



ISBN 978-85-66836-16-5

PCR MULTIPLEX PARA IDENTIFICAÇÃO DE *Corynespora cassiicola* / Multiplex PCR for identification of *Corynespora cassiicola*. M.G. SILVA<sup>1</sup>; J.M.I. de JESUS<sup>1</sup>; M.G. CUNHA<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa em Fitopatologia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Rodovia Goiânia/Nova Veneza, Km 0, Goiânia (GO), CEP 74690-900. Email: mariana1005g@gmail.com.

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo e um dos gargalos para aumento da produção são as ocorrências de doenças. Na cultura da soja podem incidir aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides ou vírus, limitando as possibilidades de obter altos rendimentos. A importância econômica de cada doença depende das condições climáticas de cada safra. Neste contexto, são bastante preocupantes os recentes surtos epidêmicos de mancha alva (*Corynespora cassiicola*) em várias regiões produtoras de soja no Brasil. No processo de diagnose, a identificação precisa e rápida do agente causal é essencial para o manejo de qualquer fitodoença. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo molecular para rápida identificação de *C. cassiicola*, eliminando os problemas de diagnoses falso-negativas. O experimento foi realizado no Núcleo de Pesquisa em Fitopatologia da Universidade Federal de Goiás em Goiânia, Goiás. O DNA total de *C. cassiicola* foi extraído pelo método Dellaporta (1983) adaptado e submetidos à técnica de PCR convencional utilizando dois pares de primers: ITS-1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS-4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') que são específicos para amplificação de gene ribossomal de fungos e GA4-F (5'-CCT GCT CCG ACT TTG TTG AG-3') e GA4-R (5'-GTC TGG GAG CAG CAA AGA CT-3') que são específicos para amplificação locus hipervariável *ga4* de *C. cassiicola*. As condições da PCR constaram de desnaturação inicial a 94°C por dois minutos, seguida por 35 ciclos a temperaturas de 94°C por um minuto para desnaturação, um minuto a 60°C para anelamento do primers e um minuto a 72°C para a extensão da síntese de DNA e, por fim, um período de extensão adicional durante cinco minutos a 72°C. Para validar o protocolo, isolados *C. cassiicola* identificados morfológicamente foram submetidos ao protocolo. Dentre os 219 isolados de analisados, 218 isolados foram identificados como *C. cassiicola*, mas um isolado estava erroneamente classificado dentro desta espécie, comprovando a eficiência do PCR multiplex desenvolvido.

**Palavras-chave:** ; Soja; Identificação molecular; Fitopatologia.