



AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP PARA DETECÇÃO DE PATÓGENOS DE PLANTAS

Carolina Garcia Neves¹; Ismail Teodoro de Souza Júnior¹,
Danielle Ribeiro de Barros¹

RESUMO

O controle efetivo das doenças é crucial para minimizar as perdas potenciais na agricultura e manter o rendimento elevado da produção. Porém, para que seja eficaz, é importante que o patógeno seja detectado de forma precoce e correta nos campos de produção. Diferentes métodos de diagnose podem ser empregados desde aqueles baseados em sintomatologia aos sofisticados testes moleculares. A amplificação isotérmica mediada por loop (*Loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) é uma técnica molecular que tem sido utilizada em diversos campos da biologia, devido à sua praticidade, sensibilidade, especificidade e rapidez na obtenção dos resultados. A reação pode ser realizada em temperatura constante, devido à utilização da enzima DNA polimerase *Bst*, isolada da bactéria *Bacillus stearothermophilus*, que tem como característica a alta atividade de deslocamento. LAMP é um método de amplificação exponencial que permite a síntese do DNA alvo em quantidades de 10^9 - 10^{10} vezes entre 45 e 60 minutos a 60-65°C. Apresenta como vantagens a possibilidade de visualização dos resultados diretamente a olho nu, além do fato de não requerer equipamentos sofisticados e de alto custo. Na fitopatologia, a técnica vem ganhando destaque, sendo empregada na detecção de fungos, vírus, bactérias, nematoides e fitoplasmas, bem como no monitoramento de fungos resistentes a fungicidas. O emprego de LAMP no diagnóstico precoce, sensível e específico de patógenos pode trazer benefícios para a agricultura, minimizando as perdas causadas por doenças. Portanto, nesta revisão, são apresentados e discutidos os testes LAMP, desenvolvidos para detecção de patógenos em plantas, que podem ser úteis para pesquisadores que queiram utilizar a técnica na sua área de pesquisa.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias, Diagnose, Fitoplasmas, Fungos, Lamp, Nematoides, Vírus

ABSTRACT

Disease control is crucial to minimize potential losses in agriculture and thereby maintain high crop yield. However, for its effectiveness, the pathogen must be detected early and correctly in the production fields. Different methods of diagnosis can be used, from those based on symptoms to molecular tests. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) is a molecular technique that has been widely used in several biological fields, due to the

**LOOP-
MEDIATED
ISOTHERMAL
AMPLIFICATION
FOR DETECTION OF
PLANT PATHOGENS**

¹Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Pelotas, RS, Brasil. Autor para correspondência: danielle.barros@ufpel.edu.br

ease with which it can be applied. The reaction can be carried out in a single thermal condition, due to the use of *Bst* DNA polymerase, isolated from the bacterium *Bacillus stearothermophilus*, which has high displacement activity. LAMP is a highly exponential amplification method that produces the target DNA in amounts 10^9 - 10^{10} times between 45 and 60 minutes at 60-65°C. Its advantages are the visualization of results directly with the naked eye and the fact that it does not need sophisticated equipment for its application. In phytopathology, the technique has been gaining prominence in the detection of fungi, viruses, bacteria, nematodes and phytoplasmas, as well as in the monitoring of fungicide-resistant fungi. LAMP can benefit agriculture so that early, accurate and sensitive diagnostics can be carried out in the fields of cultivation and minimize losses caused by diseases. In this review, we present and discuss LAMP tests, developed for plant pathogens detection, which can be useful for researchers who wish to use the technique in their research area.

KEYWORDS: Bacteria, Diagnosis, Fungi, LAMP, Nematodes, Phytoplasmas, Virus

1. INTRODUÇÃO

As projeções indicam que em 2050 a população mundial será de 10 bilhões de habitantes (ONU 2019), o que torna a demanda por alimentos cada vez maior. Com a transformação que o mundo vem passando, a segurança alimentar está ameaçada e, com isso, se faz cada vez mais necessária a busca por alternativas para alimentar essa crescente população mundial (LE & VU 2017).

O Brasil é conhecido por ser um grande produtor e exportador de alimentos em todos os segmentos da agricultura. Para exemplificar, na safra de grãos 2020/2021, o país alcançou 260,8 milhões de toneladas produzidas, com destaque para soja, milho e algodão (CONAB 2021). Embora a produção seja muito grande, as perdas ocasionadas tanto por fatores abióticos como bióticos (pragas e doenças) também são (EMBRAPA 2018). Um estudo realizado por Savary et al. (2019), estimou as perdas causadas por pragas e patógenos nas culturas do trigo, arroz, milho, batata e soja em todo o mundo. Os dados mostram que a média das perdas por cultura foi: trigo 21,5%, arroz 30%, milho 22,5%, batata 17,2% e soja 21,4%. Os autores destacaram que as maiores perdas ocorreram em países que estão em desenvolvimento e apresentam um rápido crescimento populacional.

Diante disso, é notável a importância da diagnose de doenças, para que medidas de controle sejam adotadas o mais rápido possível a fim de evitar

perdas econômicas, bem como a disseminação dos patógenos para outras plantas, outros cultivos e até mesmo para outras regiões. Diferentes métodos diagnósticos podem ser empregados para detecção de patógenos, desde aqueles mais simples como os baseados nos sintomas da doença, até os mais sofisticados, fundamentados na amplificação de ácido nucleico (LE & VU 2017).

A amplificação isotérmica mediada por loop (*Loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) é uma técnica rápida e eficiente, que tem como base a amplificação de uma região específica de DNA. LAMP é realizada em condições isotérmicas necessitando apenas de um banho maria ou um bloco aquecido para que a reação ocorra (NOTOMI et al. 2000). Foi primeiramente desenvolvida para suprir uma demanda na área de saúde humana, sendo o primeiro trabalho desenvolvido para a detecção do vírus da hepatite B (HBV) (NOTOMI et al. 2000). Porém, em pouco tempo, começou a ser utilizada para detecção de patógenos em plantas. O primeiro trabalho, publicado em 2003, envolveu a detecção do tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) um vírus da família *Geminiviridae*, que infecta tomateiros e é transmitido por moscas brancas (*Bemisia tabaci*). Além de ter sido detectado em plantas de tomate infectadas, o TYLCV também foi detectado no seu vetor, a mosca branca (FUKUTA et al. 2003a). Desde o início da sua utilização, LAMP já demonstrava sua versatilidade, com a possibilidade de detecção

de patógenos em diferentes materiais. A partir daí, LAMP tornou-se uma opção rápida e robusta para detecção de fungos, vírus, bactérias, nematoides e fitoplasmas que causam doenças em plantas.

No Brasil, algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a utilização de LAMP em diferentes áreas de estudo. Na detecção de patógenos de plantas alguns trabalhos podem ser citados: detecção de *Macrophomina phaseolina* em sementes de feijão (ROCHA et al. 2017); detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* no solo e em tecidos vegetais de plantas de soja (GRABICOSKI et al. 2020) e a detecção de *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* e *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* em folhas de feijão (PAIVA et al. 2020). Além desses trabalhos envolvendo a detecção de fitopatógenos, também há pesquisas na área de saúde humana: detecção de Zika virus (ZIKV) em tecidos humanos e no seu vetor (SILVA et al. 2020); detecção de *Leishmania infantum* agente causal da leishmaniose visceral (BEZERRA et al. 2020); e mais recentemente, LAMP foi empregada para a detecção de SARS-CoV-2 a partir de amostras de saliva de pessoas sintomáticas e assintomáticas (SANTOS et al. 2021).

Nesta revisão, além da apresentação e discussão dos detalhes da técnica LAMP, foram incluídos testes LAMP desenvolvidos para detecção específica de diferentes patógenos em plantas. Tais informações podem ser de grande valia para pesquisadores que queiram utilizar a técnica na sua área de pesquisa.

2. LAMP

A amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) é uma técnica de diagnóstico molecular, relatada pela primeira vez por Notomi et al. (2000) e vem sendo amplamente utilizada em diversas áreas da biologia, principalmente devido à facilidade, sensibilidade, especificidade e rapidez para a obtenção dos resultados (NOTOMI et al. 2000).

LAMP pode ser realizada em uma única condição térmica, sem a necessidade de mudanças de

temperatura durante a amplificação (CHEN et al. 2012) isso é possível devido à utilização da DNA polimerase *Bst*, isolada da bactéria *Bacillus stearothermophilus*, a qual tem alta atividade de deslocamento. Apresenta-se como uma técnica de amplificação exponencial, sintetizando moléculas de DNA alvo em quantidades de 10^9 - 10^{10} vezes entre 45 e 60 minutos a 60 - 65°C (NOTOMI et al. 2000). Dessa forma, diferentemente das técnicas baseadas em PCR, as quais necessitam de variações de temperatura para obtenção dos resultados (com o uso de termocicladores), LAMP supera essa limitação, permitindo a obtenção de diagnósticos precisos e sensíveis, que podem ser realizados de forma rápida, diretamente nos campos de produção (DAI et al. 2012).

A técnica baseia-se na amplificação do ácido nucleico por meio da utilização de quatro ou seis primers: dois externos (F3 e B3), dois internos (FIP e BIP) e primers de loop (FL e BL), os quais se ligam a 6 ou 8 regiões distintas da sequência alvo, tornando-a altamente específica (NOTOMI et al. 2000; TOMITA et al. 2008) (Figura 1). LAMP tem a capacidade de amplificar mais cópias do DNA alvo em menos de uma hora e em temperatura constante quando comparado com a PCR convencional, que necessita de ciclos de temperatura de três etapas (NOTOMI et al. 2000). Além disso, os primers de loop, quando utilizados, podem acelerar o processo de amplificação do loop, completando a reação em 20-30 minutos (MORI & NOTOMI 2009; NAGAMINE et al. 2002).

Na figura 2, observa-se como ocorre a amplificação da sequência alvo por meio da alternância entre duas etapas, a não cíclica e a cíclica. Na etapa não cíclica [1], a amplificação do DNA inicia após a reação atingir a temperatura em que a enzima possui atividade. Os loops são então formados nas extremidades da fita de DNA pela atuação dos iniciadores internos (FIP e BIP) juntamente com o deslocamento propiciado pelos iniciadores externos (F3 e B3) (TOMITA et al. 2008). A etapa cíclica [2] ocorre após a formação dos loops. Nesta etapa,



Figura 1. Localização dos primers LAMP na sequência alvo. F3 e B3 são os primers externos. F2 e F1c formam o primer FIP. B2 e B1c foram o primer BIP. FL e BL representam os primers loop.

somente os iniciadores internos vão atuar no anelamento e síntese das quatro regiões distintas do alvo, correspondendo às sequências F2c, F1c, B1 e B2. Isso se dá, pois diferentemente da etapa não-cíclica, as regiões em que os iniciadores externos se anelam (F3c e B3c) estarão ausentes nessa etapa. Sendo assim, a fita sintetizada a partir do anelamento do iniciador interno não será deslocada pelo iniciador externo e sim pelos loops formados na extremidade da fita (NOTOMI et al. 2000). Na fase cíclica, após o anelamento e formação do loop pela região B1 e B1c, a síntese é iniciada. Com a autoativação da síntese promovida pelo loop nessa região, a fita anteriormente sintetizada pelo iniciador FIP é liberada. A fita simples liberada é uma repetição invertida da estrutura de partida, e é nessa fita invertida que o iniciador BIP reconhece a região B2c, que se anela e permite o início da síntese do DNA, formando uma nova fita complementar que apresentará outros loops produzindo novas cópias invertidas da sequência alvo. Essas sequências poderão formar múltiplas estruturas devido ao deslocamento das fitas complementares sintetizadas pelos iniciadores internos (NOTOMI et al. 2000; TOMITA et al. 2008).

Ao longo do tempo, houve avanços e aper-

feiçoamentos com relação à técnica LAMP: LAMP convencional (LAMP); LAMP de transcrição reversa (RT-LAMP); multiplex LAMP (mLAMP) e LAMP em tempo real (qLAMP). LAMP convencional é aquele comumente utilizado. No RT-LAMP uma transcriptase reversa é adicionada à reação para permitir a detecção de RNA por meio da retrotranscrição do RNA molde em DNA (NOTOMI et al. 2000). Da mesma forma que o LAMP convencional, RT-LAMP pode ser realizado em uma única etapa, incubando todos os primers, *Bst* polimerase e transcriptase reversa em uma temperatura constante. Tal avanço na técnica deve-se principalmente para possibilitar sua utilização na detecção de vírus que possuem genoma de RNA (MORI et al. 2013). O mLAMP é uma variação da técnica que permite a detecção de vários genes alvo em uma única reação (LAU et al. 2015). Já o emprego de qLAMP permite a quantificação dos ácidos nucleicos (DNA ou RNA) alvos em tempo real, por meio da utilização de um termociclador em tempo real ou de um turbidímetro em tempo real (NAGAMINE et al. 2002; MORI et al. 2013).

A visualização dos produtos da amplificação pode ser feita pela adição de indicadores na mistura da reação, podendo ser antes do processo, por

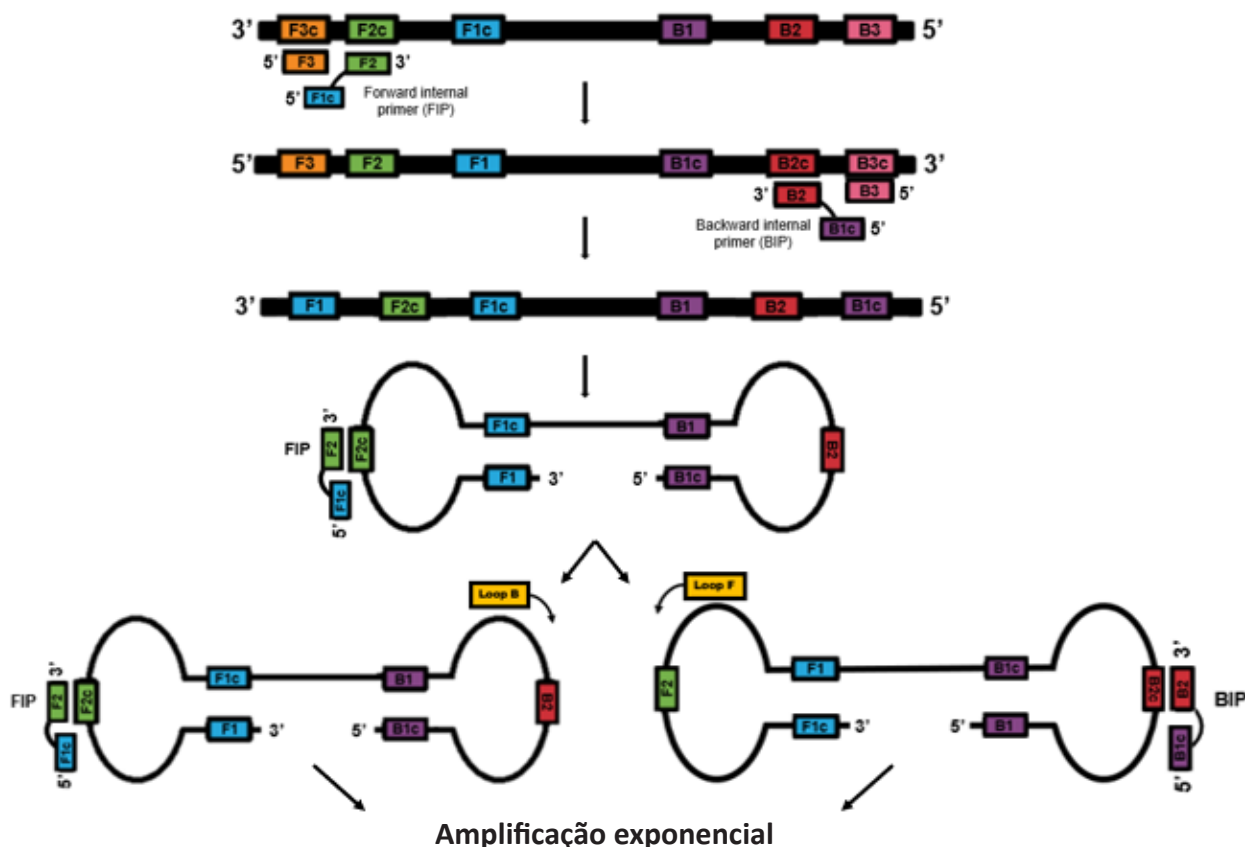


Figura 2. Ilustração das etapas não cíclica e cíclica da reação LAMP.

exemplo o azul de hidroxinaftol (HNB) e calceína, ou após a reação ocorrer, como o brometo de etídio, EvaGreen, SYBR Green e Pico Green (LE et al. 2017). Com a utilização do HNB, o resultado positivo pode ser observado pela mudança da cor na reação, isso devido à alteração do pH. Nos casos de utilização de calceína ou brometo de etídio, nas reações positivas haverá emissão de fluorescência sob luz UV. HNB e calceína são os indicadores mais utilizados, em relação ao brometo de etídio devido à sua segurança, por ser cancerígeno. Uma outra forma de confirmar o sucesso da reação LAMP é através da turbidez do pirofosfato de magnésio no fundo do tubo. A turbidez aumentada pode ser medida em tempo real ou ao final da reação (ALMASI et al. 2013). Outra forma é através de um indicador de pH visível, baseado na produção de prótons e subsequente queda do pH do meio, resultando na alteração da coloração da reação, de rosa (negativo) para amarelo (positivo) (TANNER et al. 2015). Além desses, os produtos LAMP podem ser visualizados sob luz UV após eletroforese em gel de agarose, o que vai ser observado são as várias repetições invertidas de DNA como

uma escada no gel (LE ROUX et al. 2009).

Assim, LAMP é uma técnica que permite a detecção específica de ácidos nucleicos de forma simples, rápida e sensível, que pode ser utilizada com eficácia para detecção de patógenos e mutações genéticas. Como não requer equipamentos específicos, teoricamente, LAMP tem a vantagem de poder ser empregada em locais remotos com pouca infraestrutura.

3. DETECÇÃO DE PATÓGENOS DE PLANTAS

Nos últimos anos, muitos trabalhos têm sido publicados mostrando a utilização de LAMP na detecção de fungos, vírus, bactérias, nematoides e fitoplasmas. De maneira geral, observa-se na literatura um aumento nas publicações a partir do ano de 2012 (Figura 3a), tendo um ápice no número de publicações em 2019 (Figura 3a). Quando se analisam individualmente os patógenos, trabalhos realizados com fungos e oomycetos (Figura 3b) e vírus (Figura 3c) se destacam. No entanto, sua utilização vem crescendo na detecção de bactérias (Figura 3d), fitoplasmas (Figura 3e) e nematoides (Figura 3f).

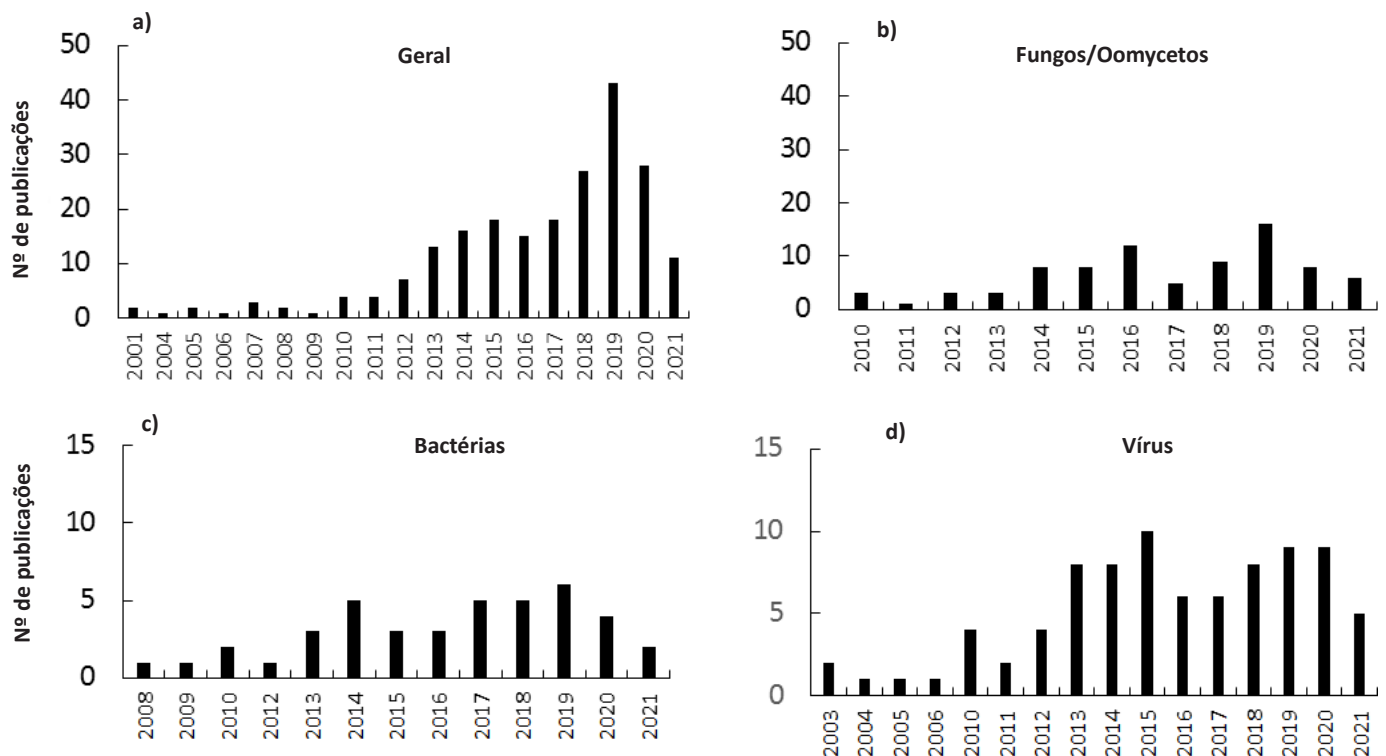


Figura 3. Número de publicações listadas na plataforma PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) (status de 2021), com pesquisa refinada para aparência no título das palavras: a) LAMP; *plant pathogen*; b) LAMP; *plant fungus*; *detection*; c) LAMP; *plant virus*; *detection*; d) LAMP; *plant bacteria*; *detection*; e) LAMP; *phytoplasma*; *detection*; f) LAMP; *plant nematodes*; *detection*.

continua...

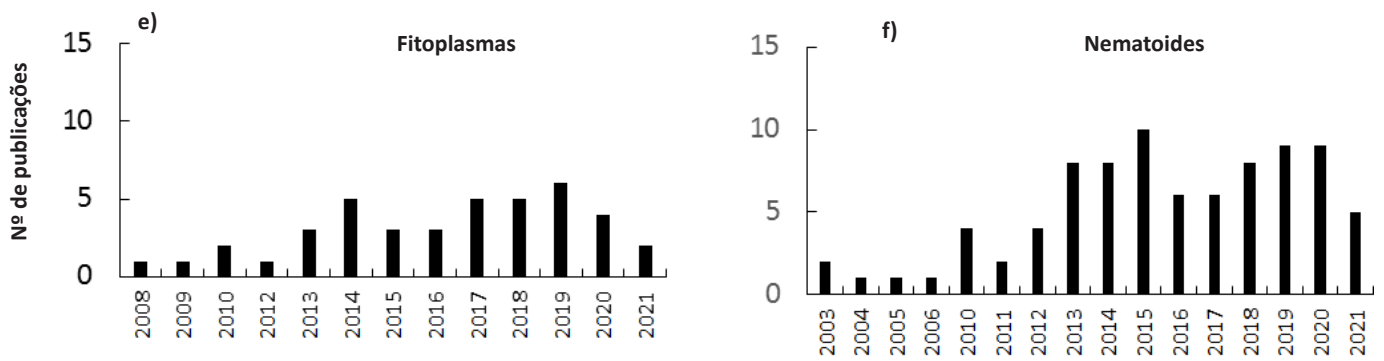


Figura 3. Continuação

3.1 VÍRUS

LAMP foi desenvolvida primeiramente para atender a área de saúde humana e, como descrito anteriormente, o primeiro trabalho publicado envolveu a detecção do HBV (NOTOMI et al. 2000). A área de virologia vegetal também foi pioneira nos estudos envolvendo a aplicação de LAMP para detecção de patógenos de plantas e abrange o maior número de publicações na literatura. Os vírus são parasitas obrigatórios e causam danos severos em

diferentes culturas de interesse agrícola. Estima-se que no ano de 2014 as pandemias e epidemias de doenças de plantas causadas por vírus tiveram um impacto econômico global em torno de US\$ 30 bilhões anuais (SASTRY & ZITTER 2014).

Na tabela 1, foram relacionados os estudos realizados para o diagnóstico de vírus de plantas por LAMP. Vale salientar que, como a maioria dos vírus de plantas apresenta genoma de RNA, para sua detecção utiliza-se RT-LAMP.

Tabela 1. Testes LAMP desenvolvidos para o diagnóstico de vírus de plantas.

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	Tomateiro	Tecido vegetal; vetor (mosca branca)	LAMP	FUKUTA et al. 2003a
Japanese yam mosaic virus (JYMV)	Inhame	Folha	RT-LAMP	FUKUTA et al. 2003b
Tomato spotted wilt orthotospovirus (TSWV)	Tomateiro; Crisântemo	Folha	RT-LAMP	FUKUTA et al. 2004 WU et al. 2016
Potato virus Y (PVY)	Batateira	Tubérculo; folha	RT-LAMP	NIE 2005
Plum pox virus (PPV)	Pêssegueiro	Tecido vegetal	RT-LAMP	VARGA & JAMES 2006
Tobacco mosaic virus (TMV)	Tabaco	Folha	RT-LAMP	LIU et al. 2010
Squash leaf curl virus (SLCV)	Abóbora; Meloeiro	Folha	LAMP	KUAN et al. 2010
Wheat yellow mosaic virus (WYMV)	Trigo	Folha	RT-LAMP	ZHANG et al. 2011
Cymbidium mosaic virus (CymMV)	Orquídea	Folha	RT-LAMP	LEE et al. 2011
Southern rice black-streaked dwarf virus (SRBSDV)	Arroz	Tecido vegetal	RT-LAMP	ZHOU et al. 2012
Banana bunchy top virus (BBTV)	Banana	Tecido vegetal	LAMP	PENG et al. 2012
Bean pod mottle virus (BPMV)	Soja	Semente	RT-LAMP	WEI et al. 2012
Potato leafroll virus (PLRV)	Batateira	Folha	RT-LAMP	AHMADI et al. 2012
Pepino mosaic virus (PepMV)	Tomateiro	Tecido vegetal	RT-LAMP	HASIÓW-JAROSZEWSKA & BORODYNKO 2013
Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)	Melancia	Plântulas; semente	RT-LAMP	LI et al. 2013
Piper yellow mottle virus (PYMoV)	Pimenteira preta	Tecido vegetal	LAMP	BHAT et al. 2013

Continua...

Tabela 1. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Grapevine leafroll-associated virus type 3 (GLRaV-3)	Videira	Pecíolo	RT-LAMP	WALSH & PIETERSEN 2013
Ugandan cassava brown streak virus (UCBSV)	Mandioca	Folha	RT-LAMP	TOMLINSON et al. 2013
Cassava brown streak virus (CBSV)	Mandioca	Folha	RT-LAMP	TOMLINSON et al. 2013
Cucumber mosaic virus (CMV)	Bananeira; Pimenteira preta; alface	Tecido vegetal	RT-LAMP	PENG et al. 2012
				BHAT et al. 2013
				ZHANG et al. 2020
Japanese soil-borne mosaic virus (JSBWMV)	Trigo	Folha	RT-LAMP	FUKUTA et al. 2013
Chinese wheat mosaic virus (CWMV)	Trigo	Folha	RT-LAMP	FUKUTA et al. 2013
Papaya ringspot virus (PRSV)	Mamoeiro	Folha	RT-LAMP	SHEN et al. 2014a
Citrus yellow mosaic badnavirus (CMBV)	Citrus	Tecido vegetal	LAMP	JOHNSON et al. 2014
Beet curly top virus (BCTV)	Beterraba	Tecido vegetal	RT-LAMP	ALMASI et al. 2014
Prunus necrotic ringspot virus (PNRSV)	Cerejeira	Folha	RT-LAMP	ZONG et al. 2014
Tomato necrotic stunt virus (ToNStV)	Tomateiro	Tecido vegetal	RT-LAMP	LI & LING 2014
Papaya leaf distortion mosaic virus (PLDMV)	Mamoeiro	Folha	RT-LAMP	SHEN et al. 2014b
Tomato black ring virus (TBRV)	Solanáceas	Folha	RT-LAMP; RT-qLAMP	HASIÓW-JAROSZEWSKA et al. 2015
Rice black-streaked dwarf virus (RBSDV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice dwarf virus (RDV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice gall dwarf virus (RGDV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice ragged stunt virus (RRSV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice grassy stunt virus (RGSV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice stripe virus (RSV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice tungro bacilliform virus (RTBV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice tungro spherical virus (RTSV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Rice transitory yellowing virus (RTYV)	Arroz	Folha	RT-LAMP	SASAYA 2015
Potato virus X (PVX)	Batateira	Tecido vegetal	RT-LAMP; RT-qLAMP	JEONG et al. 2015
Tomato chlorosis virus (ToCV)	Tomateiro	Folha	RT-LAMP	KIL et al. 2015
Sugarcane mosaic virus (SCMV)	Cana-de-açúcar	Tecido vegetal	RT-LAMP	KEIZERWEERD et al. 2015
Sorghum mosaic virus (SrMV)	Cana-de-açúcar	Tecido vegetal	RT-LAMP	KEIZERWEERD et al. 2015
Wheat streak mosaic virus (WSMV)	Trigo	Tecido vegetal	RT-LAMP	LEE et al. 2015
Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV)	Cucurbitáceas	Vetor (mosca branca); folha	RT-LAMP	OKUDA et al. 2015
Chrysanthemum stem necrosis orthospovirus (CSNV)	Crisântemo; tomateiro	Tecido vegetal	RT-LAMP	SUZUKI et al. 2016
Tomato torrado virus (ToTV)	Tomateiro	Folha	RT-LAMP	BUDZISZEWSKA et al. 2016

Continua...

Tabela 1. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Chilli veinal mottle virus (ChiVMV)	Pimenteira	Folha	RT-LAMP	BANERJEE et al. 2016
Lily symptomless virus (LSV)	Lírio	Tecido vegetal	RT-LAMP	HE et al. 2016
Maize chlorotic mottle virus (MCMV)	Milho	Folha	RT-LAMP	CHEN et al. 2017
Mirafiori lettuce big vein virus (MiLBVV)	Alface	Folha	RT-LAMP	ALMASI 2017
Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)	Beterraba	Raiz	RT-LAMP	ALMASI & ALMASI 2017
Bean common mosaic necrosis virus (BCMNV)	Feijão	Tecido vegetal	RT-LAMP	LEE et al. 2017
Southern tomato virus (STV)	Tomateiro	Folha, fruto; semente; raiz	RT-LAMP	ELVIRA-GONZÁLEZ et al. 2017
Lily mottle virus (LMoV)	Lírio	Bulbo	RT-LAMP	ZHAO et al. 2018 ZHANG et al. 2020
Yam mosaic virus (YMV)	Inhame	Folha; tubérculo	RT-LAMP	NKERE et al. 2018
Barley stripe mosaic virus (BSMV)	Cevada	Semente; tecido vegetal	RT-LAMP	ZARZYŃSKA-NOWAK et al. 2018
Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	Pereira; Maçieira	Tecido vegetal; folha	RT-LAMP	PENG et al. 2017 LU et al. 2018
Apple stem pitting virus (ASPV)	Pereira	Tecido vegetal	RT-LAMP	LU et al. 2018
Little cherry virus 1 (LChV-1)	Cerejeira	Folha	RT-LAMP	TAHZIMA et al. 2019
Citrus tristeza virus (CTV)	Citrus	Folha	RT-LAMP	GHOSH et al. 2019
Mesta yellow vein mosaic virus (MeYVMV)	Hortelã-pimenta	Folha; flor; caule	LAMP	MEENA et al. 2019
Onion yellow dwarf virus (OYDV)	Cebola	Folha; bulbo	RT-LAMP	TIBERINI et al. 2019
Tobacco streak Virus (TSV)	Algodão; Soja	Folha	RT-LAMP	GAWANDE et al. 2019
Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV)	Meloeiro; pimenteira; berinjela	Folha	qLAMP	WILISIANI et al. 2019
Pepper yellow leaf curl Indonesia virus (Pe-pYLCIV)	Meloeiro; pimenteira; berinjela	Folha	qLAMP	WILISIANI et al. 2019
Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus (TYLCKaV)	Meloeiro; pimenteira; berinjela	Folha	qLAMP	WILISIANI et al. 2019
Citrus leaf blotch virus (CLBV)	Citrus	Folha	RT-LAMP	LIU et al. 2019
Grapevine red blotch virus (GRBV)	Videira	Folha	LAMP	ROMERO et al. 2019
Turnip yellows virus (TuYV)	Canola	Folha	RT-LAMP	CONGDON et al. 2019
Barley yellow mosaic virus (BaYMV)	Cevada	Tecido vegetal	RT-LAMP	CHEN et al. 2020
Melon necrotic spot virus (MNSV)	Meloeiro; pepino	Folha	RT-LAMP	QIAO et al. 2020
Maize streak virus (MSV)	Milho	Tecido vegetal	LAMP	TEMBO et al. 2020
Indian citrus ringspot virus (ICRSV)	Citrus	Tecido vegetal	RT-LAMP	KOKANE et al. 2020
Lettuce necrotic yellows virus (LNYV)	Alface	Tecido vegetal	RT-LAMP	ZHANG et al. 2020
Arabis mosaic virus (ArMV)	Lírio	Tecido vegetal	RT-LAMP	ZHANG et al. 2020

Continua...

Tabela 1. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Cucurbit leaf crumple virus (CuLCrV)	Abóbora	Folha	qLAMP	WALIULLAH et al. 2020
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	Tomateiro; pimenteira	Tecido vegetal	RT-LAMP	SARKES et al. 2020
Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV)	Tomateiro; melancia	Tecido vegetal	LAMP	VENKATARAVANAPPA et al. 2020
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	Tomateiro; pimenteira	Semente	RT-LAMP	RIZZO et al. 2021
Cotton leaf curl disease (CLCuD)	Algodão	Tecido vegetal	LAMP	RAFIQ et al. 2021
Wheat dwarf virus (WDV)	Trigo	Tecido vegetal; vetor	qLAMP; LAMP	HAO et al. 2021

3.1 FUNGOS E OOMYCETOS

Fungos e oomycetos causam perdas econômicas significativas para as culturas agrícolas. Para que essas perdas sejam minimizadas, medidas de controle eficientes precisam ser adotadas e a detecção precoce do patógeno torna-se uma prioridade.

Em 2010, foram publicados os primeiros trabalhos com LAMP para detecção de fungos e oomycetos. Niessen & Vogel (2010) desenvolveram um teste para detectar *Fusarium graminearum*, o principal agente causador da giberela em cereais. No estudo, foi utilizado LAMP convencional e o fungo foi detectado diretamente da colônia pura, bem como de grãos de cevada e trigo. No mesmo ano, Tomlinson et al. (2010) detectaram os patógenos *Phytophthora ramorum* e *P. kernoviae*, agentes causais da morte súbita do carvalho e da queima das folhas. Neste estudo, o DNA foi extraído a partir de material vegetal e utilizado como molde da reação e, além da detecção individualmente de cada uma das espécies através do LAMP convencional, um mLAMP também foi desenvolvido para realizar a detecção da presença de ambas as espécies em uma única reação.

Ao longo de 10 anos, na maioria dos trabalhos encontrados na literatura utilizou-se LAMP convencional para a detecção de fungos e oomycetos e alguns utilizaram qLAMP. Além disso, com o avanço da sua aplicação, as reações puderam ser realizadas a partir de diferentes materiais, desde a colônia

pura do fungo, sementes, tecidos vegetais até mesmo solo (Tabela 2).

Além de sua aplicação na detecção de fungos e oomycetos, LAMP vem sendo empregada para monitorar a resistência de fungos a fungicidas com diferentes modos de ação. A resistência a fungicidas inibidores da succinato desidrogenase (SDHI) vem sendo monitorada em *Corynespora cassicola* e *Botrytis cinerea* (FAN et al. 2018; ZHU et al. 2020) e os inibidores extracelulares de quinona (QoI) nas espécies *B. cinerea*, *Cercospora beticola*, *Colletotrichum gloeosporioides* (HU et al. 2017; WU et al. 2019; SHRESTHA et al. 2020). A resistência de *Monilinia fructicola* a fungicidas inibidores da desmetilação (DMI) também vem sendo monitorada com a utilização de LAMP (CHEN et al. 2020). A resistência a fungicidas que agem inibindo a síntese de DNA bem como o processo de mitose em organismos sensíveis vem sendo monitorada em *B. cinerea*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium asiaticum*, *Podosphaera xantii* e *Sclerotinia sclerotiorum* (DUAN et al. 2014; DUAN et al. 2015; DUAN et al. 2018; VIELBA-FERNÁNDEZ et al. 2019; LIU et al. 2019).

Tal aplicação é de grande importância na agricultura, pois a detecção precoce da resistência de determinado fungo a determinado fungicida permite que outros produtos e até outras medidas de controle sejam adotadas visando minimizar as perdas causadas pela doença.

Tabela 2. Testes LAMP desenvolvidos para o diagnóstico de diferentes espécies de fungos fitopatogênicos.

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Botrytis cinerea</i>	Roseira; Tomateiro; Morangueiro	Cultura pura; pétalas	LAMP; qLAMP	TOMLINSON et al. 2010 DUAN et al. 2014
<i>Fusarium graminearum</i>	Trigo; cevada	Semente; grãos	LAMP	ABD-ELSALAM et al. 2011 DENSCHLAG et al. 2012
<i>Fusarium culmorum</i>	Cevada	Grãos	LAMP	DENSCHLAG et al. 2012
<i>Fusarium cerealis</i>	Cevada	Grãos	LAMP	DENSCHLAG et al. 2012
<i>Fusarium lunulosporum</i>	Cevada	Grãos	LAMP	DENSCHLAG et al. 2012
<i>Phytophthora sojae</i>	Soja	Colônia pura; tecido vegetal	LAMP; qLAMP	DAI et al. 2012
<i>Ophiostoma clavatum</i>	Pinus	Raiz	LAMP	VILLARI et al. 2013
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	Bananeira	Solo	LAMP; qLAMP	PENG et al. 2014
<i>Pythium helicoides</i>	Poinsettia	Raiz	LAMP	TAKAHASHI et al. 2014
<i>Rhizoctonia solani</i>	Soja; Arroz	Colônia pura; folha; tecido vegetal	LAMP	LU et al. 2015 CHOUDHARY et al. 2020
<i>Pythium irregulare</i>	Tomateiro e Eustoma	Água; solo; folha	LAMP	FENG et al. 2015 FENG et al. 2018
<i>Aspergillus carbonarius</i>	Amendoim	Semente	LAMP	SHEIKH 2015
<i>Aspergillus niger</i>	Amendoim	Semente	LAMP	SHEIKH 2015
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Ciceris</i>	Grão de bico	Colônia pura	LAMP	GHOSH et al. 2015
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Feijoeiro; Soja	Semente; tecido vegetal	LAMP	LU et al. 2015 GRA et al. 2017
<i>Colletotrichum falcatum</i>	Cana-de-açúcar	Colônia pura	LAMP	CHANDRA et al. 2015
<i>Plasmopara viticola</i>	Videira	Folha	LAMP	KONG et al. 2016
<i>Phytophthora infestans</i>	Batateira; Tomateiro	Esporos; Folha	qLAMP; LAMP	HANSEN et al. 2016 LEES et al. 2019
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Morangueiro	Colônia pura; Folha	LAMP	ZHANG et al. 2016
<i>Ascochyta rabiei</i>	Grão de bico	Semente	LAMP	CHEN et al. 2016
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomateiro	Caule	LAMP	AYUKAWA et al. 2016
<i>Puccinia kuehnii</i>	Cana-de-açúcar	Colônia pura	LAMP	CHANDRA et al. 2016
<i>Sporisorium scitamineum</i>	Cana-de-açúcar	Colônia pura	LAMP	SU et al. 2016
<i>Ustilago maydis</i>	Milho	Colônia pura; solo; tecido vegetal	LAMP; qLAMP	CAO et al. 2017
<i>Rhizoctonia bataticola</i>	Grão de bico	Colônia pura; solo; tecido vegetal	LAMP	GHOSH et al. 2017
<i>Magnaporthe oryzae</i> <i>Triticum</i>	Trigo	Semente	LAMP	YASUHARA-BELL et al. 2018
<i>Magnaporthe oryzae</i>	Arroz	Semente; esporos	LAMP; qLAMP	ORTEGA et al. 2018a LI et al. 2019

Continua...

Tabela 2. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Lactucae</i>	Alface	Semente	LAMP	ORTEGA et al. 2018b
<i>Gaeumannomyces avenae</i>	Gramma	Tecido vegetal	LAMP	KARAKKAT et al. 2018
<i>Ophiosphaerella korrae</i>	Gramma	Tecido vegetal	LAMP	KARAKKAT et al. 2018
<i>Magnaporthiopsis poae</i>	Gramma	Tecido vegetal	LAMP	KARAKKAT et al. 2018
<i>Ustilaginoidea virens</i>	Arroz	Colônia pura; panícula; semente	LAMP	YANG et al. 2018
<i>Tilletia caries</i>	Trigo	Grãos	LAMP	PIECZUL et al. 2018
<i>Tilletia laevis</i>	Trigo	Grãos	LAMP	PIECZUL et al. 2018
<i>Tilletia controversa</i>	Trigo	Grãos	LAMP	PIECZUL et al. 2018
<i>Puccinia triticina</i>	Trigo	Folha	LAMP	MANJUNATHA et al. 2018
<i>Pythium aphanidermatum</i>	Tomateiro e Eustoma	Água; solo; folha	LAMP	FENG et al. 2018
<i>Fusarium fujikuroi</i>	Arroz	Semente; Plântula	LAMP	ZHANG et al. 2019
<i>Calonectria ilicicola</i>	Abacateiro	Raiz	LAMP	PARKINSON et al. 2019
<i>Dactylonectria macrodidyma</i>	Abacateiro	Raiz	LAMP	PARKINSON et al. 2019
<i>Dactylonectria</i> genus	Abacateiro	Raiz	LAMP	PARKINSON et al. 2019
<i>Uromyces betae</i>	Beterraba	Colônia pura; esporos capturados no ar	LAMP	KACZMAREK et al. 2019
<i>Ustilago tritici</i>	Trigo	Colônia pura	LAMP	YAN et al. 2019
<i>Alternaria alternata</i>	Pereira	Colônia pura; fruto	LAMP	YANG et al. 2019
<i>Monilinia fructicola</i>	Pessegueiro e Nectarina	Fruto	LAMP	ORTEGA et al. 2019
<i>Monilinia laxa</i>	Pessegueiro e Nectarina	Fruto	LAMP	ORTEGA et al. 2019
<i>Fusarium temperatum</i>	Milho	Colmo; grão	LAMP	SHAN et al. 2019
<i>Talaromyces flavus</i>	Morangueiro	Colônia pura; fruto; solo	LAMP	PANEK & FRAC 2019
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Nogueira	Tronco; água; esporos capturados no ar	qLAMP	WANG & ZHANG et al. 2019
<i>Aternaria solani</i>	Batateira	Esporos	qLAMP	LEES et al. 2019
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Soja	Colônia pura; solo; tecido vegetal	qLAMP; LAMP	GRABICOSKI et al. 2020
<i>Neofabraea perennans</i>	Macieira	Colônia pura; fruto	LAMP	ENICKS et al. 2020
<i>Pyricularia oryzae</i> <i>Triticum</i>	Trigo	Sementes	LAMP	THIERRY et al. 2020
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Goiabeira	Colônia pura; fruto	LAMP	LAN et al. 2020
<i>Raffaelea lauricola</i>	Louro	Colônia pura; tronco	LAMP	HAMILTON et al. 2020
<i>Cercospora beticola</i>	Beterraba	Folha	LAMP	SHRESTHA et al. 2020

Continua...

Tabela 2. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Penicillium expansum</i>	Macieira e Videira	Fruto	LAMP	FRISCH et al. 2021
<i>Venturia carpophila</i>	Pessegueiro	Fruto	LAMP	ZHOU et al. 2021
<i>Valsa mali</i>	Macieira	Esporos	LAMP	XU et al. 2021
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>fragariae</i>	Morangueiro	Tecido vegetal	LAMP	KATOH et al. 2021
<i>Pythium terrestres</i>	Soja	Colônia pura; plântulas; solo	LAMP	FENG et al. 2021
<i>Pythium spinosum</i>	Soja	Colônia pura; plântulas; solo	LAMP	FENG et al. 2021
“Candidatus <i>Pythium huanghuaiense</i> ”	Soja	Colônia pura; plântulas; solo	LAMP	FENG et al. 2021
<i>Leptosphaeria biglobosa</i>	Canola	Colônia pura	LAMP	DU et al. 2021

3.3 BACTÉRIAS

As bactérias causam doenças em diversas culturas de interesse agrícola. Estima-se que existam mais de 80 espécies de bactérias fitopatogênicas, e que cada espécie é dividida em subespécies (LE & VU 2017). Em relação à utilização de LAMP para detecção de patógenos, as bactérias se encontram no terceiro lugar quando se comparam os números de trabalhos publicados. Em 2009, Li et al. (2009) desenvolveram um teste LAMP convencional para

detecção de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, utilizando o DNA genômico da bactéria como molde na reação, sendo esse o trabalho pioneiro com LAMP para diagnosticar uma bactéria. O gênero *Xanthomonas* destaca-se na detecção através de LAMP, sendo utilizado na identificação de espécie, subespécie e patovar (Tabela 3). Na tabela 3, foram listados os principais trabalhos publicados utilizando LAMP para detecção de diferentes espécies de bactérias.

Tabela 3. Testes LAMP desenvolvidos para detecção de espécies de bactérias fitopatogênicas.

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>	Feijoeiro	DNA genômico bactéria	LAMP	LI et al. 2009
<i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>citri</i>	Citrus	Folha	LAMP	RIGANO et al. 2010
<i>Rhodococcus fascians</i>	Flor do dia	Tecido vegetal	LAMP	SERDANI et al. 2013
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i>	Arroz	DNA genômico; semente; folha	qLAMP	LANG et al. 2014
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Arroz	DNA genômico; semente; folha	qLAMP	LANG et al. 2014
<i>Pseudomonas fuscovaginae</i>	Arroz	Exsudato de material vegetal	LAMP	ASH et al. 2014
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>musacearum</i>	Bananeira	Tecido vegetal	LAMP; qLAMP	HODGETTS et al. 2015
Candidatus <i>Liberibacter solanacearum</i>	Batateira	Tecido vegetal	LAMP	RAVINDRAN et al. 2015
<i>Xanthomonas fragariae</i>	Morangueiro	Tecido vegetal	LAMP	WANG & TURECHEK 2016
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i>	Milho	DNA genômico bactéria; folha	LAMP	YASUHARA-BELL et al. 2016
<i>Pectobacterium carotovorum</i>	Batateira	Tecido vegetal	LAMP	YASUHARA-BELL et al. 2016
<i>Xanthomonas translucens</i>	Trigo; cevada	Semente; folha	LAMP	LANGLOIS et al. 2017

Continua...

Tabela 3. Continuação

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Pepino	Folha	LAMP	MENG et al. 2017
<i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>xyli</i>	Cana-de-açúcar	DNA genômico bactéria; seiva do xilema; folha	LAMP	NAIDOO et al. 2017
<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Tomateiro	DNA genômico bactéria; folha	LAMP; qLAMP	LARREA-SARMIENTO et al. 2018
<i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>multiplex</i>	Videira	Tecido vegetal	LAMP	BURBANK & ORTEGA 2018
<i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>fastidiosa</i>	Videira	Tecido vegetal	LAMP	BURBANK & ORTEGA 2018
<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i>	Citrus	Nervura central da folha; folha	LAMP	RIGANO et al 2014 CHOI et al. 2018
<i>Dickeya dianthicola</i>	Batateira	DNA genômico bactéria; tecido vegetal	LAMP	OCENAR et al. 2019
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	Batateira	DNA genômico bactéria	LAMP	SAGCAN & KARA 2019
<i>Pectobacterium aroidearum</i>	Konjak	Tecido vegetal; solo	LAMP	SUN et al. 2019
<i>Xylella fastidiosa</i>	Mirtilo	Pecíolo	LAMP	WALIULLAH et al. 2019
<i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i>	Feijoeiro	DNA genômico bactéria; sementes; folhas	LAMP	PAIVA et al. 2020
<i>Xanthomonas citri</i> pv. <i>fuscans</i>	Feijoeiro	DNA genômico bactéria; sementes; folhas	LAMP	PAIVA et al. 2020
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Pessegueiro	DNA genômico bactéria	LAMP	GOUDARZI & MORTAZAVI 2020
<i>Erwinia amylovora</i>	Macieira	Tecido vegetal	LAMP	SINGH et al. 2020
<i>Xanthomonas vasicola</i> pv. <i>vasculorum</i>	Milho	Folha	LAMP	STULBERG et al. 2020
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Batata-doce	Tecido vegetal	LAMP	LI et al. 2021

3.4 FITOPLASMAS

Os fitoplasmas são parasitas obrigatórios, procaríotos, pleomórficos e não possuem parede celular. São associados a mais de 600 doenças de plantas em todo o mundo (BERTACCINI 2007). Durante várias décadas, a falta de métodos eficazes para identificar e caracterizar fitoplasmas dificultou sua identificação e conseqüentemente o seu mane-

jo. O advento das ferramentas moleculares possibilitou a classificação dos fitoplasmas em grupos e subgrupos, principalmente pela análise da sequência do gene 16S rRNA (IRPCM, 2004). Embora ainda lenta, a aplicação de LAMP para detecção de fitoplasmas vem sendo feita desde 2011. Na tabela 4 foram listados os trabalhos publicados que utilizaram a técnica LAMP para detecção de fitoplasmas.

Tabela 4. Teste LAMP desenvolvido para diferentes espécies de fitoplasmas.

Nome da doença	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Napier stunt	Capim elefante	Folha	LAMP	OBURA et al. 2011
Flavescence dorée	Videira	Folhas; flores; frutos	LAMP	KOGOVSĚK et al. 2015
Arecanut yellow leaf disease (YLD)	Palmeira	Folha	LAMP; qLAMP	NAIR et al. 2016
Coconut root wilt disease (RWD)	Palmeira	Folha	LAMP; qLAMP	NAIR et al. 2016

Continua...

Tabela 4. Continuação

Nome da doença	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
Strawberry Green Petal (SbGP)	Morangueiro; framboesa	Tecido vegetal	LAMP	PÉREZ-LÓPEZ et al. 2017
Pear decline	Pereira	Tecido vegetal	LAMP	SIEMONSMEIER et al. 2019
Areca palm yellow leaf (AYL)	Palmeira	Folha	LAMP	YU et al. 2020
Sesame phyllody	Gergelim	Folha	qLAMP	QUOC et al. 2021

3.5 NEMATOIDES

Os nematoides causam danos significativos em culturas agrícolas e hortícolas. As perdas em rendimento são estimadas entre 8,8-14,6% anualmente em todo o mundo (ELLING 2013). Patógenos de difícil controle pois sobrevivem no solo sob diferentes condições de estresse e ainda a limitadas opções de manejo rápido, tornam qualquer possibilidade de detecção precoce nos campos de cultivo uma ferramenta fundamental para o auxílio no controle de doenças causadas por esses patógenos.

O primeiro teste LAMP para detecção de

nematoides foi desenvolvido para *Bursaphelenchus xylophilus*, responsável por causar doença em pinos. Nesse estudo foi elaborado um LAMP convencional e os materiais utilizados foram amostras de madeira e DNA genômico (KIKUCHI et al. 2009).

Na tabela 5, são apresentados os trabalhos encontrados na literatura envolvendo a utilização da técnica LAMP para detecção de nematoides. Comparado com os outros patógenos, a utilização de LAMP para o diagnóstico de nematoides ainda é baixa, sendo que em todos os trabalhos aplicou-se LAMP convencional para detecção.

Tabela 5. Testes LAMP desenvolvidos para a detecção de nematoides fitopatogênicos.

Patógeno	Hospedeiro	Material utilizado	Tipo de LAMP	Referência
<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	Pinus	DNA genômico nematoide; madeira	LAMP	KIKUCHI et al. 2009
<i>Meloidogyne enterolobii</i>	Tomateiro	DNA genômico nematoide	LAMP	NIU et al. 2012
<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Citrus	Solo	LAMP	LIN et al. 2016 SONG et al. 2017
<i>Meloidogyne hapla</i>	Tomateiro	DNA genômico nematoide; raiz	LAMP	PENG et al. 2017
<i>Meloidogyne chitwoodi</i>	Batateira	Solo	LAMP	ZHANG & GLEASON 2019
<i>Meloidogyne fallax</i>	Batateira	Solo	LAMP	ZHANG & GLEASON 2019
<i>Meloidogyne partityla</i>	Nogueira pecã	Raiz	LAMP	WALIULLAH et al. 2020
<i>Meloidogyne graminicola</i>	Arroz	Solo	LAMP	HE et al. 2021
<i>Globodera rostochiensis</i>	Batateira	Tecido vegetal	LAMP	AHUJA et al. 2021

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

LAMP é uma técnica versátil, de fácil execução, específica e sensível, que vem sendo utilizada na detecção de fitopatógenos. Além de não necessitar de equipamentos sofisticados, a visualização dos resultados pode ser feita a olho nu logo após o período de incubação. A aplicação de LAMP não se limita à detecção apenas de alvos de DNA, sendo possível a detecção de alvos de RNA (RT-LAMP),

empregando uma transcriptase reversa, o que possibilita o diagnóstico de vírus em plantas, que em sua maioria possui genoma de RNA. Por ser muito sensível, pode-se empregar LAMP para a detecção de mutações no genoma dos microrganismos e com isso é possível identificar as espécies em nível de biótipo, patovar, raças e *formae speciales*. Além do mais, devido à sua sensibilidade é possível monitorar a resistência de fungos a diferentes fungicidas.

LAMP tem muitas vantagens, mas algumas limitações são observadas na aplicação da técnica. O desenho dos primers pode ser uma tarefa difícil, devido à necessidade de se empregar de 4 a 6 primers de diferentes tamanhos. Além disso, concentrações excessivas dos indicadores (calceína, HNB, brometo de etídio) ou outros componentes da reação (formas iônicas de manganês ou cofatores da reação) podem inibir a reação da enzima ou alterar a cor do indicador, o que acaba prejudicando a eficácia da técnica (TANNER & EVANS 2014). Como os alvos da amplificação são principalmente bactérias, vírus e outros microrganismos, estes podem estar livremente no ar e acabar contaminando as amostras gerando então falsos positivos. Dessa forma, para minimizar o risco, o manuseio das amostras deve ser feito com cuidado. E, de preferência, deve-se utilizar indicadores de cor em vez de eletroforese em gel de agarose, pois assim se elimina uma etapa em que amostra seria manipulada. O tempo de amplificação requerido também pode afetar o resultado do teste. O tempo adequado fica entre 60 e 120 minutos, podendo ser reduzido, caso sejam utilizados primers loop. No entanto, caso o tempo de incubação seja muito longo, as amostras negativas podem se tornar falsos positivos (FRANCOIS et al. 2011).

LAMP tem grande potencial para ser utilizado em análises de pragas quarentenárias e para certificação de materiais livres de doenças, principalmente devido à rapidez com que o teste é aplicado. Com o avanço na utilização da técnica, o tempo para obtenção dos resultados vem sendo reduzido, principalmente devido a alguns estudos em que se demonstrou que o teste pode ser aplicado diretamente na amostra, sem a necessidade de extração de DNA.

Devido à sua simplicidade e facilidade de manipulação, e em função de não requerer equipamentos específicos, LAMP tem a vantagem de poder ser aplicada em locais remotos com pouca infraestrutura, incluindo os campos de produção (WILISIANI et al. 2019; RAFIQ et al. 2021), o que pode agilizar e antecipar a obtenção dos resultados e as tomadas de decisão para a adoção das melhores e mais efetivas estratégias de manejo e controle das doenças.

5. REFERÊNCIAS

- ABD-ELSALAM K, BAHKALI A, MOSLEM M, AMIN OE, NIESSEN L (2010). An Optimized Protocol for DNA Extraction from Wheat Seeds and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) to Detect *Fusarium graminearum* Contamination of Wheat Grain. *International Journal of Molecular Sciences* 12:3459-3472. (<https://doi.org/10.3390/ijms12063459>).
- AHMADI S, ALMASI MA, FATEHI F, STRUIK PC, MORADI A (2012). Visual Detection of *Potato leafroll virus* by One-step Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA with Hydroxynaphthol Blue Dye. *Journal of Phytopathology* 162:120-124. (<https://doi.org/10.1111/jph.12037>).
- AHUJA A, JOSHI V, SINGH G, KUNDU A, BHAT CG, KUMAR S, RAO U, SOMVANSHI VS. (2021). Rapid and sensitive detection of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by loop-mediated isothermal amplification assay. *3 Biotech*. (<https://doi.org/10.1007/s13205-021-02830-8>).
- ALMASI MA, OJAGHKANDI MA, HEMMATABADI A, HAMIDI F, AGHAEI S (2013). Development of Colorimetric Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of the *Tomato yellow leaf curl virus*. *Plant Pathology & Microbiology* 4:1-6. (<https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000153>).
- ALMASI MA, HOSSEYNI-DEHABADI M, AGHAPOUR-OJAGHKANDI M (2014). Comparison and evaluation of three diagnostic methods for detection of *Beet curly top virus* in sugar beet using different visualizing systems. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 173:1836-1848. (<https://doi.org/10.1007/s12010-014-0970-7>).
- ALMASI MA (2017). Development of a colorimetric reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of *Mirafiori lettuce big-vein virus*. *Archives of Virology* 9:2775-2780. (<https://doi.org/10.1007/s00705-017-3404-3>).
- ALMASI MA & ALMASI G (2017). Development and evaluation of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for detection of *Beet necrotic yellow vein virus*. *Archives of Virology* 162:495-500. (<https://doi.org/10.1007/s00705-016-3116-0>).
- AL-SHEIKH HM (2015). LAMP-PCR detection of ochratoxigenic *Aspergillus* species collected from peanut kernel. *Genetics and Molecular Research* 30:634-644. (<https://doi.org/10.4238/2015.January.30.5>).

- ASH GJ, LANG JM, TRIPLETT LR, STODART BJ, VERDIER V, VERA CRUZ C, ROTT P, LEACH JE (2014). Development of a genomics-based LAMP (loop-mediated isothermal amplification) assay for detection of *Pseudomonas fuscovaginae* from rice. *Plant Disease* 98:909-915. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-0957-RE>).
- AYUKAWA Y, KOMATSU K, KASHIWA T, AKAI K, YAMADA M, TERAOKA T, ARIE T. (2016). Detection and differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 1 using loop-mediated isothermal amplification with three primer sets. *Letters in Applied Microbiology* 63:202-209. (<https://doi.org/10.1111/lam.12597>).
- BANERJEE A, ROY S, SHARMA SK et al (2016). Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for rapid diagnosis of *Chilli veinal mottle virus*. *Archives of Virology* 161:1957–1961. (<https://doi.org/10.1007/s00705-016-2850-7>).
- BERTACCINI A (2007). Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers Bioscience* 12:673–689. (<https://doi.org/10.2741/2092>).
- BHAT AI, SILJO A, DEESHMA KP (2013). Rapid detection of *Piper yellow mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* infecting black pepper (*Piper nigrum*) by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Journal of Virological Methods* 193:190-196. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.06.012>).
- BUDZISZEWSKA M, WIECZOREK P, OBRE A, OBREPALSKA-STEPLOWSKA A (2016). One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for detection of *Tomato torrado virus*. *Archives of Virology* 161:1359-1364. (<https://doi.org/10.1007/s00705-016-2774-2>).
- BURBANK LP & ORTEGA BC (2018). Novel amplification targets for rapid detection and differentiation of *Xylella fastidiosa* subspecies *fastidiosa* and *multiplex* in plant and insect tissues. *Journal of Microbiological Methods* 155:8-18. (<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.11.002>).
- CAO Y, WANG L, DUAN L. et al. (2017). Development of a real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and quantitative detection of *Ustilago maydis*. *Scientific Reports* 7:13394. (<https://doi.org/10.1038/s41598-017-13881-4>).
- CHANDRA A, KEIZERWEERD AT, QUE Y, GRISHAM MP. (2015). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) based detection of *Colletotrichum falcatum* causing red rot in sugarcane. *Molecular Biology Reports* 42:1309-1316. (<https://doi.org/10.1007/s11033-015-3875-9>).
- CHANDRA A, KEIZERWEERD AT, GRISHAM MP. (2016). Detection of *Puccinia kuehnii* Causing Sugarcane Orange Rust with a Loop-Mediated Isothermal Amplification-Based Assay. *Molecular Biotechnology* 58:188-196. (<https://doi.org/10.1007/s12033-016-9914-5>).
- CHEN XY, WANG XF, JIN N, ZHOU Y, HUANG SA, MIAO QM (2012). Endpoint visual detection of three genetically modified rice events by loop-mediated isothermal amplification. *International Journal of. Molecular Sciences* 13:14421–14433. (<https://doi.org/10.3390/ijms131114421>).
- CHEN X, MA L, QIANG S, MA D. (2016). Development of a loop-mediated isothermal amplification method for the rapid diagnosis of *Ascochyta rabiei* L. in chickpeas. *Scientific Reports* 6:25688. (<https://doi.org/10.1038/srep25688>).
- CHEN L, JIAO Z, LIU D, LIU X, XIA Z, DENG C, ZHOU T, FAN Z (2017). One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Maize chlorotic mottle virus in maize*. *Journal of Virological Methods* 240:49-53. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.11.012>).
- CHEN Z, MAO S, ZHANG W, FAN X, WU W, LIU C, ZHAO K, LU R (2020). Rapid visual detection method for *Barley yellow mosaic virus* using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Plant Disease* (<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1216-RE>).
- CHEN S, SCHNABEL G, YUAN H, LUO C (2020). LAMP detection of the genetic element ‘Mona’ associated with DMI resistance in *Monilinia fructicola*. *Pest Management Science* 75:779-786. (<https://doi.org/10.1002/ps.5178>).
- CHOI CW, HYUN JW, HWANG RY, POWELL C (2018). Loop-mediated Isothermal Amplification assay for Detection of *Candidatus Liberibacter Asiaticus*, a Causal Agent of Citrus Huanglongbing. *The Plant Pathology Journal* 34:499-505. (<https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.10.2018.0212>).
- CHOUDHARY, P., RAI, P., YADAV, J. et al. (2020). A rapid colorimetric LAMP assay for detection of *Rhizoctonia solani* AG-1 IA causing sheath blight

- of rice. *Scientific Reports* 10:22022. (<https://doi.org/10.1038/s41598-020-79117-0>).
- CONGDON BS, KEHOE MA, FILARDO FF, COUTTS BA (2019). In-field capable loop-mediated isothermal amplification detection of *Turnip yellows virus* in plants and its principal aphid vector *Myzus persicae*. *Journal of Virological Methods* 265:15-21. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.12.014>).
- DAI TT, LU CC, LU J, DONG S, YE W, WANG Y, ZHENG X (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for detection of *Phytophthora sojae*. *FEMS Microbiology Letters* 334:27-34. (<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02619.x>).
- DU R, HUANG Y, ZHANG J, YANG L, WU M, LI G. (2021). LAMP Detection and Identification of the Blackleg Pathogen *Leptosphaeria biglobosa* 'brassicae'. *Plant Disease*. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1819-RE>).
- DUAN Y, ZHANG X, GE C, WANG Y, CAO J, JIA X, WANG J, ZHOU M (2014). Development and application of loop-mediated isothermal amplification for detection of the F167Y mutation of carbendazim-resistant isolates in *Fusarium graminearum*. *Scientific Reports*. 18:4:7094. (<https://doi.org/10.1038/srep07094>).
- DUAN YB, GE CY, ZHANG XK, WANG JX, ZHOU MG (2014). Development and Evaluation of a Novel and Rapid Detection Assay for *Botrytis cinerea* Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification. *PLoS ONE* 9:e111094. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111094>).
- DUAN Y, YANG Y, WANG J. et al. (2015). Development and application of loop-mediated isothermal amplification for detecting the highly benzimidazole-resistant isolates in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Scientific Reports* 5:17278. (<https://doi.org/10.1038/srep17278>).
- DUAN YB, YANG Y, WANG JX, CHEN CJ, STEINBERG G, FRAAIJE BA, ZHOU MG (2018). Simultaneous Detection of Multiple Benzimidazole-Resistant β -Tubulin Variants of *Botrytis cinerea* using Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 102:2016-2024. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0542-RE>).
- DENSCHLAG C, VOGEL RF, NIESSEN L (2012). Hyd5 gene-based detection of the major gushing-inducing *Fusarium* spp. in a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *International Journal of Food Microbiology* 156:189-196. (<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.009>).
- ELLING AA (2013). Major emerging problems with minor Meloidogyne species. *Phytopathology* 103:1092-1102. (<https://doi.org/10.1094/PHTO-01-13-0019-RVW>).
- ELVIRA-GONZÁLEZ L, PUCHADES AV, CARPINO C, ALFARO-FERNANDEZ A, FONT-SAN-AMBROSIO MI, RUBIO L, GALIPIENSO L (2017). Fast detection of *Southern tomato virus* by one-step transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Journal of Virological Methods* 241:11-14. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.12.004>).
- FAN F, YIN WX, LI GQ, LUO CX (2018). Development of a LAMP Method for Detecting SDHI Fungicide Resistance in *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 108:1612-1618. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1933-RE>).
- FENG W, ISHIGURO Y, HOTTA K, WATANABE H, SUGA H, KAGEYAMA K (2015). Simple detection of *Pythium irregulare* using loop-mediated isothermal amplification assay. *FEMS Microbiology Letters* 362(21):fnn174. (<https://doi.org/10.1093/femsle/fnn174>).
- FENG W, NUKAYA A, SATOU M, FUKUTA N, ISHIGURO Y, SUGA H, KAGEYAMA K (2018). Use of LAMP Detection to Identify Potential Contamination Sources of Plant-Pathogenic *Pythium* Species in Hydroponic Culture Systems of Tomato and Eustoma. *Plant Disease* 102:1357-1364. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-17-1679-RE>).
- FENG H, YE W, LIU Z, WANG Y, CHEN JJ, WANG Y, ZHENG X. (2021). Development of LAMP assays using a novel target gene for specific detection of *Pythium terrestris*, *Pythium spinosum*, and "Candidate *Pythium huanghuaiense*". *Plant Disease*. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-21-0068-RE>).
- FRANCOIS P, TANGOMO M, HIBBS J, BONETTI EJ, BOEHME CC, NOTOMI T, PERKINS MD, SCHRENZEL J. (2011). Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 62:41-48. (<https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x>).
- FRISCH LM, MANN, MA, MAREK DN, NIESSEN L. (2021). Development and optimization of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

- assay for the species-specific detection of *Penicillium expansum*. Food Microbiology 95:103681. (https:// doi: 10.1016/j.fm.2020.103681).
- FUKUTA S, KATO S, YOSHIDA K, MIZUKAMI Y, ISHIDA A, UEDA J, KANBE M, ISHIMOTO Y (2003). Detection of *Tomato yellow leaf curl virus* by loop-mediated isothermal amplification reaction. Journal of Virological Methods 122:35-40a. (https:// doi: 10.1016/s0166-0934(03)00187-3).
- FUKUTA S, IIDA T, MIZUKAMI Y, ISHIDA A, UEDA J, KANBE M, ISHIMOTO Y (2003). Detection of *Japanese yam mosaic virus* by RT-LAMP. Archives of Virology 148:1713-1720b. (https://doi.org/10.1007/s00705-003-0134-5).
- FUKUTA S, OHISHI K, YOSHIDA K, MIZUKAMI Y, ISHIDA A, KANBE M (2004). Development of immunocapture reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Tomato spotted wilt virus* from chrysanthemum. Journal of Virological Methods 121:49-55. (https://doi:10.1016/j.jviromet.2004.05.016).
- FUKUTA S, TAMURA M, MAEJIMAC H, TAKAHASHI R, KUWAYAMAA T, TSUJI T, YOSHIDA T, ITOHD K, HASHIZUME H, NAKAJIMA Y, UEHARAC Y, SHIRAKO Y (2013). Differential detection of *Wheat yellow mosaic virus*, *Japanese soil-borne wheat mosaic virus* and *Chinese wheat mosaic virus* by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification reaction. Journal of Virological Methods 189:348-354. (https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.03.005).
- GAWANDE SP, RAGHAVENDRA KP, MONGA D, NAGRALE DP, KRANTHI S (2019). Rapid detection of *Tobacco streak virus* (TSV) in cotton (*Gossypium hirsutum*) based on Reverse Transcription Loop Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP). Journal of Virological Methods 270:21-25. (https:// doi: 10.1016/j.jviromet.2019.04.018).
- GHOSH R, NAGAVARDHINI A, SENGUPTA A. et al. (2015). Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* - wilt pathogen of chickpea. BMC Research Notes 8:40. (https:// doi: 10.1186/s13104-015-0997-z).
- GHOSH R, TARAFDAR A, SHARMA M. (2017). Rapid and sensitive diagnoses of dry root rot pathogen of chickpea (*Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler) using loop-mediated isothermal amplification assay. Scientific Reports 7:42737. (https:// doi: 10.1038/srep42737).
- GHOSH DK, WARGHANE A, BISWAS KK (2019) Rapid and Sensitive Detection of Citrus tristeza virus Using Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Assay. Methods in Molecular Biology 2015:143-150. (https:// doi: 10.1007/978-1-4939-9558-5_10).
- GOUDARZI R & MORTAZAVI MM (2020). Loop-mediated isothermal amplification: a rapid molecular technique for early diagnosis of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* of stone fruits. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 18:55. (https:// doi: 10.1186/s43141-020-00062-6).
- GRABICOSKI EMG, JACCOUD-FILHO DS, HENNEBERG L, PILEGGI M (2020) Real-Time Quantitative and Ion-Metal Indicator LAMP-Based Assays for Rapid Detection of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease 104:1514-1526. (https:// doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1455-RE).
- HAMILTON JL, WORKMAN JN, NAIRN CJ, FRAEDRICH SW, VILLARI C. (2020). Rapid Detection of *Raffaelea lauricola* Directly from Host Plant and Beetle Vector Tissues Using Loop-Mediated Isothermal Amplification. Plant Disease 104:3151-3158. (https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0422-RE).
- HANSEN ZR, KNAUS BJ, TABIMA JF, PRESS CM, JUDELSON HS, GRÜNWARD NJ, SMART CD. (2016). Loop-mediated isothermal amplification for detection of the tomato and potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*. Journal of Applied Microbiology 120:1010-1020. (https:// doi: 10.1111/jam.13079).
- HAO X, WANG L, ZHANG X, ZHONG Q, HAJANO JUD, XU L, WU Y. (2021). A real-time loop-mediated isothermal amplification for detection of the *Wheat dwarf virus* in wheat and the insect vector *Psammotettix alienus*. Plant Disease. (https:// doi: 10.1094/PDIS-10-20-2279-RE).
- HASIÓW-JAROSZEWSKA B & BORODYNKO N (2013). Detection of *Pepino mosaic virus* isolates from tomato by one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. Archives of Virology 158:2153-2156. (https:// doi: 10.1007/s00705-013-1706-7).
- HASIÓW-JAROSZEWSKA B, BUDZYŃSKA D, BORODYNKO N, POSPIESZNY H (2014). Rapid detection of genetically diverse *Tomato black ring virus* isolates using reverse transcription loop-mediated

- ed isothermal amplification. *Archives of Virology* 160: 3075-3078. ([https:// doi: 10.1007/s00705-015-2586-9](https://doi.org/10.1007/s00705-015-2586-9)).
- HE X, XUE F, XU S, WANG W (2016). Rapid and sensitive detection of *Lily symptomless virus* by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 238:38-41. ([https://doi: 10.1016/j.jviromet.2016.10.003](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.10.003)).
- HE Q, WANG D, TANG B, WANG J, ZHANG D, LIU Y, CHENG F. (2021). Rapid and Sensitive Detection of *Meloidogyne graminicola* in Soil Using Conventional PCR, Loop-Mediated Isothermal Amplification, and Real-Time PCR Methods. *Plant Disease* 105:456-463. ([https:// doi: 10.1094/PDIS-06-20-1291-RE](https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1291-RE)).
- HODGETTS J, HALL J, KARAMURA G, GRANT M, STUDHOLME DJ, BOONHAM N, KARAMURA E, SMITH JJ (2015). Rapid, specific, simple, in-field detection of *Xanthomonas campestris* pathovar *musacearum* by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Applied Microbiology* 119:1651-1658. ([https:// doi: 10.1111/jam.12959](https://doi.org/10.1111/jam.12959)).
- HU XR, DAI DJ, WANG HD et al. (2017) Rapid on-site evaluation of the development of resistance to quinone outside inhibitors in *Botrytis cinerea*. *Scientific Reports* 7:13861. (<https://doi.org/10.1038/s41598-017-13317-z>).
- IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma working team - Phytoplasma taxonomy group (2004) 'Candidatus phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic Microbiology* 54:1243-1255. ([https:// doi: 10.1099/ij.s.0.02854-0](https://doi.org/10.1099/ij.s.0.02854-0)).
- JEONG J, CHO SY, LEE WH, JU HJ (2015). Development of a Rapid Detection Method for *Potato virus X* by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *The Plant Pathology Journal* 31:219-225. ([https:// doi: 10.5423/PPJ.OA.03.2015.0044](https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.03.2015.0044)).
- JOHNSON AMA, DASGUPTA I, GOPAL VRS (2014). Development of loop-mediated isothermal amplification and SYBR green real-time PCR methods for the detection of *Citrus yellow mosaic badnavirus* in citrus species. *Journal of Virological Methods* 203:9-14. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.03.013>).
- KARAKKAT BB, HOCKEMEYER K, FRANCHETT M, OLSON M, MULLENBERG C, KOCH PL. (2018). Detection of root-infecting fungi on cool-season turfgrasses using loop-mediated isothermal amplification and recombinase polymerase amplification. *Journal of Microbiological Methods* 151:90-98. ([https:// doi: 10.1016/j.mimet.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.06.011)).
- KACZMAREK AM, KING KM, WEST JS, STEVENS M, SPARKES D, DICKINSON MJ. (2019). A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid and Specific Detection of Airborne Inoculum of *Uromyces betae* (Sugar Beet Rust). *Plant Disease* 103:417-421. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0337-RE>).
- KATOH H, YAMAZAKI S, FUKUDA T, SONODA S, NISHIGAWA H, NATSUAKI T. (2021). Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* by Using Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 105:1072-1079. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0590-RE>).
- KEIZERWEERD AT, CHANDRA A, GRISHAM MP (2015). Development of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of *Sugarcane mosaic virus* and *Sorghum mosaic virus* in sugarcane. *Journal of Virological Methods* 212:23-29. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.10.013>).
- KIKUCHI T, AIKAWA T, OEDA Y, KARIM N, KANZAKI N (2009) A rapid and precise diagnostic method for detecting the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* by loop-mediated isothermal amplification. *Phytopathology* 99:1365-1369. ([https:// doi: 10.1094/PHTO-99-12-1365](https://doi.org/10.1094/PHTO-99-12-1365)).
- KIL EJ, KIM S, LEE YJ, KANG EH, LEE M, CHO SH, KIM MK, LEE KY, HE NY, CHO HS, KOGOVŠEK P, HODGETTS J, HALL J, PREZELJ N, NIKOLIĆ P, MEHLE N, LENARČIČ R, ROTTER A, DICKINSON M, BOONHAM N, DERMASTIA M, RAVNIKARA M (2015). LAMP assay and rapid sample preparation method for on-site detection of flavescence dorée phytoplasma in grapevine. *Plant Pathology* 64:286-296. ([https:// doi: 10.1111/ppa.12266](https://doi.org/10.1111/ppa.12266)).
- KOKANE A, KOKANE S, WARGHANE A, GUBYAD MG, SHARMA AK, REDDY KM, GHOSH DK (2020). A Rapid and Sensitive Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Assay for the Detection of *Indian Citrus Ringspot Virus*. *Plant Disease* (doi: 10.1094/

- PDIS-06-20-1349-RE).
- KONG X, QIN W, HUANG X, KONG F, SCHOEN CD, FENG J, WANG Z, ZHANG H. (2016). Development and application of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of *Plasmopara viticola*. *Scientific Reports* 6:28935. (<https://doi.org/10.1038/srep28935>).
- KUAN CP, WU MT, LU YL, HUANG HC. (2010) Rapid detection of *Squash leaf curl virus* by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 169:61–65. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.06.017>).
- KWON ST, LEE S (2015). Advanced loop-mediated isothermal amplification method for sensitive and specific detection of *Tomato chlorosis virus* using a uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination. *Journal of Virological Methods* 213:68-74. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.10.020>).
- LAN C, YAO J, YANG X, RUAN H, YU D, JIANG J. (2020). Specific and sensitive detection of the guava fruit anthracnose pathogen (*Colletotrichum gloeosporioides*) by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Canadian Journal of Microbiology* 66:17-24. (<https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0099>).
- LANG JM, LANGLOIS P, NGUYEN HR, TRIPLETT LR, PURDIE L, HOLTON TA, DJIKENG A, VERA CRUZ M, VERDIER V, LEACH JE (2014). Sensitive Detection of *Xanthomonas oryzae* Pathovars *oryzae* and *oryzicola* by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 80:4519-4530. (<https://doi.org/10.1128/AEM.00274-14>).
- LARREA-SARMIENTO A, DHAKAL U, BOLUK G. et al (2018). Development of a genome-informed loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and specific detection of *Xanthomonas euvesicatoria*. *Scientific Reports* 8:14298. (<https://doi.org/10.1038/s41598-018-32295-4>).
- LANGLOIS PA, SNELLING J, HAMILTON JP, BRAGARD C, KOEBNIK R, VERDIER V, TRIPLETT LR, BLOM J, TISSERAT NA, LEACH JE (2017). Characterization of the *Xanthomonas translucens* Complex Using Draft Genomes, Comparative Genomics, Phylogenetic Analysis, and Diagnostic LAMP Assays. *Phytopathology* 107:519-527. (<https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-16-0286-R>).
- LAU YL, LAI MY, TEOH BT, ABD-JAMIL J, JOHARI J, SAM SS, TAN KK, ABUBAKAR S (2015). Colorimetric Detection of Dengue by Single Tube Reverse-Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification. *PLoS ONE* 18: e0138694. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138694>).
- LE DT & VU NT (2017). Progress of loop-mediated isothermal amplification technique in molecular diagnosis of plant diseases. *Applied Biological Chemistry* 60: 169-180. (<https://doi.org/10.1007/s13765-017-0267-y>).
- LE ROUX CA, KUBO T, GROBBELAAR A, VAN VUREN PJ, WEYER J, NEL LH, SWANEPOEL R, MORITA K, PAWESKA JT (2009). Development and evaluation of a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Rift Valley fever virus in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 47:645-651. (<https://doi.org/10.1128/JCM.01412-08>).
- LEE MS, YANG MJ, HSEU YC, LAI GH, CHANG WT, HSU YH, LIN MK (2011). One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Cymbidium mosaic virus*. *Journal of Virological Methods* 173:43-48. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.01.005>).
- LEE S, KIM JH, CHOI JY, JANG WC (2015). Loop-mediated Isothermal Amplification Assay to Rapidly Detect Wheat Streak Mosaic Virus in Quarantined Plants. *The Plant Pathology Journal* 31:438-440. (<https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.06.2015.0110>).
- LEES AK, ROBERTS DM, LYNOTT J, SULLIVAN L, BRIERLEY JL. (2019). Real-Time PCR and LAMP Assays for the Detection of Spores of *Alternaria solani* and Sporangia of *Phytophthora infestans* to Inform Disease Risk Forecasting. *Plant Disease* 103:3172-3180. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0765-RE>).
- LEE S, KIM H, LEE JY, RHO JY (2017). Development of rapid and highly sensitive detection of *Bean common mosaic necrosis virus* in leguminous crops using loop-mediated isothermal amplification assay. *Journal of Virological Methods* 249:117-120. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.08.023>).
- LI X, NIE J, WARD L, MADANI M, HSIANG T, ZHAO Y, DE BOER SH (2009). Comparative genomics-guided loop-mediated isothermal amplification for characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Journal of Applied Microbiology* 107:717-726. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04262.x>).

- LI R & LING KS (2014). Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of an emerging potyvirus: *Tomato necrotic stunt virus*. *Journal of Virological Methods* 200:35-40. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.01.017>).
- LI L, ZHANG SY, ZHANG CQ (2019). Establishment of a Rapid Detection Method for Rice Blast Fungus Based on One-Step Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Plant Disease* 103:1967-1973. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-1964-RE>)
- LI H, ZHANG H, LIU Z, LIN Z, QIU Y, TANG H, QIU S (2021). Rapid diagnosis of *Ralstonia solanacearum* infection sweet potato in China by loop-mediated isothermal amplification. *Archives of Microbiology* 203:777-785. (<https://doi.org/10.1007/s00203-020-02059-8>).
- LIN B, WANG H, ZHUO K, LIAO J (2016). Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Detection of *Tylenchulus semipenetrans* in Soil. *Plant Disease* 100:877-883. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-15-0801-RE>).
- LIU Y, WANG Z, QIAN Y, JIANMIN M, SHEN L, WANG F, YANG J (2010). Rapid detection of *Tobacco mosaic virus* using the reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method. *Archives of Virology* 155:1681-1685. (<https://doi.org/10.1007/s00705-010-0746-5>).
- LI JY, WEI Q, LIU Y, TAN XQ, ZHANG WN, WU JY, CHARIMBU MK, HU BS, CHENG ZB, YU C, TAO XR (2013). One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. *Journal of Virological Methods* 193:583-588. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.07.059>).
- LIU H, WU W, TAN J, LI Y, MI W, JIANG L, WU Y (2019). Development and evaluation of a one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for detection of *Citrus leaf blotch virus*. *Journal of Virological Methods* 270:150-152. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.05.009>).
- LIU, Y.H., YUAN, S.K., HU, X.R. et al. (2019). Shift of Sensitivity in *Botrytis cinerea* to Benzimidazole Fungicides in Strawberry Greenhouse Ascribing to the Rising-lowering of E198A Subpopulation and its Visual, On-site Monitoring by Loop-mediated Isothermal Amplification. *Scientific Reports* 9:11644. (<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48264-4>).
- LU C, SONG B, ZHANG H, WANG Y, ZHENG X (2015). Rapid Diagnosis of Soybean Seedling Blight Caused by *Rhizoctonia solani* and Soybean Charcoal Rot Caused by *Macrophomina phaseolina* Using LAMP Assays. *Phytopathology*. 105:1612-1617. (<https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0023-R>).
- LU Y, YAO B, WANG G, HONG N (2018). The detection of ACLSV and ASPV in pear plants by RT-LAMP assays. *Journal of Virological Methods* 252:80-85. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.11.010>).
- MANJUNATHA C, SHARMA S, KULSHRESHTHA D, GUPTA S, SINGH K, BHARDWAJ SC, AGGARWAL R. (2018). Rapid detection of *Puccinia triticina* causing leaf rust of wheat by PCR and loop mediated isothermal amplification. *PLoS ONE* 26:e0196409. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196409>).
- MEENA PN, KHARBIKAR LL, RANA RS, SATPATHY S, SHANWARE A, SIVALINGAM PN, NANDANWAR S (2019). Detection of *Mesta yellow vein mosaic virus* (MeYVMV) in field samples by a loop-mediated isothermal amplification reaction. *Journal of Virological Methods* 263:81-87. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.10.016>).
- MENG XL, XIE XW, SHI YX, CHAI AL, MA ZH, LI BJ (2017). Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay based on hrpZ gene for rapid detection and identification of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber leaves. *Journal of Applied Microbiology* 122:441-449. (<https://doi.org/10.1111/jam.13356>).
- MORI Y & NOTOMI T (2009). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy* 5:62-69. (<https://doi.org/10.1007/s10156-009-0669-9>).
- MORI Y, KANDA H, NOTOMI T (2013). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development. *Journal of Infection and Chemotherapy* 19:404-411. (<https://doi.org/10.1007/s10156-013-0590-0>).
- NAIDDO N, GHAI M, MOODLEY K, MKIZE L, MARTIN L, MCFARLANE S, RUTHERFORD S (2017). Modified RS-LAMP assay and use of lateral flow devices for rapid detection of *Leifsonia xyli* subsp.

- xyli*. Letters in Applied Microbiology 65:496-503. (<https://doi.org/10.1111/lam.12799>).
- NAIR S, MANIMEKALAI R, RAJ PG, HEGDE V (2016). Loop mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of coconut root wilt disease and arecanut yellow leaf disease phytoplasma. World Journal of Microbiology and Biotechnology 32:108. (<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2078-4>).
- NAGAMINE K, HASE T, NOTOMI T (2002). Accelerated reaction by loop mediated isothermal amplification using loop primers. Molecular and Cellular Probes 16:223–229. (<https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>).
- NAIDU RA & HUGHES JD (2001). Methods for the detection of plant virus diseases. Paper presented at the Plant virology in sub-Saharan Africa, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. p. 233-253.
- ENICKS DA, BOMBERGER RA, AMIRI A (2020). Development of a Portable LAMP Assay for Detection of *Neofabraea perennans* in Commercial Apple Fruit. Plant Disease 104:1-33. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-2036-RE>).
- NIE X (2005). Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA for Detection of *Potato virus Y*. Plant Disease 89:605-610. (<https://doi.org/10.1094/PD-89-0605>).
- NIESSEN L & VOGEL RF (2010). Detection of *Fusarium graminearum* DNA using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. International Journal of Food Microbiology 140:183-91. (<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.036>).
- NIU JH, JIAN H, GUO QX, CHEN CL, WANG XY, LIU Q, GUO YD. (2012). Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays based on 5S rDNA-IGS2 regions for detecting *Meloidogyne enterolobii*. Plant Pathology 61:809-819. (<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02562.x>)
- NKERE CK, OYEKANMI JO, SILVA G. et al (2018). Chromogenic detection of yam mosaic virus by closed-tube reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (CT-RT-LAMP). Archives of Virology 163:1057–1061. (<https://doi.org/10.1007/s00705-018-3706-0>).
- NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, YONEKAWA T, WATANABE K, AMINO N, HASE T (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Research 28:1-7. (<https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>).
- OBURA E, MASIGA D, WACHIRA F, GURJA B, KHAN ZR (2011). Detection of phytoplasma by loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP). Journal of Microbiological Methods 84:312-316. (<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.12.011>).
- OCENAR J, ARIZALA D, BOLUK G, DHAKAL U, GUNARATHNE S, PAUDEL S, DOBHAI S, ARIF M (2019). Development of a robust, field-deployable loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for specific detection of potato pathogen *Dickeya dianthicola* targeting a unique genomic region. PloS One 24:14 e0218868. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218868>).
- OKUDA M, OKUDA S, IWAI W (2015). Detection of *Cucurbit chlorotic yellows virus* from *Bemisia tabaci* captured on sticky traps using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) and simple template preparation. Journal of Virological Methods 221:9-14. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.04.014>).
- ORTEGA SF, TOMLINSON J, HODGETTS J, SPADARO D, GULLINO ML, BOONHAM N (2018). Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for the Detection of Seedborne Fungal Pathogens *Fusarium fujikuroi* and *Magnaporthe oryzae* in Rice Seed. Plant Disease 102:1549-1558a. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1307-RE>).
- ORTEGA SF, TOMLINSON J, GILARDI G, SPADARO D, GULLINO ML, GARIBALDI A, BOONHAM N (2018). Rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on soil, lettuce seeds and plants using loop-mediated isothermal amplification. Plant Pathology 67:1462-1473b. (<https://doi.org/10.1111/ppa.12855>)
- ORTEGA SF, DEL PILAR BUSTOS LÓPEZ M, NARI L, BOONHAM N, GULLINO ML, SPADARO D (2019). Rapid Detection of *Monilinia fructicola* and *Monilinia laxa* on Peach and Nectarine using Loop-Mediated Isothermal Amplification. Plant Disease 103:2305-2314. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0035-RE>).
- PAIVA BAR, WENDLAND A, TEIXEIRA NC, FERREIRA MASV (2019). Rapid Detection of *Xanthomonas citri* pv. *fuscans* and *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* in Common Bean by Loop-Mediated Isothermal Amplification. Plant Disease 104:198-

203. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0325-RE>).
- PANEK, J., FRAÇ, M (2019). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) approach for detection of heat-resistant *Talaromyces flavus* species. Scientific Reports 9:5846. (<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42275-x>).
- PARKINSON LE, LE DP, DANN EK. (2019). Development of Three Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assays for the Rapid Detection of *Calonectria ilicicola*, *Dactylonectria macrodidyma*, and the *Dactylonectria* Genus in Avocado Roots. Plant Disease 103:1865-1875. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2005-RE>).
- PENG J, ZHANG J, XIA Z, LI Y (2014). Rapid and sensitive detection of *Banana bunchy top virus* by loop-mediated isothermal amplification. Journal of Virological Methods 185:254-258. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.06.026>).
- PIECZUL K, PEREK A, KUBIAK K. (2018). Detection of *Tilletia caries*, *Tilletia laevis* and *Tilletia controversa* wheat grain contamination using loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP). Journal of Microbiological Methods 154:141-146. (<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.10.018>).
- PENG J, ZHANG H, CHEN F, ZHANG X, XIE Y, HOU X, LI G, PU J (2014). Rapid and quantitative detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 in soil by real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification. Journal Applied Microbiology 117:1740-1749. (<https://doi.org/10.1111/jam.12645>).
- PENG H, LONG H, HUANG W, LIU J, CUI J, KONG L, HU X, GU J, PENG D (2017). Rapid, simple and direct detection of *Meloidogyne hapla* from infected root galls using loop-mediated isothermal amplification combined with FTA technology. Scientific Reports 7:44853. (<https://doi.org/10.1038/srep44853>).
- PENG D, XIE J, WEI Q, LING KS, GUO L, FAN Z, ZHOU T (2017). One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for detection of *Apple chlorotic leaf spot virus*. Journal of Virological Methods 248:154-158. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.07.002>).
- PÉREZ-LÓPEZ E, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ D, OLIVIER CY et al. (2017) Molecular diagnostic assays based on cpn60 UT sequences reveal the geographic distribution of subgroup 16SrXIII-(A/I) I phytoplasma in Mexico. Scientific Reports 7:950. (<https://doi.org/10.1038/s41598-017-00895-1>).
- QIAO N, DAI H, LIU J, ZHU X, LI J, ZHANG D, LIU Y (2020). Detection of *Melon necrotic spot virus* by one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. PLoS ONE 15:15(3):e0230023. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230023>).
- QUOC NB, XUAN NTT, NGHIEP NM, PHUONG NDN, LINH TB, CHAU NB, CHUONG NDX, NIEN NC, DICKINSON M. (2021). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for detection of sesame phyllody phytoplasmas in Vietnam. Folia Microbiologica 66:273–283. (<https://doi.org/10.1007/s12223-020-00842-0>).
- RAFIQ A, ALI WR, ASIF M, AHMED N, KHAN WS, MANSOOR S, BAJWA SZ, AMIN I. (2021). Development of a LAMP assay using a portable device for the real-time detection of Cotton leaf curl disease in field conditions. Biology Methods & Protocols (<https://doi.org/10.1093/biomethods/bpab010>).
- RAVINDRAN A, LÉVY J, PIERSON E, GROSS DC (2015). Loop-Mediated Isothermal Amplification Procedure (LAMP) for Detection of the Potato Zebra Chip Pathogen “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”. Methods in Molecular Biology 1302:85-97. (https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2620-6_7).
- RIGANO LA, MARANO MR, CASTAGNARO AP et al. (2010). Rapid and sensitive detection of Citrus Bacterial Canker by loop-mediated isothermal amplification combined with simple visual evaluation methods. BMC Microbiology 10:1-8. (<https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-176>).
- RIGANO LA, MALAMUD F, ORCE IG et al. (2014). Rapid and sensitive detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by loop mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. BMC Microbiology 14:1-9. (<https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-86>).
- RIZZO D, LIO DD, PANATTONI A, SALEMI C, CAPPELLINI G, PARELLA G (2021). Rapid and Sensitive Detection of *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* in Tomato and Pepper Seeds by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays (Real Time and visual) and Comparison With RT-PCR End-Point and RT-qPCR Methods. Frontiers in Microbiology 12:640932.

- (<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.640932>).
- ROCHA DC, OLIVEIRA MB, DE FREITAS MA et al. (2017). Rapid detection of *Macrophomina phaseolina* in common bean seeds using a visual loop-mediated isothermal amplification assay. *Australasian Plant Pathology* 46:205–212. (<https://doi.org/10.1007/s13313-017-0477-0>).
- ROMERO ROMERO JL, CARVER GD, ARCE JOHNSON P, PERRY KL, THOMPSON JR (2019). A rapid, sensitive, and inexpensive method for detection of *Grapevine red blotch virus* without tissue extraction using loop-mediated isothermal amplification. *Archives of Virology* 164:1453-1457. (<https://doi.org/10.1007/s00705-019-04207-y>).
- SAGCAN H & KARA NT (2019). Detection of Potato ring rot Pathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Scientific Reports* 31:20393. (<https://doi.org/10.1038/s41598-019-56680-9>).
- SANTOS CA, OLIVEIRA KG, MENDES GM, SILVA LC, SOUZA JÚNIOR MN, ESTRELA PFN, GUIMARÃES RA, SILVEIRA-LACERDA EP, DUARTE GRM. (2021). Detection of SARS-CoV-2 in Saliva by RT-LAMP During a Screening of Workers in Brazil, Including Pre-Symptomatic Carriers. *J. Braz. Chem. Soc.* (<https://doi:10.21577/0103-5053.20210098>).
- SARKES A, FU H, FEINDEL D, HARDING M, FENG J (2020). Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of *Tomato brown rugose fruit virus* (ToBRFV). *PLoS ONE* 15(6): e0230403. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230403>).
- SASTRY SK & ZITTER TA (2014). Management of virus and viroid diseases of crops in the tropics. In: *Plant Virus and Viroid Diseases in the Tropics, Epidemiology and Management*. Sastry SK & Zitter TA. The Netherlands: Eds Springer: Dordrecht pp.149–480
- SASAYA T (2015). Detection Methods for Rice Viruses by a Reverse-Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP). *Methods in Molecular Biology* 1236:49-59. (https://doi:10.1007/978-1-4939-1743-3_5).
- SCHAAD NW, FREDERICK RD, SHAW J, SCHNEIDER WL, HICKSON R, PETRILLO MD, LUSTER DG (2003). Advances in molecular-based diagnostics in meeting crop biosecurity and phytosanitary issues. *Annual Reviews Phytopathology* 41: 305-324. (<https://doi:10.1146/annurev.phyto.41.052002.095435>).
- SAVARY S, WILLOCQUET L, PETHYBRIDGE SJ et al. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution* 3:430–439. (<https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>).
- SERDANI M, CURTIS M, MILLER ML, KRAUS J, PUTNAM ML (2013). Loop-mediated isothermal amplification and polymerase chain reaction methods for specific and rapid detection of *Rhodococcus fascians*. *Plant Disease* 97:517-529. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-12-0214-RE>).
- SHAN L, ABDUL HASEEB H, ZHANG J, ZHANG D, JEFFERS DP, DAI X, GUO W (2019). A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of toxigenic *Fusarium temperatum* in maize stalks and kernels. *International Journal of Food Microbiology*. 291:72-78. (<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.021>).
- SHRESTA S, NEUBAUER J, SPANNER R, NATWICK M, RIOS J, METZ N, SECOR GA, BOLTON M (2020). Rapid Detection of *Cercospora beticola* in Sugar Beet and Mutations Associated with Fungicide Resistance Using LAMP or Probe-Based qPCR. *Plant Disease* 104:1-41. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-2023-RE>).
- SHEN W, TUO D, YAN P, YANG Y, LI X, ZHOU P (2014). Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Papaya ringspot virus*. *Journal of Virological Methods* 204:93-100a. (<https://doi:10.1016/j.jviromet.2014.04.012>).
- SHENW, TUO D, YAN P, LI X, ZHOU P (2014). Detection of *Papaya leaf distortion mosaic virus* by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 195:174-179b. (<https://doi:10.1016/j.jviromet.2013.09.011>).
- SIEMONSMEIER A, HADERSDORFER J, NEUMÜLLER M, SCWAB W, TREUTTER D (2019). A LAMP Protocol for the Detection of '*Candidatus Phytoplasma pyri*', the Causal Agent of Pear Decline. *Plant Disease* 103:1397-1404. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2150-RE>).
- SILVA SJR, PARDEE K, PENA L (2020). Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for the Diagnosis of Zika Virus: A Review. *Viruses*. (<https://>

- doi:10.3390/v12010019).
- SILVA GNB, BARBOSA JÚNIOR WL, CINTRA NL, MEDEIROS ZM (2020). Application of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Detection of *Leishmania infantum* Strain from Brazil. Iranian journal of parasitology. 15:155–157.
- SINGH J, COBB-SMITH D, HIGGINS E, KHAN A (2020). Comparative evaluation of lateral flow immunoassays, LAMP, and quantitative PCR for diagnosis of fire blight in apple orchards. Journal of Plant Pathology 31:1-12. (<https://doi.org/10.1007/s42161-020-00644-w>).
- SONG ZQ, CHENG JE, CHENG FX, ZHANG DY, LIU Y (2017). Development and Evaluation of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of *Tylenchulus semipenetrans* Using DNA Extracted from Soil. The Plant Pathology Journal 33:184-192. (<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2016.0224>).
- STULBERG MJ, SANTILLANA G, STUDHOLME DJ, KASIBORSKI B, ORTIZ-CASTRO M, BRODERS K, ARIAS S, BLOCK C, MUNKYOLD G, RASCOE J (2020). Genomics-Informed Molecular Detection of *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* Strains Causing Severe Bacterial Leaf Streak of Corn. Phytopathology 110:1174-1179. (<https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-18-0453-R>).
- SU Y, YANG Y, PENG Q, ZHOU D, CHEN Y, WANG Z, XU L, QUE Y (2016). Development and application of a rapid and visual loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Sporisorium scitamineum* in sugarcane. Scientific Reports 6:23994. (<https://doi.org/10.1038/srep23994>).
- SUN M, LIU H, HUANG J, PENG J, FEI F, ZHANG Y, HSIANG T, ZHENG L (2019). A Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of *Pectobacterium aroidearum* that Causes Soft Rot in Konjac. International Journal of Molecular Sciences 20:1937. (<https://doi.org/10.3390/ijms20081937>).
- SUZUKI R, FUKUTA S, MATSUMOTO Y, HASEGAWA T, KOJIMA H, HOTTA M, MIVAKE N (2016). Development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay as a simple detection method of *Chrysanthemum stem necrosis virus* in chrysanthemum and tomato. Journal of Virological Methods 236:29-34. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.07.005>).
- TAKAHASHI R, FUKUTA S, KUROYANAGI S, MIYAKE N, NAGAI H, KAGEYAMA K, ISHIGURO Y (2014). Development and application of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Pythium helicoides*. FEMS Microbiology Letters 355:28-35. (<https://doi.org/10.1111/1574-6968.12453>).
- TANNER NA, EVANS T (2014). Loop-mediated isothermal amplification for detection of nucleic acids. Current Protocols in Molecular Biology 105:15.14.1-15.14.14. (<https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1514s105>).
- TANNER NA, ZHANG Y, EVANS TC (2015). Visual detection of isothermal nucleic acid amplification using pH-sensitive dyes. Biotechniques 58: 59-68. (<https://doi.org/10.2144/000114253>).
- TAHZIMA R, FOUCART Y, PEUSENS G, BELIËN T, MASSART S, DE JONGHE K (2019). New sensitive and fast detection of Little cherry virus 1 using loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). Journal of Virological Methods 265:91-98. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.12.019>).
- THIERRY M, CHATET A, FOURNIER E, THARREAU D, IOOS R (2020). A PCR, qPCR, and LAMP Toolkit for the Detection of the Wheat Blast Pathogen in Seeds. Plants 9:277. (<https://doi.org/10.3390/plants9020277>).
- TIBERINI A, TOMLINSON J, MICALI G, FONTANA A, ALBANESE G, TOMASSOLI L (2019). Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the rapid detection of *Onion yellow dwarf virus*. Journal of Virological Methods 271:113680. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113680>).
- TEMBO, M., ADEDIJI, A.O., BOUVAINE, S. et al (2020). A quick and sensitive diagnostic tool for detection of *Maize streak virus*. Scientific Reports 10:19633. (<https://doi.org/10.1038/s41598-020-76612-2>).
- TOMITA N, MORI Y, KANDA H, NOTOMI T (2008). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. Nature Protocols 3:877–882. (<https://doi.org/10.1038/nprot.2008.57>).
- TOMLINSON JA, DICKINSON MJ, BOONHAM N (2010). Rapid detection of *Phytophthora ramorum* and *P. kernoviae* by two-minute DNA extraction followed by isothermal amplification and amplicon detection by generic lateral flow

- device. *Phytopathology* 100:143-9. (<https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0143>).
- TOMLINSON JA, DICKINSON MJ, BOONHAM N (2010). Detection of *Botrytis cinerea* by loop-mediated isothermal amplification. *Letters in Applied Microbiology* 51:650-657. (<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02949.x>)
- TOMLINSON JA, OSTOJA-STARZEWSKA S, ADAMS IP, MIANO DW, ABIDRABO P, KINYUA Z, ALICAI T, DICKINSON MJ, PETERS D, BOONHAN N, SMITH J (2013). Loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of the causal agents of cassava brown streak disease. *Journal of Virological Methods* 191:148-154. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.07.015>).
- UNITED NATIONS. (2019). Department of Economic and Social Affairs, Population Division. *World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423)*.
- VARGA A & JAMES D (2006). Use of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the detection of *Plum pox virus*. *Journal of Virological Methods* 138:184-190. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.08.014>).
- VENKATARAVANAPPA V, ASHWATHAPPA KV, REDDY CNL, et al (2020). Characterization of *Tomato leaf curl New Delhi virus* associated with leaf curl and yellowing disease of Watermelon and development of LAMP assay for its detection. *Biotechniques* 10:282. (<https://doi.org/10.1007/s13205-020-02245-x>).
- VIELBA-FERNÁNDEZ A, VICENTE A, PÉREZ-GARCÍA A, FERNÁNDEZ-ORTUÑO D (2019). Monitoring Methyl Benzimidazole Carbamate-Resistant Isolates of the Cucurbit Powdery Mildew Pathogen, *Podosphaera xanthii*, Using Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 103:1515-1524. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2256-RE>).
- VILLARI C, TOMLINSON JA, BATTISTI A, BOONHAM N, CAPRETTI P, FACCOLI M (2013). Use of loop-mediated isothermal amplification for detection of *Ophiostoma clavatum*, the primary blue stain fungus associated with *Ips acuminatus*. *Applied Environmental Microbiology* 79:2527-2533. (<https://doi.org/10.1128/AEM.03612-12>).
- WALIULLAH S, HUDSON O, OLIVER JE, BRANNEN PM, JI P, ALI ME (2019). Comparative analysis of different molecular and serological methods for detection of *Xylella fastidiosa* in blueberry. *PLoS ONE* 14(9): e0221903. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221903>).
- WALJULLHAH S, BELL J, JAGDALE G, STACKHOUSE T, HAJIHASSANI A, BRENNEMAN T, ALI E (2020). Rapid detection of pecan root-knot nematode, *Meloidogyne partityla*, in laboratory and field conditions using loop-mediated isothermal amplification. *PLoS ONE* 15: e0228123a. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228123>).
- WALIULLAH S, LING KS, CIENIEWICZ EJ, OLIVER JE, JI P, ALI ME (2020). Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of *Cucurbit Leaf Crumple Virus*. *International Journal of Molecular Sciences* 21:1756b. (<https://doi.org/10.3390/ijms21051756>).
- WALSH HA & PIETERSEN G (2013). Rapid detection of *Grapevine leafroll-associated virus type 3* using a reverse transcription loop-mediated amplification method. *Journal of Virological Methods* 194:308-316. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.08.030>).
- WANG H, TURECHEK WW (2016). A Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay and Sample Preparation Procedure for Sensitive Detection of *Xanthomonas fragariae* in Strawberry. *PLoS ONE* 11:e0147122. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147122>).
- WANG QW, ZHANG CQ. (2019). q-LAMP Assays for the Detection of *Botryosphaeria dothidea* Causing Chinese Hickory Canker in Trunk, Water, and Air Samples. *Plant Disease* 103:3142-3149. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0773-RE>).
- WEI QW, YU C, ZHANG SY, YANG CY, MIRIAM K, ZHANG WN, DOU DL, TAO XR (2012). One-step detection of *Bean pod mottle virus* in soybean seeds by the reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification. *Virology Journal* 9:187. (<https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-187>).
- WILISIANI F, TOMIYAMA A, KATOH H, HARTONO S, NERIVA Y, NISHIGAWA H, NATSUAKI T (2019). Development of a LAMP assay with a portable device for real-time detection of begomoviruses under field conditions. *Journal of Virological Methods* 265:71-76. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.10.005>).
- WU X, CHEN C, XIAO X, DENG MJ (2016). Development of Reverse Transcription Thermostable Helicase Dependent DNA Amplification for the

- Detection of Tomato Spotted Wilt Virus. *Microbiological Methods* 99:1596-1599. ([https:// doi: 10.5740/jaoacint.16-0132](https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0132)).
- WU JY, HU XR, ZHANG CQ (2019). Molecular Detection of QoI Resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Strawberry Anthracnose Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *Plant Disease* 103:1319-1325. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1593-RE>).
- YAN H, ZHANG J, MA D, YIN J (2019). qPCR and loop mediated isothermal amplification for rapid detection of *Ustilago tritici*. *PeerJ*. 7:e7766. ([https:// doi: 10.7717/peerj.7766](https://doi.org/10.7717/peerj.7766)).
- XU L, WANG Y, ZHU S, LI J, CHANG Y, HUANG L (2021). Development and Application of a LAMP Assay for the Detection of the Latent Apple Tree Pathogen *Valsa mali*. *Plant Disease*. 105:1065-1071. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-07-20-1449-RE>).
- YANG X, AL-ATTALA MN, ZHANG Y, ZHANG AF, ZANG HY, GU CY, GAO TC, CHEN Y, AL-ATTALA MN, ALI F, LI YF, YAO J, ZHU JG (2018). Rapid Detection of *Ustilaginoidea virens* from Rice using Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *Plant Disease* 102:1741-1747. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0065-RE>).
- YANG X, QI YJ, AL-ATTALA MN, GAO ZH, YI XK, ZHANG AF, ZANG HY, GU CY, GAO TC, CHEN Y. (2019). Rapid Detection of Alternaria Species Involved in Pear Black Spot Using Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 103:3002-3008. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0149-RE>).
- YASUHARA-BELL J, MARRERO G, DE SILVA A, ALVAREZ AM (2016). Specific detection of *Pectobacterium carotovorum* by loop-mediated isothermal amplification. *Molecular Plant Pathology* 17:1499-1505. ([https:// doi: 10.1111/mpp.12378](https://doi.org/10.1111/mpp.12378)).
- YASUHARA-BELL J, PEDLEY KF, FARMAN M, VALENT B, STACK JP (2018). Specific Detection of the Wheat Blast Pathogen (*Magnaporthe oryzae Triticum*) by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 102:2550-2559. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0512-RE>).
- YU SS, CHE HY, WANG SJ, LIN CL, LIN MX, SONG WW, TANG QH, YAN W, QIN WQ (2020). Rapid and Efficient Detection of 16Srl Group Areca Palm Yellow Leaf Phytoplasma in China by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *The Plant Pathology Journal* 36:459-467. ([https:// doi: 10.5423/PPJ.OA.06.2020.0094](https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2020.0094)).
- ZARZYŃSKA-NOWAK A, HASIÓW-JAROSZEWSKA B, JEŻEWSKA M (2018). Molecular analysis of *Barley stripe mosaic virus* isolates differing in their biological properties and the development of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays for their detection. *Archives of Virology* 163:163-1170. ([https:// doi: 10.1007/s00705-018-3725-x](https://doi.org/10.1007/s00705-018-3725-x)).
- ZHANG ZY, LIU XJ, LI DW et al. (2011). Rapid detection of *Wheat yellow mosaic virus* by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Virology Journal* 8:550. (<https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-550>).
- ZHANG X, HARRINGTON TC, BATZER JC, KUBOTA R, PERES NA, GLEASON ML (2016). Detection of *Colletotrichum acutatum* Sensu Lato on Strawberry by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Plant Disease* 100:1804-1812. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-15-1013-RE>).
- ZHANG L & GLEASON C (2019). Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Diagnostic Detection of *Meloidogyne chitwoodi* and *M. fallax*. *Plant Disease* 103:12-18. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0093-RE>).
- ZHANG SY, DAI DJ, WANG HD, ZHANG CQ (2019). One-step loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the rapid and sensitive detection of *Fusarium fujikuroi* in bakanae disease through NRPS31, an important gene in the gibberellic acid bio-synthesis. *Scientific Reports* 9:3726. (<https://doi.org/10.1038/s41598-019-39874-z>).
- ZHANG Y, WANG Y, XIE Z, WANG R, GUO Z, HE Y (2020). Rapid Detection of *Lily mottle virus* and *Arabidopsis mosaic virus* Infecting Lily (*Lilium* spp.) Using Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *The Plant Pathology Journal* 36:170-178. ([https:// doi: 10.5423/PPJ.OA.04.2019.0096](https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.04.2019.0096)).
- ZHANG Y, XIE Z, FLETCHER JD, WANG Y, GUO Z, HE Y (2020). Rapid and Sensitive Detection of Lettuce Necrotic Yellowing Virus and Cucumber Mosaic Virus Infecting Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *The Plant Pathology Journal* 36:76-86. ([https:// doi: 10.5423/PPJ.OA.12.2019.0298](https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.12.2019.0298)).
- ZHANG Y, XIE Z, FLETCHER JD, WANG Y, WANG

- R, GUO Z, HE Y (2020). Rapid and Sensitive Detection of Lettuce Necrotic Yellow Virus and Cucumber Mosaic Virus Infecting Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *The Plant Pathology Journal* 36:76-86. (<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.12.2019.0298>).
- ZHAO B, YANG D, ZHANG Y. et al (2018). Rapid visual detection of lily mottle virus using a loop-mediated isothermal amplification method. *Archives of Virology* 163:545–548. (<https://doi.org/10.1007/s00705-017-3618-4>).
- ZHOU T, DU LL, FAN YJ, ZHOU YJ (2012). Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification of RNA for sensitive and rapid detection of *Southern rice black-streaked dwarf virus*. *Journal of Virological Methods* 180:91–95. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.12.014>).
- ZHOU Y, FAN F, WANG L, CHAISIRI C, YIN LF, YIN WX, LUO CX (2021). Development of a loop-mediated isothermal amplification method for the rapid detection of *Venturia carpophila* on peach. *Pest Management Science* 77:1383-1391. (<https://doi.org/10.1002/ps.6154>).
- ZHU J, ZHANG L, LI H, GAO Y, UM W, LIU F (2020). Development of a LAMP method for detecting the N75S mutant in SDHI-resistant *Corynespora cassiicola*. *Analytical Biochemistry* 597:113687. (<https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113687>).
- ZONG X, WANG W, WEI H, WANG J, CHEN X, XU L, ZHU D, LIU O (2014). Rapid detection of *Prunus necrotic ringspot virus* using magnetic nanoparticle-assisted reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods* 208:85-89. (<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.07.033>).