



## Sequenciamento do transcriptoma de Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) utilizando Plataforma de Sequenciadores de Nova Geração (NGS) – SOLiD System 3 Plus.

Sheila Maysa da Cunha Gordo<sup>1</sup>, Edith Cibelle de Oliveira Moreira<sup>2</sup>, Horácio Schneider<sup>3</sup>, Sylvain Darnet<sup>4</sup>, Simone Rodrigues<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Doutoranda em Genética e Biologia Molecular (UFPA), Laboratório de Biologia Computacional e Laboratório de Biologia Molecular de Bragança da UFPA Bragança, sheilamaysa@ufpa.br

<sup>2</sup> Doutoranda Bolsista do CNPq, Laboratório de Biologia Computacional e Laboratório de Biologia Molecular de Bragança da UFPA Bragança, cibelle@ufpa.br

<sup>4</sup> Pesquisador da UFPA, Laboratório de .....

<sup>4</sup> Pesquisador da UFPA, Laboratório de Biologia Computacional

<sup>5</sup> Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, [@cpatu.embrapa.br](mailto:@cpatu.embrapa.br)

**Resumo:** A pimenta-do-reino *Piper nigrum* é um dos principais produtos agrícolas do Pará gerando sustentabilidade para uma porcentagem considerável dos agricultores do estado. A Embrapa (PA) desenvolve trabalhos com a espécie como uma coleção de germoplasma. Com o objetivo de conhecer os potenciais recursos genéticos da espécie, foi sequenciado o transcriptoma de *P. nigrum*. Uma plataforma de sequenciamento de nova geração foi usada para gerar as sequências dos genes e o trabalho foi analisado com recursos de bioinformática. Foram anotados automaticamente uma lista de transcritos da espécie.

**Palavras-chave:** *Piper nigrum*, Sequenciamento de nova geração, transcriptoma.

### Introdução

No estado do Pará a cultura de pimenta-do-reino tornou-se extremamente produtiva e lucrativa, devido principalmente à adaptação da espécie as condições de solo e clima da região (Duarte *et al.*, 2002), onde destaca-se como segundo item na pauta de exportação paraense gerando milhares de empregos (cerca de 70 mil a 80 mil pessoas, no período da safra).

*Piper nigrum* L., pertence subclasse Magnoliids e a família Piperaceae, formado por cerca de 2000 espécies (Menezes *et al.*, 2009) que possuem distribuição pantropical, sendo que a maior diversidade dessa planta ocorre nos trópicos americanos, seguida pela região do Sul da Ásia (Jaramillo and Manos, 2001). A EMBRAPA-Amazônia Oriental mantém uma coleção de germoplasma das espécies preservadas para a gestão da pimenta-do-reino.



Neste trabalho nos objetivamos a caracterização e descoberta de genes de interesse para o melhoramento desse vegetal.

### **Material e Métodos**

A planta foi cultivada por 70 dias em casa de vegetação na EMBRAPA Amazônia Oriental e tecido raiz foi usado para a extração de RNA total. A obtenção do cDNA aconteceu Laboratório de Polimorfismo de DNA da UFPA. Realizou-se a extração do RNA total em seguida obtivemos o mRNA e a preparação da biblioteca de fragmentos de cDNA de 50pb pelo método RNA-Seq que utiliza a PCR em emulsão. O sequenciamento foi realizado Plataforma SOLiD v3.

As leituras de 50pb obtidas foram submetidas a processos de bioinformática realizados no servidor com 4 processadores com 48 núcleos e 128.976 MB de memória do Laboratório de Genética Molecular e Bioinformática da USP de Ribeirão Preto.

### **Resultados e Discussão**

O RNA total foi visualizado mostrando integridade da molécula. O RNAm obtido foi fragmentado e quantificado de acordo com o padrão exigido para construção da biblioteca de cDNA.

A PCR em Emulsão foi realizada de acordo com instruções do fabricante e não observamos formação de bolhas. A concentração de cDNA para a biblioteca de fragmentos foi de 66 pg/ $\mu$ L.

O sequenciamento foi realizado com 133  $\mu$ L de acordo com padrão. A amostra foi sequenciada em 1 poço da lâmina de 4 poços. Obtivemos mais de 71 milhões de sequencias de 50pb compatível com o padrão de sequenciamento para eucarioto. Nos processos de bioinformática foram realizados os passos de Pré-processamento para análise de qualidade das leituras curtas, montagem das leituras de 50pb para obtenção de contigs e realização de anotação automática funcional com o programa BLAST2GO, para obtenção de prováveis candidatos a genes de *Piper nigrum* que foram obtidos .

### **Conclusão**

O sequenciamento de plantas não modelo utilizando Plataformas de Nova Geração produziu o primeiro banco de dados de genes específicos de *Piper nigrum*. Esses dados aumentaram significativamente as informações de genética molecular para as plantas em particular ao grupo Magnoliids e para a família Piperales. Os dados poderão ser analisados com maior acurácia e produzirão informações para pesquisas nas áreas de melhoramento genético e ecologia.



### **Agradecimentos:**

EMBRAPA Amazônia Oriental

Laboratório de Polimorfismo de DNA da UFPA/ICB

Laboratório de Genética Molecular e Bioinformática da USP de Ribeirão Preto

Laboratório de Biologia Computacional da UFPA/ICB

Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFPA/Bragança

### **Referências Bibliográficas**

Duarte M de L, Albuquerque F C, and Poltronieri M (2002). Phytosanitary conditions of black pepper cultivars crop in Brasil. *International Pepper Community*, 1, 16-22.

Menezes I C, Cidade F W, Souza a. P, and Sampaio I C (2009). Isolation and characterization of microsatellite loci in the black pepper, *Piper nigrum* L. (piperaceae). *Conservation Genetics Resources*, 1(1), 209-212.

Jaramillo M A, and Manos P S (2001). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *Am. J. Botany*, 88(4), 706-716.