



## Identificação de *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* por meio de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP)

Maria Luiza Araújo Londe – (IAP) Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC/FAPEMIG)

Everaldo Antônio Lopes – Instituto de Ciências Agrárias (IAP) – Campus Rio Paranaíba

Palavras-chave: *Meloidogyne*; identificação ; loop-mediated isothermal amplification

### Introdução

A produção da agricultura no Brasil enfrenta inúmeros fatores limitantes, incluindo o ataque dos nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) os quais parasitam as raízes das plantas e causam deformação, deficiência nutricional, nanismo e depauperamento..

A identificação de espécies de *Meloidogyne* pode ser feita pela análise perineal de fêmeas, eletroforese de isoenzimas e reação em cadeia da polimerase. Porém, esses métodos apresentam algumas desvantagens, incluindo a similaridade dos padrões morfológicos entre as espécies e o alto custo das análises bioquímicas e moleculares.

Assim, para esse tipo de análise novas tecnologias estão sendo aplicadas, como a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP), a qual representa uma ferramenta promissora, rápida e acurada.

### Objetivos

O objetivo deste trabalho foi desenvolver protocolos de identificação de duas espécies de nematoides, *M. paranaensis* e *M. incognita* baseados na amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP).

### Material e Métodos

- Inóculos das espécies alvos foram mantidos em casa de vegetação em plantas de tomate e café para extrair o DNA das amostras;
- A partir das extrações de DNA, a identificação molecular de *M. incognita* e *M. paranaensis* foi feita por meio da reação em cadeia da polimerase com primers SCAR (Mi2F4/Mi1R1 e par-C09-F/par-C09-R) para se obter o sequenciamento das amostras e desenvolver os primers de cada espécie, otimizar a reação e validar a especificidade e sensibilidade do protocolo LAMP.

### Resultados e Discussão

Através da PCR foi possível obter os amplicons de cada espécie, porém o projeto ainda se encontra em fase de desenho de primers LAMP e avaliação de outras regiões genômicas com potencial para exploração.

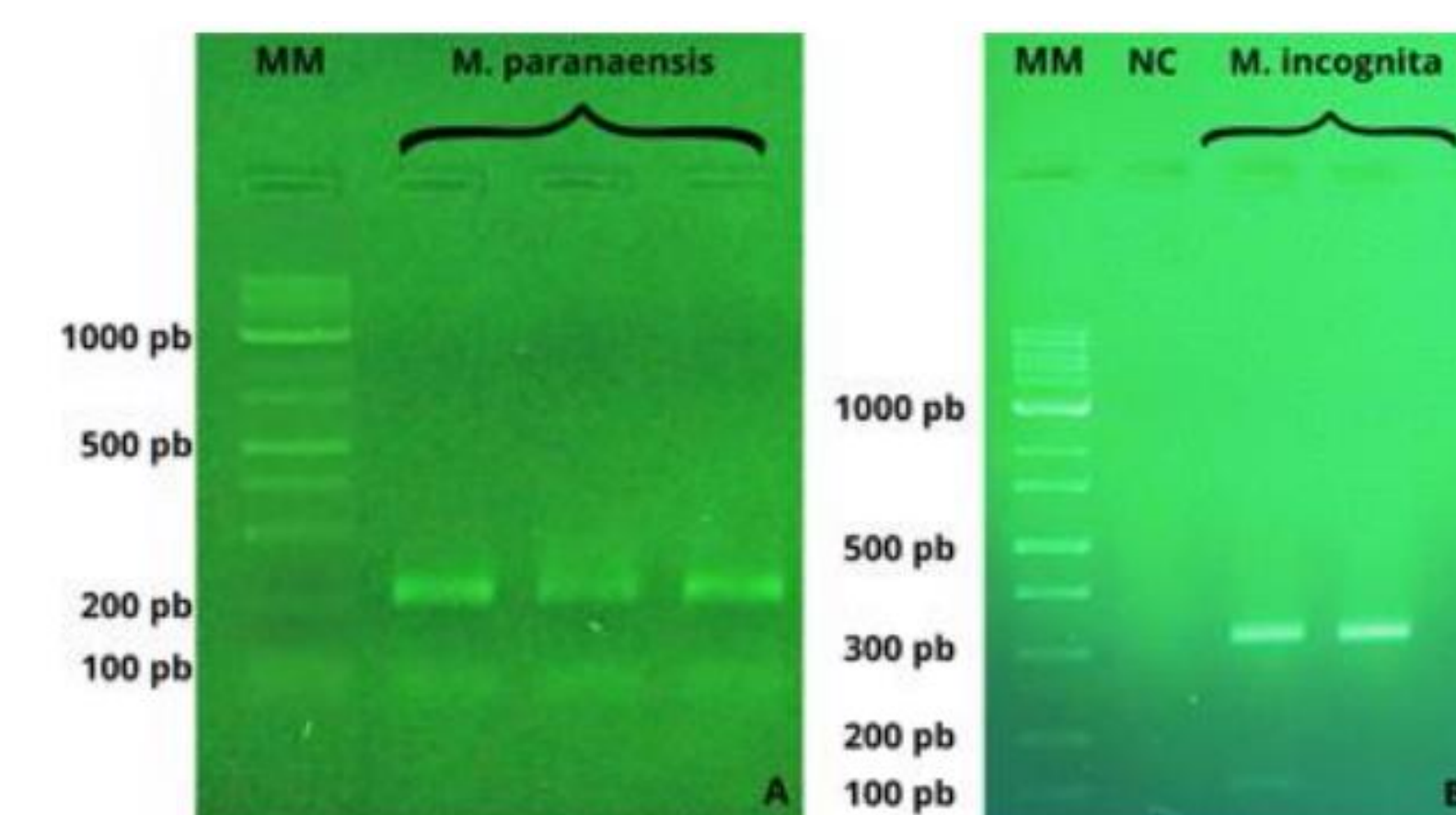


Figura 1 – Gel de agarose feito a partir de produtos de amplificação de reação em cadeia da polimerase (PCR) com primers específicos para *Meloidogyne paranaensis* (A), primers par-C08-F/par-C08-R, produto de 208 pares de bases) e *Meloidogyne incognita* (B), primers Mi2F4/MiR1, produto de 300 pares de bases). MM: marcador molecular de 100 pares de base e NC: Controle negativo.

### Conclusões

A identificação através de técnicas moleculares representa uma ferramenta poderosa para que se tenha maior acurabilidade nos diagnósticos laboratoriais e até mesmo levantamentos de áreas agricultáveis.

Sendo assim é possível concluir que a extração de DNA otimizada e o desenho de primers específicos, promoverá através de ensaios e pesquisas, novos protocolos que identifiquem as espécies *M. paranaensis* e *M. incognita* de forma acurada, para que futuramente possa se desenvolver outros procedimentos para identificação das demais espécies de nematoides.

### Bibliografia

RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. 2004. Identificação das principais espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com marcadores SCAR-Café em multiplex-PCR. *Nematologia Brasileira*, 28: 1-10.

### Apoio Financeiro

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq e CAPES.