



2º WORKSHOP

## Melhoramento Vegetal

Contribuições, Avanços e Perspectivas para o Cerrado Brasileiro  
- 14 a 16 de junho de 2016 | Campo Grande, MS -

### Otimização de protocolos de PCR em multiplex para análise de fragmentos por eletroforese capilar em *Brachiaria*

RAGALZI, C. M. (1); VENTURA, E. F. (1); VILELA, M. M. (2); SIMEÃO, R. M. (2)

(1) Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS

(2) Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS

\*Autor para correspondência: rosangela.simeao@embrapa.br

A seleção genômica aumenta a eficiência e acelera o melhoramento genético. O método enfatiza a predição simultânea dos efeitos genéticos de um grande número de marcadores genéticos, de forma a capturar os efeitos dos locos de um caráter quantitativo, para explicar a variação genética. Após a obtenção dos marcadores, seus efeitos são estimados em uma população de trabalho. Na reação em cadeia da polimerase (PCR) em multiplex dois ou mais locos genômicos são simultaneamente amplificados, economizando reagentes e acelerando a obtenção de resultados. O objetivo neste trabalho foi otimizar protocolos de PCR de marcadores SSR em multiplex para genotipagem de uma população de *Brachiaria* visando fornecer informações para a seleção genômica. Os *primers* foram inicialmente combinados em multiplex utilizando o programa Multiplex Manager. As amplificações foram realizadas utilizando o QIAGEN Multiplex PCR Kit ou o protocolo convencional de PCR contendo tampão 1X, 1.23 mM de  $MgCl_2$ , 0.07 a 0.28  $\mu M$  de cada par de *primer*, 0.125 mM de cada dNTP, 0.6 U de *Taq* DNA polimerase e 10 ng de DNA. A ciclagem foi de 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 1 minuto, 52°C ou 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, finalizando com 60°C por 60 minutos. A visualização da amplificação foi feita em gel de agarose, a separação dos fragmentos por eletroforese capilar em Sequenciador ABI3130 e os dados analisados pelo software GeneMarker. Foram avaliados inicialmente 28 pares de *primers* nos parentais da população e, posteriormente, excluídos os locos monomórficos e os de difícil genotipagem. Foram comparados os resultados obtidos utilizando o kit e o protocolo convencional, as temperaturas de anelamento (52°C e 55°C), as combinações dos pares de *primers* bem como as quantidades de cada par. Com base nos resultados das amplificações, 19 pares de *primers* foram divididos em cinco multiplex otimizados e estabeleceu-se um padrão de reação utilizando o protocolo convencional de PCR.

Palavras-chave: SSR, eletroforese capilar, genotipagem.

Parceria/Apoio financeiro: CNPq, UNIPASTO e Embrapa Gado de Corte.

Realização:



Patrocínio:

