

Transferibilidade de marcadores microssatélites de *Garcinia gummi-gutta* (L.) Roxb. e *Garcinia indica* (Thouars) Choisy. para *Garcinia brasiliensis* Mart.

Transferability of microsatellite markers from *Garcinia gummi-gutta* (L.) Roxb. and *Garcinia indica* (Thouars) Choisy. to *Garcinia brasiliensis* Mart.

Transferibilidad de marcadores microsatélites de *Garcinia gummi-gutta* (L.) Roxb. y *Garcinia indica* (Thouars) Choisy. a *Garcinia brasiliensis* Mart.

DOI: 10.55905/oelv23n1-226

Receipt of originals: 12/27/2024

Acceptance for publication: 1/24/2025

Anderson Ortiz Alves

Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pelo Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG - BIONORTE)
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)

Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: andersonalves@secitec.mt.gov.br

Arielen Barreto de Carvalho

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pelo Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG - BIONORTE)
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)

Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: arielen19@gmail.com

Joari Costa de Arruda

Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pelo Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG - BIONORTE)
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)

Endereço: Cáceres, Mato Grosso, Brasil
E-mail: arruda.joari@unemat.br

Ana Paula Roveda

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal pelo Programa de
Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG - BIONORTE)
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)

Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: anapaularoveda@hotmail.com

Lilian Nayara Braga

Mestra em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT) - campus de Alta Floresta
Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: liliannayarabraga@gmail.com

Kelli Évelin Muller Zortéa

Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT) - campus de Alta Floresta
Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: kelli.zortea@unemat.br

Carolina Joana da Silva

Doutora em Ecologia e Recursos Naturais
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)
Endereço: Cáceres, Mato Grosso, Brasil
E-mail: carolina.silva@unemat.br

Ana Aparecida Bandini Rossi

Doutora em Genética e Melhoramento
Instituição: Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado
(UNEMAT)
Endereço: Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil
E-mail: anabanrossi@unemat.br

RESUMO

Garcinia brasiliensis, conhecida como bacupari, é uma espécie nativa do Brasil, com ampla distribuição geográfica e relevância ecológica no bioma Pantanal. Este estudo avaliou a transferibilidade de 12 loci microssatélites, previamente desenvolvidos para *Garcinia indica* e *Garcinia gummi-gutta*, para populações naturais de *G. brasiliensis*. O DNA foi extraído de amostras foliares de indivíduos coletados em quatro populações do bioma Pantanal, e a amplificação foi realizada via PCR. Dos loci testados, oito amplificaram com sucesso e foram utilizados para análise de diversidade genética. Esses loci apresentaram um total de 28 alelos, com média de 3,5 alelos por locus. A

heterozigosidade observada ($H_o = 0,53$) foi ligeiramente superior à esperada ($H_e = 0,44$), indicando baixa endogamia ($f = -0,18$). Foram identificados 11 alelos raros, distribuídos em sete *loci*, reforçando a necessidade de conservação das populações do Pantanal. O *locus* GI_KVRb204 destacou-se pela alta polimorfia (PIC = 0,66), enquanto GI_KVRb201 apresentou baixa variabilidade, sendo o menos indicado para estudos de diversidade genética. Os resultados demonstram a viabilidade da técnica de transferibilidade de microssatélites para *G. brasiliensis*, fornecendo marcadores eficazes para estudos moleculares e estratégias de conservação. A presença de alelos raros resalta a importância da preservação genética das populações de *G. brasiliensis* frente às pressões ambientais no Pantanal.

Palavras-chave: *Bacupari*, Microssatélites, SSR, Diversidade Genética.

ABSTRACT

Garcinia brasiliensis, commonly known as bacupari, is a native fruit species from Brazil with a wide geographical distribution and significant ecological relevance in the Pantanal biome. This study examined the transferability of 12 microsatellite *loci* originally developed for *Garcinia indica* and *Garcinia gummi-gutta* to natural populations of *Garcinia brasiliensis*. DNA was extracted from leaf samples collected from four populations within the Pantanal biome, and PCR amplification was conducted. Of the tested *loci*, eight successfully amplified and were used to analyze genetic diversity. These *loci* revealed a total of 28 alleles, averaging 3.5 alleles per *locus*. Observed heterozygosity ($H_o = 0.53$) was slightly higher than expected heterozygosity ($H_e = 0.44$), suggesting low levels of inbreeding ($f = -0.18$). Eleven rare alleles were found across seven *loci*, emphasizing the need for the conservation of these Pantanal populations. The GI_KVRb204 *locus* was particularly noteworthy for its high polymorphism (PIC = 0.66), while GI_KVRb201 exhibited low variability, making it less suitable for genetic diversity studies. These findings confirm the viability of microsatellite transferability techniques for *G. brasiliensis*, providing valuable markers for molecular studies and conservation strategies. The presence of rare alleles highlights the importance of genetically preserving *G. brasiliensis* populations against environmental pressures in the Pantanal biome.

Keywords: Bacupari, Microsatellites, SSR, Genetic Diversity.

RESUMEN

Garcinia brasiliensis, conocida comúnmente como bacupari, es una especie frutal nativa de Brasil con una amplia distribución geográfica y una relevancia ecológica significativa en el bioma del Pantanal. Este estudio examinó la transferibilidad de 12 *loci* de microsatélites desarrollados originalmente para *Garcinia indica* y *Garcinia gummi-gutta* a poblaciones naturales de *Garcinia brasiliensis*. Se extrajo ADN de muestras de hojas recolectadas en cuatro poblaciones del bioma Pantanal, y se realizaron amplificaciones por PCR. De los *loci* evaluados, ocho se amplificaron con éxito y se utilizaron para analizar la diversidad genética. Estos *loci* revelaron un total de 28 alelos, con un promedio de 3.5 alelos por *locus*. La heterocigosidad observada ($H_o = 0.53$) fue ligeramente superior a la heterocigosidad esperada ($H_e = 0.44$), lo que sugiere bajos niveles de

endogamia ($f = -0.18$). Se identificaron once alelos raros distribuidos en siete *loci*, destacando la necesidad de conservar estas poblaciones del Pantanal. El *locus* GI_KVRb204 fue particularmente notable por su alto polimorfismo (PIC = 0.66), mientras que el GI_KVRb201 mostró baja variabilidad, haciéndolo menos adecuado para estudios de diversidad genética. Estos hallazgos confirman la viabilidad de las técnicas de transferencia de microsatélites para *Garcinia brasiliensis*, proporcionando marcadores valiosos para estudios moleculares y estrategias de conservación. La presencia de alelos raros resalta la importancia de preservar genéticamente las poblaciones de *Garcinia brasiliensis* frente a las presiones ambientales en el bioma del Pantanal.

Palabras clave: Bacupari, Microsatélites, SSR, Diversidad Genética.

1 INTRODUÇÃO

Garcinia brasiliensis Mart. (FFB, 2025), também conhecida como bacupari, é uma espécie frutífera nativa da região norte do Brasil com ocorrências confirmadas nas regiões nordeste (Bahia, Sergipe), centro-oeste (Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo) e sul (Santa Catarina) do país (Mouzinho, 2021). A espécie é fundamental no mosaico de biodiversidade do Pantanal, sendo manejada por agricultores e comunidades tradicionais, além de ser classificada como uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC) por ser pouco explorada nos sistemas alimentares convencionais, apesar de seu potencial nutricional (Kinupp *et al.*, 2021; Cobus *et al.*, 2023).

Alguns fatores como a fragmentação florestal e a ação humana podem afetar a diversidade genética em nível estrutural, levando à diminuição do tamanho populacional (Ratnam; Boyle, 2000; Redig, 2024). Atualmente, os estudos sobre diversidade genética de espécies vegetais nativas da floresta amazônica ainda são escassos, sobretudo quando comparados à vasta biodiversidade existente nesse bioma. Conforme apontado por Rodrigues (2022), há um número limitado de famílias e espécies estudadas, com foco concentrado em espécies de alto valor econômico. Embora essa limitação seja evidente, observa-se um aumento moderado no número de publicações ao longo dos anos, impulsionado pelo uso de marcadores moleculares, principalmente os microsatélites, cujas pesquisas têm sido predominantemente realizadas por instituições brasileiras. A

diversidade genética de espécies vegetais pode ser estimada por uma variedade de características, incluindo aquelas de natureza agronômica, morfológica e/ou molecular. As informações derivadas dessas avaliações são, frequentemente, quantificadas em medidas de dissimilaridade, as quais proporcionam uma representação da diversidade presente dentro do conjunto de populações e genótipos em estudo (Cruz; Ferreira; Pessoni, 2020; Zortéa *et al.*, 2021).

A aplicação de ferramentas biotecnológicas, como marcadores moleculares, tem se expandido para diferentes finalidades. Entre suas principais aplicações estão a investigação da diversidade genética, avaliação da distância genética entre indivíduos, genotipagem, mapeamento de regiões específicas do genoma, estudos de associação e seleção genética (Soares, 2019; Nascimento, 2021). Os marcadores moleculares oferecem vantagens ao fornecer dados precisos diretamente do DNA, evitando interferências ambientais e permitindo maior eficiência em programas de melhoramento genético. Além disso, a possibilidade de transferir primers entre espécies relacionadas reduz custos e amplia o acesso a análises genéticas em espécies menos estudadas, potencializando a conservação e a gestão dos recursos genéticos (Soares, 2019). Marcadores moleculares são fragmentos de DNA que revelam variações em regiões específicas do genoma. Eles têm aplicação relevante em estudos de genética de populações, melhoramento de espécies e conservação de recursos genéticos (Caixeta; Borém, 2016; Guedes, 2023). Microssatélites, também conhecidos como Simple Sequence Repeats (SSRs), têm sido amplamente empregados em pesquisas que analisam a diversidade genética, destacando-se por sua capacidade de revelar polimorfismos com alta precisão. Esses marcadores moleculares são constituídos por pares de primers que delimitam as regiões dos microssatélites, possibilitando a amplificação de áreas específicas do genoma por PCR, devido à variação no número de repetições presentes nos motivos, como descrito por **Caixeta e Borém (2016)**, **Zortéa *et al.* (2021)** e **Costa (2024)**.

Apesar das vantagens, o desenvolvimento de microssatélites requer infraestrutura laboratorial avançada, o que pode tornar a técnica onerosa devido aos custos operacionais e à necessidade de mão de obra qualificada (Redig, 2024). Além disso, a principal limitação desses marcadores é sua especificidade, o que restringe seu uso a espécies para

as quais já existem primers desenvolvidos (Arnold *et al.*, 2002). No caso de *Garcinia brasiliensis*, a ausência de microssatélites específicos torna a transferência de loci heterólogos uma abordagem prática para acessar a variabilidade genética. Essa estratégia permite identificar polimorfismos em populações naturais, fornecendo informações úteis para estudos de diversidade genética e facilitando o desenvolvimento de marcadores específicos em análises futuras.

Na técnica de transferibilidade, marcadores microssatélites originalmente desenvolvidos para uma determinada espécie, são amplificados em outras desde que estas sejam geneticamente próxima (Frankham; Briscoe; Ballou, 2002; Rolim *et al.*, 2023). A transferência de microssatélites entre espécies vem sendo estudada e realizada no gênero *Garcinia*, conforme Ravishankar *et al.* (2017) que utilizaram marcadores microssatélites das espécies *Garcinia morella* e *Garcinia indica* para testar a transferibilidade entre espécies e desenvolver marcadores microssatélites para *G. gummi-gutta*.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a transferibilidade de marcadores microssatélites desenvolvidos para as espécies *Garcinia indica* e *Garcinia gummi-gutta* para *Garcinia brasiliensis*.

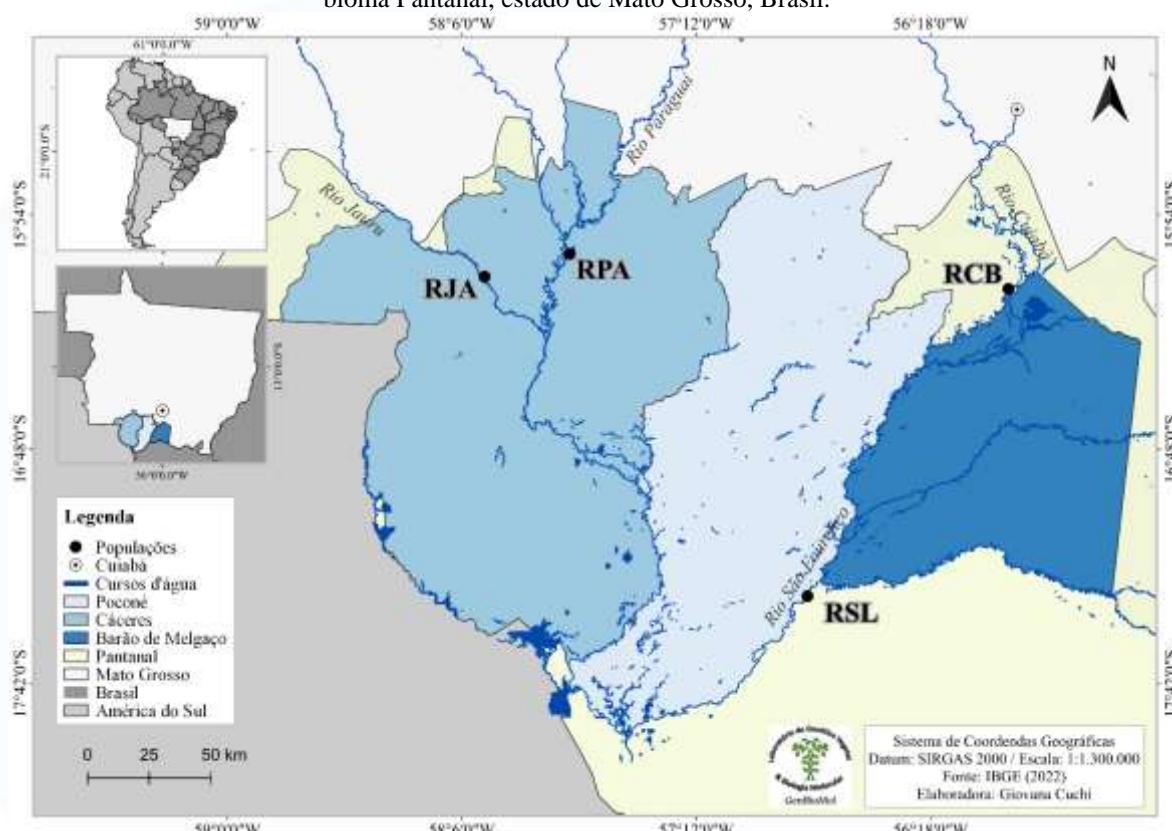
2 METODOLOGIA

2.1 ÁREA DE ESTUDO E COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Foram selecionadas quatro populações naturais de *Garcinia brasiliensis* (RCB: Rio Cuiabá; RSL: Rio São Lourenço; RPA: Rio Paraguai e RJA: Rio Jauru) localizadas no bioma Pantanal, estado de Mato Grosso, Brasil (Figura 1). Para a análise de transferibilidade foram testados cinco indivíduos de cada população, totalizando assim 20 indivíduos. De cada indivíduo foram coletadas folhas em estágio intermediário de desenvolvimento e ainda em campo foram identificadas e armazenadas em sacos plásticos tipo Ziploc® contendo sílica gel. Posteriormente, foram armazenadas em freezer a -20 °C no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular de Plantas (GenBioMol) no CEPTAM (Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional), Universidade do

Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus Universitário de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil.

Figura 1. Localização geográfica das quatro populações naturais de *Garcinia brasiliensis* amostradas no bioma Pantanal, estado de Mato Grosso, Brasil.



Legenda: RCB: Rio Cuiabá; RSL: Rio São Lourenço; RPA: Rio Paraguai e RJA: Rio Jauru.
Fonte: IBGE (2022), elaborado por: Giovana Cuchi.

2.2 EXTRAÇÃO DE DNA E AMPLIFICAÇÃO HETERÓLOGA

Para a extração do DNA total foi utilizado o método CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações para a espécie: aumento da concentração de CTAB de 2% para 5% e de β-mercaptoetanol de 0,2% para 1,6% no tampão de extração; adição de 2 % polivinilpirrolidona (PVP) e de 0,4% de proteinase K no tampão de extração (Zortéa *et al.*, 2021); redução do tempo de incubação em banho-maria de 60' para 30', mantendo a temperatura de 65°C.

Para a verificação da qualidade do material genético extraído, as amostras foram aplicadas e analisadas em gel de agarose 1% [corado com brometo de etídio (10 mg mL^{-1})] em cuba de eletroforese horizontal contendo solução tampão TBE 1X (Tris-Ácido bórico-EDTA). O gel foi visualizado e fotografado em transiluminador com luz UVB LTB-STi – Loccus Biotecnologia®, Fotodocumentador L-Pix Sti – Loccus Biotecnologia® e software L-Pix Sti Image – Loccus Biotecnologia®.

A quantificação do DNA total foi realizada utilizando microespectrofotômetro ND-3800-OD NANO DOT Hercuvan® e, posteriormente, foi realizada a diluição das amostras para a padronização à aproximadamente $2,5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ para a realização das amplificações via reação em cadeia da polimerase (PCR).

Para a amplificação do DNA de *G. brasiliensis* foram testados 12 loci microssatélites, sendo oito desenvolvidos por Ravishankar *et al.* (2017) para *G. gummi-gutta* e quatro por Ravishankar *et al.* (2021) para *G. indica*.

Nas amplificações, via reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizou-se protocolo descrito para *G. indica* por Ravishankar *et al.* (2021), com modificações na concentração de DNA e no tampão. As amplificações foram realizadas em termociclador Mastercycler Nexus Eppendorf® em volume final de $10 \mu\text{L}$ contendo: 1 μL de tampão IB 10x PHT® (I: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8,4, 0,1% Triton X-100; B: 1,5 mM MgCl₂), 0,2 mM de dNTPs, 1,25 mM de MgCl₂, 0,25 μM de primer R, 0,13 μM de primer F, 0,25 μM de marcador fluorescente M13 (com as variações NED, VIC e 6-FAM), 0,20 μL de Taq DNA polimerase (5 U/ μL), 2,5 ng de DNA por reação, e água Milli-Q autoclavada para completar o volume.

O programa de amplificação utilizado foi o descrito por Ravishankar *et al.* (2021) obedecendo as seguintes etapas: desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos; 35 ciclos, com desnaturação inicial a 94 °C, por 30 segundos; anelamento de 55 °C por 30 segundos, extensão a 72 °C por 1 minuto e extensão final, a 72 °C por 5 minutos.

Os produtos da amplificação foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com solução de brometo de etídio ($0,6 \mu\text{g mL}^{-1}$), visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e

software L-Pix STi (*Loccus Biotecnologia®*). A identificação dos fragmentos amplificados foi obtida por comparação com o marcador DNA ladder 100 pb (Cellco).

Posteriormente, as amostras amplificadas foram encaminhadas ao Instituto René Rachou, Minas Gerais, para genotipagem por eletroforese capilar. Os eletroferogramas gerados foram analisados no programa GeneMarker® versão 3.0 (SoftGenetics, LLC), que permitiu a identificação dos picos de fluorescência e a estimativa do tamanho dos fragmentos amplificados. As informações sobre os tamanhos dos fragmentos foram exportadas para uma planilha em formato Excel, utilizada para montar a matriz de dados genéticos e realizar as análises de diversidade genética.

2.3 ANÁLISE DOS DADOS

A diversidade genética dos indivíduos de *G. indica* foi analisada por meio do número de alelos por loco (Na), heterozigosidade esperada (He) e observada (Ho), conteúdo de informação polimórfica (PIC) e coeficiente de endogamia (f) utilizando o programa *Power Marker* v. 3.25 (Liu; Muse, 2005). A frequência dos alelos para cada *locus* foi obtida com o auxílio do suplemento do Excel GenAlEx 6.5 (Peakall; Smouse, 2012). A metodologia de um artigo delineia os procedimentos empregados para conduzir a pesquisa, incluindo o tipo de estudo, a seleção da amostra, os métodos de coleta e análise de dados, considerações éticas e limitações do estudo. Sua descrição detalhada e transparente é essencial para garantir a replicabilidade e a confiabilidade dos resultados, além de proporcionar uma base sólida para a interpretação e a generalização dos achados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos 12 loci microssatélites testados, oito amplificaram o genoma de *Garcinia brasiliensis*, quatro foram desenvolvidos originalmente para *Garcinia indica* (GI_KVRa978, GI_KVRb204, GI_KVRa979 e GI_KVRb201) e quatro para *Garcinia gummi-gutta* (GG_KVRg470, GG_KVRj447, GG_KVRj198 e GG_KVRj938),

conforme apresentado na Tabela 1. No total esses loci amplificaram 28 alelos, com uma média de 3,5 alelos por *locus*.

Tabela 1. Estimativa da diversidade genética para os oito loci microssatélites em *Garcinia brasiliensis*.

| Loci | (pb) | (pbo) | Motivo | Na | He | Ho | PIC | f |
|------------|---------|--------------|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| GI_KVRA978 | 99–148 | 105–131 | (AC)6 ^{VIC} | 4 | 0,29 | 0,11 | 0,27 | 0,64 |
| GI_KVRb204 | 102–195 | 64–160 | (CA)7 ^{FAM} | 6 | 0,72 | 0,72 | 0,66 | 0,02 |
| GI_KVRA979 | 428–582 | 478–506 | (CT)6 ^{NED} | 4 | 0,44 | 0,56 | 0,39 | -0,25 |
| GI_KVRb201 | 116–179 | 106–106 | (TA)6 ^{VIC} | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| GG_KVRg470 | 106–188 | 92–108 | (TA)6 ^{VIC} | 3 | 0,52 | 0,78 | 0,41 | -0,46 |
| GG_KVRj447 | 110–211 | 94–160 | (CCA)5 ^{FAM} | 3 | 0,54 | 0,78 | 0,44 | -0,43 |
| GG_KVRj198 | 102–158 | 106–174 | (CAA)9 ^{VIC} | 3 | 0,44 | 0,47 | 0,38 | -0,06 |
| GG_KVRj938 | 128–197 | 160–172 | (ACC)5 ^{FAM} | 4 | 0,59 | 0,84 | 0,51 | -0,41 |
| | | Média | | 3,50 | 0,44 | 0,53 | 0,38 | -0,18 |

Legenda: Intervalo de pares de bases esperados (pb); intervalo de pares de bases observados (pbo); Motivo: sequência repetitiva do microssatélite; número de alelos (Na); heterozigosidade esperada (He); heterozigosidade observada (Ho); conteúdo de informação polimórfica (PIC); coeficiente de endogamia (f); fluorescências: VIC, FAM e NED.

Fonte: Elaborada pelos autores.

Na Figura 2 observamos o padrão de amplificação do primer GI_KVRA979 para os vinte indivíduos amostrados nas populações dos rios Cuiabá, São Lourenço, Paraguai e Jauru.

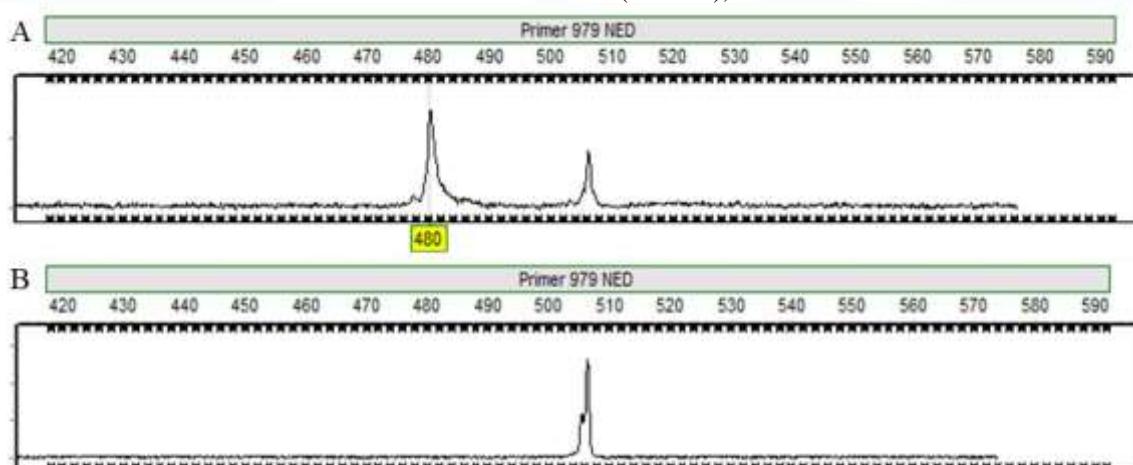
Figura 2. Gel de agarose com perfil eletroforético de amplificação do primer GI_KVRA979 nos vinte indivíduos de *Garcinia brasiliensis* amostrados nas quatro populações no bioma Pantanal.



Fonte: Elaborada pelos autores.

Na Figura 3, visualizamos os picos de fluorescência obtidos na genotipagem de dois indivíduos de *Garcinia brasiliensis*, evidenciando os fragmentos amplificados no locus GI_KVRa979, marcado com a fluorescência NED. O painel A mostra um perfil heterozigoto com picos de 480 pb e 506 pb, enquanto o painel B exibe um perfil homozigoto com apenas um pico de 506 pb.

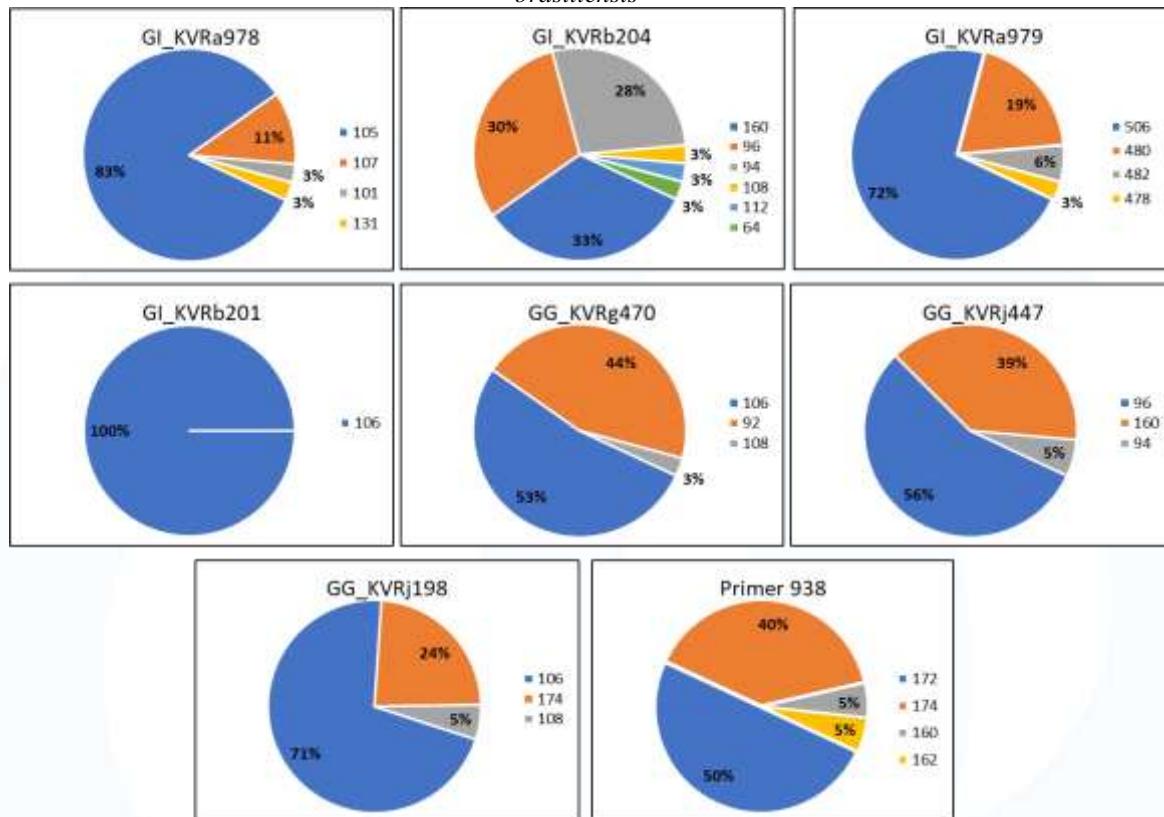
Figura 3. Eletroferogramas gerados pela leitura em sequenciador automático e visualizados no programa GeneMarker® versão 3.0 (SoftGenetics, LLC). Dois picos de fluorescência no locus GI_KVRa979 marcado com a fluorescência NED (amarelo), evidenciando



Fonte: Elaborada pelos autores.

A Figura 4 apresenta a distribuição dos alelos amplificados nos loci analisados em *Garcinia brasiliensis*. O locus GI_KVRb204 foi o mais polimórfico, com seis alelos diferentes amplificados. Em contrapartida, o locus GI_KVRb201 não apresentou polimorfismo, amplificando apenas um único alelo em todas as amostras. Em todos os loci, com exceção do locus GI_KVRb201, foram encontrados alelos raros, conforme observado na figura 4.

Figura 4. Distribuição da frequência alélica nos oito loci microssatélites transferidos para *Garcinia brasiliensis*



Fonte: Elaborada pelos autores.

Dos 12 loci microssatélites testados para *G. brasiliensis*, oito apresentaram amplificação. A ausência de amplificação nos outros quatro loci pode estar associada a mutações nas regiões flanqueadoras dos microssatélites, (Ravishankar *et al.*, 2017), resultando em alelos nulos. Estudos de polimorfismo genético indicam que tais mutações interferem na ligação dos primers, afetando a amplificação (Oliveira; Andrade, 2020; Rathva *et al.*, 2024). Esse fenômeno, já relatado por Callen *et al.* (1993), é comum em transferências de SSR entre espécies geneticamente distintas, ou seja, entre espécies que, apesar de serem próximas evolutivamente, possuem diferenças no material genético que podem incluir variações nas sequências ao redor dos microssatélites. Essas variações genéticas dificultam a transferência de marcadores SSR entre espécies, conforme observado em sapota (Rathva *et al.*, 2024).

A média de alelos por locus encontrada neste estudo (3,50) é inferior à relatada por Ravishankar *et al.* (2017) em *Garcinia gummi-gutta* (18,8 alelos por locus) e Ravishankar *et al.* (2021) em *Garcinia indica* (16,39 alelos por locus). No entanto, esse valor está mais próximo do observado em estudos de transferibilidade em outras espécies de plantas nativas, como *Vochysia divergens*, que apresentou uma média de 3,62 alelos por locus (Zortéa *et al.*, 2021). Esses resultados indicam que, apesar das diferenças entre as espécies, os loci transferidos para *G. brasiliensis* são funcionais e podem ser considerados marcadores úteis para análises genéticas. O sucesso na amplificação em *G. brasiliensis* demonstra que a técnica de transferibilidade de loci microssatélites pode ser aplicada em espécies que possuem pouca ou nenhuma informação genética prévia, conforme observado em estudos de transferibilidade em outras espécies vegetais (Soares, 2019).

O locus que amplificou o maior número de alelos foi o GI_KVRb204, com seis alelos, enquanto o menos polimórfico foi o GI_KVRb201, com apenas um alelo, esse resultado sugere que o locus GI_KVRb201 é o menos indicado para estudos de diversidade genética, devido à baixa capacidade de detectar variabilidade, o que pode limitar sua aplicabilidade em análises populacionais.

Os loci analisados neste estudo foram originalmente descritos em diferentes fontes, incluindo o trabalho de Ravishankar *et al.* (2017), que desenvolveu marcadores microssatélites para *Garcinia gummi-gutta*. Os tamanhos de alelos encontrados neste trabalho estão dentro da faixa esperada para microssatélites desenvolvidos para espécies do gênero *Garcinia*, conforme mostrado na Tabela 1. No entanto, os loci GI_KVRb204 e GI_KVRb201 apresentaram variações maiores do que o esperado. Variações no tamanho dos alelos podem ser causadas por diferentes números de unidades repetitivas dentro da estrutura do microssatélite, conforme descrito por (Jarne; Lagoda, 1996; Robinson; Harris, 1999). Essas variações são geradas por erros da DNA polimerase durante a replicação (*slippage*) e por crossing-over desigual. De acordo com (Caixeta; Borém, 2016), essas variações acumulam-se mais rapidamente do que mutações de ponto e mutações de inserção e deleção.

Com relação ao conteúdo de informação polimórfica (PIC) de cada locus, verificou-se que cinco loci foram altamente informativos, dois foram mediamente informativos e dois foram pouco informativos. Essa classificação segue a descrição de Botstein *et al.* (1980), que afirma que um *locus* é considerado altamente informativo se o valor de PIC for superior a 0,50. A estimativa do PIC é essencial para avaliar o poder discriminatório de um locus, como discutido por Rezende *et al.* (2009). Rafalski *et al.* (1996) destacam que quanto mais informativo for o marcador, mais fácil se torna detectar polimorfismos entre indivíduos avaliados.

A análise dos oito loci microssatélites em *Garcinia brasiliensis* revelou que a média da heterozigosidade esperada ($He = 0,44$) é ligeiramente inferior à média da heterozigosidade observada ($Ho = 0,53$) o que sugere uma proporção de heterozigotos superior ao esperado em algumas regiões analisadas. A diferença observada entre He e Ho pode ser atribuída a um excesso de heterozigotos na população analisada, o que sugere a ocorrência de cruzamentos aleatórios e a ausência de mecanismos de isolamento reprodutivo efetivos. Esse padrão também pode estar relacionado ao pequeno número de indivíduos amostrados, o que reduz a precisão das estimativas de Ho , conforme sugerido por Pedri (2022). Além disso, Ravishankar *et al.* (2021) observaram variações similares em populações de *Garcinia indica*, destacando a influência de fatores ecológicos e demográficos sobre os padrões de diversidade genética. Um coeficiente de endogamia médio negativo ($f = -0,18$) indica um excesso de heterozigotos na população analisada, sugerindo uma estrutura genética com baixa endogamia. Esse padrão pode ser atribuído a cruzamentos aleatórios ou a um possível fluxo gênico entre subpopulações, conforme descrito por Wright (1965).

Foram observados onze alelos raros distribuídos em sete loci dos oito utilizados. Alelos são considerados raros quando apresentam uma frequência igual ou inferior a 0,05 (5%), conforme descrito por (Dallas, 1992; Sebbenn, 2003; Hale; Burg; Steeves, 2012; Fabiani, 2022). A presença de alelos raros é essencial para maximizar a proteção da diversidade genética, pois esses alelos revelam áreas prioritárias para conservação e manejo sustentável, além de serem úteis para adequar estratégias de manejo em populações singulares, como apontado por Nassau (2022). O estudo de Silva Filha *et al.*

(2022) também reforça a importância de identificar e preservar a diversidade genética nas populações, destacando que a manutenção de alelos raros é essencial para garantir a resiliência genética das espécies. Portanto, essas análises indicam que as populações de *G. brasiliensis* distribuídas no bioma Pantanal necessitam serem preservadas.

4 CONCLUSÃO

Dos doze loci microssatélites testados neste estudo, sete foram transferidos com sucesso para *Garcinia brasiliensis*, sendo recomendados para futuras análises de diversidade e estrutura genética da espécie. Contudo, o *locus GI_KVRb201*, que apresentou apenas um alelo, mostrou-se o menos indicado para estudos de diversidade genética, devido à sua baixa variabilidade. Os valores preliminares de diversidade genética, especialmente os índices de heterozigosidade esperada (He) e conteúdo de informação polimórfica (PIC), demonstram o potencial desses marcadores para revelar variabilidade genética na espécie. Esses achados indicam que os marcadores transferidos são eficazes para estudos moleculares, contribuindo para estratégias de conservação e manejo sustentável de *Garcinia brasiliensis*. A presença de alelos raros nos loci analisados reforça a importância da preservação das populações de *Garcinia brasiliensis* no bioma Pantanal, uma vez que esses alelos, por apresentarem baixa frequência e ocorrência localizada, podem estar associados à adaptabilidade das plantas às condições ambientais específicas da região, garantindo a manutenção da diversidade genética e a resiliência das espécies frente a mudanças ambientais.

AGRADECIMENTOS

Ao projeto "Dinâmicas do pulso de inundação no sistema ecológico sociocultural do Rio Paraguai Pantanal, no contexto da Reserva da Biosfera do Pantanal, Mato Grosso, Brasil" (PELD DARP), financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo N° 23034.022102/2021-27) e Fundação de Amparo à



Pesquisa do Estado de Mato Grosso – FAPEMAT (Processo nº 0152640/2021), a UN-EMAT, Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado. Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (PPG -BIONORTE) e a SECITECI pelo apoio. Contribuição No. 51 do PELD DARP.

REFERÊNCIAS

- ARNOLD, C. *et al.* The application of SSRs characterized for grape (*Vitis vinifera*) to conservation studies in Vitaceae. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 1, p. 22-28, 1 jan. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.3732/ajb.89.1.22>. Acesso em: 28 nov. 2024.
- BOTSTEIN, D. *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.
- CAIXETA, E. T.; BORÉM, A. **Marcadores moleculares**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2016. 385 p.
- CALLEN, D. F. *et al.* Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers. **American Journal of Human Genetics**, v. 52, n. 5, p. 922-927, maio 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1682051/>. Acesso em: 18 ago. 2024.
- COBUS, D. *et al.* Unconventional Food Plants (UFPs): an approach to the nutritional and functional properties of nasturtium (*Tropaeolum majus* L.). **Food Science Today**, v. 1, n. 1, 24 jan. 2023. Disponível em: <https://journals.royaldataset.com/fst/article/view/4>. Acesso em: 2 abr. 2024.
- COSTA, D. G. B. D. **DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES: PAINEL DE PRIMERS PARA *Leiarius marmoratus* ATRAVÉS DE SEQUENCIAMENTO DE PRÓXIMA GERAÇÃO**. 2024. Tese de Doutorado – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2024.
- CRUZ, Cosme Damião; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. Diversidade Genética Baseada em Informações Fenotípicas. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**, p. 28-144, 2020.
- DALLAS, John F. Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse. **Mammalian Genome**, v. 3, n. 8, p. 452-456, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/bf00356155>. Acesso em: 15 jan. 2025.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987.
- FABIANI, B. C. **Otimização da amostragem para estudos populacionais com locos de microssatélites em espécies Neotropicais de Drosophila (Diptera, Drosophilidae)**. 2022. 59 p. Dissertação de Mestrado — Universidade Estadual de Ponta Grossa, Guarapuava, 2022.
- FFB. **Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2025. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 14 jan. 2025.
- FRANKHAM, R.; BRISCOE, D. A.; BALLOU, J. D. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge University Press, 2002.

GUEDES, KAMYLLA ROSAS VIEIRA. **Avaliação da diversidade genética de plantios de Aniba rosaeodora Ducke em municípios do Amazonas a partir de marcadores microssatélites.** 2023. 55 p. Dissertação de Mestrado — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2023.

HALE, Marie L.; BURG, Theresa M.; STEEVES, Tammy E. Sampling for Microsatellite-Based Population Genetic Studies: 25 to 30 Individuals per Population Is Enough to Accurately Estimate Allele Frequencies. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. e45170, 12 set. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045170>. Acesso em: 10 jan. 2025.

JARNE, Philippe; LAGODA, Pierre JL. Microsatellites, from molecules to populations and back. **Trends in ecology & evolution**, v. 11, n. 10, p. 424-429, 1996.

KINUPP, V. F. *et al.* **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil:** guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2021.

LIU, K.; MUSE, S. V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, v. 21, n. 9, p. 2128–2129, 2005.

MOUZINHO, Thiago de Medeiros. **Estudos taxonômicos do gênero Garcinia L. (Clusiaceae) na Amazônia Brasileira.** 2021. 137 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2021.

NASCIMENTO, Tiago Lima do. **Estudo de herança, transferibilidade de primers, e análise de trilha e de QTL em lanatus populações de melancia (*Citrullus lanatus* var.).** 2021. 124 p. Tese (Doutorado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2021.

NASSAU, Bárbara Rayane Ramos Muniz. **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Mauritia flexuosa*.** 2022. 52 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, DIAMANTINA, 2022.

OLIVEIRA, Sirlene Brasil de; ANDRADE, Elisângela Xavier. **POLIMORFISMO GENÉTICO EM VEGETAIS: TÉCNICAS DE DETECÇÃO.** **REVISTA FIMCA**, v. 7, n. 2, p. 39-42, 1 dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.37157/fimca.v7i2.131>. Acesso em: 18 ago. 2024.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 20 jul. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>. Acesso em: 14 jun. 2024.

PEDRI, ELIANE CRISTINA MORENO DE. **ETNOVARIEDADES DE MANDIOCA CULTIVADAS EM MATO GROSSO, BRASIL: DIVERSIDADE GENÉTICA E CARACTERIZAÇÃO MORFOAGRONÔMICA.** 2022. 119 p. Tese –

Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Doutorado) Rede em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal: Rede Bionorte – Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2022.

RAFALSKI, J. A. *et al.* Generating and using DNA markers in plants. In nonmammalian genomic analysis: a practical guide. **Academic Press, New York**, p. 73-134, 1996.

RATHVA, Hemangini *et al.* Genetic relatedness analysis in sapota using SSR markers. **Ecological Genetics and Genomics**, p. 100234, fev. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.egg.2024.100234>. Acesso em: 15 nov. 2024.

RATNAM, Wickneswari; BOYLE, Timothy J. Effects of logging and other forms of harvesting on genetic diversity in humid tropical forests. **Forest conservation genetics: principles and practice. Collingwood, AU, CSIRO/CABI**, p. 115-122, 2000.

RAVISHANKAR, K. V. *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers from *Garcinia indica* and cross species amplification. **Journal of Horticultural Sciences**, v. 16, n. 1, p. 125-129, 30 jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.24154/jhs.v16i1.1128>. Acesso em: 22 ago. 2024.

RAVISHANKAR, K. V. *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers in *Garcinia gummi-gutta* by next-generation sequencing and cross-species amplification. **Journal of Genetics**, v. 96, n. 2, p. 213-218, 22 abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12041-017-0756-0>. Acesso em: 21 ago. 2024.

REDIG, Meirevalda do Socorro Ferreira. **Coleta, caracterização e avaliação de germoplasma de inajazeiro (*Maximiana maripa* (Aublet) Drude) do nordeste paraense.** 2024. 122 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias/Agroecossistemas da Amazônia) — Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2024.

REZENDE, Rodrigo Kelson Silva *et al.* Divergência genética entre cultivares de gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v. 39, n. 8, p. 2435-2440, 4 set. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-84782009005000176>. Acesso em: 23 jun. 2024.

ROBINSON, Julian P.; HARRIS, Stephen A. Amplified fragment length polymorphisms and microsatellites: a phylogenetic perspective. **Which DNA marker for which purpose**, v. 20, 1999.

RODRIGUES, Maiara dos Santos. **LACUNAS E TENDÊNCIAS EM ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS.** 2022. Dissertação (Mestrado Biodiversidade e Conservação) — Universidade Federal do Pará, ALTAMIRA, 2022.

ROLIM, M. T. R. *et al.* Transferability of microsatellite markers to study the genetic diversity of the copaiba. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 66, p. 1-8, 2023.



SEBBENN, Alexandre Magno. Número de populações para conservação genética in situ de espécies arbóreas. **Revista do Instituto Florestal**, v. 15, n. 1, p. 45-51, 2003.

SILVA FILHA, Camila Maria Ribeiro *et al.* Correlação entre diversidade genética e diversidade de espécies (SGDC): uma abordagem da genética de comunidades. **Genética na Escola**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2022.

SOARES, T.S. **Transferibilidade de primers microssatélites entre espécies vegetais**. 2019. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

WRIGHT, Sewall. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. **Evolution**, v. 19, n. 3, p. 395, set. 1965. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2406450>. Acesso em: 07 jan. 2025.

ZORTÉA, Kelli Évelin Muller *et al.* Transferibilidade de marcadores microssatélites de *Vochysia ferruginea* Mart. para *Vochysia divergens* Pohl. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 24014-24026, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-213>. Acesso em: 10 jan. 2025.