

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 TRANSCRICIAL 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 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
Sibele Borsuk

**EFICÁCIA DA FOSFOLIPASE D RECOMBINANTE DE CORYNEBACTERIUM
PSEUDOTUBERCULOSIS NA COMPOSIÇÃO DE VACINA DE SUBUNIDADE PARA A
LINFADENITE CASEOSA**

Rodrigo Barros de Pinho

Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Pós-Graduação em Biotecnologia
Pelotas – Rio Grande do Sul

Mara Thais de Oliveira Silva

Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Pós-Graduação em Biotecnologia
Pelotas – Rio Grande do Sul

Silvestre Brilhante Bezerra

Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Pós-Graduação em Biotecnologia
Pelotas – Rio Grande do Sul

Raquel Nascimento das Neves

Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Pós-Graduação em Biotecnologia
Pelotas – Rio Grande do Sul

Vasco Ariston de Carvalho Azevedo

Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas
Belo Horizonte – Minas Gerais

Sibele Borsuk

Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico
Pelotas – Rio Grande do Sul

RESUMO: As vacinas comercialmente disponíveis para a linfadenite caseosa (LC) apresentam limitações, baixa eficácia e reações adversas, sendo constante a busca por novos alvos. A fosfolipase D (PLD) surge como um dos principais fatores de virulência, atuando como fator de permeabilidade e contribuinte para a propagação da infecção de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Objetivou-se avaliar a eficácia da proteína rPLD em vacina recombinante de subunidade. Um fragmento do gene pld foi amplificado e clonado no vetor pAE. O plasmídeo transformado em *Escherichia coli* Star e a proteína expressa e purificada. Realizados experimentos de imunização e desafio em camundongos Balb/c (CEEA UFPel nº 2422). Em grupos: G1, 300 µl solução salina 0,9%; via s.c.; G2, 50 µg de rPLD + 7,5 µg de saponina em 300 µl, via s.c.; e G3, bacterina da cepa MIC-6 de *C. pseudotuberculosis*. ELISA indireto foi realizado para avaliar os níveis IgG total, IgG1 e IgG2a. Desafio realizado com a cepa MIC-6 (UFC) de *C. pseudotuberculosis* no dia 42 pós-imunização e os animais observados por 30 dias. Observou-se que a rPLD foi capaz de induzir proteção de 30% nos camundongos desafiados. Níveis de IgG total específica para rPLD se mostraram estatisticamente maiores no grupo experimental G2 em relação aos controles, em ambos dias. IgG1 e IgG2a também demonstraram níveis elevados em

G2 no dia 42, sugerindo perfil misto de resposta imune Th1/Th2. A proteína rPLD apresentou-se promissora na formulação de vacinas de subunidade para LC, uma vez que foi capaz de induzir proteção parcial e resposta humoral em camundongos. **PALAVRAS-CHAVE:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Fosfolipase D., Vacina recombinante de subunidade, Linfadenite caseosa.

1. INTRODUÇÃO

A criação de caprinos e ovinos no Brasil é uma atividade em ascensão e bastante desenvolvida, o país conta com um efetivo de aproximadamente 9.614.722 caprinos e 18.410.551 ovinos, destacando-se as regiões Sul e Nordeste, que contam com o maior número destes animais (PORTO et al., 2013; IBGE, 2015). Mesmo com o grande contingente, o país apresenta baixos níveis produtivos na ovinocaprinocultura em relação a outros países produtores em decorrência da não adoção de novas tecnologias pelos produtores e principalmente por práticas de manejo inadequado e más condições sanitárias, o que se reflete em altas taxas de morbidade (PEDROSA et al., 2003; ALENCAR et al., 2010). No aspecto sanitário, as limitações são diretamente relacionadas ao deficiente e/ou ausente controle de enfermidades, onde diversas doenças ocorrem com facilidade e são apontadas como responsáveis pela redução da produtividade, dentre elas é importante destacar a linfadenite caseosa (LC) (GUIMARÃES FILHO et al., 2006).

A LC é uma doença infectocontagiosa, crônica, de ocorrência mundial, caracterizada pelo desenvolvimento de abscessos encapsulados, podendo ser encontrados em linfonodos superficiais (LC externa) e viscerais (LC interna), podendo o animal apresentar enfraquecimento geral e baixa produção de carne e leite, e até mesmo causando sua morte no caso de caprinos e ovinos (ALENCAR, 2010; DORELLA et al., 2009; PATON et al., 2003). O patógeno também foi isolado em búfalos, veados, porcos espinhos, Ilhamas e camelos (DORELLA et al., 2006). No Brasil a LC se apresenta de forma endêmica, possuindo uma prevalência clínica de 30%, a prevalência varia quando o fator hospedeiro é analisado, sendo maior em ovinos do que em caprinos. No entanto, nas duas espécies, a patologia é mais observada em animais adultos, refletindo uma maior exposição aos fatores de risco (AL-RAWASHDEH et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002).

Áreas críticas do corpo do animal, como mandíbula, região crural ou úbere, se afetadas podem comprometer sua mastigação e locomoção, além de reduzir consideravelmente a produção de carne, leite e lã, tornando o prejuízo da LC ainda maior (AL-GAABARY et al., 2009). As perdas econômicas possuem ampla distribuição e são relatadas em vários países, destacando-se países em desenvolvimento, como o Brasil, onde as ovelhas e cabras são de crescente importância econômica (RIBEIRO et al., 2014).

Esta enfermidade tem como agente etiológico a bactéria *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caracterizado como um bacilo Gram-positivo pleomórfico, pequeno, irregular, imóvel, anaeróbico, intracelular facultativo de macrófagos, fermentativo e não formador de esporos, fazendo parte do grupo dos actinomicetos,

juntamente com os gêneros *Mycobacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, que possui características comuns, principalmente relacionadas à composição da parede celular, contendo peptidoglicanos, arabinogalactaneos e ácidos micólicos, além de uma alta proporção de guanina e citosina no genoma (DORELLA et al., 2006).

É importante destacar que apesar de sua importância como doença endêmica, não existe um diagnóstico subclínico, tratamento ou vacina que sejam realmente eficientes na detecção e combate à LC (GUIMARÃES et al., 2011).

O diagnóstico mais utilizado por produtores e médicos veterinários é o clínico, sendo realizada principalmente a observação macroscópica dos abscessos superficiais externos. Já o teste definitivo, considerado padrão-ouro para a doença é realizado a partir do isolamento da bactéria diretamente do material caseoso drenado dos linfonodos acometidos do animal e cultivo bacteriológico, seguido por testes bioquímicos (RIBEIRO et al., 2001; WILLIAMSON, 2001). Porém, os testes se mostram dispendiosos para os produtores, e no caso bioquímico pouco sensível e incapaz de detectar animais de fase assintomática. Conforme já descrito por Dorella et al., 2006, até o momento, nenhum diagnóstico clínico precoce dos animais infectados que evitaria que estes entrassem em contato com o restante do rebanho e disseminassem a infecção foi estabelecido com total eficiência, contribuindo assim como um obstáculo na erradicação da LC. Sem o diagnóstico eficaz, a transmissão de *C. pseudotuberculosis* é aumentada, e se dá principalmente pela ruptura dos abscessos, cujo material excretado contém um elevado número de microrganismos viáveis, estes suficientes para infectar um rebanho sadio em toda sua totalidade. Os aerossóis provenientes de descargas oro-nasais de animais com abscessos pulmonares, ou através da presença de bactérias vivas no ambiente também são fonte de transmissão (RADOSTITS et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2011).

A capacidade desse agente infeccioso em sobreviver no solo por um período de aproximadamente oito meses, juntamente com outros fatores, como ferimentos na pele dos animais ocasionados por procedimentos de rotina (tosquia, castração), são considerados fatores de risco e culminam por agravar ainda mais a transmissibilidade da LC (ALVES; PINHEIRO, 1997).

Com a penetração no hospedeiro, o microrganismo é capturado localmente por células fagocitárias, como neutrófilos e macrófagos. Após a fagocitose, o fagossomo se funde ao lisossomo, porém, a bactéria continua a se multiplicar no interior dos fagolisossomos, levando à degeneração e morte celular dos macrófagos. A incapacidade de eliminação da bactéria pelos fagócitos ocorre pela presença da camada lipídica bacteriana e à resistência da bactéria ao óxido nítrico produzido pelos macrófagos (BOGDAN et al., 1997; SONGER et al., 2005). O fato de ocorrer esta multiplicação desordenada da bactéria no interior dos macrófagos, leva o hospedeiro a restringir a infecção através de piogranulomas, estes são caracterizados pelo encapsulamento ou envelopamento das células infectadas pela bactéria (BATEY, 1986). Com estes acontecimentos, existe uma mudança no perfil de citocinas expressas durante a infecção e uma alta produção de anticorpos contra抗ígenos bacterianos como, por exemplo, a fosfolipase D (PLD) (DORELLA et al., 2009).

Existe uma constante busca por uma vacina ideal à LC. A mesma deve fornecer uma proteção elevada e de longa duração, que permita a diferenciação entre animais vacinados e infectados, sem provocar reações adversas nos imunizados (DORELLA et al., 2006). Diante disso, diferentes estratégias vacinais têm sido testadas, como o uso de bactérias atenuadas e mortas (BROGDEN et al., 1990; LEAMASTER et al., 1987; SIMMONS et al., 1998), vacinas de DNA (CHAPLIN et al., 1999), frações contendo抗ígenos da parede bacteriana (BRAGA, 2007), sobrenadantes da cultura bacteriana (EGGLETON et al., 1991), uma mistura de componentes celulares e sobrenadantes (BRAGA, 2007; EL-ENBAAWY et al., 2005) e até mesmo vacina viva recombinante com gene pld inativado, que foi utilizada para imunizar ovelhas via oral, demonstrando certa proteção e altos níveis de resposta humoral e celular (HODGSON et al., 1994). Estas preparações ofereceram certo grau de proteção contra infecções experimentais, e até mesmo naturais; contudo, os níveis de proteção são muito variáveis e a severidade das lesões é bastante discutida. Em contrapartida, a estratégia de vacina de subunidade recombinante já alcançou bons resultados, como exemplo descrito por Silva e colaboradores em 2014, em que, a proteína recombinante CP40 em associação ao adjuvante saponina conferiu 90% de proteção à camundongos após o desafio com a cepa virulenta de *C. pseudotuberculosis*. As vacinas recombinantes de subunidade vêm sendo consideradas promissoras, por causar menos efeitos colaterais e ser mais específica e segura por utilizar抗ígenos altamente purificados, sendo o sucesso deste tipo de vacina atribuído ao seu alvo, onde, fatores de virulência são candidatos promissores (DROPPA-ALMEIDA et al., 2016; SILVA et al., 2014).

Os determinantes de virulência da bactéria são essenciais para a sua patogenicidade, e a introdução de novas tecnologias como análises de exoproteoma são fundamentais no desenvolvimento de novos estudos capazes de identificar proteínas secretadas/excretadas pela bactéria (BASTOS et al., 2012). Mesmo com estudos paralelos, novas abordagens e descobertas os determinantes de virulência de *C. pseudotuberculosis* mais estudados até o momento são os lipídeos tóxicos encontrados na superfície da parede celular da bactéria e a fosfolipase D (PLD) (MCKEAN et al., 2007).

A PLD é uma potente exotoxina, considerada o maior fator de virulência de *C. pseudotuberculosis*, atuando como um fator crítico na disseminação da bactéria do sítio de infecção aos linfonodos, uma vez que sua enzima cataliza a dissociação da esfingomielina, presente na membrana de células animais (BAIRD; FONTAINE, 2006; DORELLA et al. 2006; HODGSON et al., 1999). Também pode estar associada a um efeito letal sobre macrófagos, visto que a exotoxina causa danos e até mesmo a destruição destas células de defesa, além disso exerce atividade citotóxica e dermonecrótica. A fosfolipase D é capaz de ativar íons cálcio e magnésio, possuindo citotoxicidade direta quando inoculada em roedores de laboratório e também promove a lise de eritrócitos ovinos e bovinos nos meios de cultura (RIBEIRO et al., 2010).

Assim, objetivou-se avaliar a eficácia da proteína rPLD de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em uma vacina recombinante de subunidade quanto à indução

de proteção e resposta imune humoral em camundongos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cepas e condições de cultivo

Quatro cepas foram utilizadas neste experimento, a cepa 1002 atenuada e MIC-6 patogênica de *C. pseudotuberculosis*; TOP 10 e BL21 (DE3) Star de *E. coli*.

Culturas de *C. pseudotuberculosis* foram incubadas a 37°C por 72 h sob agitação, em meio Infusão de cérebro coração (BHI, Acumedia). Cepas de *Escherichia coli* foram cultivadas em meio LB (Luria-Bertani), e quando necessário em sua forma sólida (adicionado de 1,5% de Ágar para uso bacteriológico) a 37°C por 16 h, podendo ser suplementado com o antibiótico ampicilina (100 ug/mL; Sigma-Aldrich) quando necessário.

2.2. Clonagem, expressão e purificação da proteína rPLD

Para a clonagem, foi utilizado um fragmento de 825 pb do gene pld, amplificado utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Tanto o produto obtido através da técnica de PCR, quanto o vetor de expressão pAE (RAMOS et al., 2004) foram submetidos a restrição das enzimas BamHI e EcoRI (Fermentas) separadamente, afim de tornar suas extremidades coesivas. A ligação entre vetor e inserto foi realizada com a enzima T4 DNA Ligase (Fermentas) e transformado em *E. coli* TOP10. O plasmídeo pAE/pld recombinante foi transformado por choque térmico em *Escherichia coli* BL21 (DE3) Star, e a expressão da proteína induzida com 1 mM de IPTG por 3 h a 37°C em agitador orbital. Para a purificação da proteína recombinante, a cultura bacteriana foi centrifugada e o pellet foi suspenso em tampão salino fosfato (PBS, pH 7,4) contendo 100 mg/ml de lisozima, sonicado 15 vezes por 15 segundos (20 Khz). Após uma centrifugação a 7000 rpm por 15 minutos a 4°C, o pellet foi solubilizado com tampão Akta Wash com uréia a 8 M (200 mM NaH₂PO₄; 500 mM NaCl, 5 mM Imidazole; 8 M Urea pH 8,0). A proteína recombinante foi purificada utilizando a coluna de cromatografia por afinidade HisTrap™ HP (GE Healthcare). Em seguida procedeu-se à diálise em tampão Tris 100 mM-NaCl 300 mM.

Para avaliação da identidade da proteína rPLD, foi realizada uma eletro-transferência das amostras contidas em gel SDS-PAGE 12% para a membrana de nitrocelulose (Nitrocellulose Blotting Membrane – GE Health Care). Após a transferência, a membrana foi bloqueada com solução de PBS-leite em pó (5%) por 16 h a 4°C. Em seguida, a membrana foi lavada três vezes com PBS-T (0,05% Tween) com 30 s de agitação cada, e posteriormente, foi adicionado o anticorpo monoclonal anti-6Xhistidina (Sigma Aldrich) na diluição de 1:4000 em PBS-T, permanecendo por 1 h em leve agitação. O protocolo de lavagem foi novamente utilizado, nas mesmas

condições, e a membrana foi novamente submetida à leve agitação, agora, com o anticorpo anti-camundongo conjugado com peroxidase (Sigma Aldrich), na diluição de 1:4000 também em PBS-T. Por fim, a membrana foi lavada cinco vezes, utilizando ciclos de 1 min cada, com PBS-T e as bandas reativas foram reveladas utilizando solução reveladora baseada em 3,3'-diaminobenzidina tetrahidrocloreto (DAB) e H₂O₂.

2.3. Experimentos de imunização e desafio

Para os experimentos de imunização foram utilizados 30 camundongos Balb/c fêmeas, com 6 a 8 semanas de idade, susceptíveis à infecção por *C. pseudotuberculosis*, alocados em 3 grupos de 10 animais, imunizados com 2 doses da vacina recombinante em intervalo de 21 dias (Tabela 1). O experimento foi aprovado pelo Conselho de Ética da Universidade Federal de Pelotas (CEEA UFPel nº 2422). As vacinas foram formuladas e armazenadas sob agitação a 4°C por 16 h antes de sua utilização. As coletas de sangue foram realizadas nos dias 0, 21 e 42 do experimento. O Desafio utilizando a cepa MIC-6 (10⁴ UFC) de *C. pseudotuberculosis* foi realizado no dia 42 pós-imunização e os animais foram observados por 30 dias.

Tabela 1: Grupos e formulações vacinais administradas.

Grupo	Formulação	Volume final	Via de administração
G1	Solução salina 0,9%	300 µl	Subcutânea
G2	50 µg de rPLD + 7,5 µg de saponina	300 µl	Subcutânea
G3	Bacterina da cepa MIC-6 (10 ⁶ UFC)	100 µl	Intraperitoneal

2.4. Avaliação da resposta imune humoral

ELISA indireto foi realizado para avaliar os níveis de IgG total, IgG1 e IgG2a utilizando os soros coletados nos dias 0, 21 e 42 pós imunização. Para isso, placas de poliestireno de 96 cavidades de fundo chato (Maxisorp-Nunc) foram sensibilizadas com 100 ng por cavidade da proteína rPLD em tampão carbonato bicarbonato pH=9,8 e incubadas a 4°C por 16 h. Após, as placas foram lavadas três vezes com PBS-T (PBS 1X pH= 7.4; 0,05 % Tween 20) e bloqueadas com 200 µL/cavidade de leite em pó desnatado 5 % diluído em PBS-T por 1 h à 37°C. Posteriormente, as placas foram lavadas três vezes com PBS-T. Em seguida foram adicionados 100 µL/cavidade das amostras dos soros de camundongos, na diluição de 1:50, em duplicata. Após uma hora de incubação a 37°C e três lavagens com PBS-T, foram adicionados 100 µL/cavidade do anti-IgG de camundongo conjugado com peroxidase (Sigma Aldrich) na diluição de 1:5000. Seguido de uma hora de incubação a 37°C e três lavagens com PBS-T, 100 µL/cavidade de solução reveladora (200 moles ortofenilenodiamina [OPD, Sigma] diluído em 10 mL de tampão citrato-fosfato pH=7,6 e 50 µL de H₂O₂) foram adicionados. A absorbância

foi medida a 492 nm utilizando um leitor de placas de ELISA (Mindray).

2.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 6.0 para Windows (GraphPad Software, USA). Diferenças entre a produção de IgG nos diferentes grupos foram calculadas pelo one-way ANOVA, seguido pelo pós-teste de Tukey. Os dados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0.05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Obtenção da proteína rPLD

Um Western blot foi realizado utilizando anticorpo monoclonal anti-6xhistidina para a confirmação da identidade da proteína recombinante (Figura 1). A identidade da proteína rPLD pode ser observada, através de uma banda reativa com aproximadamente 31 kDa. A proteína rPLD foi expressa por *E. coli* como corpos de inclusão, e foi solubilizada em 8 M de ureia para a purificação;

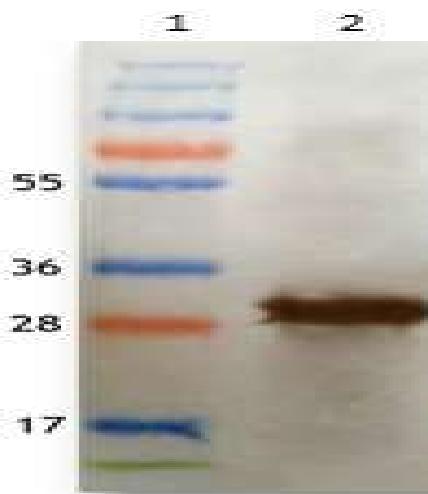


Figura 1: Western Blotting utilizando anticorpo monoclonal anti-6Xhis Tag (Sigma). 1- Marcador molecular (PageRuler™, Thermo Scientific) 2- rPLD purificada.

3.2. Curva de sobrevivência

Taxas de sobrevivência do grupo experimental vacinado (G2) e dos grupos controle de Solução Salina (G1) e Bacterina (G3) podem ser observados na Figura 2. Os animais foram observados por até 30 dias após o desafio com a cepa virulenta MIC-6 de *C. pseudotuberculosis*.

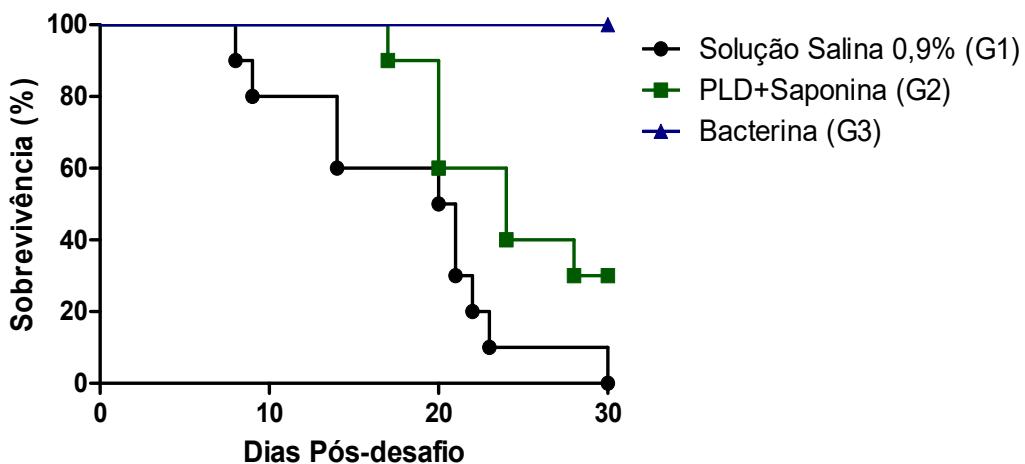


Figura 2: Curva de sobrevivência demonstrando os níveis de proteção induzidos após o desafio com a cepa MIC-6 de *C. pseudotuberculosis*. Letras distintas representam resultados estatisticamente diferentes no teste exato de Fisher.

É possível observar que no controle negativo (G1) todos os animais vieram a óbito e no controle positivo (G3) todos os animais do grupo sobreviveram até 30 dias pós-desafio.

A vacina formulada com rPLD e adjuvante Saponina (G2) induziu uma proteção de 30% nos camundongos desafiados com a cepa virulenta de *C. pseudotuberculosis*, no entanto este nível não foi estatisticamente significativo ($p>0.05$). Este dado acorda com trabalho descrito por FONTAINE et al. (2006), onde a proteína rPLD formulada individualmente, não teve a capacidade de proteger completamente a LC em ovinos, porém, a mesma se mostrou uma via importante de disseminação da doença, além de impedir manifestações específicas.

3.3. Resposta imune humoral

Os soros dos animais imunizados com as diferentes formulações vacinais foram avaliados através de ELISA para a determinação da resposta imune humoral através dos níveis de IgG total (Figura 3), IgG 1 (Figura 4) e IgG 2a (Figura 5).

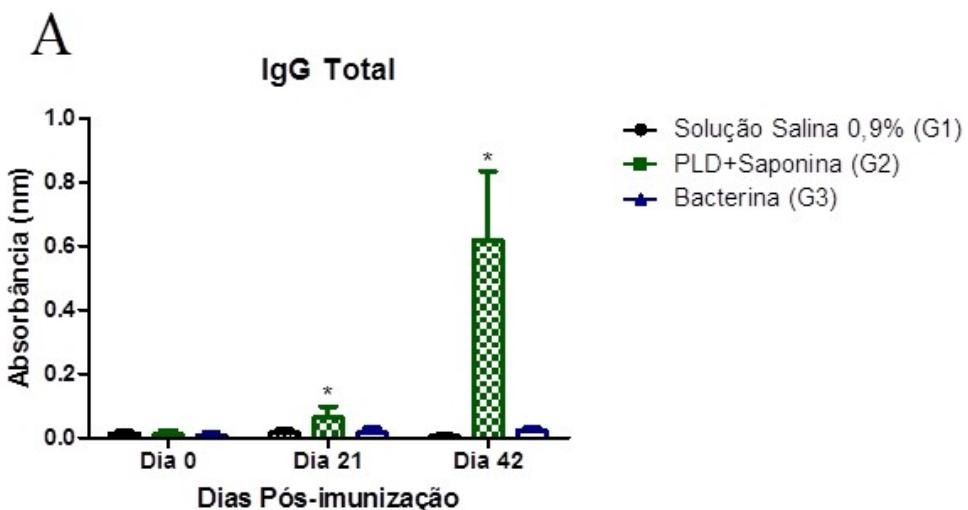


Figura 3: Determinação do nível de IgG total através de ELISA indireto utilizando a proteína recombinante rPLD nos grupos experimentais pós-imunização. Os resultados estão apresentados como a média e o desvio padrão de um experimento com dez animais por grupo de imunização. Letras diferentes dentro de um mesmo dia indicam grupos com resultados significativamente diferentes ($p<0,05$).

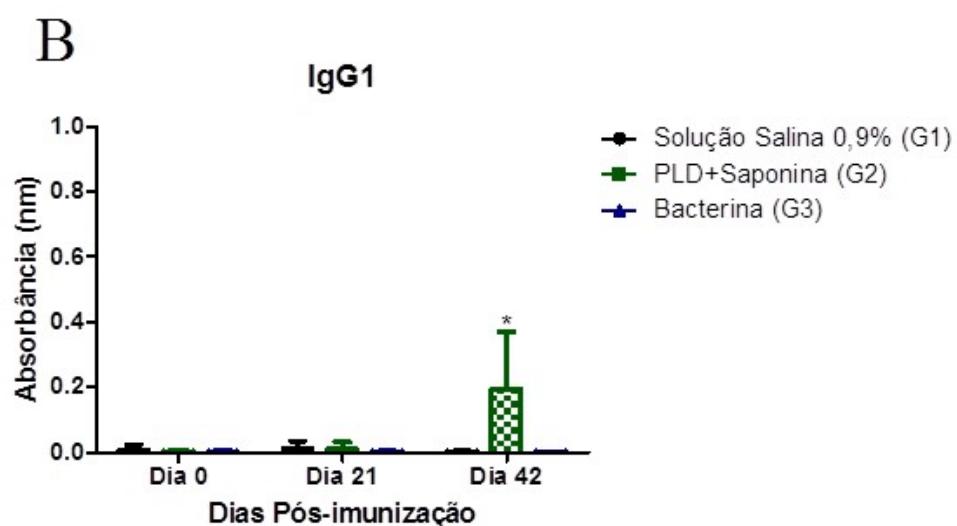


Figura 4: Determinação do nível de IgG 1 através de ELISA indireto utilizando a proteína recombinante rPLD nos grupos experimentais pós-imunização. Os resultados estão apresentados como a média e o desvio padrão de um experimento com dez animais por grupo de imunização. Letras diferentes dentro de um mesmo dia indicam grupos com resultados significativamente diferentes ($p<0,05$).

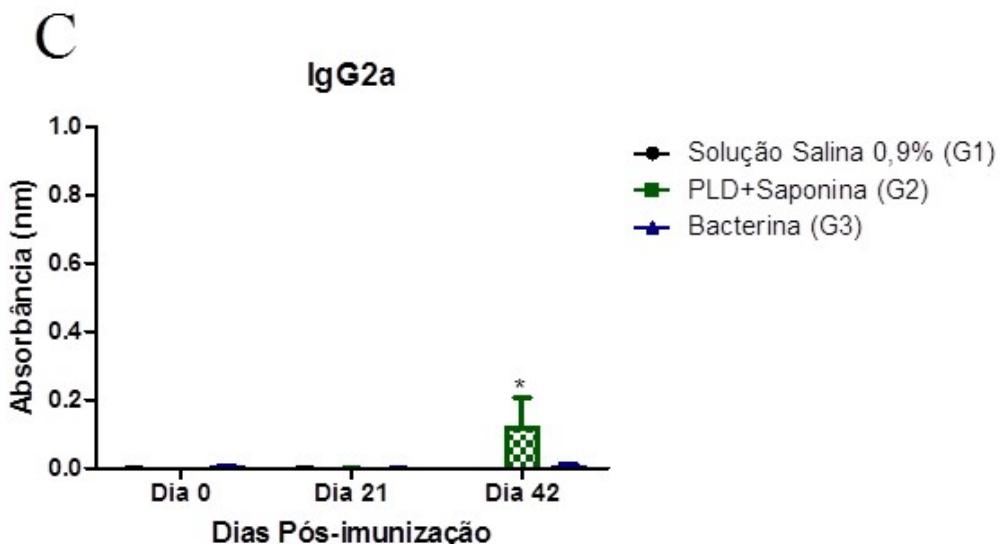


Figura 5: Determinação do nível de IgG 2a através de ELISA indireto utilizando a proteína recombinante rPLD nos grupos experimentais pós-imunização. Os resultados estão apresentados como a média e o desvio padrão de um experimento com dez animais por grupo de imunização. Letras diferentes dentro de um mesmo dia indicam grupos com resultados significativamente diferentes ($p<0,05$).

O papel da resposta imune humoral na proteção contra *C. pseudotuberculosis* já foi demonstrado em ensaios de imunização passiva, nos quais a administração de soros antitoxina e antibacteriana foram capazes de proteger camundongos desafiados com a bactéria (PAULE et al., 2003). Neste estudo, em relação aos níveis de imunoglobulinas, foi possível observar altos níveis de IgG total, estatisticamente maiores no grupo experimental G2 nos dias 21 e 42 em relação aos grupos controles. No caso dos isótipos IgG 1 e IgG 2a observou-se em ambos, níveis estatisticamente mais elevados em G2 no dia 42 em relação aos grupos controles. Demonstrando um perfil misto de resposta imune de linfócitos do tipo Th1/Th2. Onde a produção de IgG2a, em camundongos, é característica do tipo de resposta imune Th1, responsável pela eliminação de patógenos intracelulares como *C. pseudotuberculosis* quando infecta macrófagos (HODGSON et al., 1994). Já as células Th2 atuam na imunidade contra patógenos extracelulares e auxiliam as células B na produção de anticorpos neutralizantes (SILVA et al., 2014).

4. CONCLUSÃO

A proteína rPLD apresentou-se promissora na formulação de vacinas de subunidade, uma vez que foi capaz de induzir proteção parcial no ensaio de desafio, e níveis elevados de resposta humoral do tipo misto Th1/Th2 em camundongos vacinados.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, S.P et al., **Perfil Sanitário Dos Rebanhos Caprinos E Ovinos No Sertão De Pernambucano.** Ciência Animal Brasileira. 11(1). p. 131–140, 2010.

AL-GAABARY, Magdy H.; OSMAN, Salama A.; OREIBY, Atef F. **Caseous lymphadenitis in sheep and goats: clinical, epidemiological and preventive studies.** Small Ruminant Research, v. 87, n. 1, p. 116-121, 2009.

AL-RAWASHDEH, O. F.; AL-QUDAH, K. M. **Effect of shearing on the incidence of caseous lymphadenitis in Awassi sheep in Jordan.** Journal of Veterinary Medicine, Series B, v. 47, n. 4, p. 287-293, 2000.

ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. **Linfadenite caseosa: recomendações e medidas profiláticas.** Embrapa Caprinos. Comunicado Técnico, 1997.

BASTOS, B. L. et al. **Corynebacterium pseudotuberculosis: Immunological Responses in Animal Models and Zoonotic Potential.** Clinical e Cellular Immunology, 2012.

BATEY, R. G. **Pathogenesis of caseous lymphadenitis in sheep and goats.** Australian Veterinary Journal, v. 63, n. 9, p. 269-272, 1986.

AN, J. R.; NEWLANDS-MONTEITH, C. F.; ELLIS, J. A. **Nitric oxide production following in vitro stimulation of ovine pulmonary alveolar macrophages.** Veterinary immunology and immunopathology, v. 56, n. 3, p. 299-310, 1997.

BRAGA, W. U. **Protection in alpacas against Corynebacterium pseudotuberculosis using different bacterial components.** Veterinary microbiology, v. 119, n. 2, p. 297-303, 2007.

BROGDEN, K. A. et al. **Effect of muramyl dipeptide on immunogenicity of Corynebacterium pseudotuberculosis whole-cell vaccines in mice and lambs.** American journal of veterinary research, v. 51, n. 2, p. 200-202, 1990.

CHAPLIN, P. J. et al. **Targeting improves the efficacy of a DNA vaccine against Corynebacterium pseudotuberculosis in sheep.** Infection and immunity, v. 67, n. 12, p. 6434-6438, 1999.

DORELLA, F. A et al. **Antigens of Corynebacterium pseudotuberculosis and prospects for vaccine development.** Expert review of vaccines, v. 8, n. 2, p. 205–213, 2009.

DORELLA, Fernanda Alves et al. **Corynebacterium pseudotuberculosis: microbiology,**

biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. Veterinary research, v. 37, n. 2, p. 201-218, 2006.

EGGLETON, D. G. et al. Immunization against ovine caseous lymphadenitis: comparison of *Corynebacterium pseudotuberculosis* vaccines with and without bacterial cells. Australian veterinary journal, v. 68, n. 10, p. 317-319, 1991.

EL-ENBAAWY, M. I.; SAAD, M. M.; SELIM, S. A. Humoral and cellular immune responses of a murine model against *Corynebacterium pseudotuberculosis* antigens. The Egyptian journal of immunology/Egyptian Association of Immunologists, v. 12, n. 2, p. 13-19, 2004.

FONTAINE, M. C. et al. Vaccination confers significant protection of sheep against infection with a virulent United Kingdom strain of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Vaccine, v. 24, n. 33, p. 5986-5996, 2006.

GUIMARÃES, A. D. S. et al. Caseous Lymphadenitis : Epidemiology, Diagnosis, and Control. The IIOAB Journal, v. 2, n. 2, p. 33-43, 2011.

GUIMARÃES FILHO, C.; BORGES, J.H.F.; NOGUEIRA, D.M. Situação atual e perspectivas da caprinocultura no Vale do São Francisco. Petrolina, nov. 2006.

Disponível em:

<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/CPATSA/35158/1/OPB1003.pdf>
. Acesso em: 10 mai. 2017.

HODGSON, A L. et al. Protection of sheep against caseous lymphadenitis by use of a single oral dose of live recombinant. v. 62, n. 12, p. 5275-5280, 1994.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) Efetivo dos rebanhos em 31.12 e variação anual, segundo as categorias - Brasil - 2013-2014. Disponível em:

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2014/default_xls_brasil.xls. Acesso em 13 mai. 2017.

LEAMASTER, B. R. et al. Efficacy of *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterin for the immunologic protection of sheep against development of caseous lymphadenitis. American journal of veterinary research, v. 48, n. 5, p. 869-872, 1987.

MCKEAN, Sandra C.; DAVIES, John K.; MOORE, Robert J. Expression of phospholipase D, the major virulence factor of *Corynebacterium pseudotuberculosis*, is regulated by multiple environmental factors and plays a role in macrophage death. Microbiology, v. 153, n. 7, p. 2203-2211, 2007.

PATON, M. W. et al. **Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks.** Australian veterinary journal, v. 81, n. 1-2, p. 91-95, 2003.

PAULE, B. J. A. et al. **Experimental Corynebacterium pseudotuberculosis primary infection in goats: kinetics of IgG and interferon- γ production, IgG avidity and antigen recognition by Western blotting.** Veterinary immunology and immunopathology, v. 96, n. 3, p. 129-139, 2003.

PEDROSA, K. Y. F et al. **Aspectos epidemiológicos e sanitários das criações de caprinos na zona noroeste do Rio Grande do Norte.** Caatinga, v. 16, n. 1/2, p. 17-21, 2003.

RADOSTITS, O. M. et al. Doenças causadas por Bactérias. Clínica veterinária—Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos, v. 9, p. 653-656, 2002.

RAMOS, C. R. R. et al. **A high-copy T7 Escherichia coli expression vector for the production of recombinant proteins with a minimal N-terminal His-tagged fusion peptide.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 37, n. 8, p. 1103-1109, 2004.

RIBEIRO, D. et al. **An iron-acquisition-deficient mutant of Corynebacterium pseudotuberculosis efficiently protects mice against challenge.** Veterinary Research, v. 45, n.1, p.2-7, 2014.

RIBEIRO, M. G. et al. **Punção aspirativa com agulha fina no diagnóstico de Corynebacterium pseudotuberculosis na linfadenite caseosa caprina.** Arq Inst Biol, v. 68, p. 23-28, 2001.

SIMMONS, C. P. et al. **Vaccine Potential of Attenuated Mutants of Corynebacterium pseudotuberculosis in Sheep.** Infection and immunity, v. 66, n. 2, p. 474-479, 1998.

SILVA, Judson W. et al. **Corynebacterium pseudotuberculosis cp09 mutant and cp40 recombinant protein partially protect mice against caseous lymphadenitis.** BMC veterinary research, v. 10, n. 1, p. 965, 2014.

SONGER, J. G. et al. **Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease.** Elsevier Health Sciences, 2004.

WILLIAMSON, L. H. **Caseous lymphadenitis in small ruminants.** The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, v. 17, n. 2, p. 359-71, vii, 2001.

ABSTRACT: Commercially available vaccines for caseous lymphadenitis (LC) show limitations, low efficacy and adverse reactions, and the search for new targets is constant. Phospholipase D (PLD) appears as one of the main factors of virulence, acting as a permeability factor and contributor to the spread of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. The objective of this study was to evaluate the efficacy of the rPLD protein in a recombinant subunit vaccine. A fragment of the pld gene was amplified and cloned into the pAE vector. The plasmid was transformed into *Escherichia coli* Star and the protein expressed and purified. Immunization and challenge experiments were performed in Balb/c mice (EAEC UFPel n° 2422). In groups: G1, 300 µl saline solution 0.9%; Via s.c.; G2, 50 µg rPLD + 7.5 µg saponin in 300 µl via s.c.; And G3, bacterin of the *C. pseudotuberculosis* strain MIC-6. Indirect ELISA was performed to assess total IgG, IgG1 and IgG 2a levels. Challenge with the MIC-6 (CFU) strain of *C. pseudotuberculosis* at day 42 post-immunization and the animals observed for 30 days. It was observed that rPLD was able to induce 30% protection in the challenged mice. Total specific IgG levels for rPLD were statistically higher in the G2 experimental group compared to the controls on both days. IgG1 and IgG2a also demonstrated elevated G2 levels at day 42, suggesting a mixed Th1/Th2 immune response profile. The rPLD protein was promising in the formulation of LC subunit vaccines as it was able to induce partial protection and humoral response in mice.

KEYWORDS: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Phospholipase D, Recombinant subunit vaccine, Caseous lymphadenitis.

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 bioproductos; - 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