

USO DE MARCADORES SCAR-RAPD EM MULTIPLEX-PCR PARA DETECÇÃO DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne*, PARASITAS DO CAFEIEIRO.

Souza, HJM; Randig, O; Carneiro, RMDG

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. C.P. 02372. 70770-900, Brasília, DF

recar@cenargen.embrapa.br

Palavras-chave: nematóide das galhas, marcador molecular, identificação

Os nematóides das galhas, gênero *Meloidogyne*, representam um dos principais inimigos para as culturas agrícolas no Brasil e no mundo. Na cultura do café, uns dos principais produtos de exportação do país, ocorrem três espécies principais (*M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis*), responsáveis por importantes reduções na produção global de café. A identificação correta da(s) espécie(s) presente é de fundamental importância para a escolha de métodos de controle mais adequados. Recentemente, marcadores espécie – específicos do tipo SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), foram desenvolvidos para *M. exigua* (ex-D15-F/R), *M. incognita* (inc-K14-F/R) e *M. paranaensis* (par-C09-F/R). O objetivo deste trabalho foi de testar esses marcadores SCAR em reação de multiplex-PCR, e avaliar o poder de detecção dessa técnica em uma situação onde duas ou três espécies estivessem misturadas em diferentes proporções, situação que pode ocorrer com certa frequência no campo. Um mix contendo os primers SCAR, em quantidade equimolar, foi utilizado em reação de PCR para amplificar o DNA de 16 populações de *Meloidogyne* spp., incluindo espécies parasitas do cafeiro no Brasil e América Central: *M. exigua* (4), *M. incognita* (4), *M. paranaensis* (4); *M. arabicida* (1), *M. arenaria* (1) e duas espécies não identificadas (*Meloidogyne* sp1 e sp2). A utilização dos primers SCAR em condição multiplex-PCR não altera os resultados de especificidade obtidos com o uso dos primers individualmente, permitindo assim a detecção de cada uma das três espécies a partir da amplificação de um fragmento de tamanho específico para cada espécie: 560pb para *M. exigua*, 400pb para *M. incognita* e 200pb para *M. paranaensis*. Nenhuma amplificação foi observada para as outras espécies utilizadas. Os mesmos fragmentos também foram amplificados de maneira específica quando o DNA das três espécies foi misturado em proporções de 1 a 5%. O nível mínimo para detecção de misturas foi estimado em 1%. A técnica SCAR multiplex-PCR apresenta interesse para identificação de espécies em laboratório de rotina permitindo um diagnóstico preciso, relativamente rápido e de fácil interpretação. O próximo passo será desenvolver marcadores SCAR para outras espécies de interesse para a cultura do café e difundir a técnica SCAR multiplex-PCR para uso em laboratórios de análise de rotina.

Apoio financeiro: CNPq, Comunidade Européia