

CIRCULAR TÉCNICA

n. 436 - dezembro 2025

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Informação Tecnológica
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO



GOVERNO
DE MINAS
AQUI O TREM PROSPERA.

Indexação de morangueiro por colorimetria para detecção do vírus Strawberry mild yellow edge potexvirus¹

Luciana Cardoso Nogueira Londe², Flávia Échila Ribeiro Batista³, Débora Ferreira de Souza⁴,
Izabela Cristina Pires Gomes⁵, Emerson Brito Ribeiro⁶, Joana D'Ark Nunes da Silva Lima⁷,
Demerson Arruda Sanglard⁸

INTRODUÇÃO

O cultivo do morangueiro (*Fragaria × ananassa* Duch.) tem-se expandido para regiões não tradicionais, como o Norte de Minas Gerais, onde as condições de clima semiárido impõem limitações ao estabelecimento e à produtividade das plantas (Embrapa Clima Temperado, 2016). A seleção de genótipos adaptados a ambientes de alta temperatura e radiação tornou-se essencial, razão pela qual o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da EPAMIG Norte - Campo Experimental do Gorutuba (CEGR), Nova Porteirinha, MG, desempenha papel estratégico na conservação e na avaliação de materiais genéticos com potencial regional. Esses programas dependem diretamente de mudas saudáveis, dado que a presença de patógenos virais compromete o vigor, o crescimento e a produção, mesmo em plantas que permanecem assintomáticas ao longo do ciclo.

Dentre os vírus que afetam a cultura, o Strawberry mild yellow edge potexvirus (SMYEPV) destaca-se por ter ampla disseminação mundial e pelo impacto negativo no desempenho agrônomo, causando redução da área foliar, menor produção e desuniformidade no estande (Xiang *et al.*, 2020). A infecção por SMYEPV frequentemente passa despercebida pela ausência de sintomas marcantes, o que reforça a necessidade de métodos sensíveis para detecção (Rowhani *et al.*, 1998). Assim, Programas de Melhoramento e Certificação Fitossanitária exigem ferramentas diagnósticas que sejam simultaneamente precisas, acessíveis e aplicáveis em rotina laboratorial.

MATERIAL E MÉTODOS

O teste colorimétrico – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) permanece como uma das metodologias mais utilizadas para diagnós-

Apoio FAPEMIG.

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte - CEGR, (38) 2040-0052, cegr@epamig.br.

²Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte - CEGR/Bolsista BIPDT FAPEMIG, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br.

³Engenheira-química, Doutoranda Biotecnologia UNIMONTES, Campus Montes Claros, flaviaechila@yahoo.com.br.

⁴Engenheira-agrônoma, Mestranda Produção Vegetal UNIMONTES, Campus Janaúba/Bolsista BDCTI-III FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, fdesouzad@gmail.com.

⁵Engenheira-agrônoma, Doutoranda Produção Vegetal UNIMONTES, Campus Janaúba, Bolsista BCTI-I FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, belapgomes@yahoo.com.br.

⁶Técnico Química, Mestrando Biotecnologia UNIMONTES, Campus Montes Claros, EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, emersondireito1@hotmail.com.

⁷Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba, Bolsista CNPq/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, joanadark93_@hotmail.com.

⁸Engenheiro-agrônomo, D.Sc., Prof. Associado UFMG - ICA, Montes Claros, MG, demerson.ufmg@gmail.com.

tico viral em morangueiro, combinando simplicidade operacional e elevada sensibilidade (Clark; Adams, 1977; Ferri *et al.*, 2020). A quantificação colorimétrica pode ser aprimorada por meio de análises digitais com base no sistema CIE L*a*b*⁹, que traduz a coloração da reação em parâmetros numéricos reproduzíveis, especialmente o componente b*, útil para discriminar a formação do cromógeno (Gonzalez; Woods, 2018). Dessa forma, a padronização e a aplicação do teste colorimétrico ELISA associadas à análise instrumental representam uma estratégia robusta para o monitoramento sanitário dos genótipos do BAG, da EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, contribuindo para a segurança e a eficiência dos Programas de Melhoramento regional.

As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Instituto de Ciências Agrárias (ICA), Campus Montes Claros, MG, utilizando-se 40 amostras foliares de morangueiro, oriundas do BAG da EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG. Cada amostra foi processada em duplicata, totalizando 80 reações, distribuídas em placa de ELISA de 96 poços, conforme metodologia consolidada para detecção viral em tecidos vegetais (Clark; Adams, 1977; Ferri *et al.*, 2020). Os controles positivos e negativos foram alocados na coluna 12, enquanto uma linha adicional foi reservada ao controle de fundo, contendo apenas tampão, procedimento recomendado para minimizar interferências e auxiliar na definição de ponto de corte (Diaz-Lara *et al.*, 2021).

As folhas foram maceradas em tampão de extração, na proporção 1:10 (m:v)¹⁰, e os extratos aplicados à placa, previamente sensibilizada com anticorpo específico para SMYEPV. Após incubação a 25 °C, por 1 hora, a placa foi submetida a lavagens sucessivas com solução tampão de lavagem PBS-Tween 0,05%, seguida da adição do anticorpo conjugado enzimaticamente. O desenvolvimento colorimétrico foi realizado com substrato p-nitrofenil fosfato (PNPP), e a leitura das reações ocorreu após 30 minutos em espectrofotômetro a 405 nm¹¹, conforme protocolos amplamente utilizados em diagnósticos fitossanitários.

Para complementar a leitura visual, foram capturadas imagens digitais da placa sob iluminação padronizada. Os valores RGB¹² dos poços foram extraídos e convertidos para o espaço de cor CIE L*a*b*, permitindo a análise instrumental da reação cromogênica. O parâmetro b*, que expressa a intensidade da componente amarela, foi utilizado como indicador quantitativo da presença do produto enzimático, conforme metodologia recomendada para análise objetiva de ensaios colorimétricos (Gonzalez; Woods, 2018). Reações com b* ≥ 30 foram consideradas positivas, valor definido a partir da calibração com os controles e de acordo com evidências descritas na literatura sobre diferenciação cromática em testes ELISA (Clark; Adams, 1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia do teste colorimétrico ELISA permitiu distinguir com precisão os controles utilizados na placa, confirmando a sensibilidade para detecção do SMYEPV. Os poços positivos (A12 e B12) apresentaram coloração amarelo-intensa, enquanto os controles negativos permaneceram incolores, como apresentado na Figura 1. Essa distinção visual está de acordo com o comportamento esperado para

Figura 1 - Placa de teste ELISA após desenvolvimento da reação enzimática



Nota: ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Observam-se controles positivos nos poços A12 e B12 e negativos em C12 e D12.

⁹O sistema CIE L*a*b* é constituído por três eixos, a coordenada L*, que representa a luminosidade ou claridade, a coordenada a*, que representa o eixo vermelho-verde, e a coordenada b*, que representa o eixo amarelo-azul (Bonfatti Junior; Lengowski, 2018).

¹⁰m:v - massa:volume.

¹¹nm - nanômetro.

¹²RGB - Red (vermelho), Green (verde) e Blue (azul).

reações enzimáticas no teste ELISA (Clark; Adams, 1977; Ferri *et al.*, 2020).

A análise instrumental dos valores RGB convertidos para o sistema CIE $L^*a^*b^*$ confirmou os resultados visuais. Os valores de b^* dos controles positivos foram elevados (43,64 e 34,55), enquanto os negativos apresentaram valores próximos de zero (2,52 e 1,00), conforme mostrado na Tabela 1. A diferença clara entre esses grupos reforça a utilidade do parâmetro b^* como discriminador quantitativo do desenvolvimento da reação (Gonzalez; Woods, 2018).

Ao aplicar o ponto de corte estabelecido ($b^* \geq 30$), todas as 40 amostras avaliadas apresentaram valores semelhantes aos controles negativos, indicando ausência de interação viral detectável. Esses resultados sugerem que o material do BAG da EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, encontra-se livre do SMYEPV, situação desejável em Programas de Melhoramento e Certificação Sanitária (Diaz-Lara *et al.*, 2021).

De forma geral, a combinação entre a leitura visual e a análise instrumental demonstrou-se eficiente, prática e reprodutível, reforçando o potencial do teste colorimétrico ELISA para uso rotineiro em triagens fitossanitárias regionais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação do teste colorimétrico ELISA, associada à análise instrumental do parâmetro b^* do sistema CIE $L^*a^*b^*$, mostrou-se eficaz e reprodutível para discriminar reações positivas e negativas na detecção do SMYEPV, corroborando sua adequação para diagnósticos fitossanitários de rotina (Ferri *et al.*, 2020). Todas as amostras avaliadas apresentaram valores compatíveis com ausência do vírus, indicando que o material do BAG da EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, encontra-se sanitariamente apto para continuidade de atividades de melhoramento e multiplicação, em consonância com

recomendações de manejo e certificação vegetal (Diaz-Lara *et al.*, 2021). Dessa forma, o protocolo padronizado configura uma ferramenta prática, de baixo custo e tecnicamente confiável para monitoramento da sanidade do morangueiro em regiões emergentes de cultivo.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A. *et al.* Adaptabilidade e avaliação de materiais genéticos de morangueiro em regiões tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.45, e-021, 2023.
- BONFATTI JUNIOR, E.A.; LENGOWSKI, R.C. Colorimetria aplicada à ciência e tecnologia da madeira. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.38, e201601394, p.1-13, 2018. Disponível em: <https://pfb.sede.embrapa.br/pfb/article/view/1394>. Acesso em: 1 dez. 2025.
- CLARK, M.F.; ADAMS, A.N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, v.34, n.3, p.475-483, 1977. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-34-3-475>. Acesso em: 1 dez. 2025.
- DIAZ-LARA, A. *et al.* Sequencing a strawberry germplasm collection reveals new viral genetic diversity and the basis for new RT-qPCR assays. **Viruses**, Basel, v.13, n.8, p.1442, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34452308/>. Acesso em: 5 dez. 2025.
- EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Sistema de produção de morango**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016. 54p. (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 5). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/744878/1/Sistema-de-Producao-do-Morango.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2025.

Tabela 1 - Valores de RGB e CIE $L^*a^*b^*$ (parâmetro b^*) obtidos dos poços de controle da placa de ELISA

Poço	R	G	B	L^*	a^*	b^*	Observação
A12	180	189	100	74.202	-16.240	43.644	Controle positivo
B12	157	163	95	65.112	-12.754	34.547	Controle positivo
C12	248	251	245	98.251	-2.040	2.522	Controle negativo
D12	250	250	248	98.222	-0.35	1	Controle negativo

Fonte: Elaboração da autora Débora Ferreira de Souza.

Nota: R - Red; G - Green; B - Blue; L^* - Luminosidade; a^* - Variação entre verde (-) e vermelho (+); b^* - Variação entre azul (-) e amarelo (+).

FERRI, D. *et al.* Plant virus detection: current approaches and future trends. **Frontiers in Microbiology**, v.11, p.1-14, 2020.

GONZALEZ, R.C.; WOODS, R.E. **Digital image processing**. 4th ed. New York: Pearson: Global Edition, 2018. 1019p. Disponível em: <https://www.cl72.org/090imagePLib/books/Gonzales,Woods-Digital.Image.Processing.4th.Edition.pdf>. Acesso em: 1 dez. 2025.

ROWHANI, A. *et al.* Development of a sensitive colorimetric-PCR assay for detection of viruses in woody plants. **Plant Disease**, v.82, n.8, p.880-884, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30856914/>. Acesso em: 1 dez. 2025.

XIANG, Y. *et al.* Genetic diversity of strawberry mild yellow edge virus from eastern Canada. **Archives of Virology**, v.165, n.4, p.923-935, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-020-04561-2>. Acesso em: 12 dez. 2025.