Marcadores microssatélites são regiões repetitivas do DNA compostas de pequenos motivos de um a seis nucleotídeos *in tandem*. Esses marcadores co-dominantes são altamente polimórficos e amplamente utilizados em estudos de genética de populações e conservação, devido a sua eficiência em determinar diferenças entre grupos. Também, esses marcadores são apropriados na investigação de questões relacionadas aos processos históricos ocorridos em ambientes naturais através da análise dos padrões filogeográficos das espécies que neles habitam. Entender esses processos é de extrema relevância para a conservação de ambientes que se encontram sob constante pressão antrópica, como a Planície Costeira e a Mata Atlântica. Para tal, 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 pela fragmentação de seus ambientes. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma biblioteca genômica enriquecida para o isolamento de marcadores microssatélites para estas espécies, e caracterizar os diferentes alelos resultantes da amplificação desses marcadores. Assim, o DNA total foi extraído e digerido, seguido da ligação de adaptadores para amplificação por PCR com "primers" específicos. Os fragmentos contendo microssatélites foram selecionados, e clonados em vetor "TOPO TA cloning", inserido em células competentes. Foram selecionadas aproximadamente 500 colônias transformadas de *P. integrifolia* subsp. *depauperata* e 300 de *P. ovalis*. Os clones de ambas bibliotecas foram amplificados e seqüenciados com os "primers" do vetor. Como resultado, 14 conjuntos de "primers" foram desenhados e sintetizados para *P. integrifolia* subsp. *depauperata* e 12 para *P. ovalis*. Até o momento, tem-se sucesso na amplificação de 13 conjuntos no total.