



DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PAINÉIS MULTIPLEX DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA ANÁLISE GENÉTICA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

Andréa Branco Schmidt^{1,2}; Paulo Hideo Rangel³; Márcio Elias Ferreira².

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – UFSC - andreaschm@gmail.com; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia- ferreira@cenargen.embrapa.br; ³Embrapa Arroz e Feijão - phrangel@cnpaf.embrapa.br

Palavras-chave: arroz, caracterização, germoplasma, microssatélites, melhoramento

Microssatélites são marcadores moleculares co-dominantes que revelam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA, distribuídas por todo o genoma. Microssatélites permitem estimativas robustas de parâmetros genéticos em populações naturais e coleções de germoplasma, e têm vasta aplicabilidade em programas de melhoramento. O uso de painéis de marcadores microssatélites possibilita a genotipagem semi-automatizada de vários locos simultaneamente para a caracterização de um grande número de acessos. O desenvolvimento de painéis multiplex requer o ajuste de condições metodológicas que possibilitem a genotipagem simultânea de um grande número de locos independentes, com elevado conteúdo informativo e variabilidade alélica. Neste trabalho, 430 locos microssatélites marcados com fluorocromos foram usados na genotipagem de 28 acessos de arroz, que compõem populações de mapeamento genético e de melhoramento para resistência à brusone, tolerância à seca, tolerância ao frio e qualidade de grão. Baseados nas informações geradas pelas genotipagens, foram selecionados 40 locos distribuídos nos 12 cromossomos da espécie. Foram desenvolvidos oito painéis multiplex, contendo entre 6 e 12 locos cada, que permitem a genotipagem de vários locos ao mesmo tempo. Cada painel possui um loco em comum com os demais, utilizado como controle de genotipagem entre painéis, minimizando potenciais erros de análise. Na seleção de locos para construção de painéis foram avaliados parâmetros como: qualidade e repetibilidade dos produtos de PCR, possibilidade de combinação máxima das fluorescências marcadas dos iniciadores, amplitude alélica de cada loco, número de alelos detectados para cada loco e o “motif” da sequência repetitiva de cada loco (di, tri ou tetranucleotídeos). A validação dos oito painéis foi feita em experimentos de genotipagem de variedades tradicionais do banco de germoplasma e introgressão assistida para por marcadores moleculares no programa de melhoramento. Os dados indicam que os oito painéis multiplex de microssatélites, amplificando produtos de PCR em 40 locos independentes, demonstraram ser ferramentas eficientes na ampliação da capacidade de genotipagem em programas de conservação e uso de recursos genéticos de arroz.