

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)
<p>B616</p> <p>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.</p> <p>Formato: PDF ISBN 978-85-93243-31-8 DOI 10.22533/at.ed.3182806 Inclui bibliografia</p> <p>1. Alimentos - Biotecnologia. 2. Biotecnologia agrícola. 3. Medicina - Biotecnologia. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Piovesan, Natiéli. III. Título. CDD-660.6</p>

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

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 Gonçalves Roth e Valeriano Antonio Coberllini.....

64

CAPÍTULO VI

PROSPECÇÃO 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 VIX

PRODUÇÃO DE CORANTES NATURAIS A PARTIR DE FUNGOS POR FERMENTAÇÃO
SUBMERSA PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL
Priscila Molinares dos Santos e Lisiane 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 Sibe
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 Firmbach 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 Diefenthaeler, 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 VI

PROSPECÇÃO 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
Vinicius Farias Campos

PROSPECÇÃO 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

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

Bruna Fagundes Barreto

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

Ingrid Medeiros Lessa

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

William Borges Domingues

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

Tony Leandro Rezende da Silveira

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

Vinicius Farias Campos

Laboratório de Genômica Estrutural
Universidade Federal de Pelotas
Pelotas – Rio Grande do Sul

RESUMO: Utilizados como controle interno da técnica de qPCR, os genes de referência devem obrigatoriamente exibir um padrão de constitutiva para a obtenção de um resultado fidedigno. As actinas são proteínas altamente conservadas e a evolução desta família gênica tem sido bastante estudada, tendo o gene da isoforma β recebido destaque devido ao seu caráter de manutenção. Dentre as espécies de teleósteos com potencial aquículo, destaca-se o peixe-rei (*Odontesthes humensis*), o qual pertence à família Atherinopsidae, sendo extremamente exigente em termos de qualidade de água. Sendo assim, este animal vem recebendo atenção de pesquisadores, pois, quando submetido a uma situação de estresse, o mesmo acaba respondendo de maneira em que sua maquinaria molecular seja direcionada à sua sobrevivência. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo a clonagem molecular, o sequenciamento e a caracterização do gene da β -Actina em peixe-rei. Foi realizado a confecção de primers específicos para a amplificação da β -Actina. Após, foi realizada a clonagem molecular deste gene através da PCR com gradiente de temperatura e posterior sequenciamento do mesmo através do método de

Sequenciamento de Sanger automatizado.

PALAVRAS-CHAVE: Genes de referência, PCR, β -Actina e Sequenciamento

1. INTRODUÇÃO

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica de amplificação in vitro de sequências de DNA. Ela foi desenvolvida pelo bioquímico americano Kary Mullis e seus colaboradores e apresentada oficialmente ao público em 1986 (MULLIS et al., 1986). A PCR logo revolucionou a ciência e rendeu a Mullis o prêmio Nobel de Química de 1993. Atualmente a PCR subsidia a grande maioria dos estudos sobre o código genético nas mais diversas áreas do conhecimento. Com a PCR bem estabelecida, surgiram variações desta técnica, como a Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR) em tempo real, a qual foi descrita por Higuchi e seus colaboradores. Esta técnica permite o acompanhamento da amplificação da amostra molde, a cada ciclo de amplificação, sendo um método de detecção e quantificação extremamente confiáveis.

A utilização da qPCR para realizar a quantificação absoluta ou relativa dos níveis de transcrição de RNAs mensageiros (mRNAs) inovou a compreensão de respostas celulares através do entendimento de interações moleculares. Devido ao seu custo, especificidade, sensibilidade e simplicidade, esta técnica molecular tem sido amplamente utilizada para verificar alterações de expressão de um ou mais genes de interesse. Além das vantagens citadas acima, a qPCR possui suas interações químicas e análise de dados bem estabelecidas, oferecendo uma gama de vantagens em comparação aos métodos tradicionais, tais como Northern blot e PCR semi-quantitativo.

Como a qPCR é uma técnica extremamente precisa, que permite a detecção de pequenas alterações na expressão gênica entre as amostras, é de extrema importância que se possua um grande cuidado em cada etapa anterior da qPCR, tanto de preparação da amostra quanto de processamento. Mesmo com o extremo cuidado, variações metodológicas podem acontecer, para isso é utilizado uma forma de normalização dos dados, visando minimizar ou corrigir variações experimentais inevitáveis. No método de quantificação absoluta da qPCR, o nível crescente de sinal fluorescente emitido pelos produtos amplificados pela reação é comparado a uma curva padrão. Porém, quando realizada a quantificação relativa da expressão gênica, utiliza-se a seguinte fórmula matemática: $2^{-\Delta\Delta CT}$, mas para isso é necessário a utilização de genes de referência para realizar o cálculo.

Os genes de referência devem exibir uma expressão constitutiva para a obtenção de um resultado confiável. Esses genes, são utilizados como controle interno da qPCR, possuindo sequências de DNA diferentes do gene alvo que está sendo analisado. Para que um gene seja estabelecido como referência confiável, ele deve possuir características notáveis de expressão, como a não variabilidade de expressão causada por fatores experimentais. Ainda, este gene deve manter a sua expressão regular em todo e qualquer tecido e estado fisiológico do organismo. Além

disso, é desejável que este gene demonstre a menor variabilidade resultante em relação a diferentes tecnologias utilizadas em procedimentos de preparação de amostra, como a utilização de kits comerciais e reagentes de diferentes marcas, por exemplo. Além disso, este gene deve possuir expressão estável em diferentes concentrações e tratamentos em um experimento específico. É sabido que genes de metabolismo básico exercem o desempenho perfeito dessas condições, e que por definição, estão envolvidos em processos essenciais para a sobrevivência das células, devem ser expressos em um nível constante e não regulado constantemente e de fato, eles foram primeiro examinados como genes de referência (THELLIN et al., 1999). Assim, é necessário validar vários genes de referência para várias espécies e seus estágios de desenvolvimento em diferentes tecidos, bem como para cada tipo de condição ambiental controlada (LIVAK e SCHMITTGEN 2001; ZHENG e SUN 2011).

Todavia, não é isso que encontramos em trabalhos relacionados à quantificação da expressão gênica relativa em teleósteos. Grande parte dos trabalhos utilizam genes normalizadores bem estabelecidos em espécies de mamíferos. Os principais genes de referência de mamíferos que têm sido utilizados em espécies de teleósteos são a β -Actina (CHOI; AN, 2008; NAWATA et al., 2010), EF1 α (NILSEN et al., 2007; PATTERSON; BODINIER; GREEN, 2012; SCOTT et al., 2004; SINHA et al., 2015), GAPDH (LIN et al., 2004), 18S (SINHA et al., 2015), entre outros.

A subunidade ribossômica 18s é um constituinte da pequena subunidade ribossomal eucariótica 40s, portanto, é um componente básico de todas as células. Porém, o gene que codifica para essa subunidade ribossômica possui menor grau de conservação da sua sequência entre as espécies do que GAPDH e as actinas. Apesar do seu menor grau de conservação, esse gene é utilizado para reconstruir ou elucidar histórias evolutivas dos organismos. Além disso, este gene tem sido utilizado como referência principalmente para análises filogenéticas e análises de marcadores para biodiversidade ambiental.

O fator de alongamento 1 Alfa (EF1- α) é uma isoforma da subunidade alfa complexa de eEF-1. É uma proteína codificada pelo gene eEF1 α 1 e expressa em célula eucarióticas, o qual desempenha seu papel na tradução proteica, além de participar no processo de proliferação celular, envolvendo a organização do citoesqueleto e a transdução de sinal. Além disso, este fator de alongamento é relatado como mediador de recrutamento de aminoacil-tRNA durante a síntese proteica. O grau de conservação deste gene é comparado com o alto grau de conservação do gene β -actina, sendo considerado um gene de referência confiável.

O tetrâmero glicolítico gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) é uma proteína que catalisa a conversão do gliceraldeído 3-fosfato em D - glicerato 1,3-bisfosfato, fornecendo energia e moléculas de carbono para a célula. Além da sua função catalisadora, esta proteína regula processos não metabólicos, tais como, ativação da transcrição, apoptose e transporte axoplasmático. Comparando esta proteína com a família de proteínas actina, o GAPDH possui um menor número de cópias em regiões de codificação intraespecíficas, no entanto, sua sequência é

suficientemente conservada entre os diferentes tipos de filamentos animais, tornando um gene confiável para ser utilizado como referência.

As actinas são proteínas altamente conservadas responsáveis por desempenhar papéis importante nas células, tais como, fluxo citoplasmático, alterações na motilidade e forma celular, divisão celular e fagocitose. Além disso, essas proteínas são o principal componente dos microfilamentos citoplasmáticos em células eucarióticas. A evolução desta família gênica tem sido bastante estudada e o gene da isoforma β tem sido amplamente estudado em diversas espécies de mamíferos, crustáceos e peixes, devido ao seu caráter de manutenção e sua utilização em pesquisas na área de transgênese.

Dentre as espécies de teleósteos com potencial aquícula está o peixe-rei (*Odontesthes humensis* de Buen, 1953). Esse peixe pertence à família Atherinopsidae, sendo normalmente encontrados em lagoas costeiras e áreas estuarinas de países como a Argentina, Brasil e Uruguai. Por sua origem marinha, é um peixe exigente em termos de qualidade de água, ocupando ambientes de água doce e água salobra. Visto isso, este peixe vem recebendo atenção de pesquisadores, pois, quando submetido a determinados tipos de estresse, acaba respondendo de maneira em que sua maquinaria molecular seja em resposta à sua sobrevivência.

Dessa forma, buscando subsidiar estudos futuros de toxicologia molecular em espécies aquáticas, utilizando a técnica da qPCR, considerada “padrão ouro” para análises de expressão gênica, é notável a necessidade de um gene de referência específico para a espécie *Odontesthes humensis*. Dessa maneira, o gene da β -Actina, o qual apresenta uma alta taxa de conservação entre inúmeras espécies e com função bem elucidada na literatura, torna-se um ótimo candidato para referência. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo a clonagem molecular, o sequenciamento e a caracterização do gene da β -Actina em peixe-rei.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Desenho de Primers

Foram confeccionados primers específicos para a amplificação do gene da β -Actina. Como a sequência deste gene em peixe-rei (*Odontesthes humensis*) ainda não havia sido elucidada na literatura, houve a necessidade de desenhar primers, os quais foram baseados em sequências estruturais de outros organismos próximos filogeneticamente ao peixe-rei, já depositadas no banco de dados Genbank®. Os primers foram desenhados com auxílio do software online Prifi (<http://cgi-www.cs.au.dk/cgi-chili/PriFi/main>), o qual baseia-se no alinhamento das sequências utilizadas, a fim de encontrar uma determinada região gênica com o maior grau de conservação possível as sequências utilizadas como data input.

2.2 Coleta Tecidual

A coleta de tecidos de peixe-rei foi realizada no município de Arroio Grande (RS), no Laboratório de Piscicultura na Barragem do Chasqueiro - UFPel. Os animais utilizados no estudo foram mantidos em tanques cilíndricos de 1.000 L, alimentados três vezes ao dia (Supra, 38% de proteína bruta) até a saciedade, com água em pH $7,5 \pm 0,3$ e $19 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ para aclimação.

Os animais foram submersos em uma solução de anestesia composta de benzocaína a 50mg/L, até a perda total de equilíbrio, enquanto anestesiados, os mesmos foram eutanasiados por meio de secção medular e excisão cerebral, visando a posterior retirada dos tecidos de interesse, tais como, tecido branquial, cerebral, hepático e renal, de acordo com as Diretrizes da prática de eutanásia do Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Os tecidos foram criopreservados em N_2 (-196°C) até a sua utilização.

Todos os procedimentos descritos acima foram aprovados pelo Conselho de Ética em Experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o nº de processo 7018/2015-85.

2.3 Extração de RNA

As amostras de tecido hepático criopreservados em N_2 foram descongeladas sob temperatura de refrigeração (4°C) e em seguida, foram utilizados pistilos para a lise física do tecido juntamente ao reagente TRIzol® (Thermo Fisher Scientific, USA) para lisar as células quimicamente. Logo após, foi utilizado o Clorofórmio (Sigma-Aldrich, USA) para a separação dos ácidos nucleicos, proteínas e lipídios em fases diferentes. Após o isolamento do ácido nucleico de interesse, a molécula foi submetida ao reagente Isopropanol (Sigma-Aldrich, USA) para precipitação da mesma e em seguida, submetida a lavagens com Etanol 70% (Sigma-Aldrich, USA) para a retirada de algum resquício de moléculas não desejáveis na extração, sendo o RNA eluído em água livre de nucleases posteriormente.

2.4 Quantificação por Espectrofotometria de luz UV e Síntese de DNA Complementar (cDNA)

Após a etapa de extração de RNA, as amostras foram quantificadas por espectrofotometria de luz ultravioleta utilizando o equipamento NanoVue™ Plus (GE Healthcare Life Science, USA), o qual determina a concentração da amostra através de absorbância em um comprimento de onda de 260nm. Para verificar a pureza da amostra, foi utilizada a razão entre as absorbâncias obtidas nos comprimentos de onda de 260nm e 280nm (razão A_{260}/A_{280}).

Sendo assim, as amostras que obtiveram uma concentração satisfatória e pureza ideal, foram submetidas a síntese do cDNA, com o auxílio do kit comercial

High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, USA), conforme as instruções do fabricante.

2.5 Clonagem Molecular e Purificação

A partir do cDNA sintetizado, bem como os primers específicos para o gene da β -Actina confeccionados, foi realizada a PCR convencional utilizando o kit comercial GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase (Promega, USA), segundo as instruções do fabricante. Foram realizadas reações de PCR com gradiente de temperatura na etapa de anelamento dos primers. Após a amplificação gênica, foi realizada a eletroforese utilizando um gel de agarose com concentração de 1,2%, buscando separar os fragmentos amplificados.

Visando obter uma amostra com concentração e pureza ideais para o Sequenciamento pelo método de Sanger Automatizado, foi realizada uma etapa de purificação utilizando o kit comercial illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare, USA), conforme as instruções do fabricante.

2.6 Sequenciamento

As amostras purificadas a partir do gel de agarose com concentração de 1,2% foram utilizadas para realizar a reação de Sequenciamento pelo método de Sanger Automatizado. Foi utilizado o kit comercial BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, USA), para a amplificação exponencial do fragmento de interesse através da utilização dos primers específicos e também pela adição de dNTPs e ddNTPs. Os procedimentos foram realizados seguindo as instruções do fabricante.

Para a purificação foi utilizado o kit comercial BigDye® XTerminator™ Purification (Applied Biosystems, USA), conforme as instruções do fabricante. Com as amostras devidamente purificadas, o sequenciamento foi realizado no Laboratório de Genômica Estrutural da UFPel, utilizando o equipamento Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer® (Life Technologies, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de RNA extraídas com TRIzol®, a partir de tecido hepático apresentaram uma concentração média de 200 ng/ μ l e um grau de pureza de $A_{260}/A_{280} > 1,8$. Posteriormente, pode-se verificar que os primers confeccionados foram eficazes, pois houve anelamento e amplificação do fragmento de interesse no tamanho esperado de 448bp o qual foi visualizado em gel de agarose.

Dessa forma, para obter uma amplificação ainda mais precisa, foi realizado uma segunda rodada da PCR, porém desta vez com gradiente de temperatura que

variou de 60 a 70°C. É importante realizar gradiente de temperatura para verificar o padrão de amplificação da banda, podendo assim, descartar temperaturas nas quais possa haver amplificações inespecíficas, evitando o sequenciamento de um fragmento inesperado. Logo após, com a constatação de que a melhor temperatura de amplificação foi de 64,7 °C, pôde-se realizar a purificação utilizando colunas de sílica comerciais disponíveis no kit de purificação. Com o produto da PCR puro, procurou-se a melhor diluição do produto purificado, para realizar o Sequenciamento. A diluição do produto da PCR selecionado para o Sequenciamento, foi a diluição 10^{-7} (Fig.1), pois apresentou uma banda com boa concentração, compacta e livre de amplificações inespecíficas visíveis em gel de agarose.

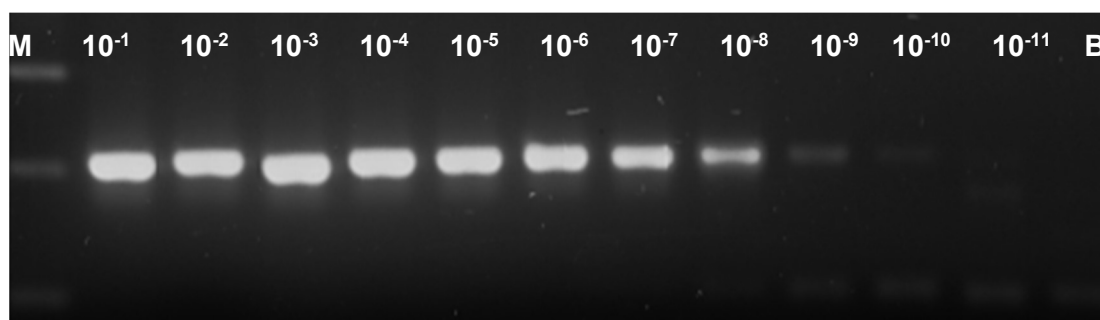


Fig. 1: Visualização em gel de agarose com concentração de 1,2% dos fragmentos amplificados por PCR com diluições, variando de 10^{-1} a 10^{-11} e controle negativo (B).

Com a amostra concentrada, pura e diluída, foi realizado o Sequenciamento pelo método de Sanger Automatizado, originando uma sequência consenso de 350bp (Fig.2), que após análise por bioinformática, apresentou identidade superior a 90% com sequências de β -Actina de outras espécies, confirmando que o gene sequenciado foi realmente o da β -Actina. Assim, a sequência gênica da β -Actina de *Odontesthes humensis* foi depositada no Genbank® sob o número de acesso KX060039.

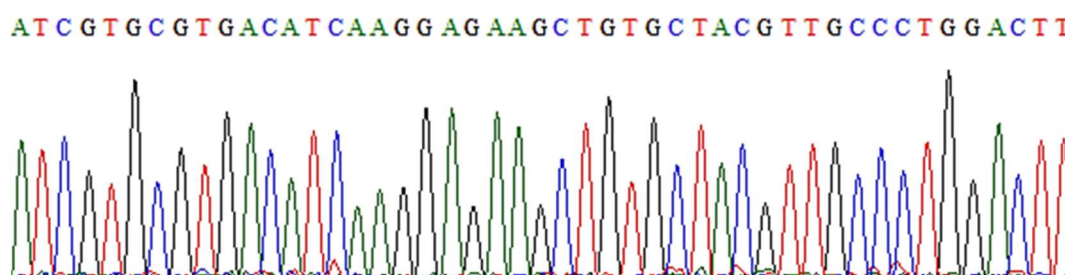


Fig. 2: Eletroferograma representativo do sequenciamento do gene da β -Actina.

4. PERSPECTIVAS

Este estudo tem como perspectiva a avaliação da eficiência da β -Actina como um gene de referência, bem como os citados ao longo do texto em peixe-rei (*Odontesthes humensis*), a fim de utilizá-los em futuros estudos como gene de

referência em quantificações relativas da expressão gênica através da qPCR.

REFERÊNCIAS

- CHAPMAN, J; WALDENSTRÖM, J. **With Reference to Reference Genes: A Systematic Review of Endogenous Controls in Gene Expression Studies.** PLoS ONE, v.1, n.1, p.1, 2015.
- CHOI, C. Y.; AN, K. W. **Cloning and expression of Na⁺/K⁺-ATPase and osmotic stress transcription factor 1 mRNA in black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* during osmotic stress.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v. 149, n. 1, p. 91-100, 2008.
- DUNDAS, J; LING, M. **Reference genes for measuring mRNA expression.** Theory in Biosciences, v.131, n.1, p. 215-223, 2012.
- LIN, C.-H. et al. **Time-course changes in the expression of Na, K-ATPase and the morphometry of mitochondrion-rich cells in gills of euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during freshwater acclimation.** Journal of Experimental Zoology, v. 301A, p. 85-96, 2004.
- LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. **Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCt} method.** Methods, v. 25, n. 4, p. 402–408, 2001.
- NAWATA, C. M. et al. **Rh glycoprotein expression is modulated in pufferfish (*Takifugu rubripes*) during high environmental ammonia exposure.** The Journal of experimental biology, v. 213, n.18, p. 3150-3160, 2010.
- NILSEN, T. O. et al. **Differential expression of gill Na⁺,K⁺-ATPase alpha- and beta-subunits, Na⁺,K⁺,2Cl⁻ cotransporter and CFTR anion channel in juvenile anadromous and landlocked Atlantic salmon *Salmo salar*.** The Journal of experimental biology, v. 210, n.16, p. 2885-2896, 2007.
- PATTERSON, J.; BODINIER, C.; GREEN, C. **Effects of low salinity media on growth, condition, and gill ion transporter expression in juvenile Gulf killifish, *Fundulus grandis*.** Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular and Integrative Physiology, v. 161, n. 4, p. 415-421, 2012.
- PUROHIT, G; MAHANTY, A; MOHANTY, B; MOHANTY, S. **Evaluation of housekeeping genes as references for quantitative real-time PCR analysis of gene expression in the murrel *Channa striatus* under high-temperature stress.** Fish Physiology and Biochemistry, v.1, n.41, p. 695-704, 2015.

- SINHA, A. K. et al. **Hypo-osmotic stress-induced physiological and ion-oregulatory responses in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) are modulated differentially by nutritional status**. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 181, p. 87-99, 2015.
- SCOTT, G. R. et al. **Changes in gene expression in gills of the euryhaline killifish *Fundulus heteroclitus* after abrupt salinity transfer**. *American Journal of Cell Physiology*, v. 287, p. 300-309, 2004.
- STURZENBAUM, S; KILLE, P. **Control genes in quantitative molecular biological techniques: the variability of invariance**. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v.130, n.4, p. 281-289, 2001.
- THELLIN, O; ZORZI, W; LAKAYE, B; DE BORMAN, B; COUMANS, B; HENNEN, G; GRISAR, T; IGOUT, A; HEINEN, E. **Housekeeping genes as internal standards: Use and limits**, v.75, n.1, p 291-295, 1999.
- WENJING, R; MAODE, L. **Actin, a reliable marker of internal control?**. *Clínica Chimica Acta*, v. 385, n.1, p. 1-5, 2007.
- XU, H; LI, C; ZENG, Q; AGRAWAL, I; ZHU, X; GONG, Z. **Genome-wide identification of suitable zebrafish *Danio rerio* reference genes for normalization of gene expression data by RT-qPCR**. *Journal of Fish Biology*, v.1, n 88, p. 2095-2110, 2016.
- ZHENG, W.-J.; SUN, L. **Evaluation of housekeeping genes as references for quantitative real time RT-PCR analysis of gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)**. *Fish & shellfish immunology*, v. 30, n. 2, p. 638–645, 2011.

ABSTRACT: Used as internal control of the qPCR technique, the reference genes must necessarily exhibit a constitutive standard to obtain a reliable result. Actins are highly conserved proteins and the evolution of this gene family has been studied, having the β isoform gene received prominence due to its housekeeping function. Among the species of teleosts with potential aquaculture, the pejerrey (*Odontesthes humensis*), which belongs to the family Atherinopsidae, being extremely demanding in terms of water quality. Thus, this animal has been receiving attention from researchers, since, when subjected to a stress situation, it ends up responding in a way that its molecular pathways are directed to the fish survival. In this context, this work aimed the molecular cloning, sequencing and characterization of the β -Actin gene in pejerrey. Was realized the preparation of specific primers for the amplification of β -Actin. Then, the molecular cloning of this gene was performed by PCR with temperature gradient and subsequent sequencing through the automated Sanger Sequencing method.

KEYWORDS: Reference gene, PCR, β -Actin and Sequencing.

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 bioprodutos e Microbiologia; Bolsista produtividade em desenvolvimento tecnológico e extensão inovadora DT2 CNPq. E-mail: caroline.moraes@unipampa.edu.br

CAROLINE LOPES FEJO 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 Ciências 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, anficarpia, 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 anficarpia. ionarafe@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. jomaldaner@gmail.com

JOYCE CRISTINA GONÇALVES 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 (UFPeI) 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) - UFPeI 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 BREDI 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.

NATHIELI 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.molinar@gmail.com

RAQUEL NASCIMENTO DAS NEVES Biotecnologista graduada pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel) em 2016. Atualmente, mestranda no 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. Sibeles 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. entomoraism@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 - UFRSA - (2007), possui Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - UFRSA (2009). Atualmente é Professor Assistente do Bacharelado em Biotecnologia no Departamento de Ciências Animais na UFRSA, 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 do 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

