

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

IDENTIFICAÇÃO DE MICROSSATÉLITES PARA O MAMOEIRO POR MEIO DA EXPLORAÇÃO DO BANCO DE DADOS DE DNA¹

EDER JORGE DE OLIVEIRA², JORGE LUIZ LOYOLA DANTAS³,
MILENE DA SILVA CASTELLEN⁴, MARLOS DOURADO MACHADO⁵

RESUMO-Os marcadores microssatélites são ferramentas úteis em diversas análises genéticas em plantas. No caso do mamoeiro (*Carica papaya* L.), poucos locos de microssatélites foram descritos até o momento. Assim, o objetivo deste trabalho foi explorar a base de dados do GenBank / NCBI (*National Center of Biotechnology Information*) à procura de microssatélites de mamoeiro, visando a seu futuro uso em estudos genéticos e moleculares aplicados ao melhoramento genético. As seqüências foram obtidas no GenBank / NCBI, no formato FASTA, e analisadas para a presença de microssatélites com um mínimo de 20; 7 e 5 repetições dos motivos de mono-, di- e trinucleotídeos, respectivamente, e acima de 4 repetições para tetra- e pentanucleotídeos. Seqüências com mais de 90% de similaridade foram consideradas redundantes e, portanto, eliminadas das análises. Foram analisadas 44.591 seqüências, das quais 3.180 foram não-redundantes e apresentaram 3.947 microssatélites. Desse total, 3.587 foram classificados como microssatélites perfeitos, 8 imperfeitos, 65 interrompidos, 239 compostos-perfeitos, 8 compostos-imperfeitos e 40 compostos-interrompidos. As repetições de di- e trinucleotídeos representaram 65,7 e 14,4% do total de seqüências analisadas, respectivamente. Somente os motivos do tipo AT/TA representaram 44,1% dos microssatélites encontrados. Os motivos mais comuns de tri-, tetra- e pentanucleotídeos foram AAT, AATT e TTTAA, respectivamente. Observou-se que, nas seqüências disponíveis, o genoma do mamoeiro apresenta, em média, um microssatélite a cada 5,65 kb.

Termos para indexação: marcador molecular, *Carica papaya* L., SSR, GenBank

IDENTIFICATION OF MICROSATELLITES FOR PAPAYA BY DNA DATA BANK EXPLORATION

ABSTRACT- Microsatellites markers are a useful tool in much plant genetic analysis. Currently, few microsatellites loci have been reported in *Carica papaya* L.. Therefore, the objective of this study was accomplishing a search for microsatellites in the public available – GenBank / NCBI (National Center of Biotechnology Information), aiming the future use in molecular and genetic studies applied to genetic breeding. The sequences were collected from GenBank / NCBI in FASTA-formatted files and analyzed for the presence of microsatellites with a minimum of 20, 7 and 5 repetitions of mono-, di- and trinucleotides, respectively, and above of 4 repetitions for tetra- and pentanucleotides. The sequences with over 90% of similarity, were considered redundant and, therefore, eliminated of the analyses. A total of 44,591 sequences had been analyzed, of which 3,180 were not redundant, showing 3,947 microsatellites. Out of those, 3,587 were classified as perfect, 8 imperfects, 65 interrupted, 239 perfect-compounds, 8 imperfect-compounds and 40 interrupted-compounds. The dinucleotides and trinucleotides repetitions represented 65.7 and 14.4% of the whole analyzed sequences, respectively. Only the AT/TA motif represented 44.1% of the microsatellites sequences. The most common motifs of tri-, tetra- and pentanucleotides were AAT, AATT and TTTAA, respectively. In the available sequences it can be observed that the papaya genome has an average one microsatellite for every 5,65 kb.

Index Terms: molecular marker, *Carica papaya* L., SSR, GenBank.

¹(Trabalho 263-07).Recebido em: 08-11-2007. Aceito para publicação em: 07-07-2008.

²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua da Embrapa, s/n, Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas (BA). Endereço eletrônico: eder@cnpmf.embrapa.br

³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua da Embrapa, s/n, Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas (BA). Endereço eletrônico: loyola@cnpmf.embrapa.br

⁴Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua da Embrapa, s/n, Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas (BA). Endereço eletrônico: milene@cnpmf.embrapa.br

⁵Estudante de graduação da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Campus Universitário, 44380-000 Cruz das Almas (BA). Endereço eletrônico: marlosdourado@yahoo.com.br

Os genomas eucariotos possuem muitas seqüências simples repetidas, as quais consistem de 1 a 6 nucleotídeos repetidos *em tandem* (Litt & Luty, 1989). Essas regiões são denominadas de microsatélites, SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou STR (*Short Tandem Repeats*). As seqüências de DNA que flanqueiam os microsatélites, são geralmente conservadas dentro de uma mesma espécie, permitindo o desenho de *primers* para ampliações específicas desses locos, via reação em cadeia da polimerase (Oliveira et al., 2006). Essas ampliações tendem a mostrar extensivo polimorfismo, que é conseqüência da ocorrência de diferentes números de unidades repetidas dentro da estrutura do microsatélite (Morgante & Olivieri, 1993). Além da capacidade de gerar altos níveis de polimorfismo, os microsatélites ainda possuem, como vantagens, a alta reprodutibilidade, a simplicidade e a rapidez da técnica, pequena quantidade de DNA requerida, baixo custo de utilização e o grande poder de resolução (Oliveira et al., 2006).

A grande limitação da tecnologia está no seu desenvolvimento, pois envolve um processo demorado, trabalhoso e com alto custo, devido à necessidade de construção de bibliotecas genômicas e *screening* de milhares de clones com sondas apropriadas (Kölliker et al., 2001). Recentemente, a hibridização seletiva com sondas repetitivas tem proporcionado melhores resultados no isolamento de microsatélites (Zane et al., 2002; Oliveira et al., 2005).

Apesar do avanço das pesquisas nas áreas de biologia molecular e genômica, existem poucos relatos sobre o desenvolvimento de microsatélites para o mamoeiro (*Carica papaya* L.). Santos et al. (2003) obtiveram 32 locos de microsatélites com o uso de bibliotecas genômicas enriquecidas. Contudo, esses microsatélites não apresentaram polimorfismo nos acessos de mamoeiro analisados. Baseado nesta mesma metodologia, Pérez et al. (2006) desenvolveram 45 microsatélites, dos quais 24 se mostraram polimórficos em acessos de *C. papaya*. Apesar disso, o número de seqüências disponíveis é insuficiente para permitir maiores avanços na conservação, uso e valoração dos recursos genéticos e, sobretudo, no melhoramento do mamoeiro, com vistas ao mapeamento genético, identificação de genes de interesse e no processo de seleção assistida.

Nos últimos anos, os projetos genoma e o surgimento de novas metodologias de seqüenciamento propiciaram a redução dos custos e o aumento expressivo do número de seqüências depositadas nos bancos de dados de DNA (GenBank / NCBI), gerando oportunidades para a identificação de microsatélites, pela estratégia de exploração desse banco (Zane et al., 2002). Assim, o objetivo do presente trabalho foi a identificação e a caracterização de microsatélites, para a cultura do mamoeiro, por meio desse *screening* no GenBank.

As seqüências de DNA da espécie *Carica papaya* L., utilizadas neste estudo, foram obtidas no GenBank / NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), em março de 2007. As seqüências foram analisadas para a presença de microsatélites no formato FASTA. Após a obtenção das seqüências de nucleotídeos, foram feitas buscas por repetições de mono-, di-, tri-, tetra- e pentanucleotídeos, utilizando o programa *Tandem Repeats Finder* - TRF (Benson,

1999). Os critérios utilizados para a detecção dos microsatélites foram um mínimo de 20; 7 e 5 repetições para motivos de mono-, di- e trinucleotídeos, e acima de 4 repetições para tetra- e pentanucleotídeos, respectivamente. Ao final desse processo, utilizou-se o programa *Staden Package* (<http://staden.sourceforge.net>) para verificar a existência de redundância entre as seqüências contendo os microsatélites. Seqüências com similaridade acima de 90% foram consideradas redundantes e eliminadas das análises.

Os microsatélites foram ainda classificados, de acordo com Weber (1990), com algumas modificações, em perfeitos, imperfeitos, interrompidos, composto-perfeito, composto-imperfeito e composto-interrompido.

Foram encontradas 44.591 seqüências de DNA, referentes à busca por "*Carica papaya*". Desse total, 45 seqüências já estavam descritas para a presença de microsatélites, de acordo com o trabalho de Pérez et al. (2006). Foram identificadas 3.760 seqüências contendo microsatélites, das quais 580 foram consideradas redundantes e retiradas das análises. Do total de 3.180 seqüências não-redundantes, observou-se a presença de 3.947 microsatélites, perfazendo um microsatélite a cada 5,65 kb.

Foram encontrados 3.587 microsatélites perfeitos, 8 imperfeitos, 65 interrompidos, 239 compostos-perfeitos, 8 compostos-imperfeitos, e 40 compostos-interrompidos. Dentro da classe de microsatélites perfeitos, existem 130; 2.298; 659; 385 e 115 seqüências de mono-, di-, tri-, tetra- e pentanucleotídeos, respectivamente. Na classe de microsatélites imperfeitos, todas as repetições são de dinucleotídeos. No caso dos microsatélites interrompidos, existem 55 e 10 seqüências de di- e trinucleotídeos, respectivamente.

Para a classe de microsatélites compostos-perfeitos, foram encontradas 205; 11; 2; 6; 1; 11 e 3 seqüências de di-, tri-, tetra-, di- + tetranucleotídeos, mono- + trinucleotídeos, tetra- + dinucleotídeos e tri- + dinucleotídeos, respectivamente. Dentro dos compostos-imperfeitos foram encontradas 4; 1; 1; 1 e 1 seqüências de di-, tri-, di- + tetranucleotídeos, mono- + trinucleotídeos e tri- + dinucleotídeos, respectivamente. Já para os compostos-interrompidos, foram observadas 23; 6; 1; 3; 1; 1; 1 e 3 seqüências de di-, tri-, penta-, di- + tetranucleotídeos, di- + trinucleotídeos, penta- + trinucleotídeos, tetra- + dinucleotídeos, tetra- + trinucleotídeos e tri- + dinucleotídeos, respectivamente. Na Figura 1, é apresentada a distribuição das classes de repetições encontradas para os microsatélites.

Do total de microsatélites, 3,29% são mononucleotídeos, 65,7% são repetições de dinucleotídeos, 17,41% de trinucleotídeos, 9,8% de tetranucleotídeos, 2,94% de pentanucleotídeos e 0,86% de outras classes (microsatélites compostos por diferentes tipos de repetições, por exemplo: (AT)_n(AGA)_n, que possui di- e trinucleotídeos no mesmo motivo) (Figura 1). Os motivos de mononucleotídeos mais freqüentes foram (A)_n e (T)_n com 45,4 e 50,8%, respectivamente. No caso dos dinucleotídicos, os motivos mais freqüentes foram (AT)_n e (TA)_n, que representam 40,3 e 26,8%, respectivamente, dentre todos os dinucleotídicos identificados. Os motivos mais freqüentemente observados na classe de trinucleotídicos foram

(AAT)n, (TTA)n e (ATT)n, correspondendo a 14,3; 11,35 e 8,0% de todos os trinucleotídicos. Na classe de tetranucleotídeos, os motivos (AATT)n, (TTTA)n, (AAAT)n e (TTAA)n representam 25,6; 8,3; 7,5 e 7,0%, respectivamente, desse tipo de repetição. Enquanto para os pentanucleotídeos, os motivos (TTTAA)n, (TTTTA)n, (TAAAA)n e (ATTTA)n, correspondem a 12,9; 8,6; 6,9 e 6,0%, respectivamente, desse tipo de seqüência.

Em geral, todos os tamanhos de motivos apresentaram um mesmo padrão com relação ao número total de regiões microssatélites identificadas e ao número de repetições, mostrando que locos microssatélites com maior número de repetições são mais raros. O tamanho dos microssatélites foi, aqui definido, em função do número de repetições não-interrompidas. Assim, as seqüências de mononucleotídeos apresentaram, em média, $23,1 \pm 3,4$ (desvio-padrão) repetições, as de di- $10,6 \pm 4,0$; as de tri- $6,3 \pm 2,0$; as de tetra- $4,4 \pm 0,9$; as de penta- $4,3 \pm 0,6$ e as outras classes apresentaram, em média, $15,2 \pm 5,4$ repetições. O maior número de repetições foi encontrada para o dinucleotídeo interrompido do tipo (AG)_{30aa}(AG)₁₃.

De acordo com Zane et al. (2002), o desenvolvimento de microssatélites pela estratégia de exploração de dados no GenBank pode reduzir o tempo e os custos de sua obtenção, tendo em vista que a criação de grandes programas de seqüenciamento do genoma (como um todo ou de suas partes) oferece um grande número de seqüências disponíveis para tal finalidade. No caso do mamoeiro, foram identificados 3.180 seqüências contendo 3.947 microssatélites, das quais é possível desenhar pares de *primers* para 2.814 microssatélites distribuídos em 2.408 seqüências.

Com relação à eficiência em termos de seqüências analisadas vs. microssatélites obtidos, o presente trabalho obteve 8,8% de eficiência, que pode ser considerada alta, mediante observações de outros autores, como Kantety et al. (2002), que analisaram cerca de 260.000 seqüências de ESTs de cinco diferentes espécies de cereais, e encontraram freqüências que variaram de 1,5% a 4,7% em milho e arroz, respectivamente. No

caso específico do mamoeiro, Santos et al. (2003) utilizaram a abordagem convencional que envolve a construção de bibliotecas genômicas enriquecidas com sondas do tipo (TCA)₁₀, e obtiveram uma eficiência de enriquecimento de apenas 2,1%.

De acordo com os resultados obtidos, os dinucleotídeos representam 65,7% dos microssatélites no mamoeiro. As repetições de dinucleotídeos mais encontradas no genoma de plantas são AT/TA, AG/TC, seguidas de AC/GT; e as de trinucleotídeos são TAT e TCT (Morgante & Olivieri, 1993). No caso dos dinucleotídeos, os dados obtidos no presente trabalho corroboram as observações desses autores, uma vez que os motivos AT/TA e GA/TC + AG/CT foram os mais freqüentes. Já para os trinucleotídeos, as repetições AAT e TTA foram as mais freqüentes, representando 14,3 e 11,4% do total de seqüências disponíveis nessa classe, enquanto as repetições do tipo TAT e TCT representam apenas 4,8 e 4,4%.

Independentemente da classificação, os resultados obtidos demonstram que a distribuição dos microssatélites no genoma do mamoeiro é de 1 loco a cada 5,65 kb. Esses dados estão próximos daqueles observados para outras espécies, como, por exemplo, um loco a cada 3,4 kb em arroz, 8,1 kb em milho, 7,4 kb em soja, 11,1 kb em tomate e 20 kb em algodão (Cardle et al., 2000).

O desenvolvimento de ferramentas moleculares baseadas em marcadores microssatélites poderá contribuir sobremaneira para elucidar o controle genético de algumas características quantitativas complexas, além de permitir a construção de mapas genéticos, a identificação de regiões cromossômicas associadas a QTLs (*Quantitative Trait Loci*), bem como seus efeitos sobre o caráter em estudo. Dessa forma, o uso de marcadores microssatélites, associados aos métodos tradicionais de melhoramento permitirão o estabelecimento da seleção assistida por marcadores (SAM) para melhorar a dinâmica e a eficiência dos programas de melhoramento, de forma a superar as limitações da seleção fenotípica supracitada.

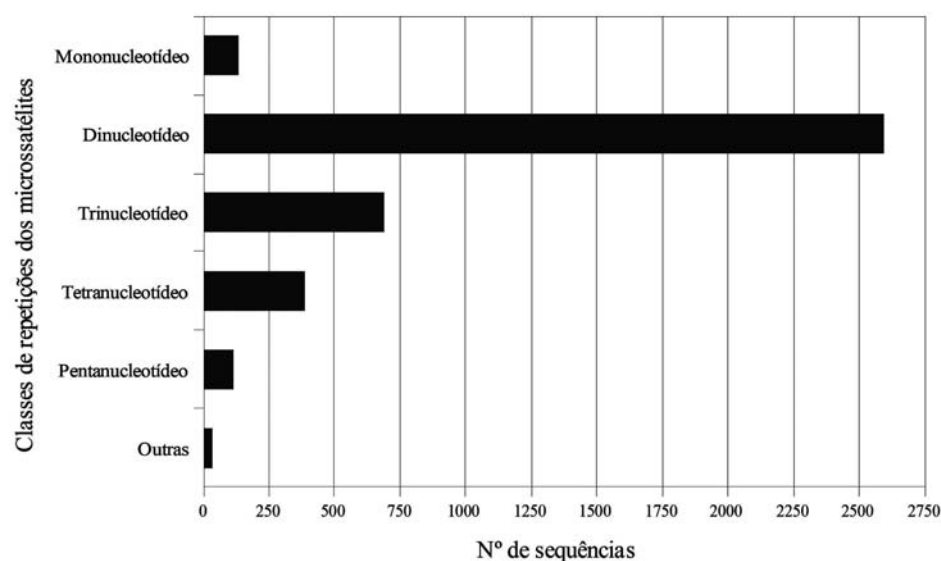


FIGURA 1 - Distribuição das classes de microssatélites encontradas para o mamoeiro no GenBank.

REFERÊNCIAS

- ASHKENAZI, V.; CHANI, E.; LAVI, U.; LEVY, D. HILLEL, J.; VEILLEUX, E. Development of microsatellite markers in potato and their use in phylogenetic and fingerprinting analyses. **Genome**, Ottawa, v.44, n.1, p.50-62, 2001.
- BENSON, G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. **Nucleic Acids Research**, London, v.27, n.2, p.573-580, 1999.
- BENSON, G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. **Nucleic Acids Research**, London, v.27, n.2, p.573-580, 1999.
- BRONDANI, R. P. V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. 1998. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.97, n.5-6, p.816-827.
- CARDLE, L.; RAMSAY, L.; MILBOURNE, D.; MACAULAY, M.; MARSHALL, D.; WAUGH, R. Computational and experimental characterization of physically clustered simple sequence repeats in plants. **Genetics**, Baltimore, v.156, n.2, p. 847-857, 2000.
- GUPTA, P.K.; RUSTGI, S.; SHARMA, S.; SINGH, R.; KUMAR, N.; BALYAN, H.S. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 270, n.4, p. 315-323, 2003.
- HAMWIEH, A.; UDUPA, S.M.; CHOUMANE, W.; SARKER, A.; DREYER, F.; JUNG, C.; BAUM, M. A genetic linkage map of *Lens* sp. based on microsatellite and AFLP markers and the localization of fusarium vascular wilt resistance. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.110, n.4, p.669-677, 2005.
- KANTETY, R.V.; LA ROTA, M.; MATTHEWS, D.E.; SORRELL, M.E. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 48, n.5-6, p. 501-510, 2002.
- KIJAS, J.M.; FOWLER, J.C.; GARBETT, C.A.; THOMAS, M.R. Enrichment of microsatellites from the citrus genome using biotinylated oligonucleotide sequences bound to streptavidin-coated magnetic particles. **Biotechniques**, London, v.16, n.4, p.656-662, 1994.
- KÖLLIKER, R.; JONES, E.S.; DRAYTON, M.C.; DUPAL, M.P.; FOSTER, J.W. Development and characterisation of simple sequence repeat (SSR) markers for white clover (*Trifolium repens* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.102, n.2-3, p.416-424, 2001.
- LITT, M.; LUTY, L.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v.44, n.3, p.398-401, 1989.
- MAHALAKSHMI, V.; APARNA, P.; RAMADEVI, S.; ORTIZ, R. 2002. Genomic sequence derived simple sequence repeats markers: a case study with *Medicago* spp. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, v.5, n.3, p.233-242.
- MASON, S.L.; STEVENS, M.R.; JELLEN, E.N.; BONIFACIO, A.; FAIRBANKS, D.J.; COLEMAN, C.E.; MCCARTY, R.R.; RASMUSSEN, A.G.; MAUGHAN, P.J. Development and use of microsatellite markers for germplasm characterization in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Crop Science**, Madison, v. 45, n.4, p.1618-1630, 2005.
- McCOUCH, R.; TEYTELMAN, L.; XU, Y.; LOBOS, K.B.; CLARE, K.; WALTON, M.; FU, B.; MAGHIRANG, R.; LI, Z.; XING, Y.; ZHANG, Q.; KONO, I.; YANO, M.; FJELLSTROM, R.; DECLERCK, G.; SCHNEIDER, D.; CARTINHO, S.; WARE, D.; STEIN, L. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). **DNA Research**, Oxford, v.9, n.6, p.199-207, 2002.
- MORGANTE, M.; OLIVIERI, A. M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**, Gainesville, v.3, n.1, p.175-182, 1993.
- OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.29, n.2, p.294-307, 2006.
- OLIVEIRA, E.J. **Desenvolvimento e uso de marcadores microsatélites para construção e integração de mapas genéticos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.)**. 2006. 152 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2006.
- OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; CAMARGO, L.E.A.; FUNGARO, M.H.P.; VIEIRA, M.L.C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.5, n.2, p.331-333, 2005.
- PÉREZ, J. O.; DAMBIER, D.; OLLITRAULT, P.; D'EECKENBRUGGE, G. C.; BROTTIER, P.; FROELICHER, Y.; RISTERUCCI, A. M. 2006. Microsatellite markers in *Carica papaya* L.: isolation, characterization and transferability to *Vasconcellea* Species. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.6, n.1, p.212-217.
- PRIOLLI, R.H.G.; MENDES-JUNIOR, C.T.; ARANTES, N.E.; CONTEL, E.P.B. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.25, n.2, p.185-193, 2002.

- RASSMANN, K.; SCHLÖTTERER, C.; TAUTZ, D. Isolation of simple sequence loci for use in polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. **Electrophoresis**, Weinheim, v.12, n.2-3, p.113-118, 1991.
- SANTOS, S. C.; RUGGIERO, C.; SILVA, C. L. S. P.; LEMOS, E. G. M. 2003. A microsatellite library for *Carica papaya* L. cv. Sunrise Solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.263-267.
- SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma**, Berlin, v.109, n.6, p.365-371, 2000.
- SCHLÖTTERER, C.; TAUTZ, D. Slippage synthesis of simple sequence DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 20, n.2, p. 211-215, 1992.
- STRAND, M.; PROLLA, T.A.; LISKAY, R.M.; PETES, T.D. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. **Nature**, London, v.365, p.274-276, 1993.
- WANCHANA, S.; KAMOLSUKYUNYONG, W.; RUENGPAYAK, S.; TOOJINDA, T.; TRAGOONRUNG, S.; VANAVICHIT, A. A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. **Scientia Asia**, Bangkok, v. 31, n.3, p. 299-306, 2005.
- WEBER, J. L. Informativeness of human (dC-dA)_n (dG-dT)_n polymorphisms. **Genomics**, San Diego, v.7, n.4, p.524-530, 1990.
- WRIGHT, J.M.; BENTZEN, P. Microsatellites, genetic markers of the future. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, London, v.4, n.3, p.384-388, 1994.
- ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, Oxford, v.11, n.1, p.1-16, 2002.
- ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.V.; PINHEIRO, J.B.; BRONDANI, C.; VENCOVSKY, R. Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus* spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v.2, n.4, p.512-514, 2002.