

*Verbenoxylum reitzii* pertence à família Verbenaceae e é uma espécie arbórea endêmica da Mata Atlântica nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Os microssatélites ou SSR (*simple sequence repeats*) são marcadores moleculares que apresentam alto grau de polimorfismo e por isso são muito utilizados em estudos genéticos de populações. SSR consistem em motivos formados de um a seis nucleotídeos repetidos diversas vezes, tendo um comportamento mutacional característico (Kelkar *et al.* 2010). Os microssatélites são marcadores multi-alélicos, codominantes, distribuídos por todo o genoma e amplificados por PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Como consequência de suas elevadas taxas de mutação, SSR são geralmente bastante polimórficos: indivíduos diferentes apresentam variações que se manifestam como diferenças numéricas na repetição. Microssatélites têm sido usados cada vez mais desde o final dos anos oitenta em aplicações como análise de parentesco, mapeamento genético e análise de estrutura genética (Ellegren 2004; Mittal & Dubey 2009; Jones *et al.* 2010). Para desenvolver estudos populacionais com este tipo de marcador é necessário desenvolver *primers* específicos que em alguns casos podem ser transferidos para espécies proximalmente relacionadas. O objetivo geral deste trabalho é desenvolver *primers* de SSR para *Verbenoxylum reitzii* que serão utilizados em estudos populacionais. Estes *primers* consistem em sequências conservadas na região flanqueadora do microssatélite. A partir de uma biblioteca genômica enriquecida para repetições di e trinucleotídicas, foram isolados clones positivos (contendo fragmentos desejados inseridos), os quais foram amplificados por PCR com *primers* para o vetor (SP6 e T7) e sequenciados em sequenciador automático. Cerca de duzentas sequências foram obtidas, das quais 20 apresentavam repetições do tipo microssatélite. Com o auxílio do programa Primer3 foi possível desenvolver *primers* na região flanqueadora dos SSR para 14 delas. Os *primers* foram sintetizados por demanda comercial e os protocolos para a amplificação das regiões ricas nestes SSR foram otimizados, estabelecendo-se a temperatura de anelamento, o número de ciclos e as concentrações ideais para cada componente da reação. Dos 14 *loci* SSR encontrados neste estudo, 13 amplificaram com sucesso. Os protocolos foram otimizados para a realização de reações multiplex, com três fluorescências (FAM, NED e HEX) para genotipagem em equipamento MegaBace (GE Healthcare). Para a validação dos 13 conjuntos de *primers* estão sendo amplificados e genotipados 20 indivíduos de cada uma de três populações de *Verbenoxylum reitzii*, representativas da distribuição geográfica completa da espécie. Os parâmetros que serão utilizados na validação e publicação dos *primers* são equilíbrio de Hardy-Weinberg, desequilíbrio de ligação, número de alelos por *locus* e heterozigosidade esperada e observada, além das informações básicas como sequência dos *primers*, temperatura de anelamento, variação no tamanho dos alelos e motivo de repetição. Os *primers* aqui desenvolvidos serão utilizados em uma análise filogeográfica da espécie *Verbenoxylum reitzii* posteriormente.