



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



ENGENHARIA GENÉTICA VEGETAL VISANDO RESISTÊNCIA A PATÓGENOS

I – IDENTIFICAÇÃO

Disciplina: Engenharia Genética Vegetal visando Resistência a Patógenos

Código: CFITO00005

Carga Horária: 60 horas

Teórica: 30 horas

Prática: 30 horas

Número de Créditos: 4

Caráter: Optativa – Mestrado; Obrigatório - Doutorado

Pré-requisito: Não há

Profº. Responsável: André da Silva Xavier

II - EMENTA

Introdução a Tecnologia do DNA recombinante. Importância da engenharia genética na obtenção de novas cultivares resistentes a fitopatógenos. Diversidade de estratégias biotecnológicas para o desenvolvimento de cultivares geneticamente modificadas (GMs) e/ou geneticamente editadas (GEs) visando a proteção dessas plantas contra estresses bióticos. Etapas para obtenção de bactérias e plantas GMs e GEs. Planejamento experimental visando obtenção de plantas GMs e GEs. Desenho de oligonucleotídeos para a clonagem de fragmentos de DNA associados a resistência vegetal contra patógenos. Integração genômica sítio dirigida de cassetes. Clonagem e subclonagem de fragmentos de DNA. Endonucleases de restrição. Tipos de vetores de clonagem. Cassetes gênicos de expressão e de seleção. Linhagens microbianas modificadas para ensaios de engenharia genética vegetal. Transformação genética de plantas e procariotos: principais métodos. Cultivo e estabelecimento *in vitro* de plantas transformadas. Seleção, validação e análise funcional de organismos geneticamente modificados e/ou editados: bactérias e plantas. RNAi. Silenciamento gênico pós-transcricional induzido por vírus (VIGS) em plantas. Silenciamento gênico pós-transcricional induzido pelo Hospedeiro (HIGS) em plantas. Silenciamento gênico pós-transcricional induzido pela aplicação tópica/Spray (SIGS) em plantas. Expressão estável *versus* transiente de cassetes gênicos em plantas. Expressão heteróloga de proteínas e dsRNAs em *Escherichia coli*. Otimização preferencial de códons. Edição de genomas.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



III - CONTEÚDO PROGRAMÁTICO

CONTEÚDO TEÓRICO

Unidade 01 - Introdução a tecnologia do DNA recombinante.
Unidade 02 - Diversidade de estratégias biotecnológicas para o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas (GMs) e geneticamente editadas (GEs) visando resistência a patógenos.
Unidade 03 - Etapas para obtenção de bactérias e plantas GMs e GEs.
Unidade 04 - Planejamento experimental visando a obtenção de plantas GMs e GEs.
Unidade 05 - Clonagem e subclonagem de fragmentos de DNA.
Unidade 06 - Tipos de vetores de clonagem.
Unidade 07 - Construção de cassetes gênicos.
Unidade 08 - Princípios de transformação vegetal e bacteriana e atualidades sobre métodos de entrega de cassetes gênicos de expressão.
Unidade 09 - Seleção, validação e análise funcional de organismos GMs e GEs.
Unidade 11 - Expressão estável *versus* transiente de cassetes gênicos em plantas
Unidade 12 - Superexpressão de genes/fragmentos de DNA de interesse em plantas (*cisgenes* e *transgenes*).
Unidade 13 - RNA de interferência (RNAi) e suas aplicações em estudos de genômica funcional.
Unidade 14 - Resistência derivada do patógeno (PDR) utilizando (RNAi).
Unidade 15 - Silenciamento gênico pós-transcricional induzido por vírus (VIGS), pelo hospedeiro (HIGS) e por aplicação tópica/spray (SIGS) em plantas.
Unidade 16 - Expressão heteróloga em *Escherichia coli* (proteínas recombinantes e dsRNAs).
Unidade 17 - Aspectos éticos, legais e ecológicos da liberação e comercialização de material GM e GED.

CONTEÚDO PRÁTICO

Unidade 01 - Desenho de oligonucleotídeos para a clonagem de fragmentos de DNA associados a resistência vegetal contra patógenos.
Unidade 02 – Construção de Mapas de Restrição de um GENE/Fragmento de DNA de interesse.
Unidade 03 – Seleção de endonucleases de restrição e otimizações práticas para rotina laboratorial.
Unidade 04 - Critérios para validação experimental em procedimentos de clonagem. Previsão da sincronia entre as fases de leitura do inserto e do vetor. Adaptação de cassetes gênicos para integração genômica *sítio dirigida*.

Unidade 05 – Delineamento experimental *in silico* para ensaios de edição genômica (1):



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



Identificação de sequências-alvo, desenho e seleção de RNAs guias. Softwares. Off-targets.

IV- SISTEMA DE AVALIAÇÃO

Seminários, análise de artigos, projetos, testes rápidos e exames.

V- BIBLIOGRAFIA BÁSICA RECOMENDADA

- LIVROS

SAMBROOK et al. Molecular cloning. 2ª Edition. Cold Spring Harbor Lab. Press. 3 Volumes, 1999.

PATIL, N. AND SIVARAM, A. A Complete Guide to Gene Cloning: From Basic to Advanced. Springer Nature, April 2022. DOI 10.1007/978-3-030-96851-9.

GOSAL, S. S. et al. Accelerated Breeding of Plants: Methods and Applications. In: Gosal, S., Wani, S. (eds) Accelerated Plant Breeding, Volume 1. 2020, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41866-3_1.

FILLER-HAYUT, S., MELAMED-BESSUDO, C., LEVY, A.A. New Technologies for Precision Plant Breeding. In: Ricroch, A., Chopra, S., Kuntz, M. (eds) Plant Biotechnology. 2021, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68345-0_4.

BECKER, A. Virus-Induced Gene Silencing. Humana Press, February 2013. DOI 10.1007/978-1-62703-278-0.

PANDEY, P., MYSORE, K.S., SENTHIL-KUMAR, M. Recent Advances in Plant Gene Silencing Methods. In: Mysore, K.S., Senthil-Kumar, M. (eds) Plant Gene Silencing. Methods in Molecular Biology, vol 2408. Humana, 2022, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1875-2_1.

KUMAR et al. Gene Editing in Plants. Springer Nature, Singapore, January 2024. DOI 10.1007/978-981-99-8529-6.

PRESTWICH, B.D. et al. Novel Delivery Methods for CRISPR-Based Plant Genome Editing. In: Ricroch, A., Eriksson, D., Miladinović, D., Sweet, J., Van Laere, K., Woźniak-Gientka, E. (eds) A Roadmap for Plant Genome Editing. 2024, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-46150-7_3.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.pgpf.ufrpe.br>



KULSHRESHTHA, A., MANDADI, K.K. Plant Viral Vectors: Important Tools for Biologics Production. In: Kole, C., Chaurasia, A., Hefferon, K.L., Panigrahi, J. (eds) Applications of Plant Molecular Farming. Concepts and Strategies in Plant Sciences. 2024, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-0176-6_1.

ZHANG, W. Plant-Mediated RNA Interference Expressing dsRNA in Cytoplasm for RNAi-Based Pest Control. In: Vaschetto, L.M. (eds) RNAi Strategies for Pest Management. Methods in Molecular Biology, vol 2360. Humana, 2022, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1633-8_16

BURGESS-BROWN, N.A. Heterologous Gene Expression in *E. coli*. Springer New York, January 2017
DOI10.1007/978-1-4939-6887-9.

YAMAMOTO, T. Targeted Genome Editing Using Site-Specific Nucleases. Springer Japan, January 2015
DOI 10.1007/978-4-431-55227-7.

EBERT, A. G. et al. Binary vectors. In: Gelvin, S.B., Schilperoort, R.A., Verma, D.P.S. (eds) Plant Molecular Biology Manual. 1989, Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0951-9_3.

PARK, J. et al. DNA-Free Genome Editing via Ribonucleoprotein (RNP) Delivery of CRISPR/Cas in Lettuce. In: Qi, Y. (eds) Plant Genome Editing with CRISPR Systems. Methods in Molecular Biology, vol 1917. Humana, 2019, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8991-1_25.

HIATT, W.R., KRAMER, M., SHEEHY, R.E. The Application of Antisense RNA Technology to Plants. In: Setlow, J.K. (eds) Genetic Engineering. Genetic Engineering, vol 11. 1989, Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7084-4_4.

TABLER, M. Antisense RNA in Plants: A Tool for Analysis and Suppression of Gene Function. In: Roubelakis-Angelakis, K.A., Van Thanh, K.T. (eds) Morphogenesis in Plants. NATO ASI Series, vol 253. 1993, Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1265-7_13.

SEHGAL, D. AND KHAN, T. Plant Tissue Culture: Beyond Being a Tool for Genetic Engineering. In: Singh, A., Srivastava, S., Rathore, D., Pant, D. (eds) Environmental Microbiology and Biotechnology. 2020, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6021-7_9.

SHAH, N.J. Antisense Oligonucleotides. In: Raj, G., Raveendran, R. (eds) Introduction to Basics of Pharmacology and Toxicology. 2019, Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9779-1_33.

LOYOLA-VARGAS, V. M. AND OCHOA-ALEJO, N. Plant Cell Culture Protocols. Springer New York, July 2018. DOI 10.1007/978-1-4939-8594-4.

DUAN, S. AND WANG, G. Inducible Expression of dsRNA in *Escherichia coli*. In: Cheng, X., Wu, G. (eds) Double-Stranded RNA. Methods in Molecular Biology, vol 2771. Humana, 2024, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3702-9_9.

SUNDARESHA, S. et al. In Vitro Method for Synthesis of Large-Scale dsRNA Molecule as a Novel Plant Protection Strategy. In: Mysore, K.S., Senthil-Kumar, M. (eds) Plant Gene Silencing. Methods in Molecular Biology, vol 2408. Humana, 2022, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1875-2_14.

**GRADUATE PROGRAM IN PHYTOPATHOLOGY
FEDERAL RURAL UNIVERSITY OF PERNAMBUCO**

Recife, PE - Brazil
Phone: +55 81 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br / Site: <http://ww2.pgpf.ufrpe.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



VOLOUDAKIS, A. E. et al. Efficient Double-Stranded RNA Production Methods for Utilization in Plant Virus Control. In: Uyeda, I., Masuta, C. (eds) Plant Virology Protocols. Methods in Molecular Biology, vol 1236. Humana Press, 2015, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1743-3_19.

AGRIOS, G. N. Plant pathology. 5th ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 5. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. v. 1, p. 573.

ZAHA, A. Biologia molecular básica. 3ª ed. Porto Alegre, RS: Editora Mercado Aberto, 2006.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; RICHARD C. LEWONTIN; GELBART, W. M.; Introdução à Genética. 7ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000, 863 p.

DAVIS et al. Basic Method in Molecular Biology. Davis et al., Elsevier-London, 1986, 388p.

MICKLOS, D. A.; FREYER, G. A. Ciência do DNA. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 575p.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M.M. Lehninger princípios de bioquímica. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 2006, 1202p.

RAMALHO, M.; SANTOS, J. B. Genética na agropecuária. SÃO PAULO: GLOBO, 1989. 359p.

LEWIN, B. Genes VII. Porto Alegre (RS): Artmed Editora, 2001.

BROWN, T. A. Genética – um enfoque molecular. Terceira Edição. Guanabara Koogan, 1998, 336p.

WATSON et al. O DNA recombinante. Segunda Edição. Editora UFOP, 1997, 624p.

VIEIRA, A. Engenharia Genética: Princípios e Aplicações (2ª edição em português). Lidel Editora, 2011, 197p. BRASILEIRO, A. C. M. E CARNEIRO, V. T. C. Manual de Transformação Genética de Plantas.

EMBRAPA, 1998. BORÉM, Aluizio; VIEIRA, Maria Lúcia Carneiro; COLLI, Walter. Glossário de Biotecnologia. [S.l: s.n.], 2009.

- PERIÓDICOS

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)
Science

Nature Genetics

Nature Microbiology

Scientific Reports

Nature Plants

Molecular Plant-Microbe interactions

PLOS ONE

Plant Biotechnology

Journal of Virology

Studies in Mycology

Physiological and Molecular Plant Pathology

Frontiers in Plant Science

GRADUATE PROGRAM IN PHYTOPATHOLOGY
FEDERAL RURAL UNIVERSITY OF PERNAMBUCO

Recife, PE - Brazil

Phone: +55 81 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br / Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br
Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>



PLOS Pathogens
Molecular Plant pathology
Annual Review of Phytopathology
Phytopathology
Plant Disease
Plant Pathology

**GRADUATE PROGRAM IN PHYTOPATHOLOGY
FEDERAL RURAL UNIVERSITY OF PERNAMBUCO**

Recife, PE - Brazil
Phone: +55 81 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br / Site: <http://ww2.ppgf.ufrpe.br>