

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Meloidogyne paranaensis* USANDO A TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP)

Felipe Abraão Souza Rodrigues, Everaldo Antônio Lopes, Rafaela Júlia Oliveira Bispo e Marina Bolela Valentini
Consumo e Produção Responsáveis
Pesquisa

Introdução

Meloidogyne paranaensis é um dos nematoides mais agressivos para o cafeeiro.

Métodos de diagnóstico como a PCR são caros e dependem de equipamentos como termocicladores, fotodocumentadores e sistemas de eletroforese.

A técnica LAMP oferece:

- ☐ Baixo custo.
- ☐ Rapidez (≤ 60 min).
- ☐ Detecção visual (mudança de cor).
- ☐ Potencial para uso em campo.

Objetivos

Desenvolver protocolo LAMP para detecção de *M. paranaensis*.

- ☐ Desenhar primers específicos.
- ☐ Otimizar temperatura e tempo de reação.
- ☐ Validar especificidade com outras espécies.

Material e Métodos

- ☐ Inóculo: Cultivo de *M. paranaensis* e outras espécies em casa de vegetação.
- ☐ Extração de DNA: Protocolo com proteinase K e esferas de vidro.
- ☐ Primers: ID7, ID21, ID29, ID50, ID67.
- ☐ LAMP: Mistura colorimétrica, 67°C/60 min.
- ☐ Análise: Detecção visual (vermelho $\rightarrow$ amarelo) e confirmação por eletroforese em gel.



Figura 1 - Visualização da coloração da reação de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) por 60 minutos a 67 °C usando cinco conjuntos de primers (ID 7, ID 21, ID 29, ID 50 e ID 67) e concentrações de FIP/BIP : F3/B3 (4:1 ou 8:1) usando reagente colorimétrico.
Foto: Marina Bolela Valentini

Apoio Financeiro



Resultados

- ☐ Amplificação eficaz: Primers ID50 (8:1, 67°C)
- ☐ Alta especificidade: Sem amplificação de outras espécies.
- ☐ Detecção visual: Mudança de cor (vermelho $\rightarrow$ amarelo).
- ☐ Confirmação: Padrão de escada em gel de agarose.

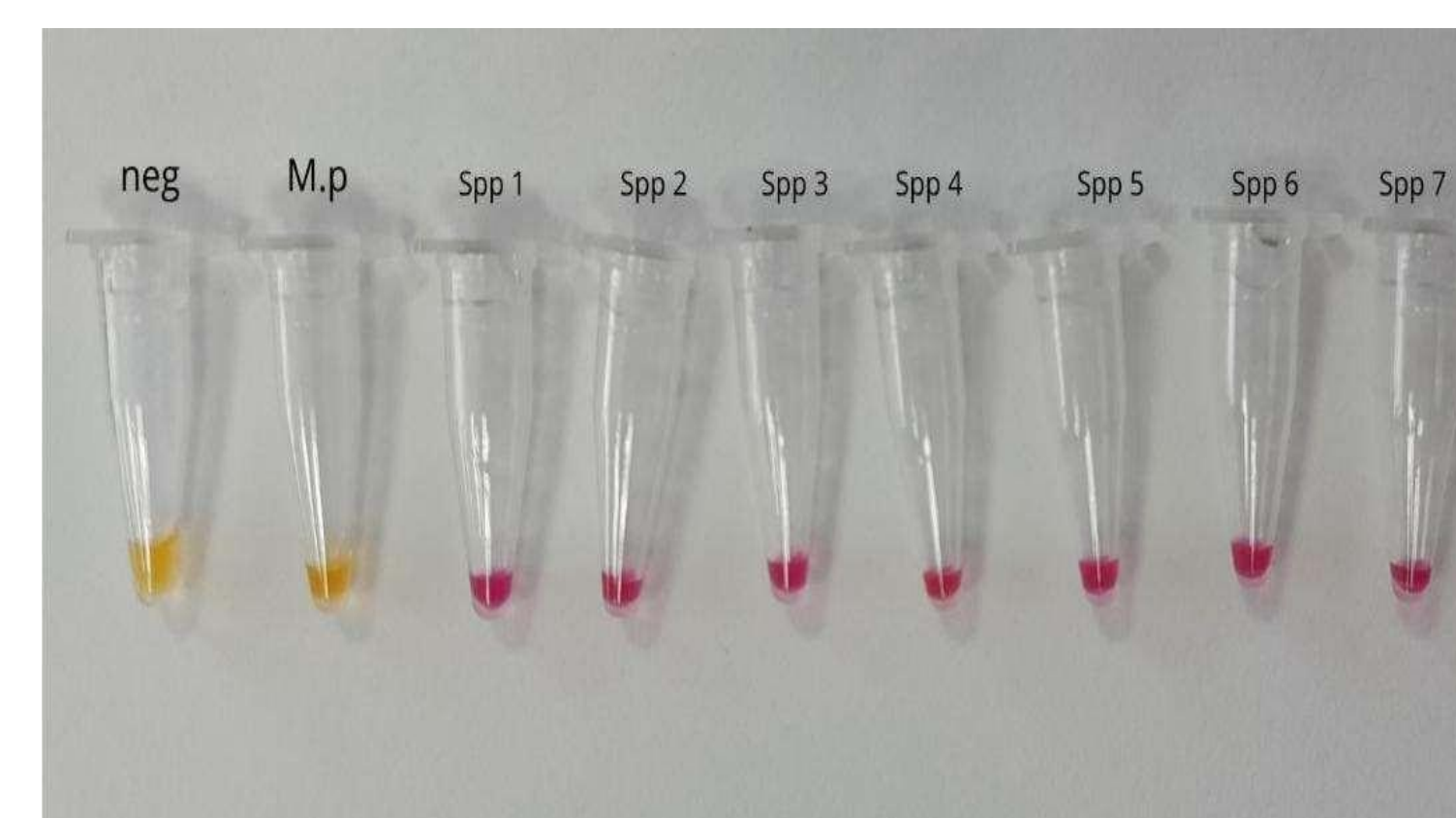


Figura 2. Detecção colorimétrica da reação LAMP para *Meloidogyne paranaensis* com primers ID50 (8:1) a 67°C/60 min. Amplificação específica (amarelo) observada apenas para *M. paranaensis* (M.p). Controles: negativo (Neg) e outras espécies (Spp 1-7).
Foto: Marina Bolela Valentini

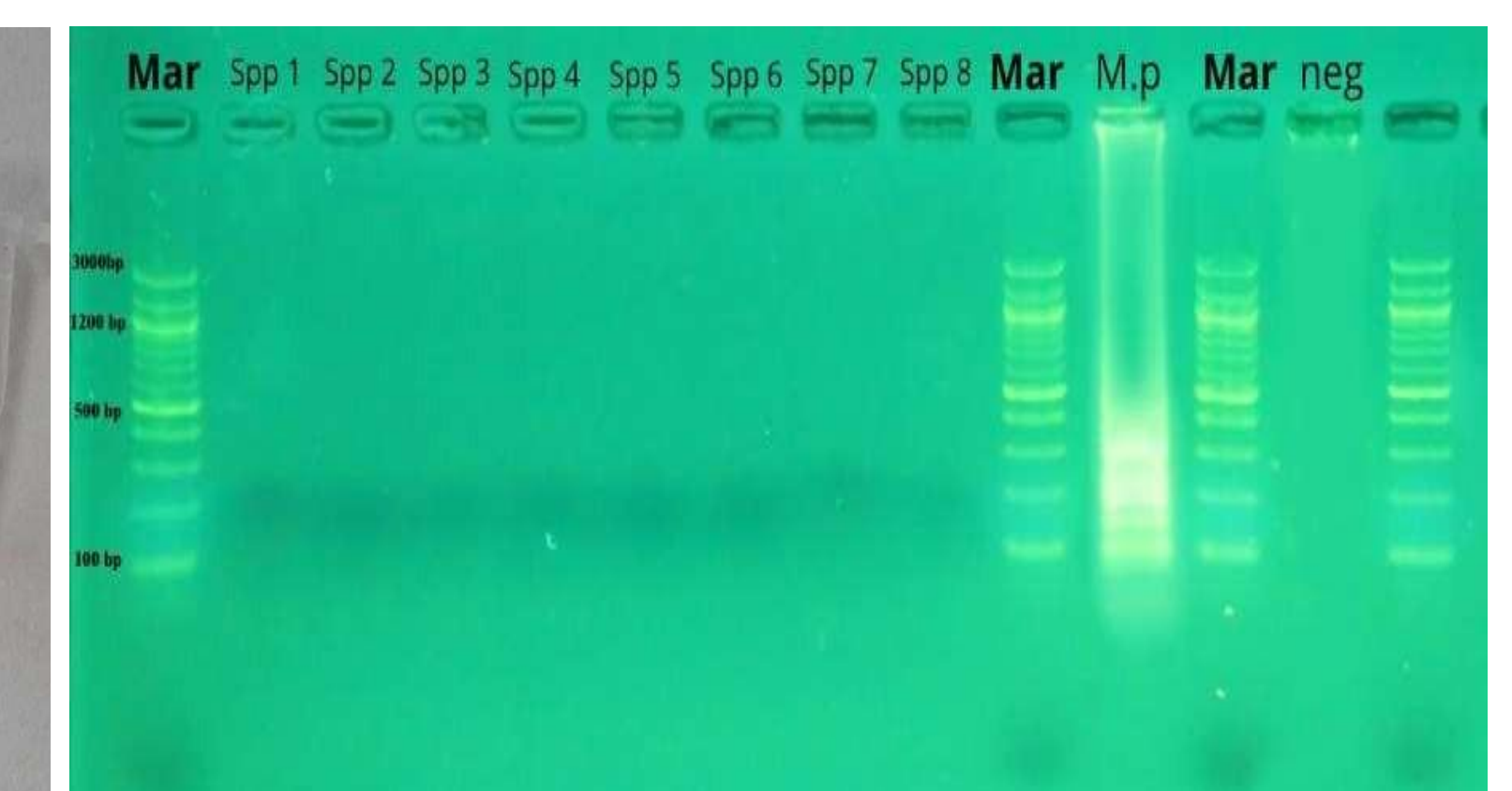


Figura 3. Análise por eletroforese em gel de agarose dos produtos da reação LAMP com primers ID50 (8:1) a 67°C/60 min. Padrão de bandas em escada observado exclusivamente em *M. paranaensis* (M.p), confirmando amplificação específica. Controles: negativo (Neg) e outras espécies (Spp 1-7).
Foto: Marina Bolela Valentini

Conclusões

O protocolo LAMP desenvolvido mostrou-se eficaz, sensível e específico para identificação de *M. paranaensis*, com as seguintes vantagens:

- ☐ Leitura visual;
- ☐ Potencial de aplicação em campo e em laboratórios com estrutura simplificada;
- ☐ Ferramenta prática.

Ensaio futuros focarão na avaliação da sensibilidade mínima e aplicação em amostras de solo e raízes, visando a consolidação desta técnica para uso rotineiro.

Bibliografia

- ☐ BABILÔNIA, G. B. *Diagnose molecular de espécies de Meloidogyne por meio da amplificação isotérmica de DNA mediada por loop (LAMP)*. 2023. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ☐ CARNEIRO, R. M. D. G. et al. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology*, v. 28, n. 2, p. 177–189, 1996.
- ☐ NIU, B. et al. Rapid detection of *Meloidogyne* spp. by LAMP assay in soil and roots. *Phytopathology*, v. 101, p. 1276–1284, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/232389507>. Acesso em: 21 set. 2025.
- ☐ NOTOMI, T. et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, v. 28, e63, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>. Acesso em: 21 set. 2025.