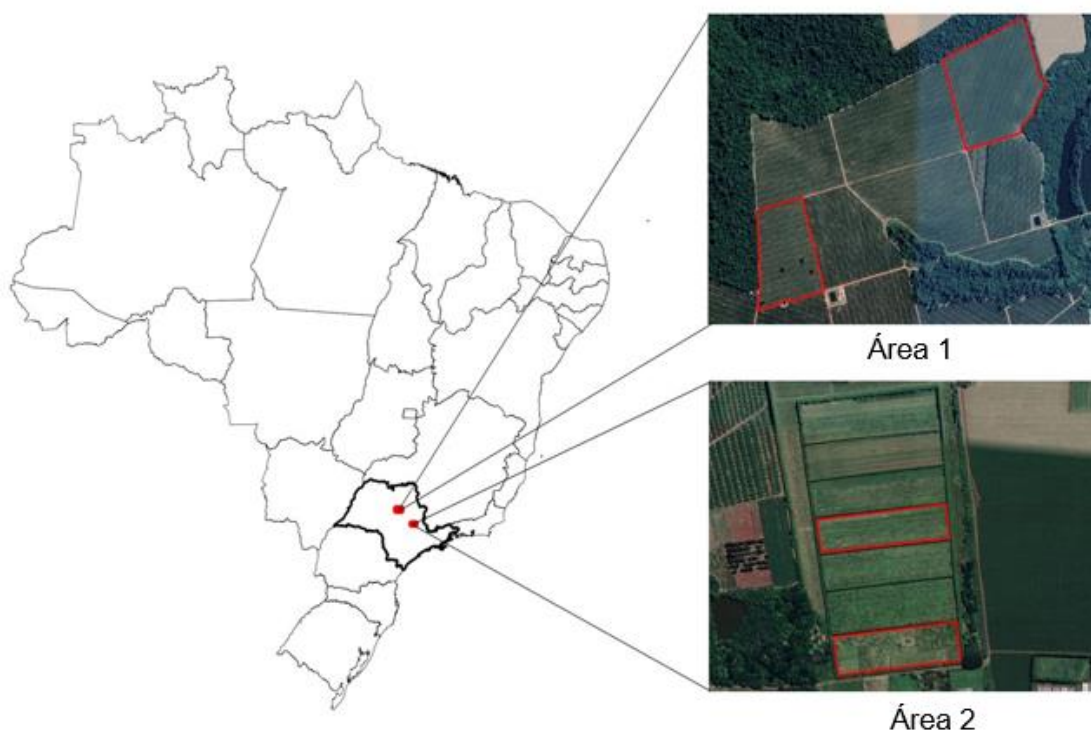
Figura 12 - Fluxograma dos procedimentos metodológicos



3.1 AQUISIÇÃO DE DADOS ESPECTRAIS E FITOSSANITÁRIOS EM CAMPO

Foram coletadas medidas de reflectância de folhas de citros em dois pomares localizados no interior de São Paulo, dentro do cinturão citrícola Paulista e do Triângulo/Sudoeste Mineiro, denominados como “área 1” e “área 2”. As atividades em campo ocorreram entre os dias 5 e 9 de outubro de 2020. É importante ressaltar que nesse período a região passava por período de seca e com altas temperaturas, portanto, os pomares apresentavam sintomas de estresse hídrico, até mesmo os irrigados artificialmente. A Figura 13 apresenta a localização aproximada das áreas de estudo, onde as áreas destacadas em vermelho são os pomares específicos de onde as folhas foram coletadas.

Figura 13 – Localização aproximada das áreas de estudo



A área 1 (Figura 14-a) trata-se de uma fazenda de grande porte, com pomares irrigados por gotejamento e que produz diversas variedades de citros de maneira comercial, ou seja, com rigoroso manejo de pragas e doenças. O manejo inclui a erradicação de plantas sintomáticas, portanto, os sintomas de HLB eram muito sutis nas plantas avaliadas, todas com nível 1 de severidade, ou seja, até

25% de comprometimento da copa. Já a área 2 (Figura 14-b), acessada graças à parceria com o Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”, é um pomar voltado para estudos e pesquisas, sem irrigação artificial, onde as plantas estão distribuídas com maior espaçamento dentro do talhão e estão em um nível mais avançado de comprometimento com a doença, entre os níveis 2 (entre 26 e 50% de comprometimento) e 4 de severidade (entre 76 e 100% de comprometimento).

Figura 14 – Espaçamento entre as árvores na a) área 1 e na b) área 2



Na área 1, as plantas identificadas com HLB foram previamente sinalizadas por inspetores da fazenda. Em seguida, foram coletadas 6 folhas de cada árvore, sendo 1 folha sem nenhum sintoma de clorose, denominada como assintomática, e outras 5 folhas com sintomas de HLB, geralmente clorose assimétrica com diferentes intensidades. Também foram coletadas folhas de plantas sem HLB, denominadas como saudáveis, e plantas com sintoma de deficiência de zinco (clorose simétrica). Todas as amostras são da variedade Pera com porta-enxerto Swingle (Tabela 3).

Na área 2 a coleta ocorreu de maneira semelhante, porém, por se tratar de um pomar para fins de pesquisa, não havia indivíduos saudáveis. Portanto, foram coletadas amostras apenas de plantas infectadas com HLB, sendo 1 folha

assintomática e 5 folhas sintomáticas para cada árvore. Neste caso, foram coletadas informações de quatro variedades diferentes de citros, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Informações sobre as árvores de citros amostradas em campo				
	Variedade	Porta-enxerto	Maturação	Idade
Área 1	Laranja Pera	Swingle	Meia-estação	6 anos
	Laranja Hamlin	Limão-cravo	Precoce	5 anos
Área 2	Laranja Natal	Limão-cravo	Tardia	5 anos
	Laranja Pera	Limão-cravo	Meia-estação	5 anos

Em ambas as áreas, as coletas contaram com o acompanhamento de uma agrônoma especializada em fitopatologia para garantir a avaliação fitossanitária de cada árvore e realizar a classificação do nível de comprometimento com HLB. Todas as informações observadas foram registradas em uma planilha elaborada para este trabalho, conforme Figura 15, onde L e C se referem a localização da planta no pomar (L = linha e C = coluna), cipó, deficiência nutricional, orelha de coelho e brotação são condições possíveis de serem observadas em campo. Além disso, foi registrada a posição do sintoma de HLB na copa e o nível de comprometimento com a doença conforme orientação da Fundecitrus.

Figura 15 – Tabela para registro do estado fitossanitário das árvores de citros onde foram coletadas folhas para amostragem

L	C	Variedade:	Posição do sintoma:	Observações:
		Porta-enxerto:	 	
		Idade:		
HLB nível: ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ Orelha de coelho ☐ Brotação				
☐ Cipó ☐ Deficiência ☐ Outro.....				

Logo em seguida, as folhas foram levadas até uma mesa coberta por uma placa de EVA na cor preta para a tomadas de medidas com o espectrorradiômetro. A placa de EVA na cor preta tem como objetivo minimizar a influência da radiação de superfícies vizinhas nas medidas de radiância espectral do alvo. É válido

ressaltar que as folhas de citros possuem boa durabilidade após a sua retirada do galho, mantendo suas propriedades inalteradas.

Foi utilizado um equipamento FieldSpec® Handheld da *Analytical Spectral Devices* (ASD) (Figura 16-a), com intervalo espectral de 325-1075 nm, acoplado com um filtro, limitando o campo de visada (FOV) em 10° (ASD, 2003). As medidas foram tomadas entre 11:00 e 12:30 horas, no nadir, e a lente do espectrorradiômetro ficou cerca de 15 cm de distância da folha, resultando em um diâmetro de aproximadamente 2.6 cm para a área amostrada (IFOV). Cada folha foi medida individualmente e cada medida foi tomada dez vezes a fim de se obter uma média de cada folha. Todas as folhas da área 1 tiveram suas superfícies adaxial e abaxial medidas pelo espectrorradiômetro. Todo material coletado e medido espectralmente também foi fotografado para futuras consultas. A Figura 17 exemplifica a foto registrada para as amostras de cada árvore.

Figura 16 – a) Espectrorradiômetro FieldSpec® Handheld e b) placa Spectralon® utilizados em campo

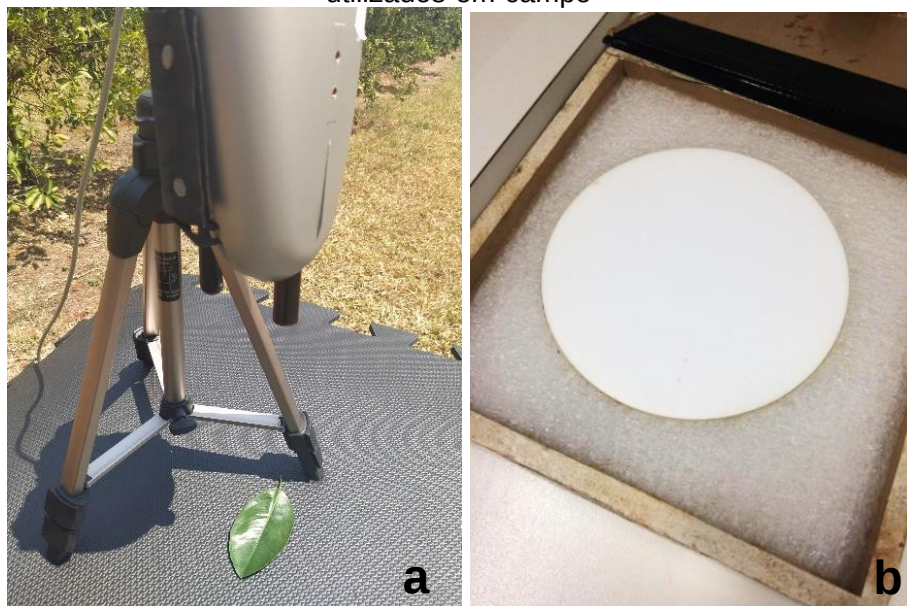


Figura 17 – Registro fotográfico das folhas amostradas



Antes da medição de cada conjunto de folhas de um indivíduo, foi tomada a medida de reflectância de uma placa Spectralon® (Figura 16-b), para, posteriormente, ser calculado o espectro de reflectância (ρ_A), calculado pela razão entre o fluxo radiante refletido pelo alvo (L_A) e o fluxo radiante refletido por uma superfície ideal e difusora (placa Spectralon®) (L_r), nas mesmas condições de geometria e iluminação (JENSEN, 2014). Como a placa Spectralon® utilizada em campo é um pouco degradada em relação a sua capacidade de superfície ideal e difusora, foi necessário calcular um fator de calibração (k) em relação a uma placa em perfeitas condições que se encontra em laboratório.

3.2 PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE DOS ESPECTROS DE REFLECTÂNCIA

As medidas de radiância adquiridas em campo foram processadas no aplicativo *ViewSpecPro™*, pertencente a empresa ASD, que permite a visualização gráfica dos dados e a exportação em formato de tabelas, entre outras funcionalidades. Nesse software os arquivos originais .asd foram convertidos para o formato .txt, e as dez medidas tomadas de cada folha foram registradas em um único arquivo, facilitando a manipulação dos dados nas etapas seguintes.

Com o objetivo de realizar as análises dos espectros com a média das dez medidas de radiância de cada folha, foi escrito um código na linguagem de

programação *python* para realizar o cálculo para vários arquivos de texto simultaneamente, retornando um único arquivo de texto com a média de radiância de todas as folhas de uma mesma área ou variedade de citros.

Então, foi calculado o espectro de reflectância dos alvos (ρ_A) a partir da Equação 12:

$$\rho_A = k \frac{L_A}{L_r} \quad (12)$$

Como exposto na seção anterior, L_A é a magnitude de radiância refletida pelo alvo em um intervalo de comprimento de onda; L_r é a magnitude de radiância refletida pela placa Spectralon® de campo no mesmo intervalo de comprimento de onda; e k é o fator de calibração da placa Spectralon® dado pela (13).

$$k = \frac{L_p}{L_c} \quad (13)$$

Em que L_p é a radiância da placa padrão medida em laboratório e L_c é a radiância da placa de campo.

Para suavizar os ruídos observados nos espectros de reflectância, foi aplicado o filtro de média móvel. Foi escolhido o filtro de tamanho 10, pois dentre os testes realizados, este tamanho de filtro atendeu a suavização necessária.

A partir dos espectros devidamente filtrados, realizou-se análises de agrupamento por variáveis e pelo método de ligação *Ward*, que minimiza a variação intra-grupos e maximiza entre-grupos. A medida de distância utilizada foi o coeficiente de correlação. Essas análises foram realizadas no software *Minitab* e serviram para observar o quão semelhantes, ou não, as folhas se comportavam espectralmente. Nesta etapa foram realizados diversos testes e as comparações foram feitas entre folhas da mesma árvore e entre árvores. A partir dos agrupamentos observados, foram definidos dois experimentos, descritos no item a seguir.

3.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS DOS EXPERIMENTOS

No Experimento 1, referente a área 1, o objetivo foi encontrar comprimentos de onda que diferenciem espectralmente plantas de citros saudáveis de plantas contaminadas por HLB, e ainda, diferenciar folhas sintomáticas e assintomáticas das folhas não contaminadas por HLB. Além disso, no mesmo experimento, as análises também foram aplicadas às folhas com sintoma de deficiência de zinco, pois elas são abundantes na área e facilmente confundidas com folhas sintomáticas de HLB por também apresentar a clorose como sintoma. No Experimento 2, as três variedades de citros da área 2 foram comparadas espectralmente, sendo elas Laranja Hamlin, Laranja Natal e Laranja Pera. O objetivo dessa análise foi investigar se há diferenças espectrais entre variedades de citros contaminadas por HLB.

3.3.1 Experimento 1

A partir da análise de agrupamento foram definidas quatro classes espectrais e calculada a média aritmética de cada uma delas. As classes definidas (e o respectivo número de amostras por classe) foram: saudável ($n = 6$), assintomática ($n = 6$), HLB ($n = 5$) e deficiência de zinco ($n = 5$). Sendo que, havia mais amostras para a classe HLB, porém, para manter uma coerência com as outras classes, cujas amostras eram limitadas, o número de indivíduos amostrais da classe HLB foi reduzido.

A partir da média dos espectros de reflectância foram aplicados os métodos de análise espectral apresentados. As análises foram limitadas a região entre 400 e 900 nm, pois nas extremidades da curva, houve o registro de muito ruído, comum nesse tipo de equipamento, sendo uma prática usual descartar essas regiões espectrais em análises de comportamento espectral de alvos.

A análise derivativa por aproximação finita (TSAI e PHILPOT, 1998) foi adotada tanto para a face adaxial quanto para a abaxial, com o objetivo de evidenciar regiões, ou comprimentos de onda, que diferenciem as classes com eficiência. Após testes, a primeira derivada foi calculada adotando um intervalo de 7 nanômetros.

A posição do *red-edge*, ou REP, foi calculada pelo método de interpolação linear (GUYOT e BARET, 1988). Foram determinadas as posições das quatro classes, para as superfícies adaxiais.

A remoção do contínuo foi adotada para a face adaxial das folhas e foi aplicada em dois intervalos dentro de uma grande região do espectro, em 555 – 675 nm e em 550 – 750 nm. Essa região foi escolhida por ser importante quando se trata da absorção da radiação devido a pigmentos presentes na folha e que, comumente, sofrem alterações devido a algum estresse causado na planta.

A análise de diferença e sensibilidade, desenvolvida por Carter (1991), foi realizada para os dados de reflectância da face adaxial das folhas de citros. A diferença da reflectância foi calculada subtraindo o fator de reflectância da folha avaliada (HLB, assintomática e deficiência de zinco) pelo fator de reflectância da folha sadia. E a análise de sensibilidade foi calculada dividindo a diferença da reflectância da folha avaliada (HLB, assintomática e deficiência de zinco) pelo fator de reflectância da folha sadia. Em ambas os resultados foram multiplicados por 100, para representar resultados em porcentagem.

Por fim, uma análise de correlação entre as curvas foi realizada, comparando a curva espectral da classe saudável com as classes HLB sintomático e assintomático. Para isso, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson em cada comprimento de onda, e o resultado foi plotado em um espectro de correlação (PRABHAKAR et al., 2011).

3.3.2 Experimento 2

Com base na análise de agrupamento, as amostras da área 2 foram divididas em quatro classes, de acordo com a variedade de citros. Após remover os *outliers*, também com base na análise de agrupamento, os espectros de reflectância da variedade Laranja Natal consistiram em medidas referentes a 45 folhas, da Laranja Hamlin 36 folhas e da Laranja Pera 44 folhas. Assim como no Experimento 1, a análise derivativa por aproximação finita foi adotada para os espectros de reflectância. Para a derivada de primeira ordem, após testes, foi escolhido o mesmo intervalo de 7 nm. Por fim, os espectros do Experimento 2 foram comparados com

os espectros das classes saudável e HLB do Experimento 1. Também foram analisados os espectros de diferença entre o espectro HLB e os espectros das variedades Natal, Hamlin e Pera.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EXPERIMENTO 1

4.1.1 Análise dos espectros de reflectância

Na Figura 18, onde a média dos espectros de reflectância referentes a face adaxial das folhas de cada classe são representadas, observa-se que os espectros apresentam comportamento típico de vegetação, com as feições de absorção da clorofila na região de luz visível do espectro eletromagnético e com alto fator de reflectância no infravermelho próximo. Apesar das semelhanças, existem alguns comportamentos que diferenciam as classes, sendo:

- O espectro referente a classe HLB possui maior reflectância na região da luz visível quando comparada com as demais classes;
- Os espectros assintomática e deficiência de zinco possuem o mesmo comportamento na região da luz visível;
- No infravermelho próximo, a classe HLB tem menor reflectância que as classes saudável e assintomática, e maior reflectância que a classe deficiência de zinco;
- A classe deficiência de zinco tem a menor reflectância na região do infravermelho próximo, indicando uma estrutura interna mais homogênea;
- Na região do *red-edge*, percebe-se que a inclinação e a posição das feições são distintas entre as quatro classes.

Esses comportamentos podem ser atribuídos a diminuição da concentração de clorofila nas folhas sintomáticas de HLB, o que, conseqüentemente, acarreta um aumento da reflectância na região da luz visível do espectro eletromagnético. Enquanto alterações estruturais nas células das folhas, como a diminuição dos espaços vazios entre as estruturas internas, podem ser responsáveis pela maior absorção no infravermelho próximo. Nota-se que, possivelmente, folhas assintomáticas possuam alguma dessas alterações estruturais, por isso, seu fator de reflectância no NIR está entre a classe saudável e a classe HLB.

Esses comportamentos são muito semelhantes aos resultados observados por Deng et al. (2019) que, ao realizar um estudo em um pomar de citros na China,

comparou espectros de reflectância dos grupos saudável ($n = 90$), HLB ($n = 108$) e assintomática ($n = 108$) e constatou que a reflectância entre 500 e 670 nm foi menor na classe saudável do que no HLB, porém superior a classe assintomática. O oposto ocorreu entre 720 e 1000 nm, onde a reflectância do saudável foi maior do que ambos os grupos contaminados por HLB.

Os resultados também podem ser comparados com os obtidos por Wang et al. (2019), que comparou espectros de reflectâncias de folhas de citros da espécie *Citrus sinensis* cv. *Newhall*, coletadas em um pomar com 13 anos de idade localizado na China. Entre 400 e 860 nm, aproximadamente, o grupo positivo para HLB com clorose nas folhas apresentou reflectância maior que o grupo de folhas negativo para HLB (equivalente ao saudável) também com clorose. O mesmo ocorreu para folhas sem clorose, ou seja, o grupo com HLB apresentou maior reflectância do que o grupo de folhas com exame PCR negativo para HLB. Já no infravermelho próximo, os grupos com clorose refletiram com a mesma intensidade, enquanto o grupo sem clorose positivo para HLB teve reflectância maior do que o grupo saudável sem clorose.

A Figura 19 apresenta a mesma média apresentada na Figura 18, porém acrescentada de seus respectivos desvios padrões. É possível observar que, em quase todas as regiões do espectro, as classes se sobrepõem. Os maiores desvios padrões ocorreram nas classes saudável e assintomática, esse fato pode ser atribuído pela variedade das folhas. Apesar das árvores serem da mesma idade, as folhas coletadas podem ser de períodos de crescimento diferentes, ou seja, folhas mais jovens (brotadas a pouco tempo) ou folhas mais antigas. Os desvios padrões dos grupos HLB e deficiência de zinco podem ser atribuídos pela variedade no sintoma da doença e da deficiência nutricional, respectivamente, pois, em ambos os casos, pode haver variação na intensidade da clorose. Deng et al. (2019) observou maior desvio padrão nos grupos HLB e saudável, próximo a 0.12 na região do infravermelho próximo, enquanto a classe assintomática alcançou um desvio padrão máximo de 0.9, também no infravermelho próximo.

Figura 18 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros

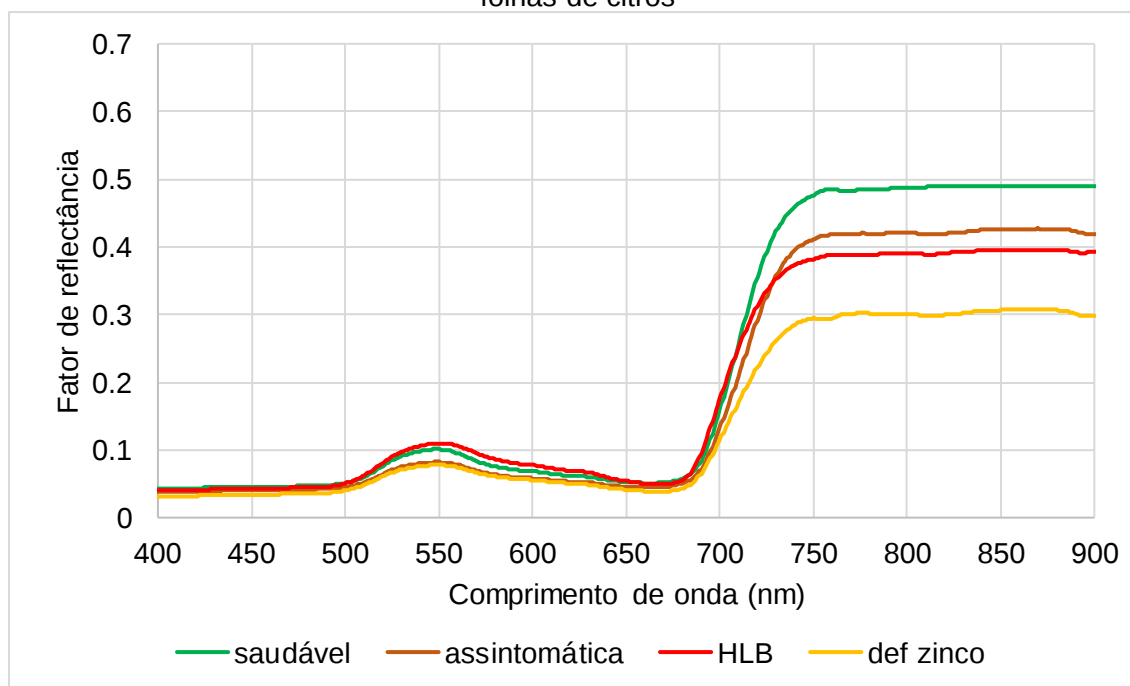
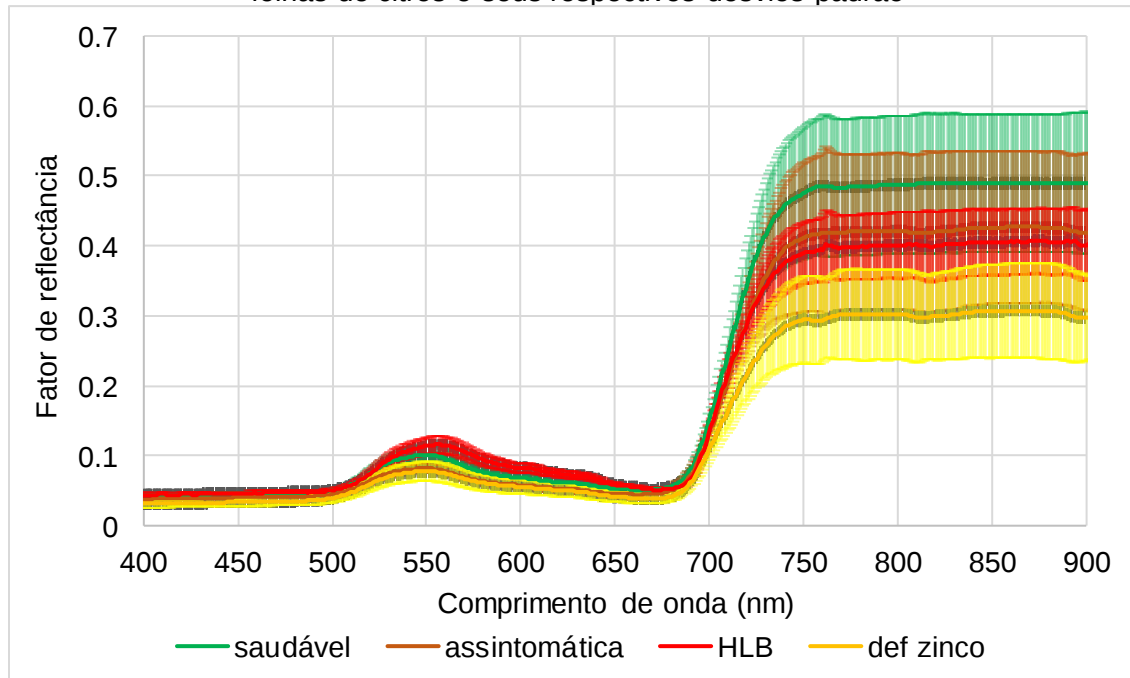


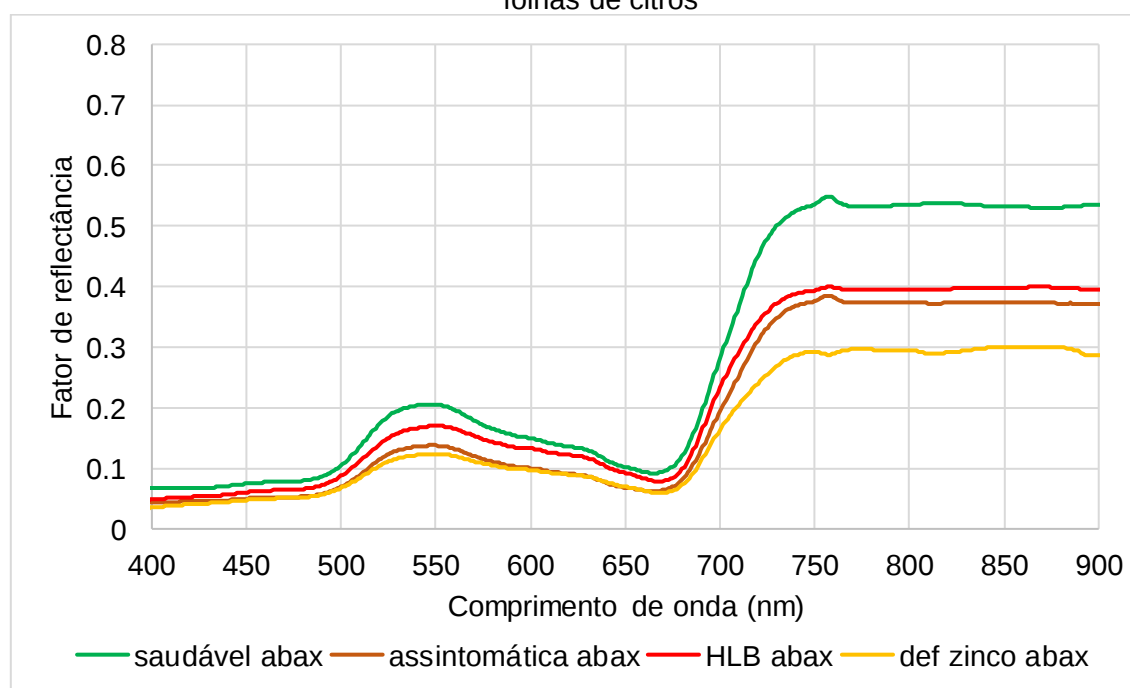
Figura 19 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros e seus respectivos desvios-padrão



As médias da superfície abaxial de cada classe são apresentadas na Figura 20 e seus respectivos desvios padrões na Figura 21. Os espectros também apresentam características espectrais típicas de vegetação. No entanto, na região

da luz visível o fator de reflectância é maior do que as médias da superfície adaxial das folhas, isso pode ser atribuído ao arranjo dos cloroplastos na face abaxial, ou seja, elas absorvem menor quantidade de radiação solar do que a face adaxial (Figura 18). Ainda na região da luz visível, o grupo de folhas saudáveis foi o que teve maior fator de reflectância, e a classe deficiência de zinco, o menor. A classe assintomática teve comportamento semelhante a classe deficiência de zinco, enquanto HLB ficou entre a média das saudáveis e assintomáticas.

Figura 20 – Espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros

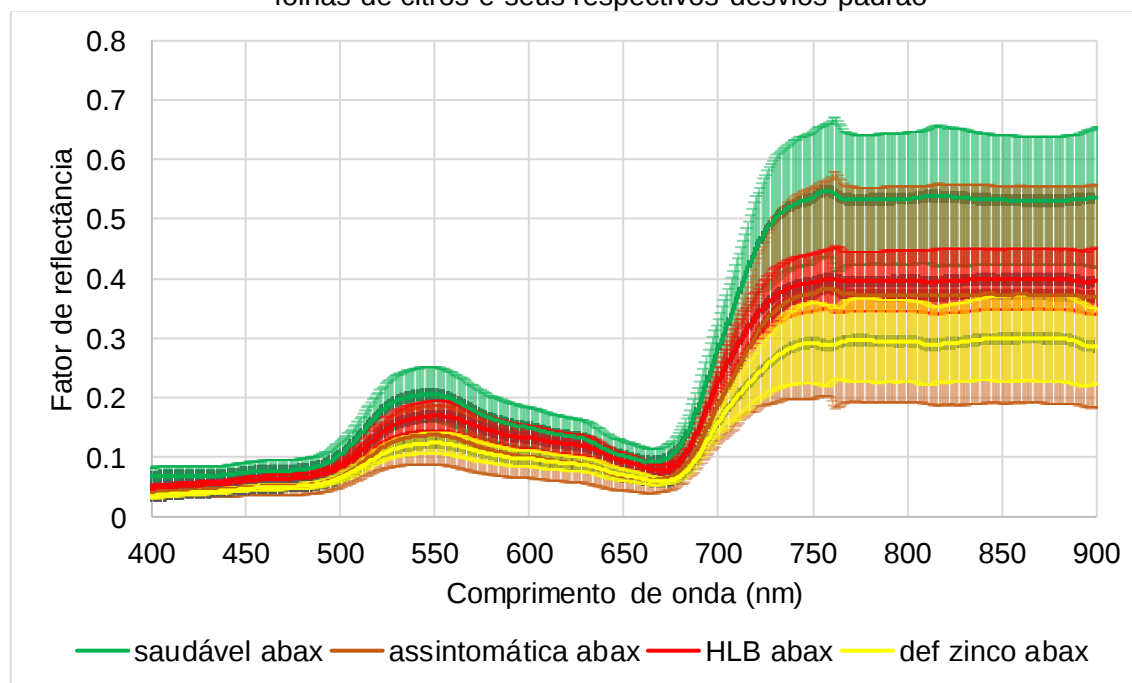


Na região do infravermelho próximo, o grupo saudável apresentou os maiores valores de fator de reflectância, superiores a 0.50. As classes HLB e assintomática apresentaram valores semelhantes, próximos a 0.40. Já a classe deficiência de zinco apontou os menores valores, próximos a 0.30.

O intervalo do *red-edge* demonstrou ser importante na diferenciação de folhas saudáveis e infectadas por HLB, pois a inclinação da feição no espectro *saudável* se diferencia consideravelmente dos espectros HLB e assintomática, e o espectro deficiência de zinco se diferencia das demais. Dessa forma, o intervalo do *red-edge* observado na análise espectral de reflectância apresentou um indicativo

de que seria importante determinar a posição do *red-edge*, cujos resultados serão apresentados na secção 1.1.4 do Experimento 1.

Figura 21 – Espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros e seus respectivos desvios-padrão

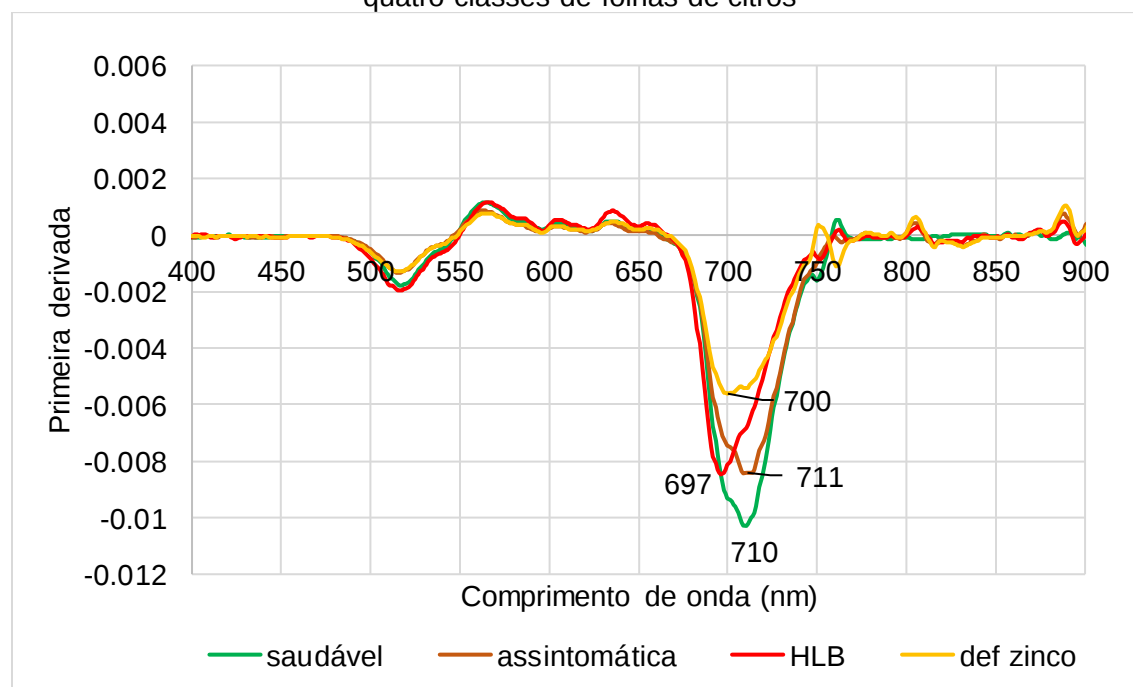


Os espectros de ambas as superfícies das folhas de citros, adaxial e abaxial, mostram que folhas assintomáticas e sintomáticas possuem feições e intensidades semelhantes na região do NIR, mostrando o potencial dessa região do espectro para diferenciar indivíduos saudáveis de contaminados por HLB. Isso também pode ser uma evidência de que há semelhanças entre as classes, ou seja, apesar de não apresentar sintomas visíveis do *greening*, as folhas assintomáticas podem ter passado por alguma mudança estrutural em suas células. Wang et al., (2019) observaram que a reflectância no espectro médio de folhas com HLB foi maior do que as folhas saudáveis em ambas as superfícies, adaxial e abaxial, e para os autores isso significa que o tecido foliar infectado com HLB tem características distintas que o diferenciam espectralmente.

4.1.2 Análise derivativa

A análise derivativa de primeira ordem da face adaxial das folhas de citros, exibida na Figura 22, mostra que a classe que mais se diferencia das demais é a deficiência de zinco, principalmente na região do *red-edge* (próximo a 700 nm) e no comprimento de onda 750 nm. Esse resultado indica que folhas com sintoma dessa deficiência nutricional possuem mudanças estruturais celulares diferentes que não ocorrem nas folhas com HLB, apesar dos sintomas visíveis ao olho nu resultantes da clorose serem semelhantes em muitos casos.

Figura 22 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância da face adaxial das quatro classes de folhas de citros

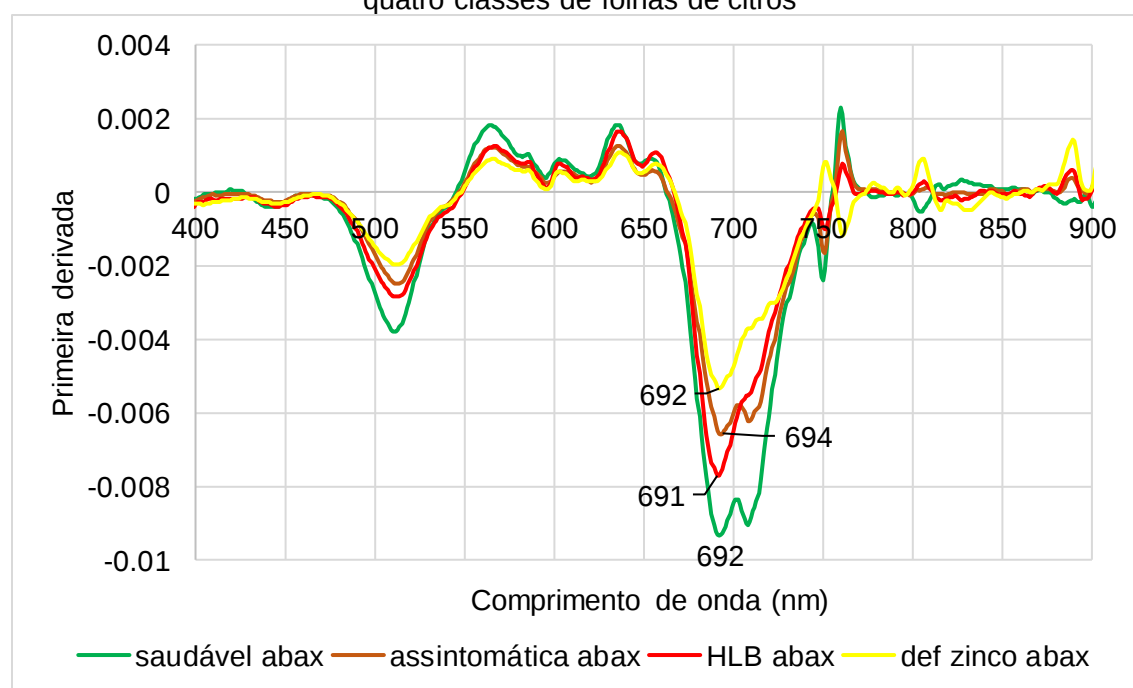


As classes HLB e saudável se diferenciam com maior evidência no *red-edge*. A maior taxa de variação do fator de reflectância em relação ao comprimento de onda ocorre em 697 nm para o grupo com HLB e em 710 nm para o grupo de folhas de indivíduos saudáveis. O grupo de folhas assintomáticas possui comportamento semelhante ao grupo saudável, com o valor de mínimo da derivada em 711 nm. Esses vales negativos (valor de mínimo) nos espectros de derivadas de primeira ordem são comumente associados a posição do *red-edge*. Portanto, percebe-se que essa feição é importante na separabilidade das classes. Além disso, esse

deslocamento no valor de mínimo da classe HLB (697 nm) em comparação ao espectro saudável (710 nm) em direção aos menores comprimentos de onda, conhecido como *blue shift*, também é uma indicação de estresse da vegetação (HORLER et al., 1983; LICHTENTHALER et al., 1996).

O resultado do cálculo da primeira derivada para os dados da face abaxial das folhas é apresentado na Figura 23. No pequeno intervalo entre 510 e 515 nm as classes apresentaram uma sutil separabilidade. A feição do espectro saudável tem um vale negativo próximo a -0.0040 enquanto a classe HLB, nessa região, tem como menor valor -0.00285.

Figura 23 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância da face abaxial das quatro classes de folhas de citros



A maior diferença entre as quatro derivadas ocorre na região do *red-edge*, assim como na primeira derivada da superfície adaxial. É nessa região do espectro eletromagnético, próximo a 700 nm, que o espectro HLB apresenta feição e magnitude diferente das demais. As classes saudável e deficiência de zinco apresentam um “vale duplo” negativo, enquanto o espectro HLB apresenta um único vale negativo centrado em 691 nm e com magnitude -0.0079.

O comprimento de onda 700 nm, juntamente com 550 nm, foram observados por Lichtenthaler et al. (1996) como sendo altamente correlacionado com a

quantidade de clorofilas *a* e *b* em folhas de tabaco da espécie *Nicotiana tabacum* L. Os autores também criaram dois índices de vegetação baseados na razão da reflectância nesses comprimentos de onda pela reflectância em 750 nm (R_{750}/R_{550} e R_{750}/R_{700}). O 750 nm foi escolhido por ser um comprimento de onda onde não há tanta sensibilidade em relação a quantidade de clorofilas, funcionando como um “parâmetro de reflectância padrão”. Os autores concluíram que esses índices se correlacionam com o conteúdo de clorofila de uma maneira linear, sendo mais sensíveis ao pigmento do que o índice NDVI quando se trata de folhas com média ou alta concentração de clorofila.

4.1.3 Remoção do contínuo

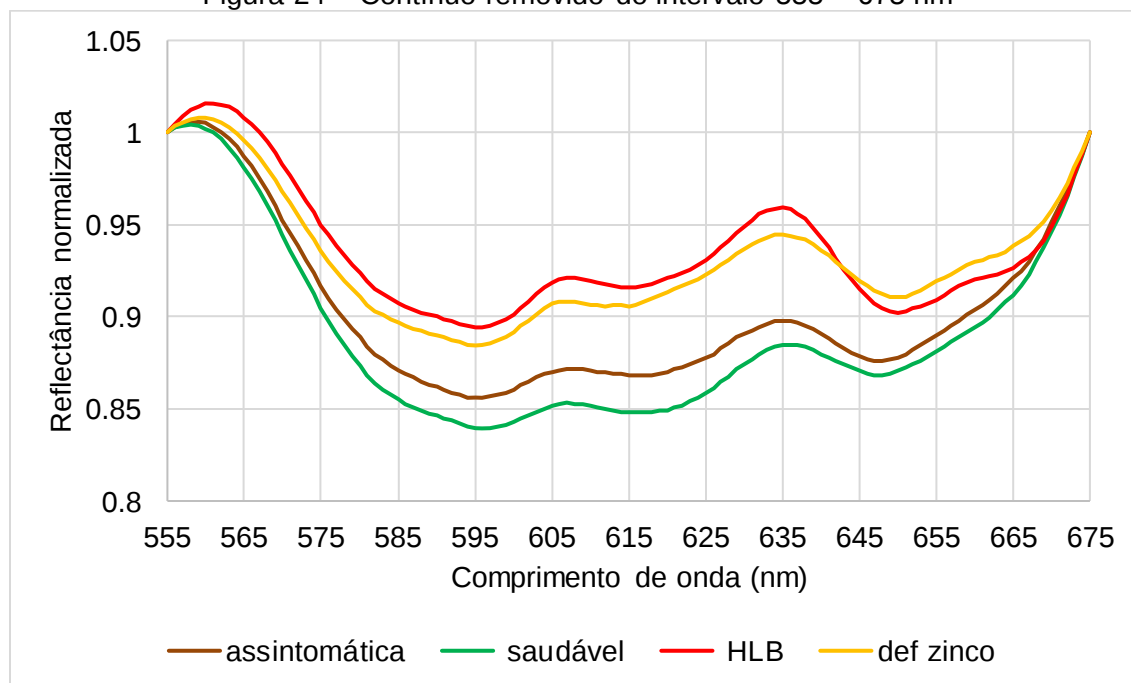
A técnica de remoção do contínuo foi aplicada nos espectros da face adaxial com o objetivo de maximizar os efeitos das feições de absorção espectral, principalmente aqueles relacionados com os pigmentos fotossinteticamente ativos. Para isso, foram escolhidos dois intervalos no espectro eletromagnético, entre 555 e 675 nm e entre 550 e 750 nm, ambos relevantes na detecção de alterações relacionadas a estresses na vegetação. A região entre 555 e 675 nm compreende a luz vermelha na região visível do espectro e está associada a presença das clorofilas *a* e *b*, ambas absorvem a energia nesses comprimentos de onda para realizar a fotossíntese.

Na Figura 24 são representadas as feições das quatro classes com o contínuo removido no intervalo 555 – 675 nm. Observa-se que o espectro saudável tem os menores valores de reflectância normalizada enquanto o espectro *HLB* os maiores valores até 643 nm. Isso evidencia a perda da clorofila em plantas com *HLB*. Outro resultado é o espectro da reflectância normalizada assintomática não apresentar os mesmos valores que a curva saudável, mesmo que, a olho nu, ambas sejam muito semelhantes, isso pode demonstrar o início de uma degradação da clorofila na folha, que se intensificará com o passar do tempo e avanço da doença.

O espectro referente a deficiência de zinco na folha tem valores de reflectância normalizada muito próximos do espectro *HLB*. Tal comportamento é esperado uma vez que ambos os grupos possuem folhas com aspecto amarelo

indicando a presença de pigmentos que não absorvem toda a energia nessa região do espectro.

Figura 24 – Contínuo removido do intervalo 555 – 675 nm

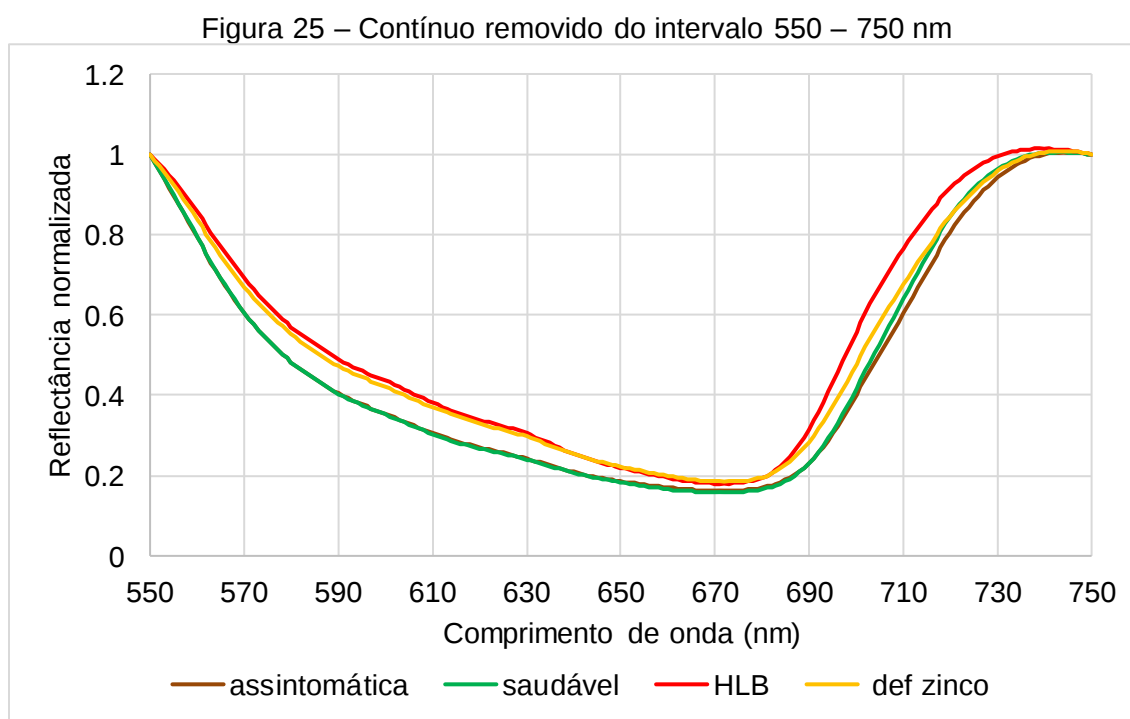


Na Tabela 4 são apresentados os resultados dos parâmetros da feição com o contínuo removido no intervalo 555 – 675 nm para as quatro classes. No geral, a classe de folha saudável apresentou parâmetros com valores distintos das demais classes, mesmo quando a diferença foi muito pequena. Os parâmetros que mais se destacaram foram altura, largura e área. A altura e a largura da feição da classe HLB obtiveram resultados que evidenciam a diferença entre as curvas de reflectância normalizada HLB e a saudável. Além disso, esses mesmos parâmetros também diferenciaram a classe HLB da classe deficiência de zinco.

Tabela 4 – Parâmetros da feição com o contínuo removido no intervalo 555 – 675 nm

INTERVALO: 555 - 675 nm						
Classe	Altura	Posição	Meia altura	Largura	Assimetria	Área
Saudável	0.1606	596	0.0803005	93	2.7970918	13.209947
Assintomática	0.14386	595	0.07193077	93	3.0434048	11.722316
HLB sintomática	0.10579	595	0.05289348	95	3.3069831	7.6964113
Deficiência de zinco	0.11558	595	0.05779235	92	2.7581508	8.3706535

Outra feição escolhida para análise de comportamento espectral pelo método da remoção do contínuo foi o intervalo que abrange a região do vermelho e do *rededge*, desde o pico de reflectância em 550 nm e início do “platô” de alta reflectância no infravermelho próximo. Na Figura 25, observa-se que os espectros das classes saudável e assintomática são praticamente idênticos em toda feição. Já os espectros HLB e deficiência de zinco também se assemelham muito entre si até o comprimento de onda de 684 nm, quando o espectro HLB passa a ter maiores valores de reflectância normalizada do que o espectro que representa a deficiência nutricional.



A região é semelhante a escolhida por Breunig et al. (2007) (550 – 720 nm) para discriminar espectralmente diferentes dosagens de nitrogênio aplicadas no trigo, utilizando o método de remoção do contínuo. Os autores observaram que o parâmetro área apresentou valores crescentes conforme o aumento da dosagem de nitrogênio e, conseqüentemente, da quantidade de água presente na estrutura foliar. Sendo que, a concentração desse elemento está diretamente relacionada a maior absorção da REM pelos pigmentos fotossinteticamente ativos.

No contexto descrito, a feição do espectro HLB foi a que apresentou a menor área dentre as classes (93.3), enquanto as classes saudável e assintomática apresentaram áreas praticamente idênticas, 105.9 e 106.8 respectivamente, como mostra a Tabela 5. Esse resultado pode indicar a menor concentração de nitrogênio, parte integrante da molécula de clorofila, nas folhas sintomáticas. Esse resultado corrobora com as evidências de que a folha sintomática de HLB sofre um estresse causado pela doença e pode ser diferenciada espectralmente de folhas saudáveis.

Tabela 5 - Parâmetros da feição com o contínuo removido no intervalo 550 – 750 nm

INTERVALO: 550 - 750 nm						
Classe	Altura	Posição	Meia altura	Largura	Assimetria	Área
Saudável	0.84118	671	0.42059065	136	0.3889656	105.90563
Assintomática	0.83721	671	0.41860749	137	0.419798	106.81732
HLB sintomática	0.81991	672	0.40995405	122	0.3589821	93.32117
Deficiência de zinco	0.81504	672	0.40752044	130	0.3821525	97.605992

4.1.4 Posição do *red-edge*

Estudos indicam que medições da posição da borda vermelha são valiosas para avaliação da concentração de clorofila vegetativa e índice de área foliar e, além disso, são adequadas para detecção precoce de estresse (HORLER et al., 1983; LICHTENTHALER et al., 1996). A posição do *red-edge* demonstrou ser dependente não apenas do conteúdo de clorofila, mas também de efeitos adicionais, como, o estágio da folha e seu conteúdo de água (HORLER et al., 1983).

A Tabela 6 apresenta os resultados da determinação da posição do *red-edge* a partir do método de interpolação linear para a face adaxial das folhas. A classe HLB teve sua REP definida em 708.86 nm enquanto para a classe saudável a posição foi definida em 714.53 nm. Esse resultado vai ao encontro do resultado da análise derivativa de primeira ordem, onde a classe HLB, quando comparada com as demais, demonstra ter deslocamento de posição no sentido dos comprimentos de onda menores (*blue shift*).

Tabela 6 – Posição do *red-edge* (REP) nos espectros de fator de reflectância da face adaxial

Classe	REP (nm)
Saudável	714.53
Assintomática	715.35
HLB sintomática	708.86
Deficiência de zinco	712.98

O conjunto de folhas assintomáticas teve sua REP definida em 715.35 nm, próxima a classe saudável. A classe deficiência de zinco obteve resultado próximo da classe saudável do que da classe HLB, novamente, indicando uma diferenciação em relação a folhas sintomáticas de HLB apesar da semelhança visual da clorose.

Também foi realizado o cálculo da posição do *red-edge* considerando os desvios padrões dos espectros de reflectância, apresentados na Figura 19. A Tabela 7 apresenta os resultados do cálculo da posição do *red-edge* para o limite inferior e o limite superior do intervalo considerando um desvio padrão abaixo da média e um desvio padrão acima da média. Nota-se que os possíveis comprimentos de onda da REP da classe HLB não se sobrepõe com os intervalos das outras classes, principalmente da saudável e assintomática. Esse resultado é um indício de que o uso dessa região do espectro possa ser eficiente na detecção de indivíduos contaminados por HLB em pomares de citros.

Tabela 7 – Posição do *red-edge* (REP) nos espectros de fator de reflectância da face adaxial considerando o desvio padrão

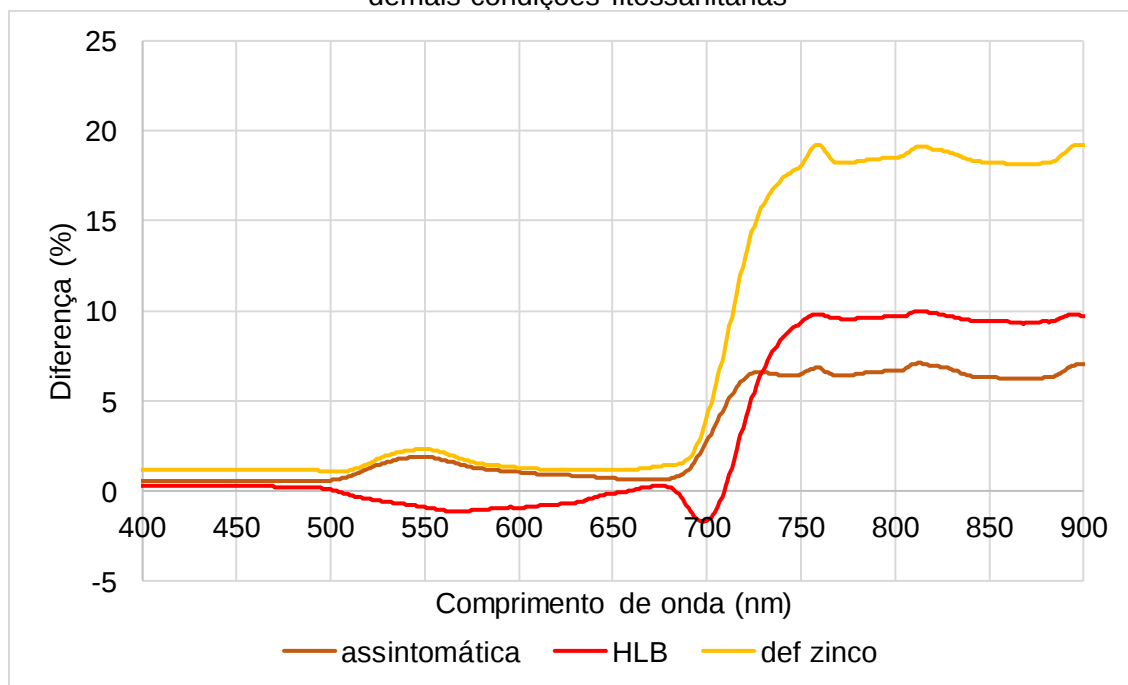
	REP - desvio padrão limite inferior (nm)	REP - desvio padrão limite superior (nm)
Saudável	712.46	715.75
Assintomática	712.05	717.03
HLB sintomática	707.53	709.84
Deficiência de zinco	711.23	714.05

4.1.5 Análises de diferença e sensibilidade

Com o objetivo de evidenciar as feições espectrais que diferenciam a classe saudável das demais, principalmente da HLB e da assintomática, foram elaborados

espectros de diferença. Para isso, os espectros de reflectância das classes HLB, assintomática e deficiência de zinco foram subtraídas dos espectros de reflectância saudável e o resultado são os espectros de diferença apresentadas na Figura 26.

Figura 26 – Diferença entre os espectros de reflectância das folhas saudáveis e as demais condições fitossanitárias



A partir dessas curvas da diferença entre os espectros de reflectância (Figura 26) observou-se que as feições das classes assintomática e deficiência de zinco são semelhantes, com diferenças na magnitude a partir da região do *red-edge*. O espectro de reflectância de deficiência de zinco foi o que mais se diferenciou do saudável, em todos os comprimentos de onda, mas principalmente no infravermelho próximo (até 19%). Na região da luz visível, isso pode ser explicado pela diminuição da clorofila, que ocasiona na maior evidência de outros pigmentos, como carotenos, que proporcionam uma coloração amarelada na folha. Nesse espectro foi obtido o maior valor de diferença, em 760 nm (19.23%), no início da região do infravermelho próximo.

O espectro da classe assintomática apresentou pequena diferença na região do visível, principalmente na luz verde, e diferença pouco maior (até 7% em 815 nm) no infravermelho próximo. Esse resultado expressa a dificuldade em diferenciar

folhas saudáveis de folhas contaminadas por HLB sem a presença de sintomas cloróticos.

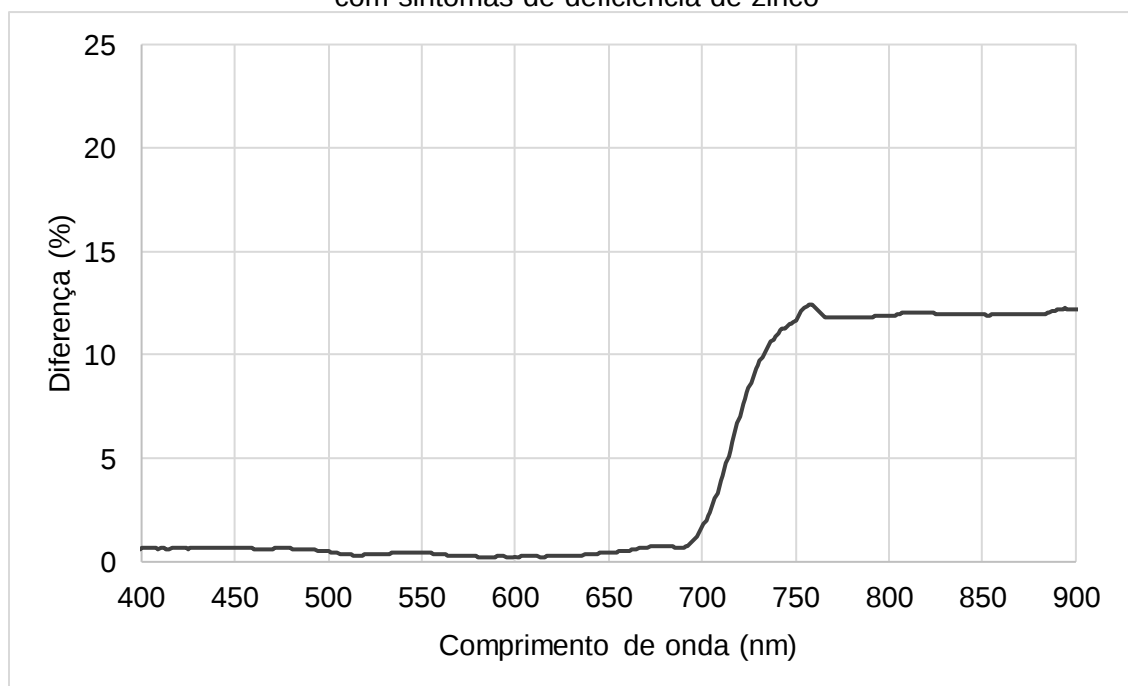
O espectro da classe HLB apresentou maior porcentagem de diferença do que o espectro da assintomática na região do infravermelho próximo, com diferença máxima de 10% em 813 nm e valores muito próximos a 10% em torno de 760 nm.

No comprimento de onda de 700 nm observou-se um 'vale' com valores negativos, e é válido ressaltar que essa feição não foi observada em nenhum dos outros espectros. Esse 'vale' em 700 nm é próximo da posição do *red-edge* calculada para a classe *HLB* em 708.86 nm, como foi apresentado na subseção anterior. Portanto, esse resultado pode ser mais uma evidência da relevância dessa região do espectro na distinção entre a classe saudável e HLB.

Na região do visível, mais precisamente entre 500 e 650 nm, o espectro da classe HLB apresenta um vale negativo de baixa magnitude. Esse resultado evidencia que, nessa região do espectro, a classe HLB tem maior fator de reflectância do que a classe saudável. Isso pode significar a diminuição da concentração de clorofila nas folhas com sintoma de HLB, e, a presença de pigmentos que causam o amarelamento das folhas.

Como os espectros de diferença entre saudável e assintomática e entre saudável e deficiência de zinco foram semelhantes na região do visível (Figura 26), também foi calculada a diferença entre os espectros da classe assintomática e da classe deficiência de zinco (Figura 27). Nota-se que, qualitativamente, não há diferença entre os espectros nos comprimentos de onda da luz visível e, somente a partir de 700 nm, é possível observar um aumento na diferença. A máxima diferença observada foi em 758 nm, entretanto, é uma diferença pequena, de 12.42%.

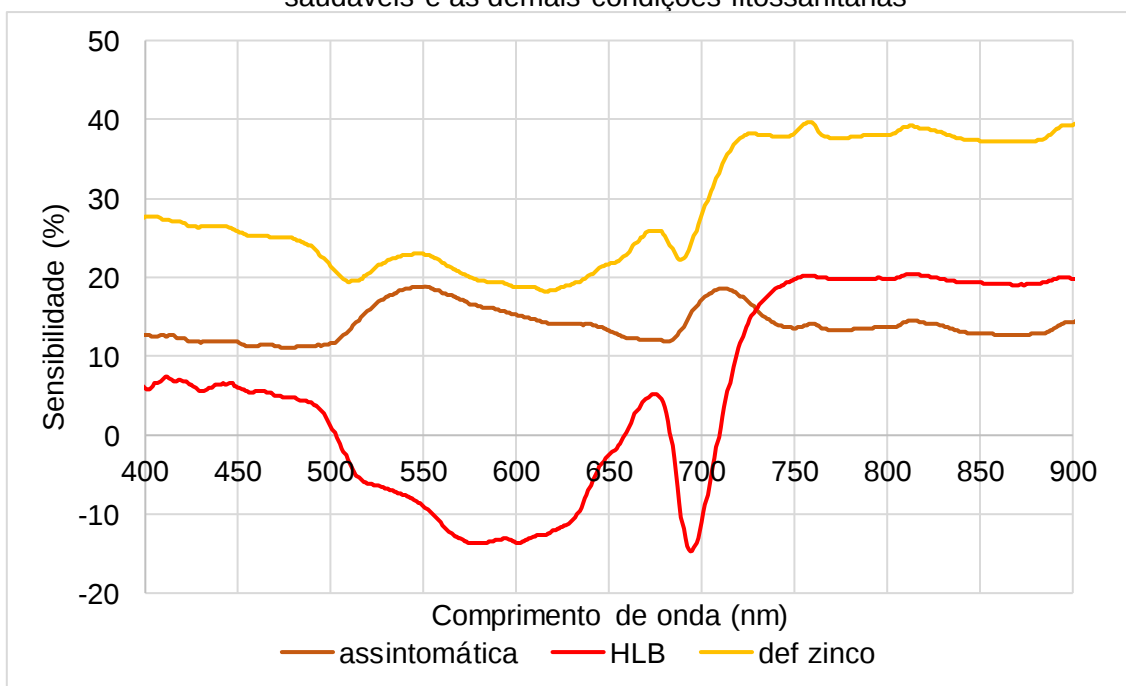
Figura 27 – Diferença entre os espectros de reflectância de folhas assintomáticas e folhas com sintomas de deficiência de zinco



Os espectros de sensibilidade relativa foram calculados para as classes HLB, assintomática e deficiência de zinco com o objetivo de identificar regiões e/ou comprimentos de onda sensíveis aos sintomas do *greening*, e o resultado pode ser observado na Figura 28. Como esperado, o espectro que representa folhas com sintoma de deficiência de zinco foi o que mostrou maior sensibilidade ao grupo de folhas saudáveis. Entre 725 e 900 nm a sensibilidade se manteve muito próxima de 40%. A região do visível também apresentou boa separabilidade, com valores de até 27%, nos comprimentos de onda entre 400 – 450 nm. Outros dois picos ocorreram em 550 nm (23%) e 675 nm (26%).

No espectro de sensibilidade da classe assintomática observam-se dois picos interessantes, um mais largo em 550 nm (19%) e outro mais estreito em 715 nm (18%). O pico em 715 nm coincide com o mesmo comprimento de onda encontrado no cálculo da posição do *red-edge*, conforme apresentado na subseção anterior. Esse resultado mostra que a região do *red-edge* pode ser importante na tentativa de detectar plantas de citros com HLB que ainda não apresentam sintomas. É válido ressaltar que a região do *red-edge* é conhecida por ser sensível ao estresse da vegetação.

Figura 28 – Análise de sensibilidade entre os espectros de reflectância das folhas saudáveis e as demais condições fitossanitárias



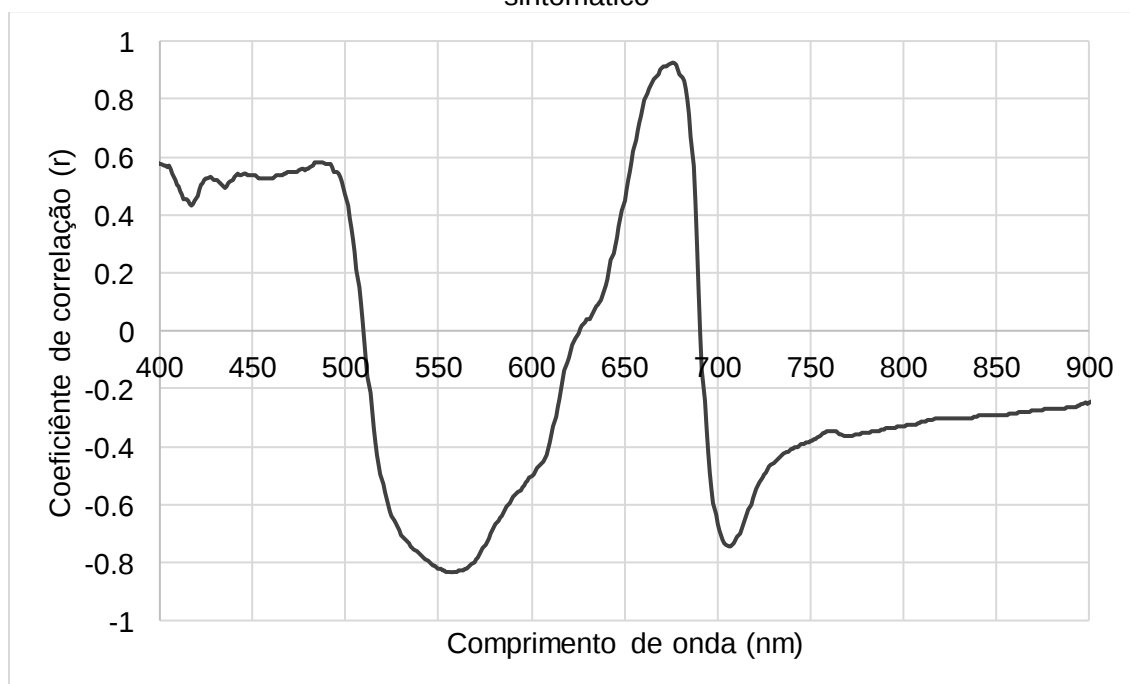
O espectro de sensibilidade da classe HLB possui dois picos negativos. O primeiro na região da luz visível, em uma feição que vai de 503 até 659 nm e pode estar relacionada aos pigmentos presentes na folha sintomática de HLB. Outra hipótese é a de que o amido acumulado nos cloroplastos das folhas infectadas com HLB é responsável pelo seu amarelamento (Pourreza et al., 2016).

O segundo pico negativo no espectro HLB encontra-se centrado em 694 nm, na região do *red-edge*. É interessante notar que a classe HLB apresenta espectro com feições distintas das outras duas classes, tanto na análise de diferença quanto na de sensibilidade. Isso mostra um potencial na distinção de citros com sintomas de *greening* de outras doenças e deficiências nutricionais, com a deficiência de zinco. Por fim, na região do infravermelho próximo, especificamente entre 750 e 900 nm, a sensibilidade relativa do HLB se mantém próxima em 20%. Tal sensibilidade, maior do que a obtida pela curva assintomática nessa mesma região, pode ser associada às mudanças nas estruturas celulares que ocorrem conforme o aparecimento dos sintomas.

4.1.6 Análise de correlação

A análise de correlação das amostras de folhas sadias *versus* folhas com sintomas de HLB, apresentada em forma de espectro de correlação na Figura 29, permitiu encontrar os comprimentos de onda onde os espectros das duas classes são menos correlacionados. Sendo que, um coeficiente de correlação próximo de zero indica que não há relação entre os espectros, e quanto mais eles se aproximam de 1 ou -1, mais forte é a relação. Os comprimentos de onda onde foram observados os menores coeficientes de correlação são 510 nm ($r = -0.033$), 625 nm ($r = -0.008$) e 691 nm (-0.008).

Figura 29 – Coeficiente de correlação entre folhas saudáveis e folhas com HLB sintomático

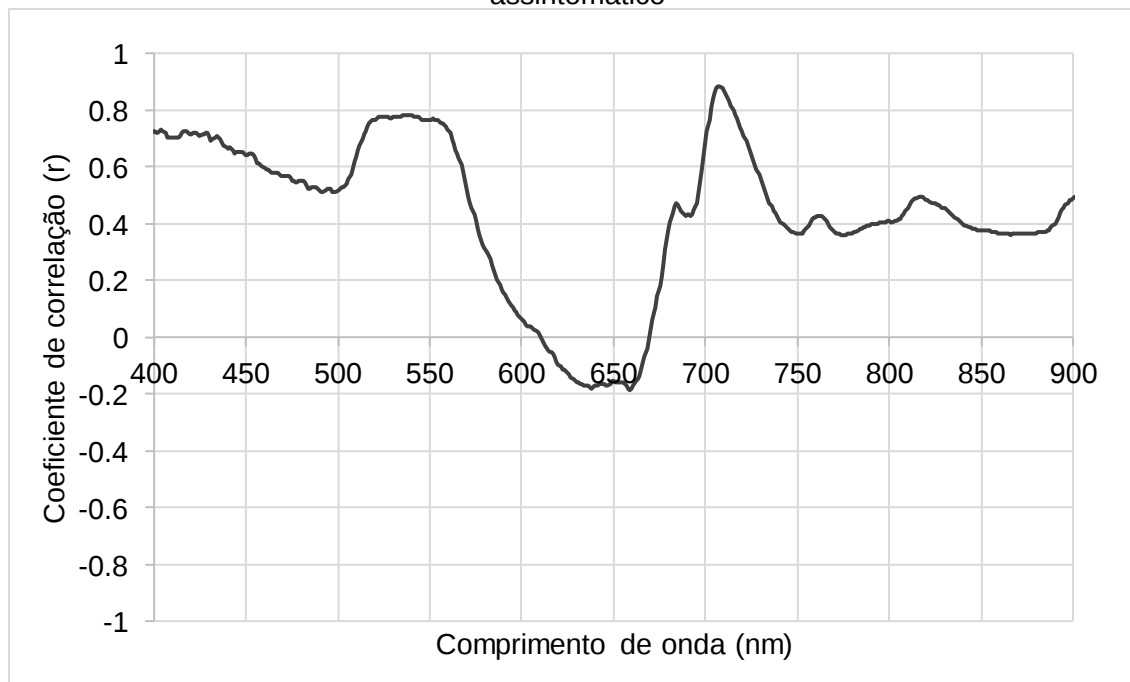


As três maiores correlações positivas foram nos comprimentos de onda 406 nm ($r = 0.560$), 487 nm ($r = 0.579$) e 676 nm ($r = 0.926$). E as duas maiores correlações negativas foram em 557 nm ($r = -0.833$) e 707 nm ($r = -0.742$). Esse resultado vai ao encontro do exposto por Malthus e Madeira (1993), onde os autores argumentam que, na região espectral do visível, o espectro de correlação para a vegetação infectada por doenças apresenta áreas onde a reflectância no azul (470 – 500 nm) e vermelho (590 – 700 nm) possuem correlação positiva com as áreas

de dano da planta, indicando que o aumento na reflectância aumenta com o nível de infecção. E, segundo os autores, o oposto ocorre na região do verde (por volta de 550 nm) onde o coeficiente de correlação é significativo, mas negativamente correlacionado com a porcentagem de infecção, indicando diminuição da reflectância com o progresso da infecção.

A mesma análise foi realizada para as amostras de folhas saudáveis *versus* folhas assintomáticas com HLB (Figura 30). O intervalo entre 612 nm ($r = -0.019$) e 669 nm ($r = -0.008$) apresentou coeficiente de correlação próximo a zero. Já as maiores correlações positivas ocorreram no intervalo 520 – 560 nm ($r \approx 0.8$), localizado na região da luz vermelha, e em 710 nm ($r = 0.869$), no *red-edge*. Essas duas fortes correlações positivas são o inverso do que ocorre na correlação entre sintomáticas e saudáveis nesses comprimentos de onda. No espectro de correlação não houve comprimentos de onda ou intervalos no espectro eletromagnético com forte correlação negativa.

Figura 30 – Coeficiente de correlação entre folhas saudáveis e folhas com HLB assintomático



4.2 EXPERIMENTO 2

Na análise de agrupamento do experimento 2 foi observado que os espectros da superfície adaxial de folhas das árvores de citros eram semelhantes entre si, com uma distância máxima de 0.04. O mesmo ocorreu com os espectros das folhas da mesma variedade, com uma distância máxima ainda menor, de 0.01. A semelhança espectral entre as variedades de citros contaminadas com HLB é vantajosa para detecção da doença por sensoriamento remoto em escala comercial, pois assim, espera-se que seja possível utilizar o mesmo sensor e realizar a mesma análise para diferentes variedades. Nesse experimento, foram comparadas as laranjas Hamlin, Natal e Pera, variedades que estão entre as principais cultivadas no Brasil, tanto para a produção de suco como para o consumo in natura.

4.2.1 Análise dos espectros de reflectância

A média dos espectros de fator de reflectância de cada variedade está apresentada na Figura 31. A partir deles é possível observar que as três variedades possuem comportamento espectral semelhante. A laranja Hamlin se diferencia um pouco das demais em todos os comprimentos de onda e, no NIR, tem uma diferença de no máximo 0.06 do espectro referente a laranja Natal. As variedades Natal e Pera apresentam praticamente o mesmo espectro até 720 nm, onde no NIR se diferenciam, mas pouco, cerca de 0.03. A Figura 32 apresenta as mesmas médias da Figura 31 acrescidas de seus respectivos desvios padrão. É possível observar que os maiores desvios padrão se encontram na região do infravermelho próximo, assim como no trabalho de Deng et al. (2019), onde o maior desvio padrão foi da classe HLB (próximo a 0.12) devido a variabilidade dos sintomas nas folhas.

Figura 31 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das três variedades de citros

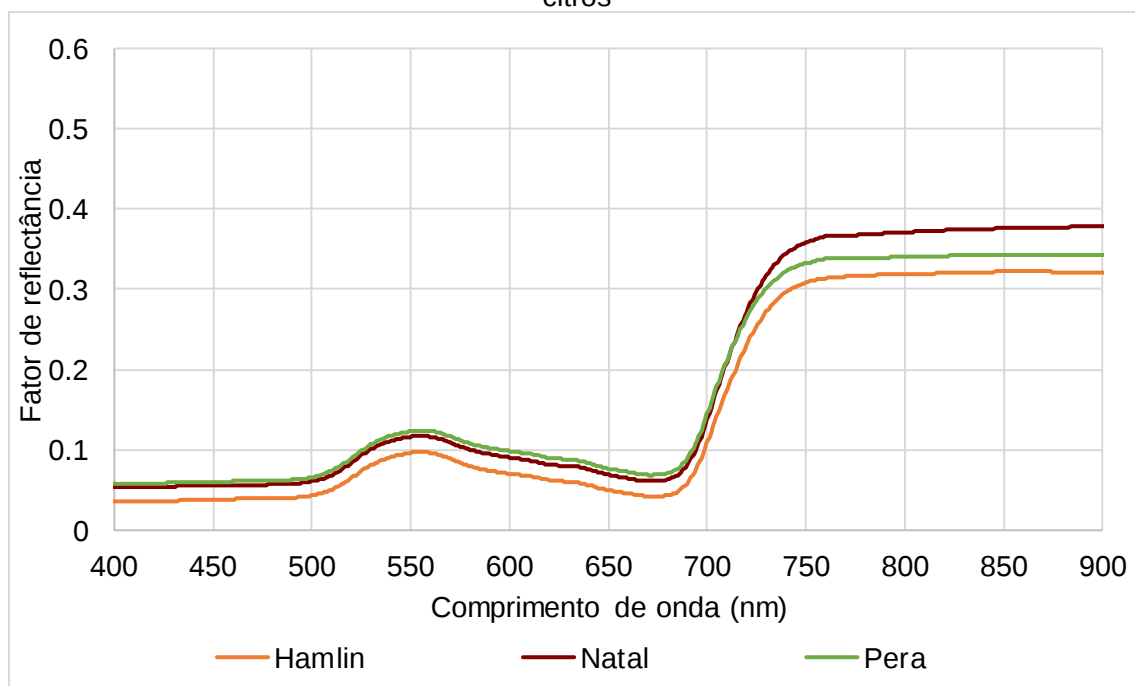
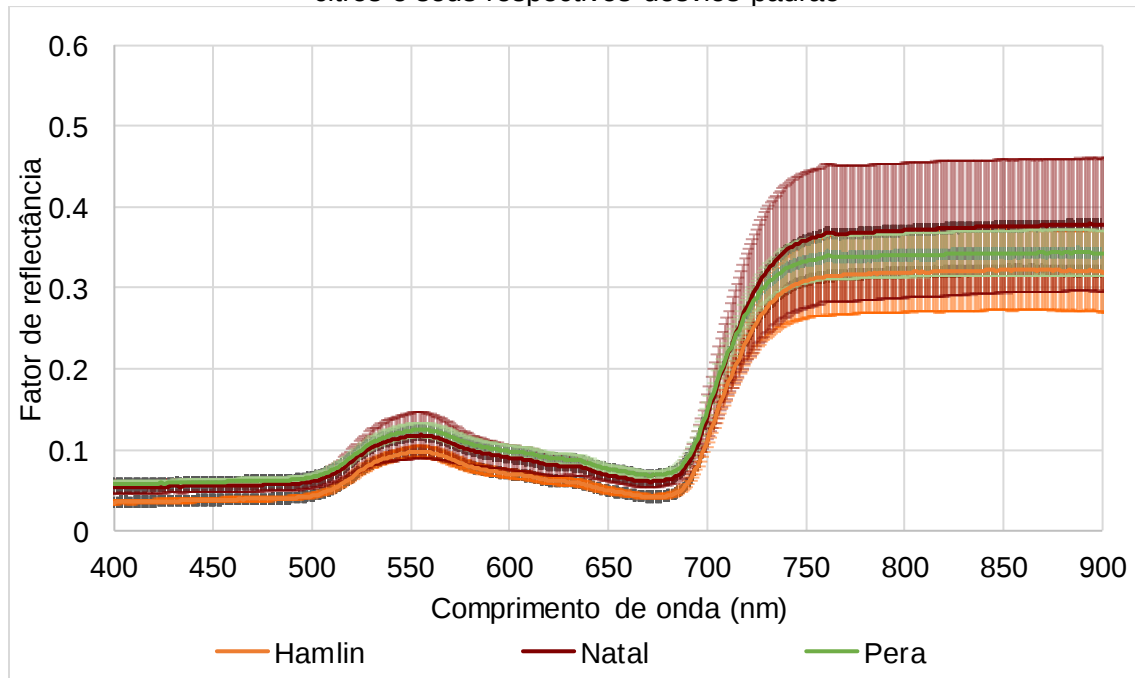


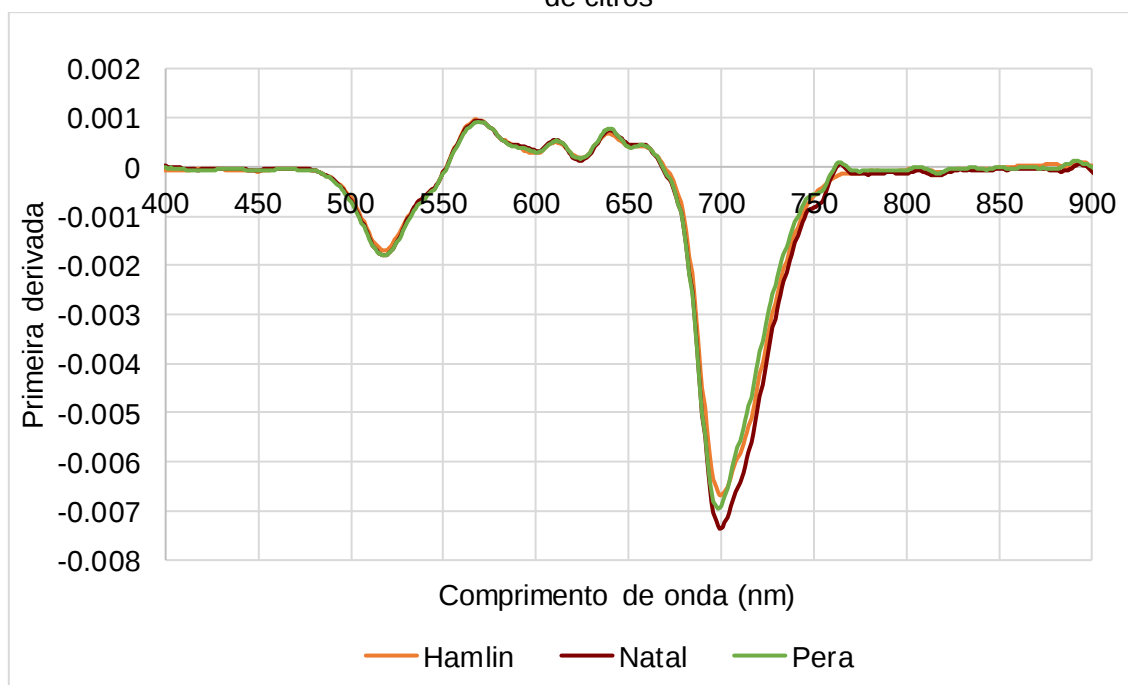
Figura 32 – Espectros de fator de reflectância da face adaxial das três variedades de citros e seus respectivos desvios-padrão



4.2.2 Análise derivativa

A análise derivativa teve como objetivo observar a taxa de mudança do fator de reflectância em relação ao comprimento de onda, e assim, observar possíveis diferenças espectrais entre as variedades de citros. Porém, na derivada de primeira ordem, as curvas se mantiveram muito semelhantes, com pouquíssimas diferenças na região do *red-edge* (710 nm) (Figura 33). Essa diferença ocorre, possivelmente, por essa região ser sensível a pequenas alterações na concentração de clorofila e as amostras possuírem grande variabilidade nos sintomas.

Figura 33 – Primeira derivada dos espectros de fator de reflectância das três variedades de citros



4.2.3 Posição do *red-edge*

Apesar dos espectros de reflectância das folhas contaminadas por HLB das variedades de laranja serem semelhantes, houve pequenas diferenças entre as posições do *red-edge* (Tabela 8), calculadas a partir do método de interpolação linear. A laranja Hamlin teve sua REP definida em 715.16 nm, bem próxima da REP da laranja Natal (714.63 nm). A REP da laranja Pera se diferenciou um pouco das outras duas variedades, em 712.58 nm.

Tabela 8 – Posição do *red-edge* (REP) nos espectros de fator de reflectância de três variedades de citros

Variedade	REP (nm)
Hamlin	715.16
Natal	714.63
Pera	712.58

Repetindo o cálculo considerando um desvio padrão acima da média e um desvio padrão abaixo da média (Tabela 9), vemos que a REP das variedades Hamlin e Natal estão praticamente no mesmo intervalo. A REP máxima (limite superior) da variedade Pera tem diferença menor a um nanômetro da REP mínima das variedades Hamlin e Natal, ou seja, praticamente não há diferenças na REP nos espectros dessas três variedades de citros.

Tabela 9 – Posição do *red-edge* (REP) nos espectros de fator de reflectância de três variedades de citros considerando o desvio padrão

	REP - desvio padrão limite inferior (nm)	REP - desvio padrão limite superior (nm)
Hamlin	714.27	715.78
Natal	714.22	716.13
Pera	713.14	713.54

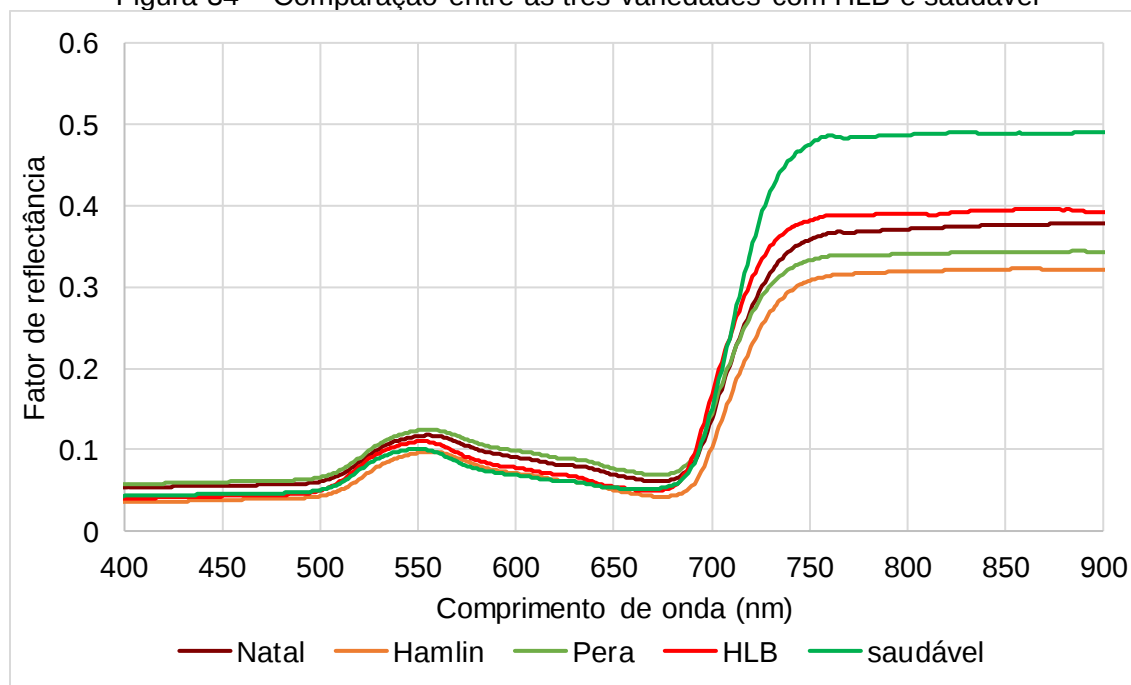
4.2.4 Comparação entre os espectros de reflectância de variedades de citros contaminadas por HLB e de citros saudáveis

Para fins de comparação, o espectro de reflectância da classe saudável e o espectro HLB, ambos da área 1, foram plotados juntos aos espectros das três variedades contaminadas por HLB da área 2. Lembrando que, na área 2 não havia indivíduos saudáveis, por esse motivo não foram coletadas amostras da classe nessa área.

Observando a Figura 34, nota-se que na região visível do espectro as classes Hamlin e saudável são semelhantes, porém no *red-edge* e no NIR elas apresentam valores de fator de reflectância distintos. Os espectros Natal e Pera se diferenciam do espectro saudável no visível e no infravermelho próximo apresentam sua máxima

diferença. No NIR, o espectro HLB apresenta comportamento semelhante as três variedades de citros infectadas, com fator de reflectância menor do que o espectro saudável. Como nesse caso as laranjeiras da área 1 estavam em nível menos avançado da doença, a mudança no espectro também foi menor.

Figura 34 – Comparação entre as três variedades com HLB e saudável

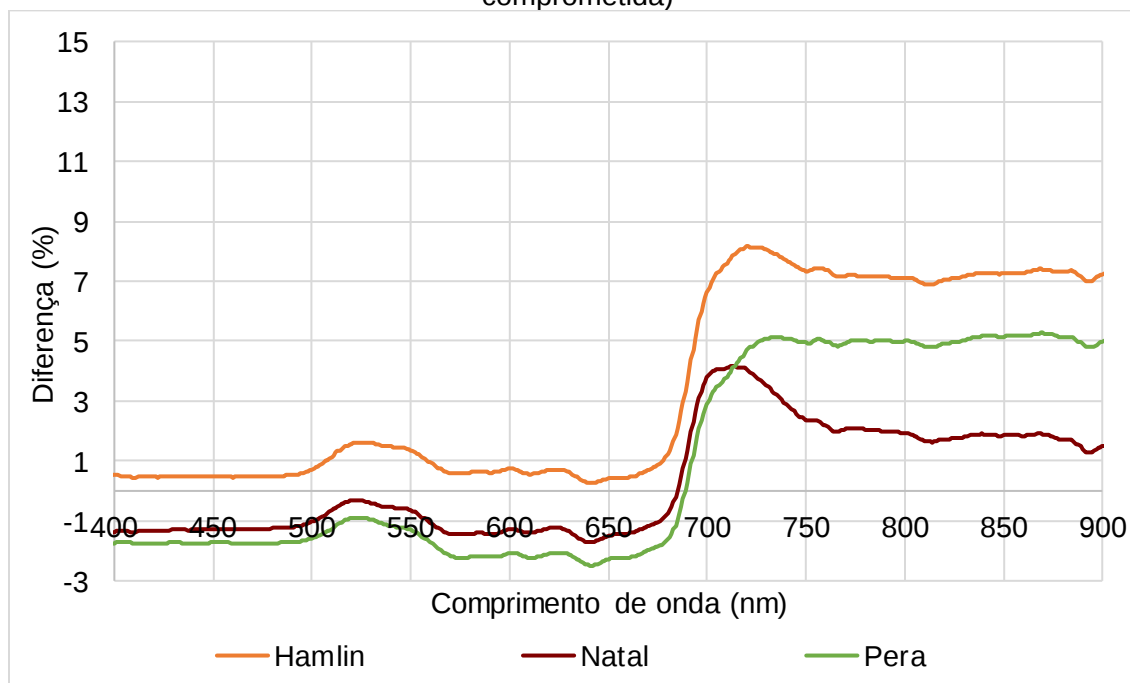


Esses resultados vão ao encontro do apresentado em Mishra et al. (2007), onde o espectro referente a média de vinte folhas com a doença apresenta maior reflectância no visível do que a média de uma amostra de mesmo tamanho de folhas saudáveis e, no NIR, as folhas saudáveis refletem mais energia do que as folhas contaminadas.

Por fim, na Figura 35, são observados os espectros de diferença entre o espectro HLB e os espectros das três variedades de citros da área 2. Nesses espectros é evidenciado que há diferenças entre folhas provenientes de laranjeiras em nível inferior de infecção de HLB (área 1) e laranjeiras com níveis avançados de comprometimento com a doença. Nota-se que a diferença máxima, de 8.14%, ocorreu com a variedade Hamlin em 722 nm. As variedades Natal e Pera também apresentaram máxima diferença na região do *red-edge*. Em seguida, a região do infravermelho próximo também apresentou diferenças. Os comprimentos de onda

da luz azul foram o que menos apresentaram diferenças, próximo a zero para as três variedades.

Figura 35 – Diferença entre os espectros de reflectância de folhas da variedade Pera (área 1 – menos comprometida) e folhas de três variedades de citros (área 2 - mais comprometida)



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Constatou-se que a detecção do HLB em citros utilizando sensores remotos ainda é um desafio. Variações no tratamento das plantações e no grau de severidade da doença, entre outros fatores, podem influenciar o comportamento espectral do alvo e dificultar o processo de identificação da doença por sensores embarcados em drone, por exemplo. Portanto, a caracterização espectral da doença em seus diferentes aspectos é uma forma promissora de avançar nesse sentido.

Por outro lado, a folha de uma planta representa um sistema óptico complexo, pois ela é composta por várias estruturas com diferentes índices de refração que contêm diferentes pigmentos.

O desenvolvimento de técnicas não destrutivas para análise de plantas requer o entendimento de sua espectroscopia, de seus pigmentos nas folhas e sua estrutura e padrões de mudanças nos processos fisiológicos nas plantas. Além disso, ocorrem alterações no teor dos pigmentos no decorrer do crescimento da planta, durante a adaptação a condições ambientais desfavoráveis e sob diversas condições de estresse, danos e doenças. Não obstante, ao se aplicar análises de comportamento espectral, foi possível construir uma caracterização detalhada dos espectros.

A partir das análises de espectrometria realizadas neste trabalho entende-se que a região da luz azul é a que menos contribui na diferenciação dos espectros, pois praticamente não apresenta alterações das diferentes classes nessa região e, portanto, esses comprimentos de onda não parecem ser interessantes na detecção de citros infectados por HLB. Apenas na análise de correlação foi notada uma forte relação entre a doença e o aumento de reflectância nessa região do espectro, sugerindo que, conforme o comprometimento do HLB avance nas folhas, maior será a energia refletida.

Nos comprimentos de onda na região da luz verde e vermelha existem variações na magnitude da reflectância nos diferentes espectros, porém são pequenas. A partir das análises realizadas não foi possível observar comprimentos

de onda específicos nessa região que possam caracterizar a doença em sua forma sintomática ou assintomática.

As regiões do espectro que demonstraram melhor desempenho ao separar folhas saudáveis e folhas com HLB são a do *red-edge* e do infravermelho próximo. A estreita região do *red-edge* (próximo a 700 nm) demonstra ser relevante na diferenciação entre folhas saudáveis e folhas infectadas sintomáticas. Essa região também possui potencial ao diferenciar folhas com HLB e deficiência de zinco, assim como o infravermelho próximo. Porém, nota-se que, no *red-edge*, folhas saudáveis e assintomáticas possuem características semelhantes.

Na região do NIR, as assinaturas espectrais das superfícies das folhas de citros demonstram que folhas assintomáticas e sintomáticas possuem feições e intensidades semelhantes entre si e ambas distintas da classe saudável, indicando o potencial dessa região do espectro para diferenciar indivíduos saudáveis de contaminados por HLB. Isso também pode ser uma evidência de que apesar de a folha não apresentar sintomas visíveis de HLB, folhas assintomáticas podem ter passado por alguma mudança estrutural em suas células.

A análise dos espectros das três variedades de laranja, em diferentes períodos de maturação, demonstrou que, de maneira geral, não há diferenças no comportamento espectral das folhas. Esse resultado indica, ainda que de maneira preliminar, que o mesmo sensor e metodologia podem ser aplicados na detecção do HLB nas variedades Pera, Natal e Hamlin nos pomares, simplificando um pouco esse trabalho.

Para trabalhos futuros é recomendado a aquisição de medidas de reflectância de folhas de citros em um período diferente do ano, em que não esteja ocorrendo estiagem e que as plantas não estejam submetidas a algum tipo de estresse. Comparar os espectros de reflectância em diferentes épocas do ano pode ser interessante para complementar as informações sobre o HLB em citros e avaliar a variabilidade dos sintomas e da estrutura foliar sob diferentes condições de umidade e temperatura, proporcionadas pelas diferentes estações do ano.

Em trabalhos futuros é indicado utilizar as informações contidas nessa pesquisa para criar índices de vegetação específicos para detecção de HLB sintomático e assintomático, e realizar a validação desses índices utilizando dados

de pomares de citros. Também se sugere que os espectros de reflectância sejam utilizados como dados de treinamento para classificação de imagens multiespectrais aéreas tomadas de drone. Uma das possibilidades é aplicar o classificador SAM (*Spectral Angle Mapper*), que utiliza assinaturas espectrais, como os espectros de reflectância, como referência em suas classificações.

Por último, sugere-se estudos de detecção do HLB que considerem atributos adicionais aos espectrais, principalmente para detectar indivíduos assintomáticos, uma vez que a distinção de folhas saudáveis de assintomáticas é uma questão complexa. Uma alternativa é explorar outras características da doença, como a perda de folhas em alguns ramos da árvore e a brotação de folhas em tamanho reduzido. Para isso, pode ser interessante utilizar nuvens de pontos provenientes de sensores laser em conjunto com os sensores imageadores e imagens horizontais terrestres, além das imagens verticais aéreas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASD - Analytical Spectral Devices. **FieldSpec®UV/VNIR: HandHeld Spectroradiometer**. Manual de uso, p.72, 2003.

APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. **Maior produtor de laranja e exportador de suco de laranja do mundo, SP deve manter setor ativo para atender demanda pela fruta rica em vitamina C**, 2020. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/noticias/maior-produtor-de-laranja-e-exportador-de-suco-de-laranja-do-mundo,-sp-deve-manter-setor-ativo-para-atender-demanda-pela-fruta-rica-em-vitamina-c>>. Acesso em: 22 jul. 2020.

AYRES, J.; SALA, I.; MIRANDA, M. P.; WULFF, N.; BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A. **Manejo do greening: 10 mandamentos para o sucesso no controle da doença**. Fundecitrus. 2. ed. 2018. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/>>. Acesso em: 6 fev. de 2019.

BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; JÚNIOR, J. B.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; DE MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemiologia do huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 11-23, 2010.

BELASQUE JR, J.; YAMAMOTO, P. T.; DE MIRANDA, M. P.; BASSANEZI, R. B., AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 53-64, 2010.

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of plant pathology**, p. 7-37, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa n.º 53, de 17 de outubro de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 out. 2008.

BREUNIG, F. M.; CAMARGO, F. F.; ADAMI, M.; MANTELLI, L. R.; COSTA, M. C.; PONZONI, F. J.; FREITAS, J. G. Aplicação da técnica de remoção do contínuo para a discriminação espectral de diferentes dosagens de Nitrogênio aplicadas ao trigo (*Triticum aestivum*, L.-IAC-370). **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, v. 13, p. 91-98, 2007.

BUSCHMANN, C.; NAGEL, E. In vivo spectroscopy and internal optics of leaves as basis for remote sensing of vegetation. **International Journal of Remote Sensing**, v. 14, n. 4, p. 711-722, 1993.

CARTER, G. A. Primary and secondary effects of water content on the spectral reflectance of leaves. **American journal of botany**, v. 78, n. 7, p. 916-924, 1991.

CARTER, G. A. Responses of leaf spectral reflectance to plant stress. **American journal of botany**, v. 80, n. 3, p. 239-243, 1993.

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **PIB do Agronegócio Cresce 3,81% em 2019**, 2020. Disponível em: < [https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_PIB_CNA_2019\(1\).pdf](https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_PIB_CNA_2019(1).pdf) >. Acesso em: 06 ago. 2020.

CLARK, R. N.; ROUSH, T. L. Reflectance spectroscopy: quantitative analysis techniques for remote sensing applications. **Journal of Geophysical Research**, v. 89, n. B7, p. 6329 – 6340, 1984.

DADRASJAVAN, F.; SAMADZADEGAN, F.; POURAZAR, S. H. S.; FAZELI, H. UAV-based multispectral imagery for fast Citrus Greening detection. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v.126, n. 4, p. 307-318, 2019.

DEMETRIADES-SHAH, T. H.; STEVEN, M. D.; CLARK, J. A. High resolution derivative spectra in remote sensing. **Remote Sensing of Environment**, v. 33, n. 1, p. 55-64, 1990.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The Future of Food and Agriculture - Trends and Challenges**, Rome, 2017. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf> >. Acesso em 03 ago. 2020.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Pesticides Trade**. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RT/visualize> >. Acesso em: 12 ago. 2020.

FUNDECITRUS - Fundo de Defesa da Citricultura. **Levantamento de doenças dos citros: HLB, CVC e cancro cítrico no cinturão citrícola de São Paulo e triângulo/sudoeste mineiro**. Araraquara, SP, 2017. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/pdf/levantamentos/levantamento-doencas-2017.pdf>>. Acesso em: 06 abri. 2021.

FUNDECITRUS - Fundo de Defesa da Citricultura. **Greening**. Manual Técnico. 2009. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/manuaistecnicos>>. Acesso em 20 fev. de 2019.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Inventário de árvores do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro: retrato dos pomares em março de 2020**. Araraquara, SP: Fundecitrus, 105 p. ISSN: 2446-7731 (online), 2020a.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Levantamento da incidência das doenças dos citros: greening, CVC e cancro cítrico**. Araraquara, SP, 67 p., 2020b.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Com clima favorável, população do psíldeo está alta em todas as regiões do cinturão citrícola.** Araraquara, SP. 2020c. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/com-clima-favoravel-populacao-do-psilideo-esta-alta-em-todas-as-regioes-do-cinturao-citricola/953>>. Acesso em: 06 abr. 2021.

GARCIA-RUIZ, F.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; LEE, W. S.; RASMUSSEN, J.; EHSANI, R. Comparison of two aerial imaging platforms for identification of Huanglongbing-infected citrus trees. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 91, p. 106-115, 2013.

GATES, D. M.; KEEGAN, H. J.; SCHLETER, J. C.; WEIDNER, V. R. Spectral properties of plants. **Applied optics**, v. 4, n. 1, p. 11-20, 1965.

GONZALEZ, P.; REYES-DE-CORCUERA, J.; ETXEBERRIA, E. Characterization of leaf starch from HLB-affected and unaffected-girdled citrus trees. **Physiological and molecular plant pathology**, v. 79, p. 71-78, 2012.

GUYOT, G.; BARET, F. Utilisation de la haute resolution spectrale pour suivre l'etat des couverts vegetaux. In: **Spectral Signatures of Objects in Remote Sensing**. p. 279, 1988.

LICHTENTHALER, H. K.; GITELSON, A.; LANG, M. Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements. **Journal of Plant Physiology**, v. 148, n. 3-4, p. 483-493, 1996.

HERWITZ, S. R.; JOHNSON, L. F.; DUNAGAN, S. E.; HIGGINS, R. G.; SULLIVAN, D. V.; ZHENG, J.; LOBITZ, B. M.; LEUNG, J. G.; GALLMEYER, B. A.; AOYAGI, M.; SLYE, R. E.; BRASS, J. A. Imaging from an unmanned aerial vehicle: agricultural surveillance and decision support. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 44, n. 1, p. 49-61, 2004.

HOLDEN, HEATHER; LEDREW, ELLSWORTH. Spectral discrimination of healthy and non-healthy corals based on cluster analysis, principal components analysis, and derivative spectroscopy. **Remote sensing of environment**, v. 65, n. 2, p. 217-224, 1998.

HORLER, D. N. H.; DOCKRAY, M.; BARBER, J. The red edge of plant leaf reflectance. **International journal of remote sensing**, v. 4, n. 2, p. 273-288, 1983.

HUANG, Z.; TURNER, B. J.; DURY, S. J.; WALLIS, I. R.; FOLEY, W. J. Estimating foliage nitrogen concentration from HYMAP data using continuum removal analysis. **Remote Sensing of Environment**, v. 93, n. 1-2, p. 18-29, 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal**. 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 8 fev. de 2019.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 03 jul. 2020a.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Projeções da População**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9109-projecao-da-populacao.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 03 jul. 2020b.

IMAI, N. N.; MORIYA, E. A. S.; TOMMASELLI, A. M. G.; BERVEGLIERI, A.; PORTO, L. R. **Orange tree bacterial disease detection in high resolution UAV based image**. Aceito para publicação em: IEEEExplore referente ao evento LAGIRS 2020.

IREY, M. S.; GAST, T.; GOTTWALD, T. R. Comparison of visual assessment and polymerase chain reaction assay testing to estimate the incidence of the Huanglongbing pathogen in commercial Florida citrus. **Proceedings of Florida State Horticultural Society** 119, p. 89-93, 2006.

JENSEN, J. R. **Remote sensing of the environment: An earth resource perspective**. 2. ed. Pearson Education India. 2009.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall, 6^a.ed., 2007.

JORGE, L. A. C.; INAMASU, R. Y. Detecção de Greening dos citrus por imagens multiespectrais. **Agricultura de Precisão: Resultados de Um Novo Olhar**. Embrapa, Brasília, DF, p. 180 – 190, 2014.

KILLINY, N.; NEHELA, Y. One target, two mechanisms: the impact of ‘Candidatus Liberibacter asiaticus’ and its vector, *Diaphorina citri*, on citrus leaf pigments. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 30, n. 7, p. 543-556, 2017.

KNIPLING, E.B. Physical and physiological basis for the reflectance of visible and near-infrared radiation from vegetation. **Remote sensing of environment**, v. 1, n. 3, p. 155-159, 1970.

KOKALY, R. F. Investigating a physical basis for spectroscopic estimates of leaf nitrogen concentration. **Remote Sensing of Environment**, v. 75, n. 2, p. 153-161, 2001.

KUMAR, A.; LEE, W. S.; EHSANI, R. J.; ALBRIGO, L. G.; YANG, C.; MANGAN, R. L. Citrus greening disease detection using aerial. **Journal of applied remote sensing**, p. 22, 2012.

KUMAR, L.; SCHMIDT, K.; DURY, S.; SKIDMORE, A. Review of hyperspectral remote sensing and vegetation science. In: VAN DER MEER, F. D.; DE JONG, S. M. (Ed.). **Imaging spectrometry: Basic principles and prospective applications**. Springer Science & Business Media, p. 111-155, 2001.

KRUSE, F. A.; LEFKOFF, A. B.; DIETZ, J. B. Expert system-based mineral mapping in northern death valley, California/Nevada, using the Airbone Visible/Infrared Imaging Spectrometer (AVIRIS). **Remote Sensing of Environment**, St. Paul, v. 44, n. 2-3, p. 309 - 336, 1993.

LI, X.; LEE, W. S.; LI, M.; EHSANI, R.; MISHRA, A. R.; YANG, C.; MANGAN, R. L. Spectral difference analysis and airborne imaging classification for citrus greening infected trees. **Computers and Electronics in Agriculture**, 83, p. 32-46, 2012.

MALTHUS, T. J.; MADEIRA, A. C. High resolution spectroradiometry: Spectral reflectance of Field bean leaves infected by Botrytis fabae. **Remote Sensing of Environment**, n. 45, p.107-116, 1993.

MIRANDA, M. P. Manual de psílídeo Diaphorina citri medidas essenciais de controle. **Fundecitrus**. 2018. Disponível em: < <https://www.fundecitrus.com.br/>>. Acesso em: 6 fev. de 2019.

MISHRA, A. R.; EHSANI, R.; LEE, W. S.; ALBRIGO, G. Spectral characteristics of citrus greening (Huanglongbing). In: **2007 ASAE Annual Meeting**. American Society of Agricultural and Biological Engineers, p. 1, 2007.

MISHRA, A.; KARIMI, D.; EHSANI, R.; ALBRIGO, L. G. Evaluation of an active optical sensor for detection of Huanglongbing (HLB) disease. **Biosystems Engineering**, v. 110, n. 3, p. 302-309, 2011.

MORIYA, E. A. S. **Identificação de bandas espectrais para detecção de cultura de cana-de-açúcar sadia e doente utilizando câmara hiperespectral Embarcada em VANT**. Tese (Doutorado em Ciências Cartográficas) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Presidente Prudente, 2015a.

MORIYA, E. A. S.; IMAI, N. N.; TOMMASELI, A. M. G.; MYOSHI, G. T. Determinação de regiões espectrais sensíveis a presença de agentes patógenos na cana-de-açúcar, caso ferrugem alaranjada e estria vermelha. In: XVII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto – SBSR, 2015, João Pessoa. **Anais...**, João Pessoa: INPE, 2015b. p. 2605 – 2612.

MORIYA, E. A. S.; IMAI, N. N.; TOMMASELI, A. M. G.; MYOSHI, G. T. Mapping mosaic virus in sugarcane based on hyperspectral images. **Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing**, v. 10, n. 2, p. 740-748. fev. 2017.

MORIYA, É.; IMAI, N. N.; TOMMASELLI, A. M. G.; BERVEGLIERI, A.; HONKAVAARA, E.; SOARES, M. A.; MARINO, M. Detecting citrus Huanglongbing in brazilian orchards using hyperspectral aerial images. **International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing & Spatial Information Sciences**, v. XLII-2/W13, 2019.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; LALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira. **Ribeirão Preto: CitrusBR**, 138p, 2010.

PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E.; KUPLICH, T. M. **Sensoriamento remoto da vegetação**. Oficina de Textos, 2015.

POURREZA, A.; LEE, W. S.; ETXEBERRIA, E.; ZHANG, Y. Identification of citrus Huanglongbing disease at the pre-symptomatic stage using polarized imaging technique. **IFAC-PapersOnLine**, v. 49, n. 16, p. 110-115, 2016.

POURREZA, A., LEE, W. S.; CZARNECKA, E.; VERNER, L.; GURLEY, W. Feasibility of Using the Optical Sensing Techniques for Early Detection of Huanglongbing in Citrus Seedlings. **Robotics**, v. 6, n. 2, p. 11, 2017.

PRABHAKAR, M.; PRASAD, Y. G.; THIRUPATHI, M.; SREEDEVI, G.; DHARAJOTHI, B.; VENKATESWARLU, B. Use of ground based hyperspectral remote sensing for detection of stress in cotton caused by leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae). **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 79, n. 2, p. 189-198, 2011.

SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; BUCHANON, S.; EHSANI, R. Huanglongbing (citrus greening) detection using visible, near infrared and thermal imaging techniques. **Sensors**. v. 13, n.2, p. 2117-2130, 2013.

SANO, E. E.; PONZONI, F. J.; MENESES, P.R.; BAPTISTA, G. M. M.; TONIL, A. C.; GALVÃO, L. S.; ROCHA, W. J. S. F. Rlectância da Vegetação. In: MENESES, P.R.; ALMEIDA, T.; BAPTISTA, G. M. M. (Org.). **Reflectância dos Materiais Terrestres: Análise e Interpretação**. São Paulo: Oficina de Texto, p. 189-223, 2019.

SARKAR, S. K. DAS, J.; EHSANI, R.; KUMAR, V. Towards autonomous phytopathology: Outcomes and challenges of citrus greening disease detection through close-range remote sensing. In: **2016 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA)**. IEEE, p. 5143-5148, 2016.

SCHOWENGERDT, R. A. **Remote sensing: models and methods for image processing**. 3 ed. Elsevier, 2007.

SULZBACH, M.; DE OLIVEIRA, R. P.; GIRARDI, E. A.; SCHWARZ, S. F.; BERTOLINI, E.; SCHNEIDER, L. A.; GONZATTO, M. P. Huanglongbing (HLB) dos citros e estratégias de manejo visando prevenção e controle. **Embrapa Clima Temperado-Documentos** (INFOTECA-E), 2017.

TSAI, F.; PHILPOT, W. Derivative analysis of hyperspectral data. **Remote Sensing of Environment**, v. 66, n. 1, p. 41-51, 1998.

USDA – United States Department of Agriculture. **International Markets & U. S. Trade**. Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/topics/international-markets-us-trade/>>. Acesso em 07 ago. 2020.

VERDEBOUT, J.; JACQUEMOUD, S.; SCHMUCK, G. Optical properties of leaves: modelling and experimental studies. In: **Imaging spectrometry — a tool for environmental observations**. Springer, Dordrecht, p. 169-191, 1994.

YAO, H.; TANG, L.; TIAN, L.; BROWN, R. L.; BHATNAGAR, D.; CLEVELAND, T. E. using hyperspectral data in precision farming applications. In: THENKABAIL, P. S.; LYON, J. G.; HUETE, A. **Hyperspectral remote sensing of vegetation**. New York: CRC Press Taylor & Francis Group, p. 309-327, 2012.

WANG, K.; GUO, D.; ZHANG, Y.; DENG, L.; XIE, R.; LV, Q.; YI, S.; ZHENG, Y.; MA, Y.; HE, S. Detection of Huanglongbing (citrus greening) based on hyperspectral image analysis and PCR. **Front. Agric. Sci. Eng**, v. 6, p. 172-180, 2019.

WEISS, M.; JACOB, F.; DUVEILLER, G. Remote sensing for agricultural applications: A meta-review. **Remote Sensing of Environment**, v. 236, p. 111402, 2020.