

Ciências Biológicas

## **Protoplasto em *Cannabis sativa* L.**

Alexandre Correa Ramos - 6º Período de Engenharia Florestal- UFLA, bolsista PIBITI-CNPQ

Ana Julia Martins Delbin - 9º Período de Ciências Biológicas de Licenciatura- UFLA, bolsista de monitoria(UFLA)

João Gabriel Reis Martins - 6º Período de Engenharia Florestal- UFLA, bolsista PIBIC-FAPEMIG

Lílian dos Reis Ronzani - Mestranda, PPGBA, UFLA

Danilo José Machado de Abreu - Pós doutorado na microbiologia-UFLA

Vanessa Cristina Stein - Orientadora, DBI, UFLA - Orientador(a)

### **Resumo**

Os protoplastos, células vegetais sem parede celular, têm ganhado destaque na pesquisa científica. Embora seja considerada uma técnica clássica, seu uso ganha maior relevância e permanece em constante atualização, servindo de base para métodos modernos, como a edição genética por CRISPR/Cas9, em que o DNA pode ser introduzido diretamente no protoplasto, e fusões somáticas para obtenção de híbridos em programas de melhoramento, demonstrando grande potencial inovador na biotecnologia. Nesse contexto a *Cannabis sativa* L. apresenta ampla aplicação, principalmente médica e farmacêutica, devido a duas de suas diversas moléculas, o THC e principalmente o CBD, sendo eficaz no tratamento de mais de 200 doenças e condições adversas, o que a torna promissora em estudos com protoplastos. O objetivo deste estudo foi isolar e observar protoplastos oriundos de calos e folhas de *C. sativa* in vitro, visando estabelecer um protocolo inicial. Folhas e calos foram retirados a partir de um cultivo in vitro da planta, sendo as folhas obtidas a partir da germinação de sementes com o apoio da Polícia Civil de Lavras e a autorização legal da ANVISA, esse material foi multiplicado in vitro e utilizado para a indução de calos. Após o cultivo, folhas e calos foram pesados, seccionados e submetidos em eppendorffs com solução osmótica (Manitol, MgCl<sub>2</sub>, KHPO<sub>4</sub>), sendo agitadas por 10 minutos. Foram aplicados três tratamentos enzimáticos: pectinase impura, pectinase isolada e a combinação de ambas. A digestão ocorreu por 16h a 25°C e 35°C, resultando em 12 tratamentos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas (1000 RPM, 93 g, 5 min) para separação das células de interesse, coradas com azul de Evans, para ver a viabilidade, e analisadas ao microscópio óptico (10X e 40X). Portanto, observa-se que ambas enzimas foram um sucesso no isolamento do protoplasto, mas nota-se células plasmolisadas, provavelmente devido a ajustes protocolares na solução osmótica. A pectinase impura apresentou maior número de células viáveis e de maior tamanho, enquanto a combinação das enzimas potencializou a digestão em níveis prejudiciais, causando maior dano e menor tamanho celular, e por fim, os calos demonstraram melhor rendimento no desprendimento de protoplastos do que as folhas em relação a estrutura principal.

Palavras-Chave: biotecnologia, enzimas, cultura de tecidos.

Instituição de Fomento: CNPQ

Link do pitch: [https://youtu.be/mFk\\_CiS2Tvg](https://youtu.be/mFk_CiS2Tvg)