

Otimização de PCR multiplex para detecção de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijoeiro-comum

Maythsulene I. de S. Oliveira¹, Adriane Wendland², Alécio Moreira de Sousa³, Marcio V. C. B. Cortes⁴

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* (*Cff*) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (*Fop*) são duas das principais doenças que ocorrem na cultura do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*) no Brasil. Ambos os patógenos caracterizam-se por colonizar os vasos do xilema, obstruindo a passagem de seiva, causando sintomas como, flacidez e murcha das plantas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um PCR multiplex (m-PCR) para a detecção de *Cff* e *Fop*. A m-PCR foi padronizada com os iniciadores específicos FOR2 e REV4 para *Cff* e A280 e B310 para *Fop*. Isolados de *Cff* (BRM14946) e *Fop* (BRM14991) foram selecionados para a extração de DNA e a sua concentração final foi ajustada para 25 ng/ μ L. Para a otimização da m-PCR, foram testadas cinco diferentes temperaturas de anelamento: 55,0°C, 56,5°C, 57,6°C, 60,7°C e 65,0°C. Os produtos da m-PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,0%, corado em brometo de etídeo e foto documentado em transluminador ultravioleta. Os fragmentos de *Cff* (306 pb) e *Fop* (609 pb) foram amplificados nas temperaturas de 56,5°C, 57,6°C e 60,7°C, entretanto, a melhor visualização dos produtos amplificados ocorreu a 57,6°C, sendo esta temperatura a recomendada para a m-PCR de *Cff* e *Fop*. Assim, o emprego da PCR multiplex é uma alternativa eficaz, simples e rápida para estudos de detecção dos referidos patógenos de *Phaseolus vulgaris* mediante a dificuldade de identificação do agente causal por métodos convencionais.

¹ Mestranda em Agronomia - Fitossanidade - UFG, bolsista Capes na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, maythsulene@gmail.com

² Dra em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, Adriane.wendland@embrapa.br

³ Dr em Fitopatologia, Analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, alecio.moreira@embrapa.br

⁴ Msc em Bioquímica, Analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, marcio.cortes@embrapa.br