



Avaliação de marcadores ISSR para estudos moleculares de bacupari

Giovana CUCHI^{1*}, Mariéllen Schmith WOLF¹, Eliane Cristina Moreno DE PEDRI¹,
Kelli Evelin Müller ZORTÉA¹, Anderson Ortiz ALVES¹, Joari Costa de ARRUDA²,
Carolina Joana da SILVA², Ana Aparecida Bandini ROSSI¹

¹Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Alta Floresta, MT, Brasil.

²Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Cáceres, MT, Brasil.

*E-mail: giovana.cuchi@unemat.br

Submetido em 27/03/2023; Aceito em 22/08/2023; Publicado em 15/09/2023.

RESUMO: A espécie *Garcinia brasiliensis* apresenta diversas aplicações na medicina popular comprovadas cientificamente, entretanto, a falta de divulgação sobre essas características da espécie é um problema atual. Dentre os estudos que podem alavancar esse conhecimento está o da diversidade genética, para isso, o uso de marcadores moleculares ISSR é indicado por serem confiáveis, rápidos e econômicos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo selecionar e classificar marcadores moleculares dominantes para estudos com a espécie *G. brasiliensis*. Para isso, foi extraído o DNA total de 40 indivíduos de bacupari, dos quais foram selecionados dois, que apresentassem bandas bem definidas e sem arraste, para realizar testes de amplificação de *primers* ISSR via PCR. Ao todo, foram testados 31 *primers*, os quais foram classificados quanto sua qualidade de amplificação, utilizando os padrões bom, ruim e ausente. Dos 31 *primers* testados, 13 apresentaram bons resultados quanto à presença e qualidade das bandas, portanto, indicados para o uso em pesquisas que visem à caracterização molecular e avaliação da diversidade genética da espécie *Garcinia brasiliensis*.

Palavras-chave: *Garcinia brasiliensis*; marcador molecular; Pantanal.

Evaluation of ISSR markers for molecular studies of bacupari

ABSTRACT: The species *Garcinia brasiliensis* has various scientifically proven applications in folk medicine, however, the lack of dissemination of these species characteristics is a current problem. Among the studies that can enhance this knowledge is genetic diversity, for which ISSR molecular markers application is recommended as it is reliable, rapid, and economical. Therefore, this study aimed to select and classify dominant molecular markers for *G. brasiliensis* research. For this, total DNA was extracted from 40 bacupari individuals. Two individuals were selected to perform ISSR primer amplification tests by PCR. 31 primers were tested, which classified their amplification quality as good, poor, or absent. Out of the 31 tested primers, 13 showed good results regarding the presence and band quality, therefore, they were indicated for research use, aiming molecular characterization and *Garcinia brasiliensis* genetic diversity evaluation.

Keywords: *Garcinia brasiliensis*; molecular marker; Pantanal.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Garcinia brasiliensis* Mart., ou bacupari, é uma árvore nativa e endêmica do Brasil, que apresenta forte tolerância a períodos de inundações (DUARTE et al., 2005), características do bioma Pantanal. O bacupari pertence à família das Clusiaceae ou Guttiferae, como também é conhecida. O gênero *Garcinia* possui 14 espécies aceitas no Brasil, dentre elas *G. brasiliensis*, que pode ser identificada pelas folhas opostas e pecioladas, com 5-15 cm de comprimento, de forma elíptica ou oval e, em geral, assimétricas. Já os frutos são lisos, elipsoides, com rostró arredondado ou pouco pronunciado (MUNIZ, 2023).

G. brasiliensis apresenta diversas aplicações na medicina popular, comprovadas cientificamente, como seus ativos antiobesidade, atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antifúngica e leishmanicida, além do potencial nutritivo e energético da farinha à base das sementes (BRITO et al. 2022; ESPIRITO SANTO, 2020; MELO et al. 2021a; MELO et al., 2021b; MOREIRA et al., 2017; PEREIRA et al., 2010).

No Brasil, existem muitas frutas nativas que necessitam ser mais conhecidas e estudadas, antes de serem produzidas e consumidas em larga escala, como o bacupari, que é uma fruta que até o momento foi pouco explorada cientificamente (MELO et al., 2021a). Dentre os estudos que podem alavancar esse conhecimento está o da diversidade genética. São estudos que contribuem para a elaboração de estratégias de conservação e manejo de plantas nativas, e auxiliam com informações a nível genético das espécies (AMARAL et al., 2019). Uma ferramenta muito eficiente nesse tipo de estudo é o uso de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares do tipo ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) são importantes quando não se tem nenhuma informação genética anterior sobre a espécie (NYBOM, 2004), sendo assim, são boas opções no estudo da caracterização e avaliação da diversidade de *Garcinia*. Além disso, são mais acessíveis, permitem análises rápidas (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017) de locos múltiplos e de alto rendimento (GOGOI, 2021). Esse tipo de marcador é baseado na técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), na qual

não exige um conhecimento prévio da sequência de DNA a ser analisada, além de serem marcadores confiáveis, rápidos e econômicos, que já vêm sendo testados com espécies do gênero (PALKAR; SELLAPPAN, 2019; TEIXEIRA et al., 2020).

Logo, este trabalho teve como objetivo, selecionar e classificar marcadores moleculares ISSR para estudos com a espécie *Garcinia brasiliensis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta do material vegetal

Foram coletadas amostras foliares de 40 indivíduos nativos da espécie *Garcinia brasiliensis* na região da Baía do Malheiros, em Cáceres, Mato Grosso, sendo coletadas todas as plantas possíveis considerando uma distância de aproximadamente 50 metros entre as plantas. Estas foram transportadas para o Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol) que se localiza no CEPTAM (Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional), na Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado, Campus Universitário de Alta Floresta, onde foram higienizadas e armazenadas a -20 °C até a extração de DNA.

2.2. Extração do DNA total

Para a extração do DNA total das folhas de *G. brasiliensis*, foi utilizado o método CTAB (*Cetyltrimethylammonium Bromide*), protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), com algumas modificações sugeridas por Tiago et al. (2016): acréscimo de polivinilpirrolidona (PVP) na concentração de 1%; aumento nas concentrações de CTAB para 3%, de β -mercaptoetanol para 2% no tampão de extração e na temperatura de incubação de 60 °C para 65 °C, por 30 minutos (Figura 1).

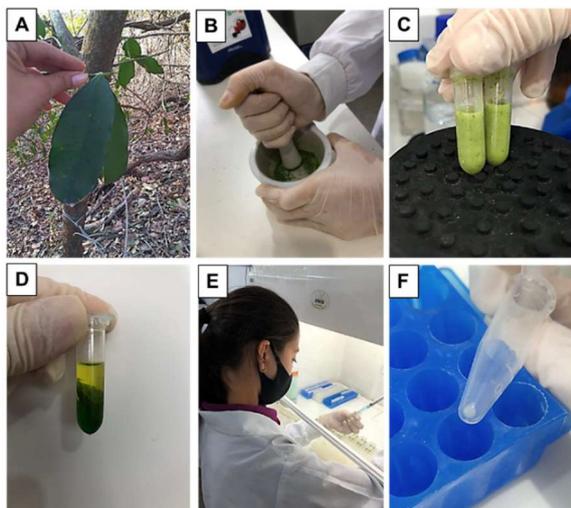


Figura 1. Processo de extração de DNA de indivíduos de *Garcinia brasiliensis*. A) Folhas de *Garcinia brasiliensis*; B) folhas trituradas com nitrogênio líquido; C) agitação em vórtex; D) fase aquosa após centrifugação; E) coleta de fase aquosa; F) *pellet* formado.

Figure 1. DNA extraction process from *Garcinia brasiliensis* individuals. A) *Garcinia brasiliensis* leaves; B) leaves crushed with liquid nitrogen; C) vortex shaking; D) aqueous phase after centrifugation; E) collection of aqueous phase; F) formed pellet.

Após a extração do DNA total, a qualidade do material foi observada por meio da técnica de eletroforese em géis de agarose a 1%, os géis foram corados com brometo de etídio

(10 mg mL⁻¹), visualizados, fotografados e editados em transiluminador com luz UVB LTB-20x20 STi, fotodocumentador e software L-Pix STi (Loccus Biotecnologia®), respectivamente. A quantidade de material genético extraído foi estimada em microespectrofotômetro ND-3800-OD Hercuvan®. Após, a solução de trabalho foi padronizada à 25 ng μ L⁻¹.

2.3. Amplificações via PCR

Dentre os 40 indivíduos utilizados na extração de DNA, foram selecionados dois (15 e 30) para a realização dos testes de amplificações (Figura 2). Os *primers* utilizados foram selecionados a fim de priorizar os citados na bibliografia para o gênero e os que tinham temperatura de anelamento semelhante. Foram então, usados 31 *primers* ISSR desenvolvidos pela *University of British Columbia* (UBC), Vancouver, Canadá (Tabela 1) para realizar as amplificações via PCR.

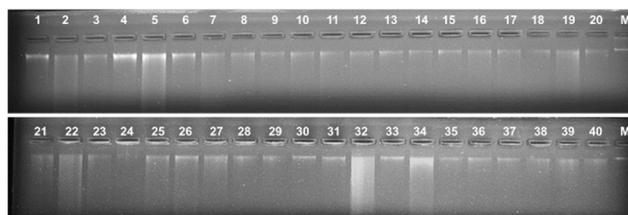


Figura 2. Quantificação do DNA de 40 indivíduos de *Garcinia brasiliensis*, padronizados à 25 ng μ L⁻¹. M: Marcador à 20 ng DNA λ . Figure 2. DNA quantification of 40 *Garcinia brasiliensis* individuals, standardized to 25 ng μ L⁻¹. M: 20 ng DNA λ marker.

As PCRs foram realizadas conforme Lowe et al. (2002), com algumas modificações nas quantidades dos reagentes. A reação teve um volume final de 15 μ L com os seguintes reagentes: 5,9 μ L de H₂O milli-Q®, 1,5 μ L 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), 1,7 mM de MgCl₂, 0,2 mM DNTP, 0,5 U de Taq polimerase, 0,2 μ M de cada *primer* testado e 3,33 ng de DNA.

As amplificações foram conduzidas em termociclador Aeris™ Thermal Cycler, com as seguintes etapas: desnaturação inicial a 94 °C por 90 segundos; 35 ciclos, com desnaturação inicial a 94 °C, por 45 segundos; anelamento de 48-60 °C (a depender do *primer* utilizado) por 45 segundos, extensão a 72 °C por 90 segundos e extensão final, a 72 °C por cinco 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 μ 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 *Kappa Universal Ladder*.

2.4. Análise de dados

A análise de qualidade das amplificações realizadas foi feita de forma visual por meio das fotografias dos géis. Foram estabelecidos padrões de qualidade entre bom, ruim e ausente, com base no trabalho de Amaral et al. (2019). Os *primers* classificados como “bom” permitiram amplificações de fácil visualização em todas as amostras, os “ruim” amplificaram apenas parte das amostras e/ou com má qualidade de visualização, já a classificação “ausente” foi

aplicada a *primers* que não amplificaram quais quer produtos (AMARAL et al., 2019).

Também foram descritos os dados do número total de bandas amplificadas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP) e porcentagem de polimorfismo (%P).

3. RESULTADOS

A análise de qualidade das ampliações foi realizada com todos os 31 *primers* testados, em que 13 foram classificados como bons, outros 13 como ruins e cinco apresentaram classificação ausente (Tabela 1).

Tabela 1. Apresentação e classificação dos *primers* ISSR testados quanto ao padrão de qualidade, descrito por Amaral et al. (2019).
Table 1. Presentation and classification of ISSR primers tested according to the quality standard described by Amaral et al. (2019).

Nome do <i>Primer</i>	Sequência do <i>Primer</i> (5'----3')	Tm ¹ (°C)	Ta ² (°C)	Padrão de qualidade
(AG)8YT	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	56,7	60	AUSENTE
(CAA)5	CAACAACAACAACAA	45,2	48	RUIM
DiGA - DiGA5 ^o CY	*CYGAGAGAGAGAGAGAGA	47	48	RUIM
(GATA)4	GATAGATAGATAGATA	43,9	48	RUIM
TriAAC3 ^o RC	AATAATAATAATAATRC	39,1	48	AUSENTE
TriATG3 ^o RC	ATGATGATGATGATGRC	52,2	60	BOM
TriGTG	GTGGTGGTGGTGGTG	58,9	60	BOM
UBC BRO5	AGAGAGAGAGAGAGAGAG	35	48	RUIM
UBC GR1	ACTGACTGACTGACTG	39	48	BOM
UBC 003	TCCTCCTCCTCCTCCAAG	62,2	60	AUSENTE
UBC 007	GACAGACAGACAGC	52,6	60	BOM
UBC 809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	48,2	48	BOM
UBC 811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	38	52	BOM
UBC 812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	40	48	BOM
UBC 820	GTGTGTGTGTGTGTGTC	48	48	RUIM
UBC 825	ACACACACACACACT	51,4	51	RUIM
UBC 826	ACACACACACACACC	48	60	RUIM
UBC 830	TGTGTGTGTGTGTGTGG	52,7	51	RUIM
UBC 835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC*	50,2	50	BOM
UBC 840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT*	47,4	50	BOM
UBC 841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC*	43	50	RUIM
UBC 844	CTCTCTCTCTCTCTRC	48,6	48	BOM
UBC 848	CACACACACACACARG	50	50	AUSENTE
UBC 849	GTGTGTGTGTGTGTGYA	48	60	RUIM
UBC 857	ACACACACACACACYG*	52	50	RUIM
UBC 861	ACCACCACCACCACC	60,6	60	BOM
UBC 864	ATGATGATGATGATGATG	46	50	BOM
UBC 868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	44	50	BOM
UBC 873	GACAGACAGACAGACA	40	48	AUSENTE
UBC 880	GGAGAGGAGAGGAGA	44	48	RUIM
UBC 890	VHVGTGTGTGTGTGTGT	52,2	60	RUIM

*Y = (C ou T); R = (A ou G); V = (A, C ou G); H = (A, C ou T); N = (A, G, C ou T); D = (A, G ou T) e B = (C, G ou T); ¹Tm = Temperatura média de anelamento do *primer* sugerida pelo fabricante; ²Ta = Temperatura de anelamento do *primer* utilizada.

Para a classificação dos *primers* quanto à qualidade das bandas amplificadas, foi utilizado o método descrito por Amaral et al. (2019). Assim, os *primers* ditos como bons apresentaram resultados de amplificação com bandas bem definidas e nítidas nos géis para todos os indivíduos testados (Figura 3A).

Os demais *primers* testados foram classificados como ruins e ausentes. Os *primers* de classificação ruim amplificaram bandas pouco nítidas e, muitas vezes, com presença de arraste (Figura 3B). Já os *primers* classificados como ausentes (Figura 3C) falharam em amplificar o DNA, já que não houve quaisquer sinais nos géis.

Quanto ao número de bandas amplificadas e de bandas polimórficas, foram analisados apenas os resultados de amplificação dos *primers* classificados como bons, visto que para os demais a contagem de bandas é impossibilitada pela má qualidade ou ausência de amplificação. Assim, foram identificadas ao todo 72 bandas amplificadas e destas, 14 polimórficas (Tabela 2).

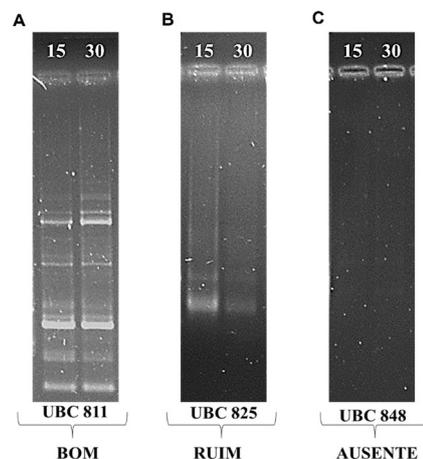


Figura 3. Classificação dos *primers* quanto ao padrão: A) bom; B) ruim e C) ausente.

Figure 3. Classification of primers according to the standard: A) good; B) poor and C) absent.

Tabela 2. Número de bandas e polimorfismo encontrado em dois indivíduos de *Garcinia brasiliensis* a partir de 13 *primers* ISSR. Número total de bandas amplificadas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP) e porcentagem de polimorfismo (%P).

Table 2. Number of bands and polymorphism found in two *Garcinia brasiliensis* individuals from 13 ISSR primers. Total number of amplified bands (NTB), number of polymorphic bands (NBP) and percentage of polymorphism (%P).

Nome do <i>Primer</i>	NTB	NBP	%P
TRI(ATG)	7	3	42,86
TRI(GTG)	4	0	0,00
UBC GR1	3	0	0,00
UBC 007	7	3	42,86
UBC 809	3	0	0,00
UBC 811	11	3	27,27
UBC 812	10	0	0,00
UBC 835	3	0	0,00
UBC 840	7	0	0,00
UBC 844	6	2	33,33
UBC 861	3	0	0,00
UBC 864	6	3	50,00
UBC 868	2	0	0,00
Total	72	14	19,44
Média	6,54	1,08	15,10

O número de bandas variou de 2 (UBC 868) a 11 (UBC 811), com média de 6,54 bandas por *primer*. Já a presença de bandas polimórficas foi identificada nas ampliações com os *primers* TRIA(ATG), UBC 007, UBC 811 UBC 864 e UBC 844. A porcentagem de polimorfismo total encontrada para o conjunto de *primers* bons utilizados foi de 19,44%.

4. DISCUSSÃO

Apesar da classificação utilizada em nossos resultados, existem outros fatores que podem influenciar a qualidade das bandas amplificadas, como as características da própria espécie (AMARAL et al., 2019). Nesse sentido, segundo Caixeta et al. (2016), a variação na frequência das bandas amplificadas pode ser influenciada também pela presença e abundância das sequências complementares dos *primers* utilizados, cuja abundância de repetições pode variar entre as espécies. Sendo assim, a ausência de amplificação de alguns dos *primers* pode ser relacionada com a ausência ou baixa frequência das repetições complementares no genoma da espécie. E, com base nos resultados, verifica-se que a espécie possui abundância de regiões microssatélites do tipo dinucleotídeos (7 dos 13 *primers* amplificados) e que as repetições mais frequentes foram TC e CT que anelaram com os 2 *primers* AG e 3 *primers* GA, respectivamente. O conhecimento desse padrão, pode auxiliar na busca de mais marcadores compatíveis para o estudo molecular da espécie.

O número de bandas encontrado neste estudo foi alto, mas a porcentagem de polimorfismo foi baixa. De acordo com Silva et al. (2018) as variações no número de fragmentos e no nível de polimorfismo, estão associados ao número de indivíduos testados. Dessa forma, é esperado que em estudos com mais indivíduos e populações, o número de bandas aumente, assim como o polimorfismo, haja visto que este estudo contemplou apenas dois indivíduos. No entanto, é importante salientar que, a prioridade de uso deve ser dada aos iniciadores que possibilitaram a visualização de polimorfismo nos testes preliminares e que mesmo assim, os marcadores com perfil monomórfico, nessa análise, não

devem ser descartados, pois, podem apresentar polimorfismo em outras amostras (SILVA et al., 2018).

A seleção de *primers* funcionais é um pré-requisito para se obter as estimativas de diversidade genética de uma espécie (CHAGAS et al., 2015). Um dos principais pontos levados em consideração para a escolha dos marcadores ISSR utilizados nesse estudo, estão relacionados ao fato de serem marcadores universais (DOMINGUES et al., 2017), o que permite sua utilização em estudos com diferentes espécies, já que não exigem o conhecimento prévio da região a ser amplificada (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017). Além disso, esses *primers* apresentam múltiplos locos polimórficos, bom rendimento e de custo acessível (GOGOI et al., 2021; COSTA et al., 2015; COSTA et al., 2015).

Os *primers* ISSR têm se apresentado efetivos nos estudos de diversidade genética com outras espécies do gênero *Garcinia*, como é relatado no trabalho de Vishnu et al. (2022) com *Garcinia gummi-gutta*, Patil; Pawar (2019) e Dike et al. (2019) para *Garcinia indica*.

Até o momento não existem trabalhos publicados sobre a diversidade genética de *G. brasiliensis* analisada através de marcadores moleculares, por isso, nossos resultados colaboram com novos estudos indicando *primers* ISSR que sejam eficientes em amplificar DNA da espécie com bandas de boa qualidade nas temperaturas e protocolos testados.

5. CONCLUSÕES

Dentre o conjunto de *primers* testados, 13 foram classificados como bons resultados quanto à presença e qualidade das bandas amplificadas. Cinco destes *primers* apresentaram bandas polimórficas. Portanto, sugerimos a utilização dos 13 *primers* em pesquisas que visem a caracterização molecular e avaliação da diversidade genética de *Garcinia brasiliensis*.

6. REFERÊNCIAS

- AMARAL, D. O. J.; ARAUJO, D. R. C.; FREITAS, J. G.; COSTA BATISTA, F. R. Seleção de *primers* polimórficos para estudo de diversidade genética em cactáceas. **Multi-Science Journal**, v. 2, n. 3, p. 9-13, 2019. <https://doi.org/10.33837/msj.v2i3.1074>
- BRITO, L. D. C.; MARQUES, A. M.; DA CUNHA CAMILLO, F.; FIGUEIREDO, M. R. *Garcinia* spp: Produtos e subprodutos com potencial aplicação farmacológica no câncer. **Food Bioscience**, v. 50, e102110, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102110>
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de Marcadores Moleculares In: BORÉM, E. A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. Viçosa: UFV, 2016. p. 9-93.
- CHAGAS, K. P. T.; SOUSA, R. F.; FAJARDO, C. G.; VIEIRA, F. A. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 1, p. 147-152, 2015. <https://doi.org/10.5039/agraria.v10i1a5133>
- COSTA, D. F. DA; VIEIRA, F. DE A.; FAJARDO, C. G., CHAGAS, K. P. T. DAS. Diversidade Genética e Seleção de Iniciadores ISSR em uma população natural de Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 970-976, 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-246/14>

- DIKE, M. S.; MALIK, S. K.; SAWARDEKAR, S. V.; DEODHAR, M. A. Study of the mode of reproduction and fruit development in *Garcinia indica*. **International Journal of Fruit Science**, v. 20, n. 1, p. 20-38, 2019. <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1563022>
- DOMINGUES, S. D.; NEVES, A. F.; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. F. P. S. Seleção de *primers* para análise de *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) em *Cereus* sp. (Cactaceae). **Revista Biotecnologia & Ciência**, v. 6, n. 2, p. 46-54, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.
- DUARTE, H. M.; GESSLER, A.; SCARANO, F. R.; FRANCO, A. C.; DE MATTOS, E. A.; NAHM, M.; RENNENBERG, H.; RODRIGUES, P. J. F. P.; ZALUAR, H. L. T.; LÜTTGE, U. Ecophysiology of six selected shrub species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE-Brazil. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, n. 5, p. 456-476, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2005.02.004>
- ESPIRITO SANTO, B. L. S. D.; SANTANA, L. F.; KATO JUNIOR, W. H.; DE ARAÚJO, F. O.; BOGO, D.; FREITAS, K. C.; GUIMARÃES, R. C. A.; HIANE, P. A.; POTT, A.; FILIÚ, W. F. O.; ARAKAKI ASATO, M.; FIGUEIREDO, P. O.; BASTOS, P. R. H. O. Potencial medicinal das espécies de *Garcinia* e seus compostos. **Moléculas**, v. 25, n. 19, p. e4513, 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25194513>
- GOGOI, N.; GOGOI, A.; NEOG, B.; BARUAH, D.; SAIKIA, P. Phylogenetic analysis and genetic diversity of *Garcinia* species using ITS region and ISSR markers. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 91, p. 343-351, 2021. <https://doi.org/10.1007/s40011-021-01227-0>
- LOWE, A. J.; GOODALL-COPESTAKE, W. P.; CARON, H.; KREMER, A.; DECROOCQ, S. Um conjunto de microssatélites polimórficos para *Vochysia ferruginea*, uma árvore promissora para recuperação de terras na região Neotropical. **Notas de Ecologia Molecular**, v. 2, n. 2, p. 153-155, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00192.x>
- MELO, A. M.; BARBI, R. C. T.; COSTA, B. P.; IKEDA, M.; CARPINÉ, D.; RIBANI, R. H. Valorization of the agro-industrial by-products of bacupari (*Garcinia brasiliensis* (Mart.)) through production of flour with bioactive properties. **Food Bioscience**, v. 45, p. e101343, 2021a. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101343>
- MELO, A. M.; ALMEIDA, F. L. C.; DE MELO CAVALCANTE, A. M.; IKEDA, M.; BARBI, R. C. T.; COSTA, B. P.; RIBANI, R. H. *Garcinia brasiliensis* fruits and its by-products: Antioxidant activity, health effects and future food industry trends – A bibliometric review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 112, p. 325-335, 2021b. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.005>
- MOREIRA, M. E. C.; NATAL, D. I. G.; TOLEDO, R. C. L.; RAMIREZ, N. M.; RIBEIRO, S. M. R.; DOS ANJOS BENJAMIN, L.; OLIVEIRA L. L.; RODRIGUES, D. A.; ANTÔNIO, J. D.; VELOSO, M. P.; SANTOS, M. H.; MARTINO, H. S. D. Bacupari peel extracts (*Garcinia brasiliensis*) reduce high-fat diet-induced obesity in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 29, p. 143-153, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.001>
- MUNIZ, F. H. *Garcinia in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6850>>. Acesso em: 22 mar. 2023
- NYBOM, H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 5, p. 1143-1155, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02141.x>
- PALKAR, R. S.; SELLAPPAN, K. Genetic diversity between and within the natural populations of *Garcinia indica* (Thouars) Choisy: A high value medicinal plant from Northern Western Ghats of India using ISSR markers. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 15, p. e100219, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100219>
- PATIL, R. V.; PAWAR, K. D. DNA based molecular markers discriminate genders of commercially important dioecious tree Kokum, *Garcinia indica* (choicy). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. e101319, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101319>
- PEREIRA, I. O.; MARQUES, M. J.; PAVAN, A. L. R.; CODONHO, B. S.; BARBIÉRI, C. L.; BEIJO, L. A.; DORIGUETTO, A. C.; D'MARTIN, E. C.; DOS SANTOS, M. H. Leishmanicidal activity of benzophenones and extracts from *Garcinia brasiliensis* Mart. fruits. **Phytomedicine**, v. 17, n. 5, p. 339-345, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.020>
- SILVA, T. S. S.; FREITAS, J. S.; SANTOS, E. S. L.; CARDOSO, T. S.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Caracterização e seleção de marcadores moleculares em *Croton linearifolius* Mull. Arg. como subsídio para estudos genéticos. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 10, p. 4-8, 2018. <https://doi.org/10.33837/msj.v1i10.354>
- TEIXEIRA, G. C.; KONZEN, E. R.; FARIA, J. C. T.; GONÇALVES, D. S.; CARVALHO, D.; EBLING BRONDANI, G. Genetic diversity analysis of two *Eucalyptus* species using ISSR markers. **Ciência Florestal**, v. 30, p. 270-278, 2020. <https://doi.org/10.5902/1980509832804>
- TURCHETTO-ZOLET, A. C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C. M.; PASSAIA, G. **Marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017. 181p.
- VISHNU, B.; RAMACHANDRAN, R.; ASWANILAL, L. V.; GANGAPRASAD, A.; SIRIL, E. A. Genetic evaluation of *Garcinia gummi-gutta* L. (Roxb.) accessions based on inter simple sequence repeat markers. **Ecological Genetics and Genomics**, v. 24, p. e100130, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.egg.2022.100130>

Agradecimentos: Ao projeto "Dinâmicas do pulso de inundação no sistema ecológico sócio cultural do Rio Paraguai Pantanal, no contexto da Reserva da Biosfera do Pantanal, Mato Grosso, Brasil" (PELD DARP), do qual essa pesquisa faz parte. À Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT) e ao Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol). Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela bolsa de iniciação científica oferecida à primeira autora durante a realização desse trabalho.

Contribuição dos autores: G.C. - conceituação, metodologia, investigação, análise estatística, redação (esboço original); M.S.W. - metodologia, investigação, análise estatística; E.C.M.P - validação, redação (revisão e edição); K.É.M.Z. - investigação, validação, redação (revisão e edição); A.O.A. e J.C.A. - coleta de dados; C.J.S.N. - aquisição de financiamento; A.A.P.R. - supervisão, validação, redação (revisão e edição). Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) (Bolsa de iniciação científica oferecida à primeira autora N° 0295/2021 FAPEMAT/UNEMAT); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso – FAPEMAT (Processo N° FAPEMAT.0152640/2021) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo N° 23034.022102/2021-27) (financiamento do PELD DARP).

Revisão por comitê institucional: *Não se aplica.*

Comitê de Ética: *Não se aplica.*

Disponibilização de dados: Os dados da pesquisa poderão ser disponibilizados através de solicitação via e-mail para a autora correspondente.

Conflito de Interesse: Os autores declaram que não existem conflitos de interesse com outros pesquisadores ou instituições.