

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Arroz e Feijão
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Manual Prático para o Desenvolvimento de Marcadores Microssatélites em Plantas

*Rosana Pereira Vianello Brondani
Claudio Brondani
Dario Grattapaglia*

Embrapa Informação Tecnológica
Brasília, DF
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos no:

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica (PqEB), Av. W3 Norte (final)
CEP 70770-901 Brasília, DF
Fone: (61) 3340-9999
Fax: (61) 3340-2753
vendas@sct.embrapa.br
www.sct.embrapa.br/liv

Embrapa Arroz e Feijão

Rodovia GO 462, km 12 – Fazenda Capivara – Zona Rural
Caixa Postal 179
CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO
Tel.: (62) 3533-2110
Fax.: (62) 3533-2100
sac@cnpaf.embrapa.br
www.cnpaf.embrapa.br

Coordenação editorial
Fernando do Amaral Pereira
Mayara Rosa Carneiro
Lucilene M. de Andrade

Revisão de texto
Jane Baptistone de Araújo

Normalização bibliográfica
Celina Tomaz de Carvalho

Projeto gráfico e editoração eletrônica
Mário César Moura de Aguiar

Fotos da capa

Lavoura de feijão: Francisco Lins

Lavoura de arroz: Francisco Lins

Plantação de eucalipto: Lasse Arvidson

Figuras de eletroferese: Rosana Pereira Vianello Brondani

1ª edição

1ª impressão (2007): 1.500 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Informação Tecnológica

Brondani, Rosana Pereira Vianello.

Manual prático para o desenvolvimento de marcadores microssatélites em plantas / Rosana Pereira Vianello Brondani, Claudio Brondani, Dario Grattapaglia. – Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2007.
111 p.

ISBN 978-85-7383-405-5

1. DNA. 2. Genética molecular. 3. Genoma. 4. Marcador genético. I. Embrapa Arroz e Feijão. II. Brondani, Claudio. III. Grattapaglia, Dario. IV. Título

CDD 572.8

© Embrapa 2007

Apresentação

A biologia molecular é um dos ramos mais recentes da ciência e tem revolucionado áreas bastante distintas, como a saúde humana e a agricultura. Este manual reúne diversas técnicas de biologia molecular, as quais são úteis em múltiplas aplicações, além daquelas relacionadas ao desenvolvimento de marcadores microssatélites, objeto deste livro.

Os marcadores microssatélites são de grande utilidade para a análise genética de organismos, a qual pode ser aplicada na determinação da variabilidade genética e identidade genética de indivíduos, na seleção assistida, na construção de mapas moleculares, entre outras. Para espécies consideradas modelo, nas quais existem grande informação genômica disponibilizada em bancos de dados públicos, como em humanos, arroz e soja, marcadores microssatélites podem ser facilmente obtidos *in silico*. Contudo, para a maioria das espécies de interesse científico, mas com poucos estudos genômicos desenvolvidos, a utilização deste manual será importante para a obtenção de marcadores microssatélites.

Os autores do manual possuem uma sólida formação científica e realizaram os estudos pioneiros de utilização de marcadores microssatélites em espécies vegetais no Brasil. Todos os procedimentos descritos neste manual têm sido amplamente difundidos entre estudantes, pesquisadores e professores de diversas instituições de pesquisa no Brasil, por meio de cursos e treinamentos oferecidos pelos autores, tendo resultado no desenvolvimento de marcadores microssatélites para os mais variados tipos de organismos vegetais e animais.

É, pois, com grande satisfação que a Embrapa publica este manual, que reúne protocolos rotineiros testados e aprovados no desenvolvimento de marcadores microssatélites e que visa contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do Brasil.

Beatriz da Silveira Pinheiro
Chefe-Geral da Embrapa Arroz e Feijão

Sumário

1	Base genética dos marcadores microssatélites	9
2	Preparação, digestão do DNA e separação de fragmentos.....	15
3	Enriquecimento da população de fragmentos para microssatélites	29
4	Construção de biblioteca genômica enriquecida com microssatélites	49
5	Triagem da biblioteca, seleção e seqüenciamento de clones com microssatélites	59
6	Desenho e testes de pares de iniciadores, análise de polimorfismo e desenvolvimento de sistemas multiplex	81
	Anexo - Preparo de tampões, soluções, meios de cultura e antibióticos	103