

173

ISOLAMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES DE PETUNIA INTEGRIFOLIA SUBSP. DEPAUPERATA (SOLANACEAE) E PASSIFLORA OVALIS (PASSIFLORACEAE).

Raquel Athayde Kriedt, Luciano Beheregaray, Francisco Mauro Salzano, Sandro Bonatto, Loreta Brandao de Freitas (orient.) (UFRGS).

A Planície Costeira e a Mata Atlântica encontram-se sob constante pressão antrópica. A investigação de processos históricos nestes locais é relevante e pode ser realizada através de marcadores microsatélites, altamente variáveis. As espécies *Petunia integrifolia* subsp. *depauperata* e *Passiflora ovalis* foram selecionadas por se distribuírem ao longo da Planície Costeira e da Mata Atlântica, respectivamente, estando ameaçadas de extinção pela fragmentação de seus ambientes. O objetivo do trabalho foi desenvolver marcadores microsatélites para estas espécies. O DNA total foi extraído e digerido com enzimas *RsaI* e *HaeIII*. A seguir foram ligados adaptadores para amplificação por PCR com "primers" específicos. Os fragmentos com microsatélites foram selecionados com sondas biotinizadas, capturadas por esferas magnéticas com estreptavidina (que se liga à biotina). Os fragmentos foram reamplificados e clonados em vetor "TOPO TA cloning", o qual foi inserido em células competentes de *Escherichia coli*. Foram selecionadas 500 colônias transformadas de *P. integrifolia* subsp. *depauperata* e 300 de *P. ovalis*. Os clones de ambas foram amplificados com os "primers" do vetor. Até o momento foram seqüenciados 100 clones de *P. integrifolia* subsp. *depauperata* e está em andamento o seqüenciamento dos demais clones de ambas bibliotecas. Quatorze insertos apresentaram microsatélites: dez com repetições de dinucleotídios, dois trinucleotídios e dois tetranucleotídios. Sete conjuntos de "primers" foram desenhados e estão sendo sintetizados. Para validação dos conjuntos de "primers", 15 indivíduos de dois locais de ocorrência de cada espécie serão genotipados. Serão avaliados o número de alelos por locus, a heterozigosidade esperada e observada, e a existência de desequilíbrio de ligação. (BIC).