

MELO; Maria Eduarda Pimentel de¹, FERNANDES; Erika da Costa², SILVA; Julia da³, PEREIRA; Erinaldo Gomes⁴, SANTOS; Leandro Azevedo⁵

RESUMO

Os protoplastos são células que não apresentam parede celular, obtidas a partir de fungos ou vegetais. O processo de remoção da parede pode se dar por ação enzimática ou mecânica, sem que haja alteração da integridade e metabolismo da célula. Essas células apresentam diversas funções biomoleculares, entre elas a localização subcelular, etapa fundamental no processo de caracterização funcional de um gene. É interessante que os protocolos de extração de protoplastos apresentem um bom rendimento de células, de forma rápida e evitando desperdícios. Assim, o objetivo do trabalho foi a otimização do processo de extração de protoplastos por meio da avaliação de diferentes tempos de infiltração a vácuo da solução enzimática de digestão da parede celular, bem como diferentes tempos de incubação do tecido com a solução após o período de infiltração. Sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) da variedade Nipponbare foram desinfestadas e cultivadas em placa de petri contendo meio de cultivo MS (Murashige e Skoog, 1962) a ½ força iônica durante 22 dias. Ao final do experimento, foi seccionada a parte aérea das plântulas e a extração dos protoplastos foi realizada segundo Yoo, et al. (2007) e He, et al. (2016), com modificações. Foram aplicados os seguintes tratamentos: 30 minutos de vácuo e 3 horas de incubação no escuro (T1), 1 hora de vácuo e 3 horas de incubação no escuro (T2), 30 minutos de vácuo e 5 horas de incubação no escuro (T3), 1 hora de vácuo e 5 horas de incubação no escuro (T4). A contagem de protoplastos foi realizada em Câmara de Neubauer (Kasvi). O primeiro tratamento apresentou a maior concentração de protoplastos, contabilizando $2,65 \times 10^6$ células.mL⁻¹. O segundo tratamento, que contou com mesmo tempo de incubação, mas o dobro de tempo de aplicação de vácuo, apresentou a menor concentração, $3,28 \times 10^5$ células.mL⁻¹. O terceiro tratamento apresentou rendimento de extração de $3,7 \times 10^5$ células.mL⁻¹. Já o último tratamento contou com $4,9 \times 10^5$ células.mL⁻¹. Tanto o tempo de aplicação de vácuo quanto o de incubação no escuro influenciaram no rendimento da extração de protoplastos. Conclui-se que o maior rendimento na extração de protoplastos de parte aérea de arroz foi obtido com 30 min de infiltração a vácuo seguido de 3h de incubação/repouso em solução enzimática. Esse entendimento pode auxiliar no desenvolvimento de um protocolo mais eficiente para a extração de protoplastos em tecidos de arroz.

PALAVRAS-CHAVE: Arroz, protoplasto, protocolo

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, mariaeduardaufrrj@yahoo.com

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, erikac.fernands@gmail.com

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, juliasilvarj13@gmail.com

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, erinaldomn@yahoo.com

⁵ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, azevedo@ufrrj.br