



ARTIGO ORIGINAL

Transferibilidade de marcadores microssatélites para espécies silvestres de maracujazeiro

Transferability of microsatellite markers to wild passion fruit species

Lucas Pereira da Silva^{1*}
Thalita Neves Marostega¹
Thiago Alexandre Santana Gilio¹
Milson Evaldo Serafim²
Kelly Lana Araújo¹
Leonarda Grillo Neves¹

¹ Universidade do Estado de Mato Grosso (Unemat), Departamento de Agronomia, Av. Tancredo Neves, 1095, 78200-000, Cáceres, MT, Brasil

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), Departamento de Solos, Av. dos Ramires, s/n, 78200000, Cáceres, MT, Brasil

*Autor correspondente:

E-mail: lucassilvapee@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE

Melhoramento de plantas
Simple sequence repeats
Amplificação
Polimorfismo

KEYWORDS

Plant breeding
Simple sequence repeats
Amplification
Polymorphism

RESUMO: Marcadores moleculares permitem acompanhar o progresso de um programa de melhoramento genético. Marcadores SSR (*simple sequence repeats*), por serem codominantes, multialélicos e apresentarem alto polimorfismo, são ideais para estudos de criação de mapas gênicos, variabilidade e confirmação de retrocruzamentos. Porém, o uso deste tipo de marcador molecular é limitado, visto que são apenas disponíveis primers para espécies com expressão comercial. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a transferibilidade de 21 *loci* microssatélites desenvolvidos e desenhados de *P. edulis* e *P. alata* para quatro espécies silvestres de *Passiflora*. As espécies utilizadas foram: *P. cincinnata*, *P. quadrangularis*, *P. mucronata*, e *P. nitida*. A extração de DNA foi realizada através do Kit Promega Wizard®. O protocolo de amplificação utilizado foi adaptado do proposto para o maracujazeiro comercial. Foram utilizados dezoito marcadores microssatélites desenhados para a espécie *P. edulis* e dois desenhados para *P. alata*. Os amplicons foram levados à eletroforese horizontal em gel de agarose a 3% e corados com o buffer Nancy 520. Os géis foram revelados em fotodocumentador digital e analisados. A transferibilidade foi verificada através da avaliação de presença ou ausência de banda. Os *loci* microssatélites projetados para *P. edulis* e *P. alata* mostraram-se transferíveis para ao menos uma das espécies com uma taxa altamente variável sendo, *P. cincinnata* (33,33%), *P. quadrangularis* (23,81%), *P. mucronata* (19,05%) e *P. nitida* (14,28%). Os marcadores PE13 e PE54 podem ser indicados para estudos de caracterização molecular por serem os únicos capazes de amplificar todas as espécies de maracujá silvestre estudadas.

ABSTRACT: Molecular markers are tools that allow the monitoring of a breeding program progress. SSR (*simple sequence repeats*) markers are applied for genetic mapping studies, variability, assisted selection, crossing and backcrossing, because they are codominant, multiallelic and high polymorphic. However, the use of this type of molecular marker is limited, since primers are only available for commercially expressed species. Therefore, this work aimed to evaluate the transferability designed primers of *Passiflora alata* e *Passiflora edulis* to four wild species of *Passiflora*. The species used were: *P. cincinnata*, *P. quadrangularis*, *P. mucronata* and *P. nitida*. DNA extraction was done through the Promega Wizard® Kit. The amplification protocol used was the one proposed for *P. alata* and *P. edulis* with adaptations. Nineteen microsatellites designed for *P. edulis* and two designed for a genus *P. alata* were used. The amplicons were taken to horizontal electrophoresis in a 3% agarose gel, followed by staining with Nancy 520 buffer and the revelation was developed in a digital photodocumentator with UV light. The transferability was verified through the evaluation of band presence or absence. The microsatellites *loci* designed for *P. edulis* and *P. alata* were transferable for the examination of at least one species with high variable rate: *P. quadrangularis* (23.81%), *P. cincinnata* (33.33%), *P. quadrangularis* (23.81%), *P. mucronata* (19.05%) and *P. nitida* (14.28%). Markers PE13 and PE54 can be selected for molecular characterization studies because they are the only ones able to amplify all the wild passion fruit species tested.

Recebido em: 03/07/2018

Aceito em: 17/11/2018

1 Introdução

O Brasil, considerado a origem e um dos principais centros de diversidade genética do gênero *Passiflora*, com aproximadamente 146 espécies nativas (Bernacci et al., 2015), destaca-se mundialmente como o principal produtor comercial de maracujá (Faleiro & Junqueira, 2016), com uma produção de 554 mil toneladas de frutas frescas em aproximadamente 41 mil hectares plantados no ano de 2017, de acordo com o IBGE (Brasil, 2017).

A maioria das plantas deste gênero são herbáceas e apresentam hábito de crescimento trepadeiro, sendo poucas as espécies que apresentam aspecto ereto e de caule mais lenhoso. Já as flores, principal característica do gênero, são hermafroditas, protegidas na base por brácteas foliares, corona formada por inúmeros filamentos e apresentam uma variação de cores, formas e tamanhos (Faleiro & Junqueira, 2016). As espécies do gênero *Passiflora* são diploides, alógamas, e apresentam uma variação quanto ao número de cromossomos (Paiva et al., 2014a).

Além da alta variabilidade genética encontrada no gênero, com mais de setenta espécies produtoras de frutos comestíveis, algumas espécies silvestres mostram um potencial para contribuir com programas de melhoramento genético do maracujazeiro comercial, pois apresentam resistência a doenças e características agrônomicas desejáveis, tais como aumento da produtividade, potencial para ornamentação, produção de compostos fármacos, melhoria no vigor vegetativo e reprodutivo, diminuição da autoincompatibilidade, melhoramento das características físicas e químicas dos frutos e maior longevidade (Meletti et al., 2005; Faleiro & Junqueira, 2016; Preisigke et al., 2017). Neste contexto, hibridações interespecíficas entre espécies silvestres e comerciais têm se tornado uma alternativa para contribuir para a resistência do maracujazeiro a fitopatógenos (Meletti & Brückner, 2001).

Em programas de melhoramento genético, o emprego de marcadores moleculares é mais eficiente durante o avanço de gerações, sendo ferramentas que possibilitam analisar detalhadamente o genoma da espécie, avaliando as relações entre indivíduos e populações, possibilitando a identificação da diversidade genética do material estudado, identificando genes de característica quantitativa ou qualitativa, ou até mesmo fenômenos de heterose (Pereira et al., 2005; Gonçalves-Vidigal & Rubiano, 2011).

Entre os tipos de marcadores moleculares, os SSR (*simple sequence repeats*), também denominados de microssatélites, são unidades moleculares curtas de 2 à 6 pares de base repetidas, chamados de *tandem*. Os SSR são desenvolvidos para amplificação através da técnica de reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* – PCR), utilizando primers que contêm, em média, vinte pares de base, normalmente são utilizados para criação de mapas genéticos por apresentarem codominância, alto polimorfismo e serem multialélicos. Os microssatélites também podem ser aplicados para a seleção assistida de retrocruzamentos, sendo na maioria das vezes empregados no estudo da variabilidade genética de populações naturais (Borém & Miranda, 2009).

Entretanto, o uso de SSR é limitado, uma vez que para o gênero *Passiflora* são apenas disponíveis marcadores para as espécies *P. pohlii* (Pádua, 2004), *P. alata* (Pádua et al., 2005), *P. edulis* (Oliveira, 2006), e *P. contracta* Vitta (Cazé et al., 2012),

limitando progressos em estudos, pois o desenvolvimento de novos marcadores microssatélites para espécies silvestres requer onerosos custos de produção e uma longa duração no desenvolvimento (Gimenes et al., 2007).

A transferência de microssatélites entre espécies vem sendo estudada e realizada com sucesso no gênero *Passiflora* (Oliveira et al., 2013; Silva et al., 2014; Araya et al., 2017), contudo fazem-se necessários novos estudos, uma vez que existem inúmeras espécies que ainda não possuem marcadores microssatélites desenvolvidos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a transferibilidade de 21 loci microssatélites das espécies comerciais para quatro espécies silvestres de *Passiflora*.

2 Material e Métodos

Foram coletadas folhas de estágio intermediário de desenvolvimento de quatro indivíduos das espécies silvestres de *Passiflora*: *P. cincinnata*, *P. quadrangularis*, *P. mucronata* e *P. nitida*, oriundos da coleção de trabalho do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal da Universidade do Estado de Mato Grosso (Unemat) (ver Tabela 1), *campus* de Cáceres. A área experimental está localizada a 16°11'42" de latitude Sul e 57°40'51" de longitude Oeste, com temperatura média anual de 26,24°C, altitude de 118 m e precipitação total anual de 1.333 mm. O município faz parte da mesorregião do Centro-Sul matogrossense e da microrregião do Alto Pantanal, sendo 215 km distante da capital. O clima, segundo a classificação de Köppen, é tropical quente e úmido, com inverno seco (clima Awa) (Neves et al., 2011).

Tabela 1. Espécies de *Passiflora* analisadas, local de origem, e descrição do acesso

Table 1. Species of *Passiflora* analyzed, place of origin, and description of access

Espécies	Local	Descrição do acesso
<i>Passiflora cincinnata</i> Mast.	Mato Grosso	Unemat 103
<i>Passiflora quadrangularis</i>	Mato Grosso	Unemat 88
<i>Passiflora mucronata</i> Lam.	Minas Gerais	Unemat 66
<i>Passiflora nitida</i>	Minas Gerais	Unemat 67

Após a coleta, o material foi encaminhado ao Laboratório de Recursos Genéticos Vegetais da Unemat, *campus* de Cáceres, onde foi realizada a extração do DNA genômico, utilizando o kit de extração de DNA Wizard®. A análise da qualidade do DNA genômico foi realizada por eletroforese em gel de agarose a 1%. Após a quantificação, as amostras de DNA de boa qualidade foram diluídas em H₂O mili-Q para concentração de 3 ng µl⁻¹.

Para a realização da amplificação da reação da PCR foi utilizada a modificação da metodologia proposta por Pádua et al. (2005), com volume total de 13 µl, contendo 5,49 µl de H₂O mili-Q; 1,3 µl de Tampão 10X; 1,04 µl de dNTP (0,25 mM); 1,04 de Primer Forward (0,2 mM); 1,04 de Primer Reverse (0,2 mM); 0,12 µl de Taq DNA polimerase (5 U µl⁻¹); e 3 µl de DNA genômico (3 ng µl⁻¹). Após o preparo das soluções, as amostras foram acondicionadas em microtubos com capacidade de 200 µl e levadas ao termociclador (Aeris™-BG096). Foram utilizados para o estudo 21 marcadores de

loci microssatélites polimórficos (Tabela 2), sendo dezenove desenvolvidos para a espécie *P. edulis* descritos por Oliveira (2006), e dois desenvolvidos para a espécie *P. alata* descritos por Pádua et al. (2005).

Tabela 2. Marcadores SSR utilizados neste estudo: código do loco e sequência de primers

Table 2. SSR markers used in this study: locus code, and sequence of primers

Loci SSR	Sequência “forward”(5'-3')	Sequência “reverse”(5'-3')
PE01	caggatagcagcagcaatga	agccaaatgtcaaacgaac
PE02	ggacgacaatcaagtggagg	cccaaactatgcaacaccaa
PE04	atgcttttgaaatccgttt	tgctcatgcaaaagtcactgg
PE06	agcggggaggagagtagc	gcctgatgtcaaaaacacag
PE07	tgctcattgatggtgcttg	tgtctcttctctctctca
PE08	ccggataccacgcatta	tctaagagcggaggaaagc
PE11	gcataagtgtcggtcttg	cctcgaacctctatcatcca
PE13	aagcaccccaatcgttga	ccccctgccacctgagta
PE18	ccgtgaaccaaccattctc	ccgtgaaccaaccattctc
PE20	aggatcacatgaaaacat	gttaggtggcattgctctt
PE37	caaaaggataggcctgatgc	tgcttggtcatccactgaag
PE38	gatcggctcctcggttagac	agtcacacagcatgagaaatc
PE41	atcgggggtgcttatttg	cgttcaccttttagtgggcta
PE54	tggtgtgtggtgattag	cattctctgccacctgagt
PE58	gcaattcaccatctctgct	gcaattcaccatctctgct
PE66	ccatagtcaccaaacagcatc	gctgtggaccctaactcagtc
PE74	ccctctatcaatagcgttgg	gcacgagcagcagattattt
PE75	cacaatcgggtggaaagata	gtagtttggcagtttgc
PE90	tcaggaagattgatgtagt	ctgggtttgtttatgttgc
A07FP1	cacatttgcgctcactgg	cggcatacgataaatctctctg
A08FP1	cacatttgcgctcactgg	cggcatacgataaatctctctg

PE = *Passiflora edulis* (Oliveira, 2006); A = *Passiflora alata* (Pádua et al., 2005)

O programa de amplificação utilizado foi proposto por Oliveira (2006) com modificações, com um ciclo inicial de desnaturação de 94°C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos de anelamento de 94°C por 40 segundos, 58°C por 40 segundos e 72°C por 1 minuto, e uma extensão final de 72°C por 5 minutos. Para determinar a melhor temperatura de anelamento, foi realizado um teste de gradiente de temperatura, em que foi observado que a temperatura de 58°C obteve o maior número de amplificações. Para os primers que não foram observados amplificações na temperatura de 58°C, foram submetidos novamente em um programa de amplificação nas temperaturas de 60°C e de 62°C.

Após a realização da amplificação da PCR, os amplicons foram levados à eletroforese horizontal em gel de agarose a 3% corados com o buffer Nancy 520 (Sigma-Aldrich) (10 µl 50ml⁻¹), em um programa de 80 V por 5 horas, sendo aplicados em cada poço do gel 3 µl de azul de bromofenol mais 3 µl do produto da reação de PCR. Para mensurar os tamanhos dos fragmentos de DNA, foi utilizado Ladder de 50 pb (Sigma-

Aldrich). O tampão utilizado para o gel e para corrida foi o TBE (Tris/Borato/EDTA) em uma concentração de 10%. Após a realização da eletroforese, os géis foram levados ao fotodocumentador (Loccus Biotecnologia) e digitalizados, em seguida analisados pelo programa L-Pix Image (versão 2.7) (Loccus Biotecnologia) para avaliações posteriores.

A análise da transferibilidade foi realizada através da avaliação de presença ou ausência de banda, sendo aplicado para as quatro espécies o cálculo: Transferibilidade (%) = (Número de Loci transferíveis/Número de loci testados) x 100.

3 Resultados e Discussão

Dos 21 primers microssatélites utilizados, oito foram capazes de amplificar e reproduzir bandas visíveis de alta qualidade (PE01, PE07, PE08, PE11, PE13, PE41, PE54 e A07FP1) nas quatro espécies silvestres de maracujazeiro estudadas, sem apresentar produtos secundários. Os outros treze marcadores utilizados (PE02, PE04, PE06, PE18, PE20, PE37, PE38, PE58, PE66, PE74, PE75, PE90 e A08FP1) não foram capazes de amplificar ou de reproduzir bandas visíveis, mesmo quando submetidos a temperaturas mais elevadas na fase de anelamento, durante a amplificação em PCR. A Tabela 3 mostra as sequências dos primers utilizados, juntamente com os resultados obtidos das amplificações.

Tabela 3. Resultados de amplificação cruzada nos 21 loci analisados para as quatro espécies de *Passiflora* silvestres em gel de agarose a 3%

Table 3. Cross-amplification results reported in the 21 loci analysed for the four wild *Passiflora* species on 3% agarose gel

Primers	<i>P. cincinnata</i>	<i>P. quadrangularis</i>	<i>P. mucronata</i>	<i>P. nitida</i>
PE01	-	-	+	-
PE02	-	-	-	-
PE04	-	-	-	-
PE06	-	-	-	-
PE07	+	+	-	-
PE08	+	-	-	-
PE11	+	-	-	-
PE13	+	+	+	+
PE18	-	-	-	-
PE20	-	-	-	-
PE37	-	-	-	-
PE38	-	-	-	-
PE41	+	+	+	-
PE54	+	+	+	+
PE58	-	-	-	-
PE66	-	-	-	-
PE74	-	-	-	-
PE75	-	-	-	-
PE90	-	-	-	-
A07FP1	+	+	-	+
A08FP1	-	-	-	-
T (%)	33,33	23,81	19,05	14,28

T (%) = taxa de transferibilidade; (-) = ausência de amplificação; (+) = amplificação observada.

Os primers utilizados apresentaram uma taxa variável de transferibilidade, o maior percentual foi para a espécie *P. cincinnata* (33,33%), seguido por *P. quadrangularis* (23,81%), *P.*

mucronata (19,05%) e, por fim, *P. nitida*, apresentando a menor taxa de transferibilidade (14,28%). Esta baixa porcentagem pode estar relacionada à diferença molecular entre as espécies estudadas e as espécies específicas destinadas para cada primer.

Apenas dois primers apresentaram amplificação para todas as espécies estudadas (PE13 e PE54), com presença de bandas polimórficas com heterozigose para algumas espécies, com fragmentos variando de 100 a 200 pb. Outros dois primers foram capazes de amplificar três das quatro espécies, sendo que no primer PE41 foi possível realizar a transferibilidade para as espécies *P. cincinnata*, *P. quadrangularis* e *P. mucronata*, esse primer mostrou bandas heterozigóticas e fragmentos variando

de 200 a 250 pb. Já o primer A07FP1 foi transferível para as espécies *P. cincinnata*, *P. quadrangularis* e *P. nitida*, com um fragmento de 250 pb. O primer PE07 foi capaz de amplificar apenas duas das quatro espécies, sendo elas *P. cincinnata* e *P. quadrangularis* com um fragmento de 150 pb. E, por fim, os primers capazes de amplificar apenas uma das quatro espécies foram: PE01, capaz de amplificar para a espécie *P. mucronata*, com altura de fragmento de 200 pb; e os primers PE08 e PE11 capaz de realizar a amplificação cruzada na espécie *P. cincinnata*, com fragmentos de 250 pb. A Figura 1 mostra o resultado das amplificações dos oito primers transferíveis para as espécies silvestres de Passifloraceae.

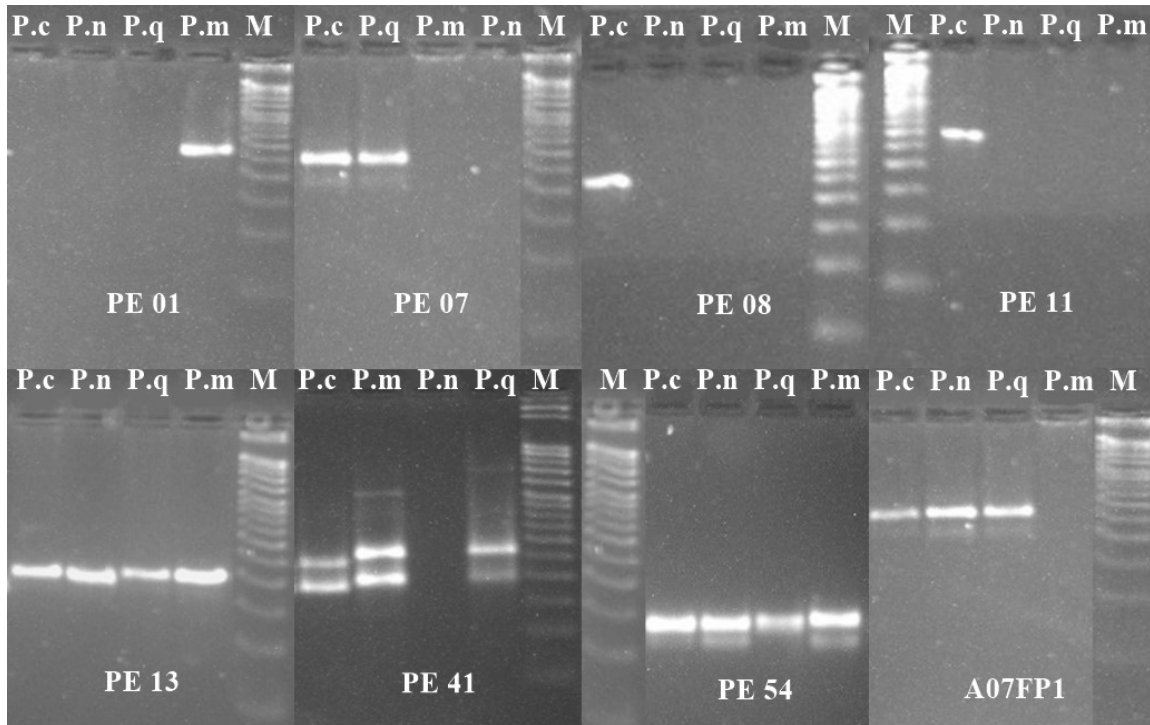


Figura 1. Amplificação de sete loci microsatélites desenvolvidos para *P. edulis* (PE01, PE07, PE08, PE11, PE13, PE41, PE54) e um para *P. alata* (A07FP1), em quatro espécies silvestres de *Passiflora*. (P.c = *P. cincinnata*; P.q = *P. quadrangularis*; P.m = *P. mucronata*; P.n = *P. nitida*; M = Marcador de 50 pb)

Figure 1. Amplification of seven microsatellite loci developed for *P. edulis* (PE01, PE07, PE08, PE11, PE13, PE41, PE54) and one for *P. alata* (A07FP1) in four wild *Passiflora* species. (P.c = *P. cincinnata*; P.q = *P. quadrangularis*; P.m = *P. mucronata*; P.n = *P. nitida*; M = 50 bp marker)

A taxa de transferibilidade variou de 14,28 a 33,33%, estudos anteriores relataram essa variação na taxa de transferibilidade de primers SSR em Passifloraceae (Oliveira et al., 2013; Paiva et al., 2014b; Pereira et al., 2015; Araya et al., 2017).

Análises de transferibilidade de primers SSR projetados para espécies comerciais vem sendo estudadas em espécies silvestres de maracujazeiro, Paiva et al. (2014b) testou a amplificação cruzada em dez espécies de *Passiflora*, incluindo comerciais e silvestres, obtendo uma taxa de transferência mais alta do que neste estudo, entretanto variável (12,5 a 100%), esta alta porcentagem pode estar relacionada com a presença da espécie *P. edulis* entre as espécies analisadas, e, assim como no presente trabalho, o primer PE13 foi altamente transferível para todas as espécies. Há também outros estudos que abordam a taxa de transferibilidade de pares de primers SSR desenvolvidos para *P. edulis* e *P. alata* (Oliveira et al., 2013; Silva et al., 2014) em espécies silvestres de *Passiflora* (*P. cacao*, *P. caerulea*, *P.*

cincinnata, *P. foetida*, *P. gibertii*, *P. glandulosa*, *P. ligularis*, *P. maliformis*, *P. mucronata*, *P. rubra*, *P. setacea* e *P. suberosa*), com resultados que variaram (0 à 100%), destacando o primer PE13 se mostrando altamente transferível para as espécies silvestres.

Alguns autores identificam que o sucesso da amplificação cruzada em espécies do mesmo táxon está relacionada com a preservação das sequências do DNA nas regiões limítrofes dos microsatélites (Pereira et al., 2015), desta forma pode-se inferir que esta preservação está relacionada com a relação evolutiva entre as espécies, para qual o marcador molecular é projetado e com a espécie silvestre na qual será aplicado o marcador. Os pares de primers testados neste estudo foram capazes de acessar regiões no DNA das espécies silvestres, assim permite-se concluir que essas espécies possuem áreas preservadas no seu genoma semelhantes ao de *P. edulis* e *P. alata*.

Quanto aos treze pares de primers que não foram capazes de amplificar em nenhuma das quatro espécies silvestres estudadas,

podem estar relacionados com a falta de conservação nos sítios de anelamento, ocasionando o impedimento da amplificação dos loci microssatélites, tornando-os nulos (Silva et al., 2014).

A transferibilidade de marcadores SSR também tem sido investigada e realizada com sucesso em outras espécies, tais como de Coco (*Cocos nucifera*) para Butiá (*Butia odorata*), Pupunha (*Bactris gasipaes*) e Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) para Tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.), e Morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) para Morango Chileno (*Fragaria chiloensis* L.), mostrando que a transferência pode estar relacionada com a distância filogenética das espécies, e, quanto mais próximas geneticamente ou do mesmo gênero, maiores os valores de transferibilidade (Mistura et al., 2012; Fortes et al., 2016; Oñate et al., 2018).

Estudos como este que avaliam a transferibilidade de primers microssatélites em Passifloraceae tornam-se extremamente úteis, pois são ferramentas que antecedem estudos na área da genética vegetal, possibilitando medir os efeitos evolutivos e de seleção natural das espécies, e realizar análises filogenéticas, construções de mapas gênicos, análise de diversidade genética, e estudos de preservação da população durante programas de melhoramento genético (Gonçalves-Vidigal & Rubiano, 2011; Pereira et al., 2015). Além de serem capazes de acompanhar relações intra e interespecíes (Araya et al., 2017), e serem utilizados na confirmação de paternidade de híbridos (Belo et al., 2018), otimizando assim os estudos de caracterização molecular das espécies silvestres de maracujazeiro, uma vez que através da análise de transferibilidade é possível otimizar os custos onerosos e longos períodos de desenvolvimento de novos marcadores SSR.

4 Conclusão

Os loci microssatélites projetados para *P. edulis* e *P. alata*, PE01, PE07, PE08, PE11, PE13, PE41, PE54 e A07FP1, mostraram-se transferíveis para ao menos uma das espécies *P. cincinnata*, *P. quadrangularis*, *P. mucronata* e *P. nitida*.

Os marcadores PE13 e PE54 podem ser indicados para estudos de caracterização molecular por serem os únicos capazes de amplificar todas as espécies de maracujá silvestre estudadas.

Referências

- ARAYA, S. ; MARTINS, A. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COSTA, A. M.; FALEIRO, F. G.; FERREIRA, M. E. Microsatellite marker development by partial sequencing of the sour passion fruit genome (*Passiflora edulis* Sims). *BMC Genomics*, Londres, v. 18, n. 1, p. 549, 2017. doi: 10.1186/s12864-017-3881-5
- BELO, G. O.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; LAVINSKY, M. P. Hybrids of *Passiflora*: *P. gardneri* versus *P. gibertii*, confirmation of paternity, morphological and cytogenetic characterization. *Euphytica*, Dordrecht, v. 214, n. 2, 2018. doi: 10.1007/s10681-017-2021-2
- BERNACCI, L. C.; CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; NUNES, T. S.; IMIG, D. C.; MEZZONATO, A. C. Passifloraceae. In: *Lista de espécies da flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12506>. Acesso em: 12/02/2019.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. *Melhoramento de plantas*. 5. ed. Viçosa: UFV, 2009. 529p.

BRASIL. IBGE. *Banco de dados agregados: produção agrícola municipal*, 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457>. Acesso em: 28/09/2018.

CAZÉ, A. L. R.; KRIEDT, R. A.; BEHEREGARAY, L. B.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Passiflora contracta*. *International Journal of Molecular Sciences*, Basileia, v. 13, n. 9, p. 11343-11348, 2012. doi: 10.3390/ijms130911343

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. *Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde*. Brasília, DF: Embrapa. 2016. 341p.

FORTES, A. C.; OLIVEIRA, M. D. S. P.; OLIVEIRA, N. P.; SANCHES, E. D. N. M.; CUNHA, E. F. M. Transferibilidade de locos microssatélites desenvolvidos em outras espécies de palmeiras para *Astrocaryum vulgare* Mart. *Revista de Ciências Agrárias*, Belém, PA, v. 59, n. 1, p. 80-86, 2016. doi: 10.4322/rca.1844

GIMENES M. A.; HOSHINO A. A.; BARBOSA A. V. G.; PALMIERI D. A.; LOPES C. R. Characterization and transferability of microsatellite markers of the cultivated peanut (*Arachis hypogaea*). *BMC Plant Biology*, Londres, v. 7, n. 9, 2007. doi: 10.1186/1471-2229-7-9

GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; RUBIANO, L. B. Development and application of microsatellites in plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Londrina, v. 11, n. SPE, p. 66-72, 2011. doi: 10.1590/S1984-70332011000500010

MELETTI, L. M. M.; BRÜCKNER, C. H. Melhoramento Genético. In: BRÜCKNER, C.H.; PIKANÇO, M.C. *Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001. p. 345-385.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 55-78.

MISTURA, C. C.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; PRIORI, D.; VILLELA, J. C. B. Transferibilidade de marcadores microssatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*). *Magistra*, Cruz das Almas, v. 24, n. 4, p. 360-369, 2012.

NEVES, S. M. A. S.; NUNES, M. C. M.; NEVES, R. J. Caracterização das condições climáticas de Cáceres/MT-Brasil, no período de 1971 a 2009: subsídio às atividades agropecuárias e turísticas municipais. *Boletim Goiano de Geografia*, Goiânia, v.31, n. 2, p. 55-68, 2011. doi: 10.5216/bgg.v31i2.16845

OLIVEIRA, E. J. *Desenvolvimento e uso de marcadores microssatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)*. 152 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006. doi: 10.11606/T.11.2006.tde-10012007-153537

OLIVEIRA, G. A. F.; PÁDUA, J. G.; COSTA, J. L.; JESUS, O. N.; CARVALHO, F. M.; OLIVEIRA, E. J. Cross-species amplification of microsatellite loci developed for *Passiflora edulis* Sims. in related *Passiflora* species. *Brazilian Archives of Biology and technology*, Curitiba, v. 56, n. 5, p. 785-792, 2013. doi: 10.1590/S1516-89132013000500009

OÑATE, F. A.; HASBÚN, R.; MORA, F.; FIGUEROA, C. R. Linkage disequilibrium and population structure in *Fragaria chiloensis* revealed by SSR markers transferred from commercial

strawberry. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 40, 2018. doi: 10.4025/actasciagron.v40i1.34966

PÁDUA J.G. *Análises genéticas de espécies do gênero Passiflora L. com base em abordagens filogenéticas, morfométricas e em marcadores microssatélites*. 96 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004. doi: 10.11606/T.11.2004.tde-04102007-111355

PÁDUA, J. G.; OLIVEIRA, E. J.; ZUCCHI, M. I.; OLIVEIRA, G. C. X.; CAMARGO, L. E. A.; VIEIRA, M. L. C. Isolation and characterization of microsatellite markers from the sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis: Passifloraceae). *Molecular Ecology Notes*, Oxford, v. 5, p. 863-865, 2005. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01090.x

PAIVA, C. L.; VIANA, A.P.; SANTOS, E. A.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J.; Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia WARD-MLM. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 5, n. 4, p. 863-865, 2014a. doi: 10.1590/0100-2945-156/13

PAIVA, C. L.; VIANA, A. P.; SANTOS, E. A.; FREITAS, C. O. F.; SILVA, R. N. O.; OLIVEIRA, E. J. Genetic variability assessment in the genus *Passiflora* by SSR markers. *Chilean Journal of Agricultural*

Research, Chillán, v. 74, n. 3, p. 355-360, 2014b. doi: 10.4067/S0718-58392014000300015

PEREIRA, D. A.; GAIOTTO, F. A.; CORRÊA, R. X.; OLIVEIRA, A. C. Heterologous primer transferability and access to microsatellite loci polymorphism in “somnus” passion fruit tree (*Passiflora setacea* DC). *Revista Biotemas*, Florianópolis, v. 28, n. 3, p. 51-56, 2015. doi: 10.5007/2175-7925.2015v28n3p51

PEREIRA, M. G.; PEREIRA, T. N. S.; VIANA, A. P. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético do maracujazeiro. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 277-292.

PREISIGKE, S. C.; SILVA, L. P.; SERAFIM, M. E.; BRUCKNER, C. H.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Seleção precoce de espécies de *Passiflora* resistente a fusariose. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v. 43, n. 4, p. 321-325, 2017. doi: 10.1590/0100-5405/175390

SILVA, M. A. A.; SOUZA, M. M.; SILVA, G. S.; MELO, C. A. F.; CORRÊA, R. X.; ARAÚJO, I. S.; CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S. Analysis of transferability of microsatellite primers (SSR) in wild *Passiflora* species and intraspecific genetic diversity in *Passiflora alata*. *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 13, n. 3, p. 5908-5918, 2014. doi: 10.4238/2014.August.7.6

Contribuição dos Autores: Os autores Lucas Pereira da Silva e Thalita Neves Marostega participaram da elaboração do projeto e coleta dos dados; os autores Thiago Alexandre Santana Gilio e Milson Evaldo Serafim auxiliaram na análise dos dados e redação do artigo; as etapas de revisão da redação do projeto e do artigo foram orientadas pelos autores Kelly Lana Araújo e Leonarda Grillo Neves.

Agradecimentos: Universidade do Estado de Mato Grosso (Unemat) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio e concessão de bolsa de pesquisa.

Fontes de Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (Fapemat).

Conflito de Interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesse.