

GENOMA EDITADO EM MILHO PELA TECNOLOGIA CRISPR VISANDO MELHORIA DE TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO^(*)

Simara da Silva Lopes⁽¹⁾, Rayanne Pereira de Oliveira⁽²⁾, Ruan Maloni Teixeira⁽³⁾, Josenilda Carlos dos Santos⁽⁴⁾, Camila Ribeiro⁽⁵⁾ e Andrea Almeida Carneiro⁽⁶⁾, Newton Portilho Carneiro⁽⁷⁾

Palavras-chave: *Zea mays*, edição genômica, tolerância a seca, Drip.

A variabilidade genética é essencial para o desenvolvimento de novas cultivares mais produtivas, nutritivas e adaptadas a diferentes estresses bióticos e abióticos. A edição genômica tem emergido como uma ferramenta extremamente útil para criar diversidade genética em diferentes cultivares de interesse econômico. Com o avanço das pesquisas na área molecular, tornou-se possível por meio das ferramentas de edição genômica realizar modificações no genoma *in loco* de forma direcionada e precisa, permitindo a adição, deleção ou substituição de nucleotídeos na sequência de DNA. Dentre as tecnologias de edição de genoma, CRISPR é a mais recente, e tem sido a mais utilizada mundialmente, por sua maior precisão e baixos custos em relação às técnicas anteriores. Dentre os estresses abióticos, a seca é um dos mais prejudiciais à agricultura. A quebra da safra brasileira de milho causada por períodos de seca varia de ano para ano sendo que a safrinha tem perdas média de até 50%. Os genes DRIP (DREB2A-Interacting Protein) estão envolvidos na degradação da proteína DREB2A, responsável pela tolerância de plantas ao estresse de seca. A perda-de-função do gene DRIP poderá elevar os níveis dessa proteína, com consequente aumento de tolerância à seca. Neste trabalho foi utilizada a edição genômica dos genes DRIP mediada por CRISPR. Em milho existem os *loci*: DRIP1 (GRMZM2G141379) e DRIP2 com dois alelos (2.1 - GRMZM2G180195 e 2.2 - GRMZM2G116574). Nesse trabalho mostramos resultados referentes ao DRIP2.1. Para desenho dos guias foi utilizado o programa CRISPOR. Os guias foram clonados no vetor B819 (<https://dna-cloning.com/>) com a enzima *BsmBI*. A transformação de milho utilizou embriões imaturos (1,5 mm a 2 mm de comprimento) da linhagem B104 infectado com *A. tumefaciens* EHA101. Após cinco dias, os embriões infectados foram transferidos para meio de repouso suplementado com cefotaxime por uma semana. A seleção das células transformadas foi realizada durante quatro semanas em meio contendo 3,0 mg/L e 6,0 mg/L de glufosinato de amônia. DNAs de plantas T0 foram extraídos, amplificados por PCR utilizando primers flanqueando as regiões do gRNAs, sequenciados e analisados via programa ICE Synthego (synthego.com/products/bioinformatics/crispr-analysis). Os resultados obtidos mostram modificações do tipo *Indel* de 66% a 95% com R^2 acima de 0,9 em oito de 12 plantas analisadas. Essas plantas estão sendo autofecundadas para identificação de indivíduos 100% homocigotos cuja progênie serão fenotipadas para seca em casa de vegetação. Plantas com os demais alelos nocauteados estão em andamento. Os conhecimentos gerados nesta proposta subsidiarão o desenvolvimento de cultivares/variedades mais produtivas e de melhores atributos em condições de déficit hídrico e contribuirão para a segurança alimentar e sustentabilidade da agricultura mundial.

* Fonte financiadora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), CNPq, Embrapa Milho e Sorgo / Projetos SEG.

⁽¹⁾ Bióloga, Bolsista pós-doutoranda, Embrapa Milho e Sorgo

⁽²⁾ Bióloga, Bolsista DTI, Embrapa Milho e Sorgo



- ⁽³⁾ Biólogo, Bolsista pós-doutorando, Embrapa Milho e Sorgo
- ⁽⁴⁾ Bióloga, Bolsista pós-doutoranda, Embrapa Milho e Sorgo
- ⁽⁵⁾ Biotecnologista, Pesquisadora do Centro de Tecnologia Canavieira
- ⁽⁶⁾ Bióloga, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo
- ⁽⁷⁾ Biólogo, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; newton.carneiro@embrapa.br