

## **MODALITĂȚI DE IDENTIFICARE RAPIDĂ A PLANTELOR VIROZATE**

### **1. METODĂ RAPIDĂ PENTRU TESTAREA VIRUSURILOR CARTOFULUI – UN VERITABIL "AJUTOR" PENTRU FERMIERI**

În ultimii ani, datorită numeroaselor pericole care amenință cultura cartofului, au fost dezvoltate noi metode de identificare a patogenilor, metode rapide și relativ simple care se pot aplica chiar în câmp, solar sau seră. Astfel, testele care utilizează așa numitele strip-uri sunt tot mai des întâlnite în diferite domenii deoarece acestea pot confirma în câteva minute prezența unor patogeni specifici în probele analizate. Metoda la care se face referire în articol permite identificarea virusurilor care adeseori creează probleme serioase mai ales în cazul materialului pentru sămânță.

Principiul metodei se bazează pe utilizarea anticorpilor (IgG) în imuno-cromatografie; atunci când strip-ul este introdus în extractul probei, lichidul migrează și inițiază o reacție antigen-anticorp, rezultatele procesului putând fi interpretabile, prin apariția unor linii de diferite culori; liniile apar după circa 1-2 minute și ating intensitatea maximă a culorii, după 10-15 minute; probele pozitive determină apariția în partea superioară a strip-ului a 2 linii de culoare roșie ([www.diamedix.ro](http://www.diamedix.ro)).

Modul de lucru presupune parcurgerea câtorva etape:

- 1) Proba se introduce într-o pungă de extracție sterilă; se adaugă soluție tampon de extracție A (3ml).
- 2) Proba se omogenizează cu ajutorul unui dispozitiv specific, timp de 10 secunde.
- 3) 200 μl de extract se transferă în cuvă.
- 4) Se introduce STRIP-ul în extract și se observă formarea benzilor colorate; apoi, se lasă în repaus timp de 10 minute. Apariția unei benzi de culoare roșie, indică prezența virusului, iar apariția a 2 benzi roșii, confirmă prezența patogenului.
- 5) Dacă nu apare nici o linie roșie pe strip, testul va trebui repetat.

Așadar, o astfel de metodă este simplă și nu necesită echipamente sofisticate sau un laborator performant pentru a putea fi aplicată cu succes. Datorită intervalului mic de timp după care este confirmată prezența virusurilor și mai ales datorită accesibilității, metoda ar putea constitui un aliat de nădejde pentru fermieri și pentru cei interesați de calitatea cartofului (plantă de importanță strategică din punct de vedere alimentar). Acesta este motivul pentru care am încercat să prezentăm beneficiile metodei rapide, să le aducem la cunoștința tuturor celor care activează în filiera cartofului.



Aspecte din timpul testării unor probe din proiect cu ajutorul testelor rapide.

## 2. METODE SPECTRALE PENTRU IDENTIFICAREA PLANTELOR VIROZATE

### Utilizarea metodelor non-invazive SPAD și NDVI la cultura cartofului

La ora actuală există o serie de metode non-invazive care determină la nivel de frunză sau plantă concentrația de clorofilă. Este bine stabilit că valorile măsurate oferă o bună estimare a valorii de clorofilă prezente în frunza plantei de cartof, confirmând acuratețea măsurătorilor (VOS și BORN, 1993).

SPAD 502 Plus (Chlorophyll Meter) este un dispozitiv portabil cu largă utilizare pentru măsurarea rapidă, precisă și non-invazivă a concentrației de clorofilă din frunze, ce cuantifică

modificările subtile sau tendințele în materie de sănătate a plantelor cu mult înainte de a fi vizibile pentru ochiul uman. Acesta este un dispozitiv portabil care se bazează pe valorile măsurate prin transmitanța a două lungimi de undă ale spectrului electromagnetic (650 nm în roșu și 940 nm în infraroșu), la nivelul foliolelor de cartof (GIANQUINTO, 2004).

Sursele de variație sunt legate de mediu (tipul de sol, condiții climatice, boli foliare, intensitatea luminii), de soi (soiurile extratimpurii prezintă variații mai mari ale clorofilei decât cele târzii, chiar dacă au fost cultivate la aceeași dată), de managementul culturii (irigație, reziduuri de la cultura anterioară) (GOFFART și colab., 2008).

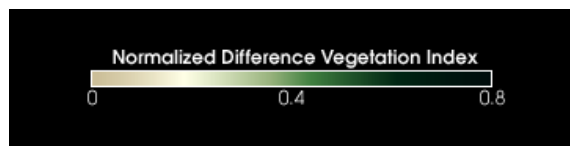
Înainte de măsurare, instrumentul este calibrat, transmisia măsurându-se fără frunză în interior. Atunci când o frunză este fixată de aparat, o anumită parte a luminii roșii este absorbită și contorul poate calcula o valoare relativă, care arată cât de verde este frunza. Practic, valoarea SPAD se corelează cu conținutul real de clorofilă din frunze, dar măsurătorile trebuie să fie luate la mai multe puncte de pe aceeași frunză care să fie reprezentative.

Calculând raportul dintre lumina vizibilă și cea în infraroșu apropiat reflectată de un senzor se obține un număr de la minus 1 (-1) la plus 1 (+1). Rezultatul acestui calcul se numește **Index de Normalizare a Diferenței de Vegetație sau NDVI**. Dacă valoarea NDVI este zero, înseamnă că nu există vegetație verde, iar o valoare apropiată de + 1 (0,8-0,9) indică cea mai mare densitate posibilă de frunze verzi.

Un indicator performant al stresului plantelor îl reprezintă fenomenul de absorbție a luminii și reflectanța. Deoarece clorofila absoarbe lumina roșie, reflectanța joasă din această bandă indică faptul că planta analizată este sănătoasă. Structurile celulare ale plantelor sănătoase reflectă lumina în banda de infraroșu apropiat. Când plantele sunt stresate, reflectanța din banda roșie crește și cea din banda de infraroșu apropiat descrește. Indexul de Normalizare a Diferenței Vegetației (NDVI) este o unitate de măsurare destinată să intervină între reflectanța luminii roșii și a celei din infraroșu apropiat. Măsurătorile NDVI pot varia între -1 și 1, valorile mai mari fiind un indicator al sănătății plantelor.

Indexul de Normalizare a Diferenței de Vegetație (NDVI) este o ecuație care ia în calcul cantitatea de radiații infraroșii relectate de către plante. Plantele verzi vii absorb radiația solară pe care o folosesc ca sursă de energie în procesul de fotosinteză. Motivul pentru care NDVI este legat de vegetație este acela că plantele sănătoase reflectă foarte bine în spectrul de lumina infraroșu apropiat, parte a spectrului electromagnetic.

Frunzele verzi au o reflectanță de 20% sau mai puțin la 0,5 – 0,7 gama de microni (verde spre roșu) și aproximativ 60% la 0,7 – 1,3 gama de microni (infraroșu apropiat). Aceste reflectanțe spectrale sunt ele însele raporturi ale reflecției asupra radiației incidente în fiecare bandă spectrală individual; prin urmare, ele au valori între 0,0 și 1,0. Astfel, NDVI în sine variază între -1,0 și +1,0. Valori negative ale NDVI (valori apropiate de -1) corespund cu apa adâncă. Valori apropiate de zero (-0,1 la 0,1) corespund în general zonelor stearpe de roci, nisip sau zăpadă. Valorile scăzute pozitive reprezintă arbuști și pășuni (aproximativ 0,2 la 0,4), în timp ce valori mari indică păduri umede temperate și tropicale (valori apropiate de 1). Domeniul tipic este între -0,1 (pentru o zonă nu foarte verde) la 0,6 (pentru o zonă foarte verde).



Aparatul pentru măsurarea valorilor NDVI ( INCDCSZ Brașov)

În general, NDVI oferă o estimare brută a stării de sănătate a vegetației și un mijloc de monitorizare a modificărilor în timp care au loc în vegetație și rămâne indexul cel mai bine cunoscut și utilizat pentru a detecta canopia plantelor verzi vii folosind datele multispectrale la distanță.

În domeniul vizibil (460 – 700 nm), pigmentii plantelor verzi (mai ales clorofila) produce o absorbție puternică a energiei. Absorbția este maximă în benzile roșu și albastru, ceea ce duce la aparența caracteristică verde a frunzelor plantelor.

În domeniul infraroșu, interacțiunea este diferită. Astfel energia în acest domeniu nu este folosită pentru fotosinteză, ci este puternic reflectată de structura internă a frunzelor, aceasta conducând la o reflectanță foarte puternică în domeniul infraroșu apropiat (NIR). Acest contrast

puternic între cantitatea de energie reflectată în domeniile roșu și infraroșu ale spectrului electromagnetic reprezintă baza dezvoltării unor indici cantitativi de vegetație utilizând imagini satelitare.

Indicele de vegetație normalizat (NDVI) este indicele de vegetație cel mai vechi, cel mai bine cunoscut și cel mai utilizat. Pentru a-l calcula se folosesc regiunile spectrale cu cea mai mare absorbantă și reflectanță, care pot fi legate de activitatea clorofilei.

În cazul vegetației verzi, domeniul cel mai frecvent este între 0,2 și 0,8.

### **Camere montate pe drone**

Camere montate pe drone ar putea furniza informații și date valoroase producătorilor privind zonele infectate cu virusul Y al cartofului și cu un virus care ajută la instalarea acestuia, adică **virusul Aucuba**. Unele surse bibliografice raportează descoperirea unor benzi de absorbție spectrală specifice materialului infectat cu virusul Y al cartofului. De exemplu, profesor Donna Delparte, (Idaho, USA; interviu publicat în *Capital Press* din 20 ianuarie 2017, <http://www.capitalpress.com/Idaho/20170120/researchers-program-drone-to-hunt-pvy-in-potatoes>) a stabilit un algoritm bazat pe semnaturile spectrale comune pentru plantele bolnave. Acest soft învață să ignore variabilitatea câmpului bazată pe comparațiile dintre semnaturile plantelor cu diferite afecțiuni și semnaturile reflectate de plantele sănătoase din vecinătate. Pentru a dezvolta algoritmul, datele din câmp au fost analizate timp de trei ani și au fost analizate loturi experimentale cu ajutorul unor camere capabile să recunoască 100 benzi din spectrul de absorbție. După studiul acestor imagini, au fost selectate 15 dintre cele mai folositoare benzi pentru identificarea virusului Y al cartofului și a virusului PAMV. Aceste benzi au fost unice pentru reflecția luminii.

Există anumite lungimi de undă insesizabile în mod obișnuit de către oameni, lungimi de undă care pot ajuta la diferențierea plantelor sănătoase de cele infectate cu virusul Y al cartofului și cu virusul PAMV. Benzile de absorbție pentru materialul infectat pot fi identificate utilizând metodele moderne spectrale (camere atașate unor drone). Infecțiile virotice pot fi astfel depistate mult mai devreme în perioada de vegetație, înainte ca simptomele virozelor să fie depistate în timpul inspecțiilor vizuale. Dacă la aceste informații am adăuga și avertizările privind zborul intens al unor afide vectoare pentru virusul Y, considerăm că fermierii și producătorii de cartof ar putea elimina în timp util plantele infectate, ar putea așadar controla eficient acest patogen, evitând extinderea acestuia.

### **3. UTILIZAREA UNOR IERBICIDE care favorizează apariția timpurie a simptomelor și distrugerea plantelor infectate cu virusul Y și cu virusul Aucuba**

Rezultatele unor cercetări recente recomandă UTILIZAREA UNOR IERBICIDE PE BAZĂ DE METRIBUZIN APLICATE POST EMERGENT (doza =  $\frac{1}{4}$  din doza recomandată preemergent, atunci când plantele au aproximativ 15 cm înălțime, 2 tratamente la interval de 7 zile) pentru a putea identifica mai ușor plantele infectate cu virusul Y al cartofului (în special cu tulpinile sale necrotice) și cu virusul Aucuba!