

213

**ESTABELECIDAMENTO DE METODOLOGIAS PARA DETECÇÃO DE POLIMORFISMO DE DNA MITOCONDRIAL EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Heliconius erato phyllis* (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE).** André Schnorr, Andréa de Mello, Aldo M Araújo, Karen L Haag (Laboratório de *Drosophila*, Departamento de Genética, Instituto de Biociências, UFRGS).

Como parte de um projeto que visa elucidar aspectos da extinção e recolonização de populações naturais da borboleta *Heliconius erato phyllis*, o presente trabalho estabelece técnicas para a detecção de polimorfismos em regiões do mtDNA. Para tanto, foram inicialmente sintetizados oligonucleotídeos (descritos por Brower, 1993) para amplificar a região controladora do mtDNA por PCR, uma vez que esta é uma região altamente variável. Tais iniciadores foram exaustivamente testados, porém não obtivemos amplificação da região desejada. Para desenhar outros iniciadores, foram alinhadas seqüências do gene mitocondrial citocromo oxidase de 36 espécies e sub-espécies de *Heliconius* obtidas no GENE BANK. Para a síntese dos oligonucleotídeos, foram escolhidas regiões conservadas, que flanqueassem regiões variáveis. Estes iniciadores foram testados em vários ciclos de temperaturas, sendo que os que apresentaram melhores resultados foram os seguintes: desnaturação do DNA à 94°C por 30 segundos (no primeiro ciclo por 2 minutos), anelamento à 50°C por 30 segundos, extensão da polimerização à 72°C por um minuto. Foram testadas também as concentrações dos reagentes da PCR, e os melhores resultados foram obtidos da seguinte forma: 30 ng de DNA, 1 U de Taq polimerase, 0,2 mM de desoxinucleotídeos, 20 pmois de cada iniciador, e 3,0 mM de MgCl<sub>2</sub>. Os produtos da PCR, que resultaram em uma banda em gel de agarose com o peso molecular esperado de 300 pb, serão analisados por SSCP (polimorfismos de conformação da fita-simples do DNA). (FAPERGS - CNPq - PIBIC/UFRGS)