

Biotecnologia:

Aplicação tecnológica nas ciências agrárias e ambientais, ciência dos alimentos e saúde

Vanessa Bordin Viera

Natiéli Piovesan

(Organizadoras)



Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan
(Organizadoras)

**BIOTECNOLOGIA: Aplicação Tecnológica nas
Ciências Agrárias e Ambientais, Ciência dos
Alimentos e Saúde**

Atena Editora
2017

2017 by Vanessa Bordin Viera & Natiéli Piovesan
Copyright © da Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Edição de Arte e Capa: Geraldo Alves
Revisão: Os autores

Conselho Editorial

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto (UFPEL)
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua (UNIR)
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson (UTFPR)
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho (UnB)
Prof. Dr. Carlos Javier Mosquera Suárez (UDISTRITAL/Bogotá-Colombia)
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior (UEPG)
Prof. Dr. Gilmei Francisco Fleck (UNIOESTE)
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza (UEPA)
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior (UFAL)
Profª Drª Ivone Goulart Lopes (Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatric)
Profª Drª Lina Maria Gonçalves (UFT)
Profª Drª Vanessa Bordin Viera (IFAP)
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa (FACCAMP)

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

B616

Biotecnologia: aplicação tecnológica nas ciências agrárias e ambientais, ciência dos alimentos e saúde / Organizadoras Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan. – Ponta Grossa (PR): Atena, 2017. 232 p. : il.

Formato: PDF
ISBN 978-85-93243-31-8
DOI 10.22533/at.ed.3182806
Inclui bibliografia

1. Alimentos - Biotecnologia. 2. Biotecnologia agrícola. 3. Medicina - Biotecnologia. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Piovesan, Natiéli. III. Título.
CDD-660.6

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos seus respectivos autores.

2017

Proibida a reprodução parcial ou total desta obra sem autorização da Atena Editora
www.atenaeditora.com.br
E-mail: [contato@atenaeditora.com.br](mailto: contato@atenaeditora.com.br)

Apresentação

A biotecnologia pode ser definida como uma ciência que utiliza sistemas biológicos e/ou organismos vivos em aplicações tecnológicas visando desenvolver ou modificar produtos ou processos, sendo que suas aplicações mais importantes estão relacionadas com a área agrária e ambiental, saúde e ciência dos alimentos.

A Coletânea “Biotecnologia: Aplicação tecnológica nas ciências agrárias e ambientais, ciência dos alimentos e saúde” é um livro que aborda o conhecimento científico através de 16 artigos divididos em três grandes áreas: Agrárias e Ambientais, Ciência dos Alimentos e Saúde.

A área “Agrárias e Ambientais”, é apresentada através de seis artigos que tratam sobre temas de imensa importância como avaliação da qualidade da água, germinação de plantas, fitotoxicidade de antibióticos, produção de biomassa e prospecção de genes.

A área de “Ciência dos Alimentos”, é composta por cinco artigos que abordam temas referentes a aplicação de bactérias na produção de alimentos, estabilidade de compostos antimicrobianos, produção de corantes naturais, produção de hidrolisados proteicos e produção de lacases.

A área de “Saúde”, aborda diante da publicação de cinco artigos, temas relevantes sobre método de determinação da int-cfDNA, eficácia de vacina para a linfadenite caseosa, estudo piloto de biomarcadores em carcinomas, efeito de dietas suplementadas com microalgas, genes alvo para o controle *in vitro* das condições de estresse térmico e oxidativo em condições de estresse *in vitro*.

Através desta obra pretende-se oferecer um instrumento teórico e metodológico para auxiliar nos estudos e ampliar o conhecimento sobre a biotecnologia aplicada nas áreas descritas. Por fim, desejamos a todos uma excelente leitura e ótimas descobertas!

Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan

SUMÁRIO

Apresentação..... 03

Área: Agrárias e Ambientais

CAPÍTULO I

A GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE CAPIM ANONNI É REDUZIDA NA AUSÊNCIA DE LUZ
Joseila Maldaner, Gerusa Pauli Kist Steffen, Tamires Moro, Cleber Witt Saldanha, Evandro Luiz Missio, Rosana Matos de Moraes, Ionara Fátima Conterato e Rejane Flores..... 07

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE NASCENTES NA BACIA DO ARROIO ANDRÉAS, RS, BRASIL, ATRAVÉS DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E GENTOXICOLÓGICOS UTILIZANDO O ENSAIO COMETA
Daiane Cristina de Moura, Cristiane Márcia Miranda Sousa, Alexandre Rieger e Eduardo Alcayaga Lobo..... 19

CAPÍTULO III

FITOTOXICIDADE DO ANTIBIÓTICO CEFALOTINA EM SEMENTES DE ALFACE (*LACTUCA SATIVA*)
Caroline Lopes Feijo Fernandes, Laiz Coutelle Honscha e Flávio Manoel Rodrigues da Silva Júnior..... 39

CAPÍTULO IV

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES PELETIZADAS DE *Eucalyptus grandis* (MYRTACEAE)
Denise Russowski, Cinthia Gabriela Garlet, Frederico Luiz Reis, Leonardo Menezes, Liziane Maria Barassuol Morandini, Juçara Terezinha Paranhos, Zaida Inês Antonioli e Ademir Farias Morel..... 47

CAPÍTULO V

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *ASPERGILLUS SP.* PELA UTILIZAÇÃO DE RESÍDUO DE PÓ DE FUMO PROVENIENTE DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE TABACO
Joyce Cristina Gonçalvez Roth e Valeriano Antonio Coberllini..... 64

CAPÍTULO VI

PROSPEÇÃO DE GENES DE REFERÊNCIA PARA qPCR EM PEIXE-REI (*Odontesthes humensis*): CLONAGEM, SEQUENCIAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO GENE DA β -ACTINA

Lucas dos Santos da Silva, Bruna Fagundes Barreto, Ingrid Medeiros Lessa, William Borges Domingues, Tony Leandro Rezende da Silveira e Vinicius Farias Campos..... 73

Área: Ciência dos Alimentos

CAPÍTULO VII

- APLICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS NA FABRICAÇÃO DE ALIMENTOS UMA REVISÃO
Ketlin Schneider, Fernanda Megiolaro, César Milton Baratto e Jane Mary Lafayette Neves Gelinski..... 83

CAPÍTULO VIII

- ESTABILIDADE DO COMPOSTO ANTIMICROBIANO DE *Pleurotus sajor-caju* FRENTE A CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO
Camila Ramão Contessa, Nathiéli Bastos de Souza, Guilherme Battú Gonçalo, Luciano dos Santos Almeida, Ana Paula Manera e Caroline Costa Moraes..... 101

CAPÍTULO IX

- PRODUÇÃO DE CORANTES NATURAIS A PARTIR DE FUNGOS POR FERMENTAÇÃO SUBMERSA PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL
Priscila Molinares dos Santos e Lisiâne de Marsillac Terra..... 113

CAPÍTULO X

- PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS PROTEICOS A PARTIR DE CARCAÇAS DE FRANGO DESOSSADAS MANUALMENTE UTILIZANDO ENZIMAS PROTEOLÍTICAS
Mari Silvia Rodrigues de Oliveira, Felipe de Lima Franzen e Nelcindo Nascimento Terra..... 123

CAPÍTULO XI

- PRODUÇÃO DE LACASES POR *Marasmiellus palmivorus* VE-111 EM BIORREATOR DE AGITAÇÃO MECÂNICA E SUA APLICAÇÃO NA DEGRADAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS
Camila Cantele, Roselei Claudete Fontana e Aldo José Pinheiro Dillon..... 144

Área: Saúde

CAPÍTULO XII

- AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO cfDNA ATRAVÉS DE qPCR COM OS PRIMERS L1PA2
Alessandra Koehler, Danieli Rosane Dallemole e Alexandre Rieger..... 157

CAPÍTULO XIII

- EFICÁCIA DA FOSFOLIPASE D RECOMBINANTE DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* NA COMPOSIÇÃO DE VACINA DE SUBUNIDADE PARA A LINFADENITE CASEOSA
Rodrigo Barros de Pinho, Mara Thais de Oliveira Silva, Silvestre Brilhante Bezerra, Raquel Nascimento das Neves, Vasco Ariston de Carvalho Azevedo e Sibele Borsuk..... 169

CAPÍTULO XIV

EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DE BIOMARCADORES EM CARCINOMAS DE CABEÇA E PESCOÇO: ESTUDO PILOTO

Rosane Giacomini, Alessandra Eifler Guerra Godoy, Isnard Elman Litvin e Fábio Firnbach Pasqualotto.....184

CAPÍTULO XV

REDUÇÃO DE GANHO DE PESO CORPORAL EM CAMUNDONGOS COM DIETA SUPLEMENTADA COM MICROALGAS

Julia Livia Nonnenmacher, Mayara Breda, Alexandre Matthiensen, Helissara Silveira Diefenthäeler, Elisabete Maria Zanin e Silvane Souza Roman.....193

CAPÍTULO XVI

RESPOSTA TRANSCRICIONAL DE *Mycoplasma hyopneumoniae* A CONDIÇÕES DE ESTRESSE *in vitro*

Gabriela Merker Breyer, Franciele Maboni Siqueira e Irene Silveira Schrank.....205

Sobre as organizadoras.....219

Sobre os autores.....220

CAPÍTULO XVI

RESPOSTA TRANSCRICIAL DE *Mycoplasma hyopneumoniae* A CONDIÇÕES DE ESTRESSE *in vitro*

**Gabriela Merker Breyer
Franciele Maboni Siqueira
Irene Silveira Schrank**

RESPOSTA TRANSCRICIONAL DE *Mycoplasma hyopneumoniae* A CONDIÇÕES DE ESTRESSE *in vitro*

Gabriela Merker Breyer

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia.

Porto Alegre – RS.

Franciele Maboni Siqueira

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia.

Porto Alegre – RS.

Irene Silveira Schrank

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia, Centro de Biotecnologia.

Porto Alegre – RS.

RESUMO: *Mycoplasma hyopneumoniae*, agente etiológico da pneumonia enzoótica suína, possui genoma reduzido, com poucos mecanismos de regulação conhecidos. Apesar da escassez de ferramentas moleculares para estudos *in vitro*, trabalhos anteriores demonstraram que *M. hyopneumoniae* é capaz de responder a nível transcracional a condições de estresse. Objetivando o melhor entendimento dos mecanismos que regulam sua expressão, este trabalho visa identificar genes alvo para o controle *in vitro* das condições de estresse térmico e oxidativo, confirmando a expressão diferencial de genes preditos como envolvidos nestas condições. Portanto, foram selecionados nove genes considerados diferencialmente expressos em análises anteriores, sendo cinco genes regulados na condição de estresse térmico (*glpK*, *glpF*, *dnaK*, *dnaJ* e *oppC*), e quatro na condição de estresse oxidativo (*atpB*, *glyS*, *mglA*, *ftsY*). Foram realizados cultivos de *M. hyopneumoniae* em condições de cultivo controle, de estresse térmico e de estresse oxidativo. O RNA total de cada cultivo foi extraído e empregado na síntese de cDNA, através de reações de transcrição reversa (RT). Os cDNAs foram empregados como molde na reação de PCR quantitativo (qPCR). Todos os genes alvo foram testados nas três condições de cultivo analisadas. Foi possível demonstrar expressão diferencial em cinco genes na condição de estresse térmico, e em três genes na condição de estresse oxidativo. Estes resultados sugerem a ocorrência da indução da expressão gênica diferencial em *M. hyopneumoniae* frente às condições de estresse testadas *in vitro*.

PALAVRAS-CHAVE: regulação gênica; RT-qPCR; estresse térmico; estresse oxidativo; cultivo celular.

1. INTRODUÇÃO

Mycoplasma é um gênero de bactérias da classe Mollicutes, que compreende um grupo de mais de 200 espécies, cuja principal característica é a ausência de parede celular. São considerados os menores e mais simples organismos autorreplicativos já identificados, possuindo genomas pequenos e alto conteúdo A+T (SIMIONATTO et al., 2013). Morologicamente, são relacionadas a bactérias Gram-

negativas, por apresentarem apenas uma membrana trilaminar simples. Entretanto, filogeneticamente, são relacionadas a bactérias Gram-positivas, compartilhando um ancestral comum com os gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Clostridium* (WOLF et al., 2004). A evolução da classe Mollicutes teria ocorrido por degeneração ou redução do genoma de bactérias Gram-positivas com alto conteúdo A+T, seguida de perda de sequências genômicas (WOESE, 1987). Concomitante a isso, o modo de vida parasitário destas bactérias permitiu a compactação de seu genoma (RAZIN, 1999).

Muitos micoplasmas fazem parte da microbiota normal do hospedeiro, sendo alguns patogênicos. Comumente, micoplasmas patogênicos não causam doenças graves, mas sim infecções de curso crônico que podem ser agravadas através de infecções oportunistas por outros patógenos.

A espécie *M. hyopneumoniae* está associada a suínos, sendo conhecida por ser o agente etiológico da pneumonia enzoótica suína. Esta doença afeta o trato respiratório destes animais, sendo caracterizada por altas taxas de morbidade e baixas taxas de mortalidade, gerando significativas perdas econômicas na área da suinocultura, devido ao aumento do uso de medicações e diminuição do desempenho animal. Infecções por *M. hyopneumoniae* são altamente prevalentes em suínos em grande parte das áreas de produção em todo mundo, estando presente em 38-100 % dos animais (MAES et al., 2008; SIMIONATTO et al., 2013).

Até o momento, seis linhagens de *M. hyopneumoniae* tiveram seus genomas completamente sequenciados: as patogênicas, 7448, 232, 7422, 168 e 168-L, e a não-patogênica, J (MINION et al., 2004; VASCONCELOS et al., 2005; SIQUEIRA et al., 2013; LIU et al., 2011; LIU et al., 2013). A linhagem de *M. hyopneumoniae* 7448 foi utilizada em diversos trabalhos por nosso grupo, com o objetivo de melhor caracterizar seu genoma, organização gênica e elementos reguladores.

Os mecanismos de regulação gênica em *M. hyopneumoniae* ainda são pouco conhecidos e, por se tratar de um micro-organismo com genoma reduzido, esta bactéria possui poucos genes que sabidamente estão envolvidos na regulação gênica. Entretanto, diversos estudos realizados pelo nosso grupo apontam a presença de possíveis elementos reguladores no seu genoma, tais como promotores (WEBER et al., 2012), terminadores (FRITSCH et al., 2015), small RNAs (sRNAs) (SIQUEIRA et al., 2016) e sequências repetitivas (CATTANI et al., 2016). Estes elementos, frente a situações de estresse, podem atuar na regulação da expressão gênica desta bactéria, com o objetivo de manter a viabilidade celular. Portanto, mais estudos nesta área são necessários para melhor compreender o perfil transcracional dos genes de *M. hyopneumoniae* frente a condições de estresse. Para isso, os protocolos de indução de condições de estresse *in vitro* devem estar bem estabelecidos, para melhor mimetizarem o que ocorre na célula *in vivo*.

Análises transcritômicas já realizadas em *M. hyopneumoniae* determinaram os níveis de transcrição de alguns genes deste micro-organismo, possibilitando melhor compreender a estrutura do genoma e os mecanismos de infecção do mesmo. Em análise do transcritoma total de *M. hyopneumoniae* em condições de cultivo controle, observou-se que a maioria dos genes que compõem o genoma desta

bactéria (92%) são constitutivamente expressos (SIQUEIRA et al., 2014). Também já foram realizadas análises de microarranjo em *M. hyopneumoniae* em condições de cultivo atípicas (MADSEN et al., 2006A; MADSEN et al., 2006B; SCHAFER et al., 2007; ONEAL et al., 2008; MADSEN et al., 2008), permitindo a determinação do perfil de transcrição dos genes deste organismo em condições de estresse para a célula.

O presente trabalho tem como objetivo a identificação de genes alvo para o controle in vitro das condições de estresse térmico e oxidativo, através da confirmação da expressão diferencial de genes preditos como envolvidos nestas condições em *M. hyopneumoniae* 7448, através de análises de RT-qPCR.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Projeção dos primers

Para confirmar a indução de estresse nos cultivos realizados foram selecionados genes alvo para o controle in vitro das condições de estresse térmico e oxidativo, baseado na literatura existente. Foram projetados primers para nove genes, apontados como diferencialmente expressos em análises de microarranjo (MADSEN et al., 2006B; SCHAFER et al., 2007), sendo eles: cinco genes regulados positivamente na condição de estresse térmico (*glpK*, *glpF*, *dnaK*, *dnaJ* e *oppC*), e quatro genes regulados positivamente (*atpB*, *glyS* e *mgI*A) ou negativamente (*ftsY*) na condição de estresse oxidativo (Tabela 1). Os alvos foram testados nas três condições de cultivo analisadas neste trabalho.

Estes genes estão envolvidos em: transporte celular (*atpB*, *mgI*A e *oppC*), síntese de tRNAs (*glyS*), divisão celular (*ftsY*), atuam como proteínas de choque térmico (*dnaK* e *dnaJ*), e participam de rotas metabólicas (*glpK* e *glpF*).

Tabela 1. Características dos primers empregados.

Regulação*	Gene	Primer	Sequência (5'-3')	Tm (°C)	Fragamento (pb)	Eficiência **
↑ EO	<i>atpB</i>	atpB F	TCAGGCCTCCAGTGAATCTATC	56.3	186	1,878
		atpB R	TGCTTCATCCTGATTACCTCC	54.5		
↑ EO	<i>glyS</i>	glyS F	GGGTGGGGTGAATTGATTGG	56.3	165	1,865
		glyS R	CGCCAACATTAACGATCAAGG	54.7		
↑ EO	<i>mglA</i>	mglA F	CAACCGCAAGTTTCATCCTCG	56.9	158	1,878
		mglA R	ACCCGATCAGCGATTCCGATAAC	58.9		
↓ EO	<i>ftsY</i>	ftsY F	GTCAAAATGGGTTTGCAGG	57.1	165	1,937
		ftsY R	CATCCATCGCTTCGCCAGTC	58.7		
↑ CT	<i>dnaK</i>	dnaK F	CTGCTCCACGAGGTCTCCCC	62.0	181	1,868
		dnaK R	TCACGATTTCTTCGGCTTCCTG	57.5		
↑ CT	<i>dnaJ</i>	dnaJ F	GTGAGGTCTCCAGCCCAACC	62.7	173	1,953
		dnaJ R	TGACGGGGACTAAATCGGGG	59.1		
↑ CT	<i>oppC</i>	oppC F	CCGATTTCACAAGCCGATCCTG	58.4	178	1,861
		oppC R	GAATCTGCCAGCGATTGGG	56.7		
↑ CT	<i>glpK</i>	glpK F	GCAGGCAGCAAAACAAAGGCG	60.6	158	1,888
		glpK R	CACAAAATCACTCGCGGCG	59.6		
↑ CT	<i>glpF</i>	glpF F	GATCCTAGTGAAGTCCAAGTG	60.8	174	1,889
		glpF R	CTGCCATCATACAAGCCCTG	62.4		
***	<i>pcrA</i>	pcrA F	GCATGATTTCCCGATCTCCAG	56.0	184	1,872
		pcrA R	CTTCAGCTCCCCTTCATTGGC	58.5		
MHP7448_333	333 F		TGGGCAATCAAGAACGAAAC	53.6	166	1,918
		333 R	TGAAAACGGAAAACACCTTG	51.5		

* Resposta a nível transcripcional do gene à condição de estresse oxidativo (EO) (SCHAFER et al., 2007) ou térmico (CT) (MADSEN et al., 2006B) quando comparado ao cultivo controle, de acordo com análises de microarranjo. As setas indicam regulação positiva (↑) ou negativa (↓).

** A eficiência dos primers foi calculada pelo software LinRegPCR com base nos resultados de qPCR.

*** Os primers do gene *pcrA* foram utilizados nas reações de PCR para confirmação do tratamento com DNase e da síntese de cDNA. Os primers do gene MHP7448_333 foram utilizados na qPCR, como gene normalizador.

Para garantir que a eficiência dos primers construídos não foi um fator que influenciou os resultados de expressão relativa dos genes analisados, a mesma foi verificada através do software LinRegPCR. Os valores de eficiência dos primers estão descritos na Tabela 1.

2.2. Linhagem bacteriana e condições de cultivo

Os experimentos apresentados neste trabalho foram realizados com a linhagem patogênica 7448 de *M. hyopneumoniae*, isolada de um suíno que apresentava pneumonia enzoótica suína (VASCONCELOS et al., 2005).

Os cultivos foram realizados em meio Friis líquido (FRIIS, 1975), em três condições diferentes: i) controle: cultivado a 37 °C por 24 h, sob leve agitação; ii) estresse térmico: cultivo igual ao controle, seguido de incubação a 30 °C por 2 h e a 42 °C por 30 min (MADSEN et al., 2006B); e, iii) estresse oxidativo: cultivo igual ao controle, seguido da adição de 1 % de peróxido de hidrogênio e incubação a 37 °C por 15 min (SCHAFER et al., 2007). Os ensaios foram realizados em duplicatas biológicas.

O crescimento de *M. hyopneumoniae* pode ser visualizado pela acidificação do meio gerada pela oxidação da glicose, causando alteração do pH e mudança de coloração do meio Friis para amarelo, devido a presença do indicador de pH vermelho fenol.

2.3. Extração e quantificação de RNA de *M. hyopneumoniae*

Para cada condição de cultivo foram realizadas extrações de RNA total de *M. hyopneumoniae* a partir de 30 mL de cultivo utilizando o kit Illustra™ RNAspin Mini RNA isolation kit (GE Healthcare Life Sciences), seguindo a descrição do fabricante. A qualidade do RNA extraído foi verificada em gel de agarose 1 %.

Os RNAs extraídos foram nomeados da seguinte forma: C1 e C2 (extrações em condição de cultivo controle); CT1 e CT2 (extrações em condição de estresse térmico); e, E01 e E02 (extrações em condição de estresse oxidativo). E foram quantificados através do kit de quantificação de RNA Qubit® RNA HS Assay kit (Thermo Fischer Scientific) pelo equipamento Qubit® Fluorometer.

Para eliminação de DNAs contaminantes nas amostras de RNA foi realizado um tratamento com DNase I (50 U/µL – Fermentas) em 3 µg de cada RNA, em um volume total de 30 µL de reação. Os RNAs extraídos foram tratados com 40 U de DNase I, e incubados a 37 °C por 30 min, seguidos de adição de EDTA e uma incubação a 65 °C por 10 min, para inativação da enzima. Após o tratamento, a qualidade e a integridade do RNA tratado foi novamente verificada através de gel de agarose 1 %.

Posteriormente, foram realizadas reações em cadeia de polimerase (PCR) com os RNAs tratados, para confirmar a eficiência do tratamento, ou seja, a ausência de DNA contaminante. O par de primers do gene pcrA foi utilizado nestas reações (Tabela 1).

2.4. Síntese de cDNA e PCR quantitativo

A síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada através de reações de transcrição reversa (RT) para cada RNA extraído e tratado com DNase I.

Para cada reação, com um volume final de 30 µL, foi utilizada 500 ng de RNA total, 132,5 ng de primer randômico e 10 mM de dNTPs, incubados a 65 °C por 5 min, e imediatamente incubado no gelo, para evitar a formação de estruturas secundárias no RNA. Posteriormente, foi adicionado 10X Tampão First Strand, e 0,1 M de DTT, sendo incubados a 37 °C por 2 min. Por fim, foi adicionado 200 U da enzima MMLV-RT (Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase) (Invitrogen) e incubadas a 25 °C por 10 min, 37 °C por 50 min e 70 °C por 15 min. Os controles negativos das reações de síntese foram realizados em paralelo, porém sem a adição de MMLV-RT. Os cDNAs foram diluídos 1:5 com água DEPC, totalizando 100 µL, e armazenados a -20 °C. Para confirmar a síntese de fita dupla foi realizada

uma reação de PCR, utilizando como molde cada cDNA sintetizado. Para estas reações foram utilizados os primers do gene pcrA (Tabela 1).

Os níveis de expressão dos genes alvo foram verificados através de PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR), utilizando o equipamento 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) e o sistema Platinum™ SYBR™ Green qPCR SuperMix – UDG (Invitrogen).

Cada reação foi composta de 1 µL de cDNA diluído, 10 pmol de cada primer, 7,5 µL de Platinum™ SYBR™, e 1 µL do reagente ROX (0,1 X), totalizando um volume final de 15 µL. As condições utilizadas para amplificação foram as seguintes: uma etapa de desnaturação a 90 °C por 2 min, seguida de 10 min a 95 °C e 40 ciclos de 95 °C por 15 s, e 60 °C por 1 min. O valor de corte (threshold) foi determinado manualmente, em uma região linear da curva de amplificação logarítmica. A eficiência de cada par de primers foi analisada através de curva de melting.

As reações aqui descritas foram realizadas juntamente com os seguintes controles do método: replicatas de reações sem cDNA (NTC) como controle negativo da reação; e reações com os cDNAs negativos de cada uma das extrações realizadas (NRTC) como controle da RT realizada previamente.

O cálculo de expressão relativa dos mRNAs foi realizado através do método $2^{-\Delta CT}$, corrigido de acordo com o valor de eficiência dos primers. Os valores de expressão dos genes controles das condições de estresse foram normalizados em relação ao valor de expressão do gene MHP7448_0333 (MADSEN et al., 2008; MOITINHO-SILVA et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2014). Para cada gene alvo foram realizadas triplicatas técnicas e duplicatas biológicas. As análises estatísticas da expressão relativa dos genes alvo foram realizadas através do software GraphPad Prism 6, utilizando o teste One-way ANOVA by Tukey's multi comparision ($P<0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Isolamento de RNA

A qualidade dos RNAs de *M. hyopneumoniae* extraídos em cada condição de cultivo foi verificada através de géis de agarose 1 %, onde foi possível observar a presença das bandas 16S e 23S de RNA ribossômico, indicando a integridade das amostras (Figura 1A). As concentrações dos RNAs extraídos variaram de 120 a 380 ng/µL.

Os RNAs foram tratados com DNase I para eliminação de DNAs remanescentes, e a qualidade dos RNAs após o tratamento enzimático e térmico foi mantida (Figura 1B). Além disso, para confirmar o tratamento com DNase I, os RNAs tratados foram utilizados como molde em reações de PCR. Cada amostra de RNA foi testada em uma reação juntamente com um controle positivo da reação de PCR (DNA de *M. hyopneumoniae*), e um controle negativo da reação de PCR (reação sem molde). Todos os tratamentos de eliminação de DNAs foram satisfatórios, uma vez que não houve amplificação nas reações utilizando RNA, indicando a ausência de

DNA nas amostras (Figura 1C).

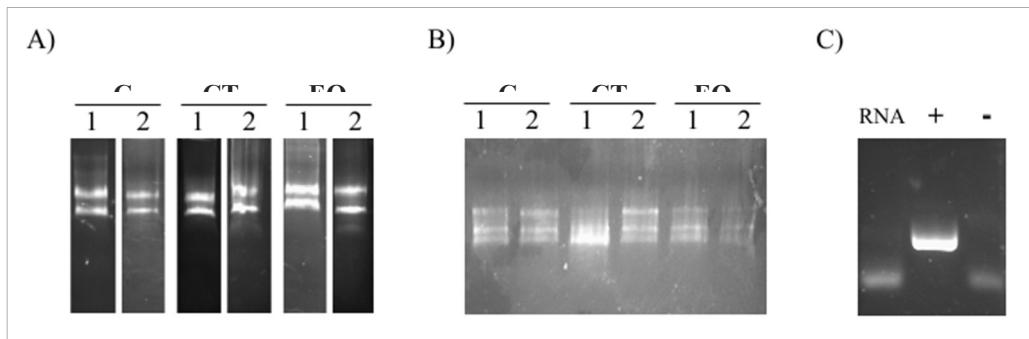


Figura 1. Verificação da qualidade dos RNAs extraídos em cada condição através de eletroforese em gel de agarose, A) antes e B) após o tratamento com DNase I. As condições de cultivo estão indicadas por: cultivo controle (C), estresse térmico (CT) e estresse oxidativo (EO). Os números 1 e 2 indicam as duplicatas biológicas. C) Exemplo da confirmação do tratamento com DNase I por reação de PCR, empregando os primers do gene pcrA de *M. hyopneumoniae* 7448 (banda de 184 pb). As canaletas indicam a reação com reação com RNA, o controle positivo da reação de PCR (+) e o controle negativo da reação de PCR (-).

3.2. Síntese de cDNA

A síntese de cDNA a partir de cada amostra de RNA tratado foi confirmada através de reações de PCR. Cada cDNA foi testado juntamente com um controle negativo da reação de RT, um controle positivo da reação de PCR (DNA de *M. hyopneumoniae*) e um controle negativo da reação de PCR (reação sem molde). Em todas as reações de RT houve a síntese de cDNA, como pode ser observado no exemplo ilustrado na Figura 2.

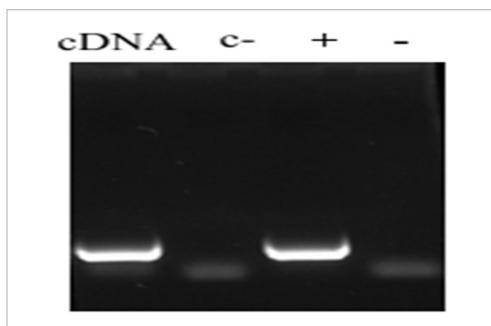


Figura 2. Exemplo da confirmação da síntese de cDNA por reação de PCR, empregando os primers do gene pcrA de *M. hyopneumoniae* 7448 (banda de 184 pb). As canaletas indicam a reação com cDNA, a reação controle da reação de RT (c-), o controle positivo da reação de PCR (+) e o controle negativo da reação de PCR (-).

3.3. Confirmação da indução das condições de cultivo em estresse

Anteriormente, através de microarranjo, foi determinado o perfil transcrecional de *M. hyopneumoniae* 232 submetido a estresse térmico (MADSEN et al., 2006B),

onde foi demonstrado que os genes de *M. hyopneumoniae* 232 regulados positivamente estão relacionados ao metabolismo e enovelamento de proteínas. Os genes regulados negativamente nesta condição estão associados à tradução e replicação de DNA, indicando que mudanças na temperatura tornam a fisiologia celular mais lenta (MADSEN et al., 2006B).

Dos possíveis genes confirmatórios da condição de estresse térmico testados no presente trabalho, quatro (*glpK*, *glpF*, *dnaK* e *dnaJ*) tiveram sua expressão relativa elevada quando comparados ao cultivo controle ($P < 0,05$), corroborando com os resultados obtidos anteriormente (MADSEN et al., 2006B), sendo, portanto, genes adequados para o controle para tal condição. O gene *oppC* apresentou diminuição nos níveis de expressão quando comparado ao cultivo controle, comportamento divergente ao determinado pelo microarranjo realizado anteriormente, onde sua expressão foi elevada (MADSEN et al., 2006B) (Figura 3).

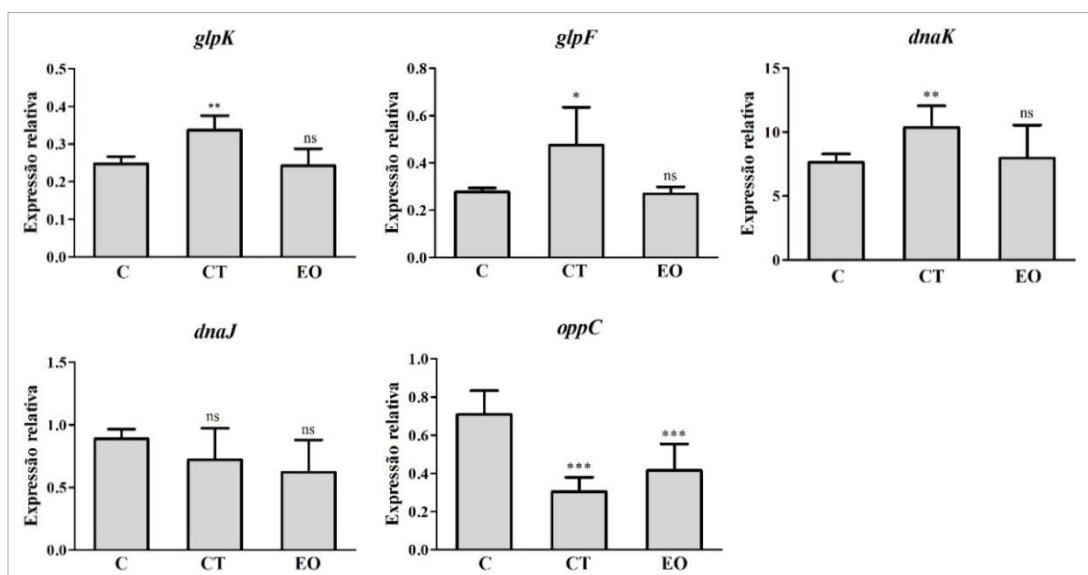


Figura 3. Expressão relativa dos genes confirmatórios da condição de estresse térmico. O eixo indica a expressão relativa de mRNA ($2^{-\Delta CT}$), e o eixo X indica as condições de cultivo analisadas, sendo cultivo controle (C), condição de estresse térmico (CT) e condição de estresse oxidativo (EO). O grau de significância da expressão do cultivo em estresse comparado ao cultivo controle é de 95 % (*), 99 % (**) ou 99,9 % (***)

Também por microarranjo, foi determinado o perfil transcracional de *M. hyopneumoniae* 232 submetido a estresse oxidativo (SCHAFFER et al., 2007), onde foi demonstrado que os genes que apresentaram regulação positiva estão associados à síntese de tRNAs e regulação da tradução, sugerindo que esta condição leva a um aumento na síntese proteica. Os genes regulados negativamente nesta condição estão associados à replicação de DNA e, paradoxalmente, na montagem do ribossosomo para conservação de energia da célula, e processamento proteico, sugerindo que estes processos ocorrem mais lentamente nesta condição (SCHAFFER et al., 2007).

Dos possíveis genes confirmatórios da condição de estresse oxidativo testados no presente trabalho, *ftsY* teve sua expressão diminuída quando

comparado ao cultivo controle ($P<0,05$), corroborando com a literatura existente (SCHAFFER et al., 2007), e se mostrando um gene controle da indução desta condição in vitro. Entretanto, *mglA* e *glyS* não apresentaram mudanças significativas nos seus níveis de expressão, e *atpB* apresentou comportamento divergente ao observado anteriormente, onde sua expressão foi elevada (SCHAFFER et al., 2007) (Figura 4).

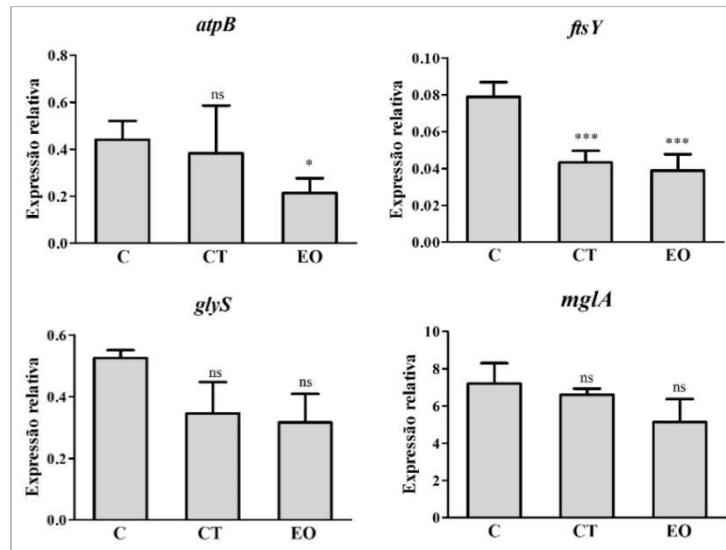


Figura 4. Expressão relativa dos genes confirmatórios da condição de estresse oxidativo. O eixo y indica a expressão relativa de mRNA ($2^{-\Delta CT}$), e o eixo X indica as condições de cultivo analisadas, sendo cultivo controle (C), condição de estresse térmico (CT) e condição de estresse oxidativo (EO). O grau de significância da expressão do cultivo em estresse comparado ao cultivo controle é de 95 % (*), 99 % (**) ou 99,9 % (***)).

Como pode ser observado, os genes *glpK* e *dnaK* também tiveram variações dos seus níveis de expressão na condição de estresse oxidativo (Figura 3), bem como o gene *ftsY*, que apresentou expressão diferencial na condição de estresse térmico (Figura 4). Apesar destes genes não terem apresentado expressão diferencial nas análises anteriores nestas condições, o atual resultado demonstra que são possíveis genes controle destas condições, por confirmarem que as metodologias empregadas causam dano na célula e consequentemente a alteração dos seus níveis de transcrição.

As divergências observadas nos resultados de *oppC* e *atpB* podem ser justificadas pelo uso de linhagens e metodologias distintas. Os trabalhos anteriores empregaram a técnica de microarranjo nas análises de perfil transcrecional e utilizaram *M. hyopneumoniae* linhagem 232; enquanto que no presente trabalho, a metodologia de RT-qPCR foi empregada em *M. hyopneumoniae* linhagem 7448. Discrepâncias entre resultados que comparam estas duas técnicas são relatados (DALLAS et al., 2005), sendo atribuídos à qualidade do RNA analisado, à presença de contaminantes, ao tipo de corante empregado, e ao método de normalização dos resultados empregado (MOREY et al., 2006).

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho possibilitam a confirmação da indução das condições de estresse térmico e oxidativo, visto que foram observadas diferenças significativas entre os níveis de expressão relativa de genes alvo no cultivo controle e nas condições de estresse. De modo geral, a metodologia de indução de estresse térmico resultou na alteração dos níveis transcripcionais de cinco genes analisados (glpK, glpF, dnaK, dnaJ e ftsY), e a metodologia de indução de estresse oxidativo alterou os níveis transcripcionais de três genes analisados (oppC, atpB e ftsY).

Ao confirmar que estas metodologias mimetizam as condições de estresse térmico e oxidativo, é possível empregá-las em estudos futuros sobre a regulação da expressão gênica global em *M. hyopneumoniae*.

Finalmente, é importante ressaltar que a regulação da expressão gênica é um processo complexo que pode ser influenciado por diversos fatores. Portanto os resultados obtidos neste trabalho servem para agregar conhecimento ao importante tema de regulação da transcrição gênica em *M. hyopneumoniae*.

REFERÊNCIAS

- BASEMAN, J. B.; LANGE, M.; CRISCIMAGMA, N. L.; GIRON, J. A.; THOMAS, C. A. **Interplay between mycoplasmas and host target cells.** *Microb Pathog*, 19(2):105-116, 1995.
- CATTANI, A. M.; SIQUEIRA, F. M.; GUEDES, R. L.; SCHRANK, I. S. **Repetitive elements in *Mycoplasma hyopneumoniae* transcriptional regulation.** *PLoS One*. 2016. 705
- DALLAS, P. B.; GOTTARDO, N. G.; FIRTH, M. J.; BEESLEY, A. H.; HOFFMANN, K.; TERRY, P. A.; FREITAS, J. R.; BOAG, J. M.; CUMMINGS, A. J.; KEES, U. R. **Gene expression levels assessed by oligonucleotide microarray analysis and quantitative real-time RT-PCR – how well do they correlate?** *BMC Genomics*. 2005.
- DYBVIG, K.; VOELKER, L. L. **Molecular biology of mycoplasmas.** *Annu Rev Microbiol*, 50:25-57, 1996.
- FRIIS, N. **Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suisneumoniae* and *Mycoplasma flocculare* a survey.** *Nord Vet Med*, 27 pp. 337-339, 1975.
- FRITSCH, T. E.; SIQUEIRA, F. M.; SCHRANK, I. S. **Intrinsic terminators in *Mycoplasma hyopneumoniae* transcription.** *BMC Genomics*, 2015.

LIU, W.; FENG, Z.; FANG, L.; ZHOU, Z; LI, Q.; LI, S.; LUO, R.; WANG, L.; CHEN, H.; SHAO, G.; XIAO, S. **Complete sequence of *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 168.** *J Bacteriol*, 193(4):1016-1017, 2011.

LIU, W.; XIAO, S.; LI, M.; GUO, S.; LI, S.; LUO, R.; FENG, Z.; LI, B.; ZHOU, Z; SHAO, G.; CHEN, H.; FANG, L. **Comparative genomic analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* pathogenic 168 strain and its high-passaged attenuated strain.** *BMC Genomics*, 14:80, 2013.

MADSEN, M. L.; NETTLETON, D.; THACKER, E. L.; MINION, F. C. **Transcriptional profiling of *Mycoplasma hyopneumoniae* during iron depletion using microarrays.** *Microbiology*. 152(Pt 4):937-44, 2006A.

MADSEN, M. L.; NETTLETON, D.; THACKER, E. L.; EDWARDS, R.; MINION, F. C. **Transcriptional profiling of *Mycoplasma hyopneumoniae* during heat shock using microarrays.** *Infect Immun*, 74:167–174, 2006B.

MADSEN, M. L.; PUTTAMREDDY, S.; THACKER, E. L.; CARRUTHERS, M. D.; MINION, F. C. **Transcriptome changes in *Mycoplasma hyopneumoniae* during infection.** *Infect Immun*, 76:658–663, 2008.

MAES, D.; SEGALES, J.; MEYNS, T.; SIBILA, M.; PIETERS, M.; HAESEBROUCK, F. **Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs.** *Vet Microbiol*, 126:297-309, 2008.

MINION, F. C.; LEFKOWITZ, E. J.; MADSEN, M. L.; CLEARY, B. J.; SWARTZELL, S. M.; MAHAIRAS, G. G. **The genome sequence of *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 232, the agent of swine mycoplasmosis.** *J Bacteriol*, 186(21):7123-33, 2004.

MOITINHO-SILVA, L.; HEINECK, B. L.; REOLON, L. A., PAES, J. A., KLEIN, C. S.; REBELATTO, R.; SCHRANK I. S.; ZAHA, A.; FERREIRA, H. B. ***Mycoplasma hyopneumoniae* type I signal peptidase: expression and evaluation of its diagnostic potential.** *Vet Microbiol*, 154:282–291, 2011.

MOREY, J. S; RYAN, J. C; VAN DOLAH, F. M. **Microarray validation: factors influencing correlation between oligonucleotide microarray and real-time PCR.** *Biol. Proced.* 2006.

NATHUES, H.; DOEHRING, S.; WOESTE, H.; FAHRION, A.S.; DOHERR, M.G.; GROSSE BEILAGE, E. **Individual risk factors for *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in suckling pigs at the age of weaning.** *Acta Vet Scand*, 55, 2013.

ONEAL, M. J.; SCHAFER, E. R.; MADSEN, M. L.; MINION, F. C. **Global transcriptional analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* following exposure to norepinephrine.**

Microbiology. 154(Pt 9):2581-8, 2008.

RAZIN, S. Adherence of pathogenic mycoplasmas to host cells. Biosci Rep, 19(5):367-372, 1999.

SCHAFER, E. R.; ONEAL, M. J.; MADSEN, M. L.; MINION, F. C. Global transcriptional analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* following exposure to hydrogen peroxide. Microbiology, 2007.

SIMIONATTO, S.; MARCHIORO, S. B.; MAES, D.; DELLAGOSTIN, O. A. *Mycoplasma hyopneumoniae: From disease to vaccine development*. Vet Microbiol, 165:234-242, 2013.

SIQUEIRA, F. M.; THOMPSON, C. E.; VIRGINIO, V. G.; GONCHOROSKI, T.; REOLON, L.; ALMEIDA, L. G.; DA FONSECA, M. M.; DE SOUZA, R.; PROSDOCIMI, F.; SCHRANK, I. S.; FERREIRA, H. B.; DE VASCONCELOS, A. T.; ZAHA, A. *New insights on the biology of swine respiratory tract mycoplasmas from a comparative genome analysis*. [BMC Genomics](https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-175). 1186/1471-2164-14-175. 2013.

SIQUEIRA, F. M.; WEBER, S. S.; CATTANI, A. M.; SCHRANK, I. S. *Genome organization in Mycoplasma hyopneumoniae: identification of promoter-like sequences*. Molecular Biology Reports, 2014A.

SIQUEIRA, F. M.; GERBER, A. L.; GUEDES, L. R.; ALMEIDA, L. G.; SCHRANK, I. S.; VASCONCELOS, A. T.; ZAHA, A. *Unravelling the transcriptome profile of the swine respiratory tract mycoplasmas*. PLoS One, 2014B.

SIQUEIRA, F. M.; MORAIS, G. L.; HIGASHI, S.; BEIER, L. S.; BREYER, G. M.; GODINHO, C. P.; SAGOT, M.; SCHRANK, I. S.; ZAHA, A.; VASCONCELOS, A. T. R. *Mycoplasma non-coding RNA: identification of small RNAs and targets*. BMC Genomics, 2016.

THACKER, E.L.; MINION, F.C. *Mycoplasmosis* J. Zimmerman (Ed.), *Diseases of Swine*, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, pp. 779–797, 2010.

VASCONCELOS, A. T.; FERREIRA, H. B.; BIZARRO, C.V.; BONATTO, S. L.; CARVALHO, M. O.; PINTO, P. M.; ALMEIDA, D. F.; ALMEIDA, L. G., ALMEIDA, R., ALVES-FILHO, L., et al. *Swine and poultry pathogens: the complete genome sequences of two strains of Mycoplasma hyopneumoniae and a strain of Mycoplasma synoviae*. In J Bacteriol (United States), pp. 5568-5577, 2005.

WOESE, C. R. *Bacterial evolution*. Microbiol. Rev., 51(2):221-271, 1987.

WOLF, M.; MULLER, T.; DANDEKAR, T.; POLLACK, J. D. *Phylogeny of Firmicutes with special reference to Mycoplasma (Mollicutes) as inferred from phosphoglycerate*

kinase amino acid sequence data. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 54 (Pt 3): 871-875, 2004.

ABSTRACT: *Mycoplasma hyopneumoniae*, the etiological agent of porcine enzootic pneumonia, has a small genome with few known regulatory mechanisms. Despite the lack of in vitro molecular tools, previous studies demonstrated that *M. hyopneumoniae* responds to stress conditions. To understand the mechanism that controls gene expression in this bacterium, this paper aims to identify target genes to in vitro control of heat shock and oxidative stress conditions, through the confirmation of the differential gene expression of predict targets involved in these conditions. Therefore, nine genes differentially expressed in previous analysis were selected: five upregulated genes during heat shock (*glpK*, *glpF*, *dnaK*, *dnaJ* e *oppC*), and four up (*atpB*, *glyS* e *mglA*) or downregulated (*ftsY*) genes during oxidative stress. Cell cultures of *M. hyopneumoniae* were performed in standard condition, heat shock and oxidative stress. Total RNA of each culture was extracted and cDNA synthesis was performed by reverse transcription reactions (RT). cDNAs were used as templates in quantitative PCR reactions (qPCR). All target genes were tested in the three culture conditions. This approach allowed to determine that five genes are differentially expressed during heat shock, and three genes were differentially expressed during oxidative stress. These results suggest the induction of differential gene expression in *M. hyopneumoniae* during the stress conditions tested in vitro.

KEYWORDS: gene regulation; RT-qPCR; heat shock; oxidative stress; cell culture.

SOBRE AS ORGANIZADORAS

VANESSA BORDIN VIERA Bacharel e licenciada em Nutrição pelo Centro Universitário Franciscano (UNIFRA). Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente no Instituto Federal do Amapá (IFAP). Editora da subárea de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Journal of bioenergy and food science. Líder do Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos do IFAP. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de antioxidantes, desenvolvimento de novos produtos, análise sensorial e utilização de tecnologia limpas.

NATIÉLI PIOVESAN Graduada em Química Industrial e Tecnologia em Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Possui graduação no Programa Especial de Formação de Professores para a Educação Profissional. Mestre e Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente no Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN). Atua principalmente com o desenvolvimento de pesquisas na área de Antioxidantes Naturais, Qualidade de Alimentos e Utilização de Tecnologias limpas.

SOBRE OS AUTORES

ADEMIR FARIAS MOREL Graduado em Química pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), mestre em Química, área de concentração Química Orgânica pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), doutor em Química pela Universidade Tuebingen, Alemanha, pós-doutorado pela Universidade de Hamburg, Alemanha, ambos na área de Química Orgânica de Produtos Naturais Professor associado da Universidade Federal de Santa Maria.

ALDO JOSÉ PINHEIRO DILLON Professor da Universidade de Caxias do Sul; Membro do corpo docente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul; Graduação em Biologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; Mestrado em Agronomia pela Universidade de São Paulo; Doutorado em Genética Molecular e de Microrganismos pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Grupo de pesquisa do Laboratório de Enzimas e Biomassa; Bolsista Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq - Nível 1D. E-mail para contato: ajpdillo@ucs.br

ALESSANDRA EIFLER GUERRA GODOY Possui graduação em Medicina pela Universidade de Caxias do Sul (1996), mestrado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul (2005) e doutorado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul (2010). Atualmente é professora adjunta concursada da Universidade de Caxias do Sul, coordenadora o Museu de Patologia da UCS e Diretora do IPCEM. É médica patologista do Grupo Diagnose. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Anatomia Patológica, atuando principalmente nos seguintes temas: hpv, citopatologia, p16ink4, biomarcadores, neoplasias, dermatopatologia e patologia hepática.

ALESSANDRA EIFLER GUERRA GODOY Professor da Universidade de Caxias do Sul - UCS; Graduação em Medicina pela Universidade de Caxias do Sul - UCS; Mestrado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul - UCS; Doutorado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul - UCS; E-mail para contato: aeggodoy@gmail.com.

ALESSANDRA KOEHLER Atualmente é formanda do curso de Ciências Biológicas da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC. Já atuou como bolsista PIBITI-CNPq, em pesquisa de novas tecnologias para o diagnóstico de infecções genitourinárias. Profissionalmente, atua como Auxiliar Técnico no Laboratório de Histologia e Patologia da UNISC. Também atua como bolsista em projetos vinculados ao Laboratório de Biotecnologia e Genética da UNISC com ênfase no desenvolvimento de novas metodologias para avaliação de biópsias líquidas.

ALEXANDRE MATTHIENSEN Graduação em oceanologia pela Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Mestrado em Oceanografia Biológica pela Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Doutorado em Ciências Biológicas pela University of Dundee, DUNDEE, Escócia.

ALEXANDRE RIEGER Professor da Universidade de Santa Cruz do Sul; Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Mestrado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

Doutorado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Grupo de pesquisa: Limnologia

ANA PAULA MANERA Professora na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, campus Bagé – RS; Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, FURG. Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, FURG. Doutorado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. E-mail: ana.manera@unipampa.edu.br

BRUNA FAGUNDES BARRETO Graduanda em Biotecnologia (Bacharelado) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e Bolsista de Iniciação Tecnológica e Inovação Institucional - PROBITI/FAPERGS. Atualmente desenvolvendo pesquisas com ênfase em Transgênese Animal, Biologia Molecular, Genômica e Sequenciamento de Nova Geração, no Laboratório de Genômica Estrutural (CDTec)-UFPel, sob a orientação do Professor Dr. Vinicius Farias Campos. brunaf.barreto@live.com

CAMILA CANTELE Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade de Caxias do Sul; Grupo de pesquisa do Laboratório de Enzimas e Biomassa. E-mail para contato: camilacantele@gmail.com

CAMILA RAMÃO CONTESSA Graduanda em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, campus Bagé – RS; Grupo de pesquisa: Obtenção de biocompostos e microrganismos de interesse industrial; Bolsista de Iniciação científica pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). E-mail para contato: camilaramao@hotmail.com.

CAROLINE COSTA MORAES Professora na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, campus Bagé – RS; Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, FURG. Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, FURG. Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande, FURG com período sanduiche na Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. Grupo de pesquisa: Obtenção e purificação de bioproductos e Microbiologia; Bolsista produtividade em desenvolvimento tecnológico e extensão inovadora DT2 CNPq. E-mail: caroline.moraes@unipampa.edu.br

CAROLINE LOPES FEIJO FERNANDES Graduação em licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Do Rio Grande – FURG; Grupo de pesquisa: Ecotoxicologia Terrestre; Bolsista de mestrado CAPES; E-mail: carolinelebom@hotmail.com; Realizando mestrado em Ciências da Saúde, na universidade federal do Rio Grande- FURG. Áreas de atuação: Mutagênese ambiental, genotoxicidade, nanotoxicologia, fitotoxicidade, ecotoxicologia, saúde ambiental e ensino de ciências e biologia para jovens e adultos.

CÉSAR MILTON BARATTO Graduação em Ciencias Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria, Mestrado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Pós-Doutorado Empresarial pela Empresa Bioplus Desenvolvimento Biotecnológico Ltda Atualmente é professor

titular da Universidade do Oeste de Santa Catarina, carga horária de 40 horas, atuando nos cursos de Biotecnologia Industrial, Engenharia Química e Engenharia Sanitária Ambiental. É docente e Vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Biotecnologia - Mestrado acadêmico - Unoesc.

CINTHIA GABRIELA GARLET Graduanda do curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), bolsista do Programa Especial de Treinamento-Agronomia (PET-A)

CLEBER WITT SALDANHA Possui graduação em Engenharia Florestal, mestrado em Geomática pela Universidade Federal de Santa Maria e doutorado em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa. Possui Pós-Doutorado em morfogênese *in vitro* de plantas com ênfase em propagação fotoautotrófica. Tem experiência na área de Recursos Florestais, com ênfase em cultura de tecidos de espécies florestais. Possui experiência em trabalhos relacionados à micropropagação fotoautotrófica e criopreservação de germoplasma vegetal. Atualmente é Pesquisador do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária- Centro de Pesquisa em Florestas (Santa Maria-RS), onde conduz trabalhos na área de tecnologia de sementes e propagação de espécies florestais nativas.
clebersaldanha@yahoo.com.br

CRISTIANE MÁRCIA MIRANDA SOUSA Graduação em Engenharia Ambiental pela Universidade Engenharia Ambiental pela Universidade de Santo Amaro; Mestranda em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul; Grupo de pesquisa: Limnologia

DAIANE CRISTINA DE MOURA Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de Santa Cruz do Sul; Mestranda em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul; Grupo de pesquisa: Limnologia. E-mail para contato: daianemoura1992@gmail.com

DANIELI ROSANE DALLEMOLE É bacharela em Ciências Biológicas pela Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC (2015). Atuou como bolsista de inovação tecnológica (PROBITI-FAPERGS) na pesquisa de modelos de discriminação de estados pró-inflamatórios utilizando a Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). Desenvolveu trabalho voluntário em projetos de avaliação da genotoxicidade ambiental, diagnóstico de infecções genitourinárias (*Candida spp*), e na padronização de técnicas de biologia molecular. Atuou como técnica de laboratório no Laboratório de Histologia e Patologia da UNISC (2013-2017) e atualmente é aluna de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Possui experiência em biologia molecular, histologia, genotoxicidade e manejo de animais em experimentação.

DENISE RUSSOWSKI Graduada em Química Industrial e Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), mestre em Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, pelo programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro), também da UFSM, doutora em Biologia Celular e Molecular, área de concentração Biotecnologia Vegetal, pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM), do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pós-doutorada em Química, área de concentração

Química Orgânica/Produtos Naturais (PPGQ) da UFSM. Bolsista DTI (CNPq)

EDUARDO ALCAYAGA LOBO Professor da Universidade de Santa Cruz do Sul; Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade de Santa Cruz do Sul; Graduação em Biologia pela Universidade do Chile; Mestrado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de São Carlos; Doutorado em Ciências Aquáticas pela Universidade de Ciências Marinhas e Tecnologia de Tóquio; Pós Doutorado em Contaminação Aquática pelo Instituto Nacional de Recursos Ambientais; Grupo de pesquisa: Limnologia. Bolsista Produtividade em Pesquisa pela Fundação pelo CNPq.

ELISABETE MARIA ZANIN Professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim; Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de Passo Fundo – UPF; Mestrado em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR.

EVANDRO LUIZ MISSIO Possui Graduação em Agronomia (1999), Mestrado em Agronomia (2002), Doutorado em Engenharia Florestal (2015) e Pós-Doutorado em Agronomia (2017), todos pela Universidade Federal de Santa Maria. Possui experiência em sistemas agroflorestais, melhoramento vegetal e nutrição mineral de plantas. É pesquisador do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária (DDPA) da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI) do Rio Grande do Sul. Atualmente desenvolve trabalhos na área de recursos naturais renováveis, com ênfase em silvicultura de espécies florestais nativas, envolvendo os temas: formação de áreas de coleta de sementes (ACS), coleta, beneficiamento, armazenamento e tecnologia de sementes e mudas florestais nativas. evandro@fepagro.rs.gov.br

FÁBIO FIRMBACH PASQUALOTTO Professor da Universidade de Caxias do Sul - UCS; - Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul - UCS; Graduação em Medicina pela Universidade de Caxias do Sul - UCS; Mestrado em_Urologia pela Universidade de São Paulo - USP; Doutorado em Urologia pela Universidade de São Paulo - USP; E-mail para contato: fabio@conceptionbr.com.

FELIPE DE LIMA FRANZEN Graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Maria; Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria. E-mail para contato: franzen2@gmail.com

FERNANDA MEGIOLARO Graduada em Biotecnologia Industrial pela UNOESC-Campus Videira, Mestrado em Ciência e Biotecnologia pela UNOESC-SC, Biotecnologia aplicada a Agroindústria e Saúde.

FLÁVIO MANOEL RODRIGUES DA SILVA JÚNIOR Professor da Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco; Mestrado em Ecologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Doutorado em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Grupo de pesquisa: Ecotoxicologia Terrestre.

FRANCIELE MABONI SIQUEIRA Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Mestrado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Doutorado em Ciências Biológicas/Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Pós Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Grupo de Pesquisa de Micro-organismos Diazotróficos

FREDERICO LUIZ REIS Graduado em Química Licenciatura pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM); mestrando pelo Programa de Pós-graduação em Química, área de concentração Química Orgânica/Produtos Naturais (PPGQ), da UFSM. Bolsista CAPES.

GABRIELA MERKER BREYER Graduação em Biotecnologia com ênfase em Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Grupo de Pesquisa de Micro-organismos Diazotróficos. E-mail: gabibreyer@hotmail.com

GERUSA PAULI KIST STEFFEN Graduada em Agronomia (2006) pela Universidade Federal de Santa Maria, Mestre (2008) e doutora (2012) em Ciência do Solo pela mesma Universidade. Tem experiência na área de Biologia e Microbiologia do Solo, com ênfase no uso de organismos e microrganismos como bioindicadores da qualidade do solo, fitorremediadores ambientais e fonte de insumos biológicos para uso na agricultura. Atualmente é Pesquisadora do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI) do Rio Grande do Sul, Centro de Pesquisa em Florestas, desenvolvendo trabalhos com enfoque no uso de insumos biológicos à base de Trichoderma para controle de pragas e promoção de crescimento vegetal. ge.pauli@yahoo.com.br

GUILHERME BATTÚ GONÇALO Graduando em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, campus Bagé - RS; E-mail: guibattu@hotmail.com

HELISSARA SILVEIRA DIEFENTHAELER Professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim; Graduação em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; Mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; Doutorado em andamento no Programa de Pós-graduação em Nanotecnologia Farmacêutica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; Grupo de pesquisa: Grupo Multidisciplinar em Pesquisa em Ciências Farmacêuticas

INGRID MEDEIROS LESSA Graduanda do 6º semestre do curso de Ciências Biológicas - Bacharelado pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Atua como aluna de Iniciação Científica no Laboratório de Genômica Estrutural pelo Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) - UFPel, onde sob orientação do Prof. Dr. Vinicius Farias Campos participa de projetos de pesquisas com ênfase em Biologia Molecular, Genômica Estrutural e Funcional, Sequenciamento de Nova Geração e Transgênese Animal. ingridmlessa@hotmail.com

IONARA FÁTIMA CONTERATO Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Santa Maria (2001), com mestrado (2004), doutorado (2009) e pós-doutorado (2011) em Zootecnia - Área de Concentração - Caracterização de Germoplasma e Melhoramento Genético de Plantas Forrageiras pela Universidade

Federal do Rio Grande do Sul (2009). Suas atividades de pesquisa estão relacionadas com caracterização de germoplasma, anfícarpia, melhoramento genético de plantas forrageiras e citogenética vegetal clássica. Atualmente é Pesquisadora do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária – Centro de Pesquisa Anacreonte Ávila de Araújo, desenvolvendo trabalhos que envolvem coleta, seleção e melhoramento genético de plantas forrageiras e anfícarpia. ionarafc@yahoo.com.br

IRENE SILVEIRA SCHRANK Professora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação de Biologia Celular e Molecular (PPGBCM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Mestrado em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Doutorado em Molecular Biology pela University of Manchester Institute of Science and Technology (UMIST). Grupo de Pesquisa de Micro-organismos Diazotróficos.

ISNARD ELMAN LITVIN Professor da Universidade de Caxias do Sul - UCS; Graduação em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; Mestrado em Cirurgia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS; E-mail para contato: ielitvin@terra.com.br.

JANE MARY LAFAYETTE NEVES GELINSKI Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco. Mestre em Genética pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul; doutorado em Bromatologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP com tese na área de Microbiologia. Pós-doutorado CNPq - junto ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da UFPR. Professora Titular na Universidade do Oeste de Santa Catarina, junto às áreas Ciências Biológicas e da Saúde e de Ciências Exatas e Tecnológicas. Faz parte do Núcleo de Docente Estruturante dos cursos de Biotecnologia Industrial, Engenharia de Alimentos.

JOSEILA MALDANER Graduada em Ciências Biológicas (2005), Mestre (2008) pela Universidade Federal de Santa Maria, doutora em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa (2011) e pós-doutora em Agrobiologia pela Universidade Federal de Santa Maria (2016). Tem experiência na área de Fisiologia Vegetal, com ênfase em aspectos biotecnológicos de cultivo in vitro, nutrição, metabolismo vegetal, toxidez de metais no crescimento e desenvolvimento vegetal. Atualmente é Pesquisadora do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária – Centro de Pesquisa em Florestas da Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação (SEAPI) do Rio Grande do Sul, Centro de Pesquisa em Florestas, desenvolvendo trabalhos com enfoque nos insumos biológico para controle de pragas e promoção de crescimento vegetal. iomaldaner@gmail.com

JOYCE CRISTINA GONÇALVEZ ROTH Possui graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia pela Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS) (2008) e mestrado em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC) (2010). Atualmente é doutoranda em Tecnologia Ambiental

(UNISC) e Professora Assistente em Engenharia Ambiental da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS).

JUÇARA TEREZINHA PARANHOS Graduada em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), mestre em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da UFSM, doutora em Ciências, área de concentração Fisiologia Vegetal, pelo Programa de Pós-graduação em Botânica (PPG Botânica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Professor Adjunto IV da Universidade Federal de Santa Maria, participante do Colegiado do Curso de Agronomia, do Núcleo Docente Estruturante do Curso de Agronomia (UFSM), membro do Conselho Universitário da UFSM.

JULIA LIVIA NONNENMACHER Graduação em Farmácia pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim; Grupo de pesquisa: Grupo Multidisciplinar em Pesquisa em Ciências Farmacêuticas; Bolsista Produtividade em Pesquisa pela Fundação CNPq; E-mail para contato: julia_nonnenmacher@outlook.com.

KETLIN SCHNEIDER Graduada em Biotecnologia Industrial pela UNOESC- Campus Videira, Mestrado em Ciência e Biotecnologia pela UNOESC-SC, Biotecnologia aplicada a Agroindústria e Saúde, Bolsista PROSUP-CAPES.

LAIZ COUTELLE HONSCHA Graduação em tecnologia em toxicologia ambiental pela Universidade Federal Do Rio Grande – FURG; Grupo de pesquisa: Ecotoxicologia Terrestre; Bolsista de mestrado CAPES.

LEONARDO MENEZES Graduando em Química Industrial pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Bolsista IC (CNPq).

LISIANE DE MARSILLAC TERRA Professora da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM); Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM); Graduação em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Maria; Mestrado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas; Doutorado em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas;

LIZIANE MARIA BARASSUOL MORANDINI Graduada em Farmácia e Bioquímica - Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa, mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, área de concentração Microbiologia, pela UFSM, doutora em Química do pelo Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ), área de concentração Química Orgânica/Produtos Naturais, pela UFSM, pós-doutorada em Química, área de concentração Química Orgânica/Produtos Naturais (PPGQ), da UFSM. Bolsista DTI (CNPq)

LUCAS DOS SANTOS DA SILVA Técnico em Administração de Empresas, com experiência nas áreas de Marketing e Logística. Atualmente graduando em Biotecnologia (Bacharelado) na Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e Bolsista de Iniciação Científica CNPq desenvolvendo pesquisas com ênfase em Genômica Estrutural, Genômica Funcional e Transgênese Animal, como integrante no Laboratório de Genômica Estrutural pelo Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) - UFPel sob a orientação do Professor Dr. Vinicius Farias Campos. lucassantos_17@hotmail.com

LUCIANO DOS SANTOS ALMEIDA Técnico em laboratório na Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, campus Bagé – RS; Graduação em Biologia pela Universidade da Região da Campanha- URCAMP, Bagé – RS; Especialização em Gestão e Conservação de Espaços Naturais pela Fundação Universitária Iberoamericana - Florianópolis, FUNIBER e Especialização em Processos Agroindustriais pela Universidade Federal do Pampa, UNIPAMPA. E-mail: almeidahades@gmail.com

MARA THAIS DE OLIVEIRA SILVA Graduada em Biotecnologia pela Universidade Federal Rural do Semi Árido - UFERSA (2015). Mestre em Biotecnologia pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGB) - UFPel (conceito 6) (2017). Atualmente é Doutoranda em Biotecnologia pela mesma instituição, com a linha de pesquisa em Vacinologia e Parasitologia Molecular. Atuando em projetos relacionados à pesquisa e desenvolvimento de vacinas recombinantes para o controle da linfadenite caseosa. Tem experiência nas áreas de: Biotecnologia, com ênfase em Parasitologia e Vacinologia.

MARI SILVIA RODRIGUES DE OLIVEIRA Professor da Universidade Federal de Santa Maria- UFSM; Graduação em Farmácia e Bioquímica- Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria; Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria; Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria; Grupo de pesquisa: Tecnologia e Processamento de Carnes. E-mail para contato: marisilviadeoliveira@yahoo.com.br

MAYARA BREDA Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim; Grupo de pesquisa em Planejamento, Gestão e Educação Ambiental.

NATHIÉLI BASTOS DE SOUZA Graduanda em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, campus Bagé – RS; - Grupo de pesquisa: Obtenção de biocompostos e microrganismos de interesse industrial e obtenção e purificação de bioprodutos; - Bolsista de Iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); E-mail: nathieli.souza.1995@gmail.com

NELCINDO NASCIMENTO TERRA Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria; Professor Titular da Universidade Federal de Santa Maria- UFSM; Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Maria; Mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo; Doutorado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo; Pós-doutorado pelo Centro de Tecnologia de La Carne- IRTA, Espanha; Grupo de pesquisa: Tecnologia e Processamento de Carnes. E-mail para contato: nelcindoterra@gmail.com

PRISCILA MOLINARES DOS SANTOS Graduação em Engenharia de Bioprocessos pela Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ); Mestrado em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Maria (conclusão prevista para 07/17); E-mail para contato: priscila.molinares@gmail.com

RAQUEL NASCIMENTO DAS NEVES Biotecnologista graduada pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) em 2016. Atualmente, mestrandona Programa de Pós-

Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), atuando no Laboratório de Biotecnologia Infecto-Parasitária (LBIP) do Centro de Desenvolvimento Tecnológico CDTec/UFPel, sob orientação da professora Dra. Sibele Borsuk.

REJANE FLORES Graduada em Ciências Biológicas (1995), pela Universidade Federal de Santa Maria, Mestre em Ciências (1999) pela Universidade Federal de Pelotas e Doutora em Agronomia (2006), pela Universidade Federal de Santa Maria (2006). Atualmente, é professora associada do Instituto Federal Farroupilha, Campus São Vicente do Sul, RS, onde desenvolve atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão na área de Fisiologia Vegetal, com ênfase em Propagação de plantas, Cultura de Tecidos e Metabolismo Secundário. rejane.flores@yahoo.com.br

RODRIGO BARROS DE PINHO Graduado em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas – UFPel (2016). Atualmente é bolsista de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGB) – UFPel (conceito 6). Atuando na linha de pesquisa em Vacinologia, em projetos referentes ao desenvolvimento de vacinas para o controle da linfadenite caseosa.

ROSANA MATOS DE MORAIS Graduada em Ciências Biológicas (2004) pela Universidade Federal de Santa Maria. Mestre em Biologia Animal (2006), Doutora em Fitotecnia, com ênfase em Fitossanidade (2009) e Pós-doutora (2012) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Tem experiência na área de entomologia agrícola, ecologia e biologia de insetos, com ênfase em controle biológico e utilização de bioinsumos. Atualmente é Pesquisadora do Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária – Centro de Pesquisa em Florestas do Rio Grande do Sul, desenvolvendo trabalhos com enfoque em insumos biológicos para controle de pragas. entomorais@yahoo.com.br

ROSANE GIACOMINI Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos - Unisinos; Mestrado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul - UCS (em andamento); E-mail para contato: rosanegiacomini@gmail.com.

ROSANE GIACOMINI Mestranda em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul - UCS. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS. Realizou sua formação como bolsista de Iniciação Científica no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade, tendo atuado em projetos com ênfase em diversidade genética, genética de populações e evolução. Também atuou em projetos de pesquisa na Embrapa Uva e Vinho, desenvolvendo trabalhos nas áreas de caracterização biológica e molecular, diagnóstico, clonagem e expressão de genes virais para produção de antígenos recombinantes, termoterapia, quimioterapia e cultivo de meristemas para remoção de vírus. Atualmente atua como docente.

ROSELEI CLAUDETE FONTANA Graduação em Biologia pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul; Mestrado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul; Doutorado em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul; Grupo de pesquisa do Laboratório de Enzimas e Biomassa. E-mail para contato: rcfontan@ucs.br

SIBELE BORSUK Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pelotas (2000), Mestrado (2004) e Doutorado (2008) em Biotecnologia (conceito 6) pela mesma Instituição, Pós-Doutorado na área de Parasitologia Molecular pelo programa de Pós-Graduação em Parasitologia da UFPel. Tem experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Biologia Molecular de microrganismos atuando principalmente nos seguintes temas: Caracterização Molecular de Mycobacterium tuberculosis, Epidemiologia Molecular, Expressão de Proteínas heretólogas, Vacinas Recombinantes, Espectrometria de massa LC-MS/MS. Atualmente é professor Adjunto III da UFPel nos cursos de graduação em Biotecnologia, bem como nos cursos de pós-graduação em Biotecnologia e Parasitologia. É Bolsista de Produtividade Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq - 2 (DT-2).

SILVANE SOUZA ROMAN Professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim; Membro do corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim; Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de Passo Fundo - UPF; Mestrado em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP; Doutorado em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria - UFSM; Grupo de pesquisa: Grupo Multidisciplinar em Pesquisa em Ciências Farmacêuticas.

SILVESTRE BRILHANTE BEZERRA Médico Veterinário graduado pela Universidade Federal Rural do Semiárido - UFERSA - (2007), possui Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - UFERSA (2009). Atualmente é Professor Assistente do Bacharelado em Biotecnologia no Departamento de Ciências Animais na UFERSA, estando liberado para cursar Doutorado no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Tem experiência nas áreas de Vacinologia e Imunologia Aplicada, com ênfase no desenvolvimento de vacinas de subunidade recombinantes e vetorizadas utilizando BCG e imunodiagnóstico para a linfadenite caseosa.

TAMIRES SILVEIRA MORO Técnica em Agropecuária (2014) formada pelo Instituto Federal Farroupilha – Campus Júlio de Castilhos e Graduanda do sétimo semestre do Curso de Agronomia na Universidade Federal de Santa Maria. Participou como Bolsista em Projetos de Pesquisa nas áreas de Recursos Biológicos, com a utilização de Inimigos Naturais nas culturas do Milho e Tomateiro (2014-2015), e Recursos Florestais, na Superação de Dormência de Espécies Florestais (2015-2016). Atualmente desenvolve atividades ligadas à preservação do Campo Nativo através do biocontrole de plantas exóticas no Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária – Centro de Pesquisa em Florestas do Rio Grande do Sul. tmymoro@hotmail.com

TONY LEANDRO REZENDE DA SILVEIRA Possui graduação em Ciências Biológicas (2011) e Medicina Veterinária (2015) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e mestrado em Ciências Biológicas (2012) pela UFPEL. Atuou como professor substituto da disciplina de Anatomia dos Animais Domésticos I na UFPEL. Foi colaborador do Laboratório de Zoologia de Vertebrados, realizando atividades de pesquisa e extensão. Atualmente é vinculado ao Laboratório de Genômica Estrutural como doutorando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPEL. Tem

experiência docente nas áreas de zoologia de vertebrados, anatomia animal, parasitologia e evolução. tony8.9@hotmail.com

VALERIANO ANTONIO CORBELLINI Possui graduação em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1987), graduação em Medicina pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1997), mestrado em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1993), doutorado em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2004) e pós-doutorado pela Universidade Federal de Santa Maria (2016). Atualmente é Professor Adjunto da Universidade de Santa Cruz do Sul, Membro de corpo editorial da Tecno-Lógica e Revisor de projeto de fomento da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Química Analítica. Atuando principalmente nos seguintes temas: cumarinas, benzoxazolas, substratos fluorogênicos, fluorocromos, atividade antifúngica e genotoxicidade.

VASCO ARISTON DE CARVALHO AZEVEDO Membro da Academia Brasileira de Ciências, Professor Titular e pesquisador 1A do CNPq, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Bioinformática da UFMG desde 2011. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (1986), mestrado (1989) e doutorado (1993) em Genética de Microrganismos pelo Institut National Agronomique Paris Grignon. Pós-doutorado pelo Departamento de Microbiologia da Escola de Medicina da Universidade da Pensilvânia (EUA, 1994). Trabalha, atualmente, com os seguintes microrganismos: *staphylococcus aureus*, *Brucella abortus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Lactococcus lactis* e *Lactobacillus*.

VINICIUS FARIAS CAMPOS Biólogo (2007), Mestre (2009) e Doutor em Biotecnologia (2011) pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Atualmente é Professor e orientador dos Programas de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGB) e Bioquímica e Bioprospecção (PPGBBio), ambos da UFPel. É Bolsista de Produtividade Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq - Nível 2 no Programa de Biotecnologia. Presidente do Comitê Institucional de Propriedade Intelectual e membro do Conselho Universitário da UFPel. Além disso, é Coordenador de Inovação Tecnológica da UFPel junto à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PRPPG). É fundador e coordenador do Laboratório Genômica Estrutural onde lidera o Grupo de Pesquisa em Genômica Estrutural. fariascampos@gmail.com

WILLIAM BORGES DOMINGUES Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Mestre em Biotecnologia e atualmente é doutorando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGB- UFPel). No Laboratório de Genômica Estrutural do Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec), sob orientação do Prof. Dr. Vinicius Farias Campos, desenvolve pesquisas nas áreas de Genômica e Biotecnologia Animal, com ênfase em transferência gênica e transfecção em células espermáticas. williamwwe@yahoo.com.br

ZAIDA INÊS ANTONIOLLI Graduada em Biologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), mestre em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), doutora em Mycorrhizal Molecular Aspects - The University of Adelaide, Australia. Professora associada 4, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, (PGCS) da UFSM e do programa de pós-graduação em Agrobiologia-

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-93243-31-8



9 788593 243318