

PROJETO GENOLYPTUS E O SEQUENCIAMENTO DO TRANSCRIPTOMA DE *EUCALYPTUS*: PRIMEIRO GRUPO DE BIBLIOTECAS DE EXPRESSÃO

Kirch, RP¹; Kurban, DM¹; Klamt, A¹; Brondani, RV²; Coelho, ASG³; Brommoschenkel, SH⁴; Cascardo, JCM⁵; Pasquali, G¹

¹Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; ²EMBRAPA Arroz e Feijão, Goiânia, GO; ³Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO; ⁴Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG; ⁵Lab. Genômica e Expressão Gênica da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA.

pasquali@dna.cbiot.ufrgs.br

Palavras-chave: genoma, *Eucalyptus*, EST

O objetivo central do Projeto “GENOLYPTUS: Rede Brasileira de Pesquisa do Genoma de *Eucalyptus*” é o descobrimento, o sequenciamento, o mapeamento e a determinação da função de genes de importância econômica de diferentes espécies de *Eucalyptus*, visando a incorporação de tecnologias de genética genômica nos programas de melhoramento e produção florestal. O Subprojeto “Sequenciamento do Transcriptoma de *Eucalyptus*” intitula o trabalho maciço e sistemático de sequenciamento de 150.000 clones de cDNA a partir de diversas bibliotecas de expressão, algumas delas normalizadas. O objetivo é a identificação de todos os estimados 25 a 30 mil genes do eucalipto, com ênfase especial em genes envolvidos na formação da madeira. O primeiro grupo de oito bibliotecas de expressão foi construído a partir de mRNA extraído de tecidos de *E. grandis* (folhas jovens, folhas totalmente expandidas, flores inteiras, plântulas inteiras e xilema), além de xilema de *E. pellita*, *E. globulus* e *E. urophylla*. Três diferentes métodos de extração de RNA total foram avaliados e os melhores resultados renderam quantidades médias de 300 µg de RNA total e de ótima qualidade, conforme medidas espectrofotométricas e visualização em géis de agarose após eletroforese. Dois métodos de purificação de mRNA foram avaliados, obtendo-se quantidades de 0,5 a 5 µg de mRNA entre os diferentes tecidos. A síntese de cDNA e a ligação ao vetor pSPORT1 (Invitrogen) rendeu bibliotecas primárias (não amplificadas) com títulos que variaram de $3,6 \times 10^4$ a $8,5 \times 10^6$ ufc/µg de vetor. Os tamanhos de insertos variaram de 500 a 2.300 pb, com tamanhos médios de 1.300 pb para a maioria dos clones. O sequenciamento automático e a análise das sequências geradas revelaram que todas as bibliotecas construídas, com exceção da biblioteca de flores de *E. grandis*, apresentaram baixíssimos índices de vetores vazios e redundância. Essas bibliotecas foram validadas para o sequenciamento maciço pelos diferentes grupos participantes. A biblioteca de flores foi invalidada e será reconstruída.

Suporte Financeiro e Técnico: Ministério da Ciência e Tecnologia – Fundo Setorial Verde-Amarelo; Aracruz Celulose S.A.; Bahia Sul Celulose S.A.; CELMAR S.A. Indústria de Celulose e Papel; Celulose Nipo-Brasileira S.A. - CENIBRA; International Paper do Brasil Ltda.; Jari Celulose S.A.; Klabin-Riocell; Lwarcel Celulose e Papel Ltda.; Rigesa Celulose, Papel e Embalagens Ltda.; Veracel Celulose S.A.; Votorantim Celulose e Papel S.A.; Zanini Florestal Ltda.