



## CONSTRUÇÃO DE BIBLIOTECAS SUBTRATIVA DE cDNA DE MAMONA ASSOCIADOS AO ESTRESSE HÍDRICO

João Gabriel de Medeiros Farias.<sup>1</sup>; Paulo Fernandes da Costa Neto<sup>2</sup>; Sara Caroline Pinto de Almeida.<sup>3</sup>; Kátia Castanho Scortecchi.<sup>4</sup>

1. Mestrando no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas - UFRN- jgmfarias@gmail.com; 2. Iniciação científica CNPq, graduando em Ciências Biológicas – paulofernandes\_rnsp@hotmail.com; 3. Mestranda no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – UFRN- otaciliacarol@gmail.com; 4. Doutora em Botânica, Professora da UFRN - kacscort@yahoo.com

**RESUMO** – A Mamona (*Ricinus communis* L.) vem sendo usada como principal fonte de matéria prima para diversos processos industriais e promissora para a produção de biodiesel. Além do que, essa planta mostra grande adaptabilidade em diversos estados brasileiros, sendo uma alternativa de cultivo em regiões com altos níveis de temperatura e seca, devida sua resistência a esses tipos de estresse. Objetivamos no presente estudo a construção de bibliotecas subtrativas a partir do material submetido ao estresse hídrico. Para tanto, selecionamos a cultivar BRS Energia e submetemos ao tratamento de estresse hídrico com 5, 10, 15 e 10 dias cíclico (10 dias de estresse + 10 dias de rega). As amostras de fruto, folhas e raízes das plantas tratadas e controle foram isoladas e congeladas em nitrogênio líquido, com posterior armazenamento em freezer a -80°C. Para a construção das bibliotecas subtrativas foi realizado a extração do RNA total de sementes com o RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). Na construção das bibliotecas subtrativas de cDNA utilizou-se o Super SMART PCR cDNA Synthesis Kit e o PCR-Select cDNA Subtraction Kit (Clontech). Os fragmentos obtidos da biblioteca subtrativa foram clonados no vetor pGEM-Teasy (Promega) e posteriormente inseridos em bactérias *E. coli* DH10B competentes, por eletroporação. Com as colônias isoladas foi realizado protocolo de miniprep alcalina, com o DNA plasmidial obtido que foi digerido com a enzima de restrição *EcoRI*, e revelou fragmentos de tamanhos variados de inserto de 300 a 600 bp. Os produtos do sequenciamento foram identificados pelo BLASTX 2.2.26. Como resultado nas bibliotecas de cDNA de sementes, obteve-se 444 sequências para plantas do tratamento com 10 dias, onde 49% delas representavam proteínas desconhecidas ou hipotéticas, 4% apresentavam relações com atividades ribossomais, 3% com atividades antioxidantes, 1% promovia proteção ao estresse, 16 % estavam envolvidos com transporte de elétrons ou formação de moléculas energéticas, 2% em sinalização, 3% em regulação, 9% estavam envolvidos com acúmulo de óleo e armazenagem em sementes, 1% atuavam com diversas polimerases, 3% como fatores de transcrição e 8% estavam distribuídos em metabolismos diversos. Em relação às plantas controle, foram obtidas 366 sequências, das quais 55% eram desconhecidas ou hipotéticas, 1% apresentava atividade antioxidante, 28% estavam associadas com a formação de moléculas energéticas, 6% atuavam na proteção contra estresse provenientes de patógenos, 6% atuavam em metabolismos diversos e 3% estavam envolvidos com acúmulo de óleo e armazenagem em sementes e 20% atuavam diversos metabolismos. Com os presentes números, percebemos o grande volume de proteínas ainda desconhecidas, porém, categorias presentes como atividade antioxidante e proteção ao estresse, revelam importantes proteínas relacionadas à nossa biblioteca.

**Palavras-chave:** Estresse Hídrico, Melhoramento Genético, *Ricinus communis* L.,

**Apoio:** Auxílio Financeiro – CNPq, BNB.