

Biotecnologia:

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

Vanessa Bordin Viera

Natiéli Piovesan

(Organizadoras)



Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan
(Organizadoras)

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

Atena Editora
2017

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

Conselho Editorial

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

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

B616

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

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

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

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

2017

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

Apresentação

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

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

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

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

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

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

Vanessa Bordin Viera
Natiéli Piovesan

SUMÁRIO

Apresentação..... 03

Área: Agrárias e Ambientais

CAPÍTULO I

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

CAPÍTULO II

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

CAPÍTULO III

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

CAPÍTULO IV

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

CAPÍTULO V

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

CAPÍTULO VI

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

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

Área: Ciência dos Alimentos

CAPÍTULO VII

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

CAPÍTULO VIII

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

CAPÍTULO IX

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

CAPÍTULO X

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

CAPÍTULO XI

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

Área: Saúde

CAPÍTULO XII

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

CAPÍTULO XIII

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

CAPÍTULO XIV

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

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

CAPÍTULO XV

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

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

CAPÍTULO XVI

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

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

Sobre as organizadoras.....219

Sobre os autores.....220

CAPÍTULO XII

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO cfDNA ATRAVÉS DE qPCR COM OS PRIMERS L1PA2

Alessandra Koehler
Danieli Rosane Dallemole
Alexandre Rieger

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DO cfDNA ATRAVÉS DE qPCR COM OS PRIMERS L1PA2

Alessandra Koehler

Universidade de Santa Cruz do Sul

Santa Cruz do Sul – RS

Danieli Rosane Dallemole

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre – RS

Alexandre Rieger

Universidade de Santa Cruz do Sul

Santa Cruz do Sul – RS

RESUMO: A presença de DNA livre de células (cfDNA) no plasma foi constatada em 1948, desde então, explora-se a sua utilização como um biomarcador de processos patológicos, pois o cfDNA origina-se, principalmente, da apoptose, gerando fragmentos curtos, ou da necrose, gerando fragmentos longos. A diferença nos tamanhos de fragmentos pode ser utilizada para avaliar a integridade do cfDNA (int-cfDNA). Dessa forma, o objetivo do trabalho foi desenvolver um método de determinação da int-cfDNA em amostras de 14 indivíduos saudáveis, através de qPCR utilizando os primers L1PA2. Duas etapas de centrifugação foram executadas para obtenção do plasma, do qual isolou-se o cfDNA com um método de colunas. O cfDNA isolado foi submetido à qPCR utilizando-se dois conjuntos de primers L1PA2, um para fragmentos curtos de 90pb e outro para fragmentos longos de 222pb. Para a quantificação foram feitas duas curvas padrão a partir de um pool de cfDNA de 10 amostras de indivíduos normais. A eficiência da curva de L1PA2 90pb foi de 100%, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,98 e para L1PA2 222pb foi de 99%, com $r^2=0,97$. A int-cfDNA média foi de $0,64\pm0,28$; IC95%(0,45-0,83). Os resultados apontam que a qPCR com os primers L1PA2 pode ser utilizada na investigação de estados patológicos relacionadas com morte celular. No entanto, é necessário explorar a relação da integridade com os processos de origem desses fragmentos para determinar os limites entre o estado normal e alterado, e com isso validar a metodologia de biópsia líquida para o diagnóstico e prognóstico em situações patológicas.

PALAVRAS-CHAVE: cfDNA, integridade do cfDNA, biópsia líquida, qPCR.

1. INTRODUÇÃO

O DNA circulante livre de células (cfDNA) foi descoberto em 1948 por Mandel e Métais, que o detectaram no plasma humano tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes (THIERRY et al., 2016). Em 1966, foi demonstrada a presença de cfDNA no plasma e soro sanguíneos de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. Esse DNA também foi encontrado em outras doenças relacionadas com danificação de tecidos, como hepatite, carcinoma metastático e tuberculose miliar. Assim, os

autores especularam que o cfDNA poderia ter origem em células de tecidos que sofrem destruição (TAN et al., 1966).

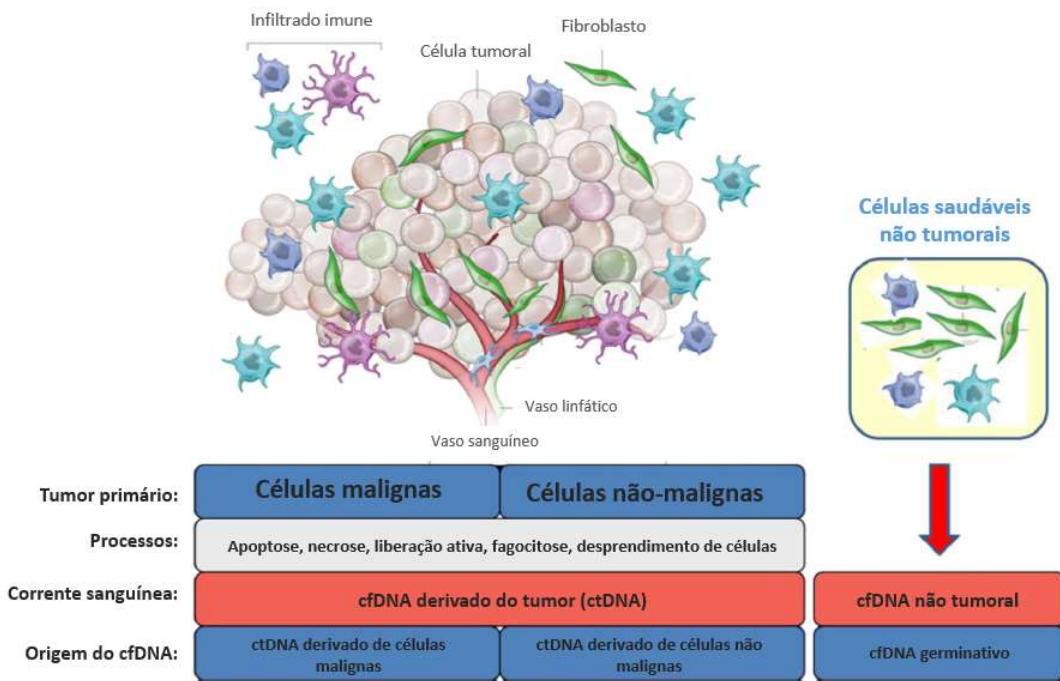
Já em 1977, foi evidenciada a presença de níveis elevados de cfDNA no soro, comparado com os níveis em indivíduos saudáveis, em pacientes que apresentavam diversos tipos de câncer (LEON et al., 1977). Todos os pacientes que apresentaram altos valores de DNA circulante possuíam câncer metastático. Além disso, em todos os indivíduos que tiveram bons resultados com o tratamento de radioterapia, a quantidade de cfDNA no soro decresceu. Esse foi o primeiro trabalho que demonstrou a possível aplicação do cfDNA como biomarcador em doenças humanas.

Posteriormente, inúmeros trabalhos investigaram a utilização do cfDNA em diversas situações: diagnóstico pré-natal, infecções virais e bacterianas, fisiologia do exercício, rejeição tecidual, fator prognóstico em casos de AVC, entre outras (TYNAN et al., 2011; OUTINEN et al., 2012; HUTTUNEN et al., 2011; HA et al., 2011; BREITBACH et al., 2012; VLAMINCK et al., 2014; BUSTAMANTE et al., 2016). Apesar disso, o seu uso em estudos acerca de diferentes tipos de câncer sempre foi prevalente. Mais recentemente, foram feitos muitos avanços nas pesquisas acerca das possíveis aplicações do cfDNA. Atualmente, diversos trabalhos exploram o potencial de detectar mutações no DNA circulante que são provenientes do tumor, aumentando seu poder diagnóstico e prognóstico (SUHAIMI et al., 2015; PESTRIN et al., 2015; (THIERRY et al., 2014).

A partir dessas aplicações, surgiu o termo “biópsia líquida”, ou seja, é possível avaliar mutações associadas a tumores apenas com uma coleta de sangue, sem ser necessária uma biópsia tecidual (CROWLEY et al., 2013). Esse conceito já existe desde 1994, pela realização de um trabalho que encontrou mutações específicas de células tumorais no cfDNA. Entretanto, o termo passou a ser utilizado apenas mais recentemente, com o avanço das pesquisas acerca dessa aplicação.

Apesar de ser muito estudado, ainda não há um consenso sobre a origem do cfDNA. Existem muitos trabalhos avaliando suas aplicações, entretanto poucos estudos possuem como foco as suas propriedades biológicas. Algumas possibilidades são sua liberação passiva na morte celular, seja por apoptose ou necrose, ou sua liberação ativa realizada pelas células (Figura 1). Na morte celular, a hipótese é que esses fragmentos seriam liberados quando uma nuclease quebra o DNA genômico. Há um consenso de que fragmentos possivelmente liberados por apoptose são menores que 200 pb, enquanto os liberados por outros processos de morte celular, como a necrose em situações patológicas, são maiores que 250 pb (JIANG, LO, 2016; MA et al., 2017).

Figura 1 - Origem dos fragmentos de cfDNA (adaptado de Thierry et al., 2016)



Recentemente, foi demonstrado que o cfDNA liberado por cultura celular, pode apresentar fragmentos de aproximadamente 2000 pb (BRONKHORST et al., 2016). Comparando com outros trabalhos, esse tamanho não se relaciona com apoptose ou necrose. Assim, os autores sugeriram que esses fragmentos de cfDNA estavam sendo liberados ativamente pelas células, possivelmente associado a um complexo proteico. Alguns outros trabalhos já exploraram também a liberação ativa do cfDNA por meio de microvesículas ou exossomos (THIERRY et al., 2016).

Apesar destas evidências de diferentes origens do cfDNA, a hipótese de sua liberação a partir de células apoptóticas ou necróticas e a diferença de tamanho entre os fragmentos traz a possibilidade verificar sua integridade. A aplicação prática disso é o fato de que, em situações patológicas, assume-se que a necrose está mais presente que a apoptose. Assim, espera-se que nestes casos a integridade do cfDNA seja maior, ou seja, predominem fragmentos longos. Esse método é muito promissor em casos de câncer, para diferenciar tumores benignos e malignos, avaliar o prognóstico e acompanhar a resposta ao tratamento. Além disso, também é utilizado em outras situações patológicas e em diagnóstico pré-natal (YU, GU, JU, 2014).

Um dos primeiros trabalhos a avaliar a integridade do cfDNA utilizou pacientes com câncer ginecológico e de mama (WANG et al., 2003). Neste trabalho, encontrou-se que o índice de integridade do cfDNA dos pacientes com câncer foi significativamente maior que aquele calculado para o grupo controle, sugerindo que uma integridade maior está relacionada com essa situação patológica. A amplificação de dois tamanhos diferentes da sequência repetitiva ALU, um de 115 pb e outro de 247 pb utilizando qPCR também foi utilizada para calcular a integridade do cfDNA em pacientes de câncer de colorretal (UMETANI et al., 2006). Neste trabalho, novamente foi calculada uma integridade significativamente maior nos

pacientes com câncer.

Posteriormente, diversos outros trabalhos utilizaram uma metodologia semelhante, com os mesmos primers citados acima, para avaliar a integridade do cfDNA em diversos tipos de situações patológicas com malignidade: câncer de próstata, câncer colorretal, câncer de mama, carcinoma hepatocelular e efusão pleural maligna (FENG et al., 2013; DELGADO et al., 2013; FAWZY et al., 2016; HAO et al., 2014; IQBAL et al., 2015; HUANG et al., 2016; SRIRAM et al., 2012). Em todos estes trabalhos, verificou-se que a integridade do cfDNA, isoladamente ou em conjunto com outras análises, possui potencial para ser uma ferramenta de diagnóstico e prognóstico em diferentes condições patológicas.

Apesar de diversos trabalhos recentes terem encontrado uma integridade maior do cfDNA em amostras de pacientes com câncer, há algumas controvérsias em relação à essa técnica. Elas se devem principalmente à falta de uma padronização no processamento inicial das amostras, seja na coleta ou no isolamento do cfDNA. Isso leva a resultados contraditórios, prejudicando o valor diagnóstico e prognóstico da técnica. De fato, uma revisão publicada em 2016 evidenciou que alguns trabalhos encontraram que o cfDNA derivado de tumores é altamente fragmentado, composto por fragmentos menores que 145 pb. O padrão de fragmentação do cfDNA pode ser uma espécie de “assinatura” que indica o tecido de origem desse DNA circulante. Essa fragmentação também indica que ocorreu degradação do cfDNA após sua liberação, uma vez que espera-se que, quando liberado por necrose, seu tamanho seja maior do que quando originado por apoptose (THIERRY et al., 2016).

Ainda que os dados encontrados na literatura sejam contraditórios, é importante desenvolver trabalhos que avaliem a integridade do cfDNA, a fim de elucidar melhor sua estrutura, auxiliando a esclarecer suas origens biológicas e a aprimorar seu potencial diagnóstico e prognóstico. Nesse sentido, é importante a utilização de técnicas eficientes que permitam essa avaliação. Além dos primers para sequências ALU citados acima, outros também podem ser utilizados para quantificar e avaliar a integridade do cfDNA, entre eles os desenvolvidos por Breitbach et al. (2014). Estes primers, nomeados L1PA2, amplificam as sequências com o mesmo nome, que são uma subfamília de sequências repetitivas LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Elements). Um dos pares amplifica fragmentos de 90 pb, enquanto o outro amplifica fragmentos de 222 pb. Ambos os pares apresentaram uma boa eficiência na qPCR, entretanto, foram utilizados apenas para quantificação. Portanto, no presente estudo, o objetivo foi testar um método de avaliação da integridade do cfDNA utilizando estes pares de primers, para um possível uso posterior em biópsias líquidas.

2. METODOLOGIA

2.1. Amostras, coleta do sangue e separação do plasma

As amostras utilizadas no estudo foram provenientes de 14 voluntários saudáveis. O sangue foi coletado por punção venosa em tubos contendo EDTA. Após, obteve-se o plasma por duas etapas sucessivas de centrifugação. A primeira foi realizada em até 2 horas após a coleta, a 1.500g por 15 minutos. A segunda foi realizada a 15.000g por 15 minutos. O sobrenadante das amostras foi transferido para microtubos e armazenado a -20 °C até ser realizada a extração do cfDNA.

2.2. Extração e quantificação do cfDNA

A extração do cfDNA foi realizada a partir de 200 µL de amostra de plasma. Para isso, utilizou-se o QIAamp DNA Blood Mini Kit (©Qiagen) seguindo as instruções do fabricante, apenas sendo modificada a etapa final (eluição com 50 µL de tampão TE). O cfDNA extraído foi quantificado no fluorímetro Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific®), cujo resultado foi expresso em ng/mL. Após, as amostras foram armazenadas a -20 °C até a realização da qPCR.

2.3. PCR em tempo real (qPCR)

A qPCR foi realizada com os seguintes pares de primers: L1PA2 90 pb senso 5'-TGCGCAATAAACATACGTG-3' e antisenso 5'- GACCCAGCCATCCCATTAC-3'; L1PA2 222 pb senso 5'- TGCGCAATAAACATACGTG-3' e antisenso 5'- AACAACAGGTGCTGGAGAGG-3' (BREITBACH et al., 2014).

Todas as reações foram realizadas no equipamento DTprime (DT-96) Real-Time Detection Thermal Cycler (DNA-Technology®). Em cada reação, foram adicionados 10 µL de PowerUp SYBR Green Master Mix (2X) (Applied Biosystems®), 0,3 µM do primer senso, 0,3 µM do primer antisenso e 5 µL de amostra de cfDNA, completando com água ultrapura até volume final de 20 µL. As condições de amplificação foram as seguintes: um ciclo a 50 °C por 2 minutos, seguido de um ciclo a 95 °C por 2 minutos; 40 ciclos a 95 °C por 15 segundos com duas etapas sucessivas de 60 °C por 30 segundos cada. A curva de dissociação para a confirmação da amplificação seguiu 100 ciclos com variação de 0,5 °C de temperatura por ciclo de 15 segundos no intervalo de 90 °C a 40 °C.

Os resultados da amplificação também foram confirmados por eletroforese em gel de agarose 2% com brometo de etídio, visualizado em transiluminador.

2.4. Curva de quantificação e eficiência da qPCR

Para a quantificação das sequências L1PA2 curtas e longas e posterior cálculo do índice de integridade, foram feitas duas curvas padrão, cada uma para um tamanho de sequência. As curvas foram realizadas com diluição seriada de 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 e 1/64 a partir de um pool de cfDNA feito com 10 amostras de indivíduos saudáveis. Assim, considerou-se que o pool de amostras não diluído representava 100%, enquanto o diluído a 1/2 representava 50% e assim sucessivamente.

As curvas de eficiência da reação de qPCR foram feitas com o software Real Time_PCR v7.7 (<http://www.dna-technology.ru/eng/support/>), considerando o Ct (threshold cycle) e o logaritmo na base 10 da concentração das sequências L1PA2 90 pb e 222 pb presentes no pool de amostras.

2.5. Cálculo do índice de integridade do cfDNA

O índice de integridade do cfDNA (int-cfDNA) é calculado pela razão entre a concentração de fragmentos de cfDNA longos e curtos (UMETANI et al., 2006). No presente trabalho, isso foi obtido pela razão entre a concentração dos amplicons das sequências L1PA2 222 pb e L1PA2 90 pb, sendo utilizado o software GraphPad Prism 6 (©GraphPad Software).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação do cfDNA foi realizada por meio de fluorimetria, método mais adequado para pequenas quantidades de DNA, que é o caso do DNA circulante livre de células. O resultado das quantificações foi em média $2,26 \pm 0,22$ ng/µL, variando de um mínimo de 1,92 até 2,56 ng/µL, valores que são esperados em relação ao cfDNA. Entretanto, isso pode variar consideravelmente dependendo do método de isolamento utilizado e também do método de quantificação (BRONKHORST et al., 2015). No caso deste estudo, utilizou-se um kit comercial baseado em colunas, o que sabidamente reduz o rendimento de cfDNA isolado. Entretanto, este é o método de extração mais utilizado nesse tipo de trabalho.

Em relação à eficiência da qPCR, os valores obtidos estão de acordo com as diretrizes do MIQE (Minimum Infomation for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments) (BUSTIN et al., 2009). Para L1PA2 90 pb, a eficiência da qPCR foi calculada em 100%, com coeficiente de determinação (r^2) de 0,9808 (Figura 2). Já para L1PA2 222 pb, a eficiência calculada foi de 99%, com r^2 igual a 0,9739 (Figura 3). De acordo com as orientações acima citadas, a eficiência da qPCR deve ser determinada por meio de curvas de calibração, pois isso garante a sensibilidade analítica e a robustez do ensaio.

Figura 2 – Curva de eficiência de L1PA2 90 pb

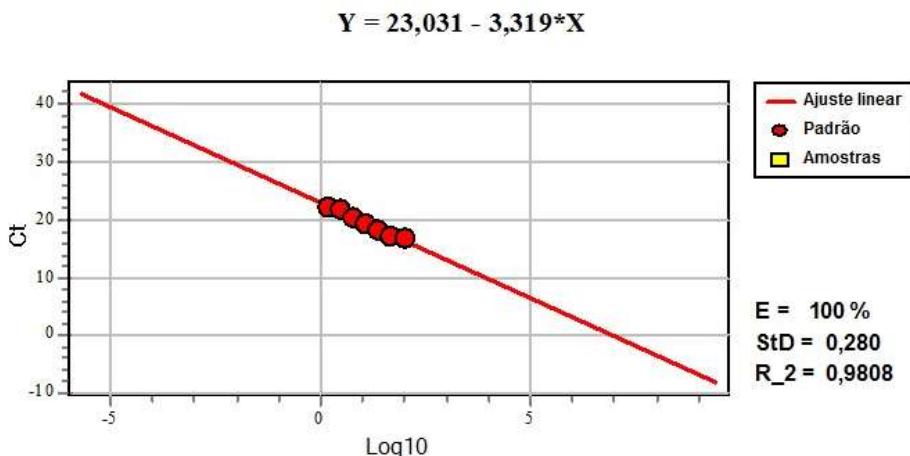
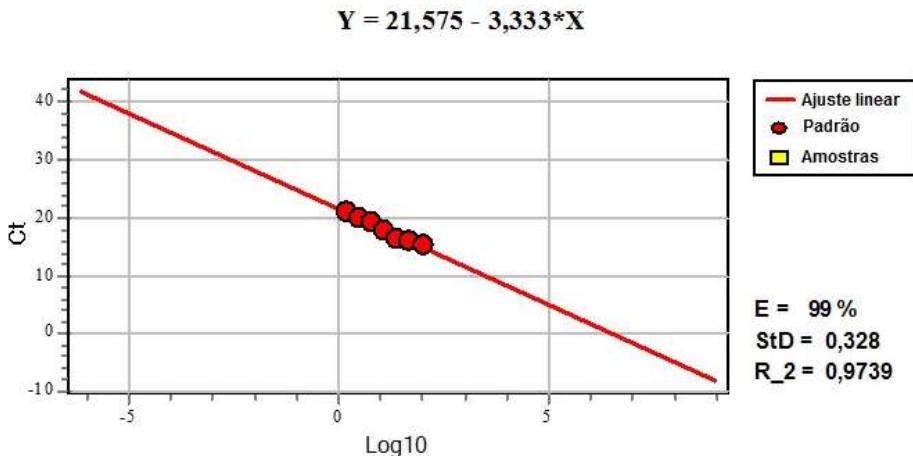


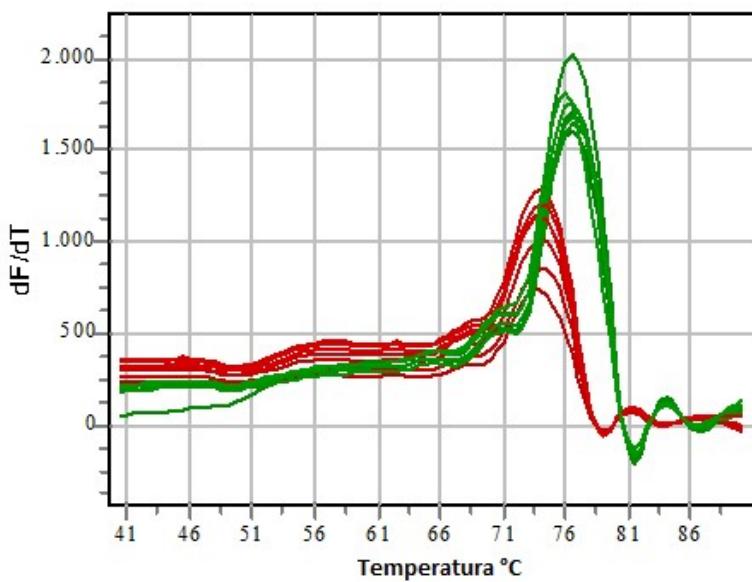
Figura 3 – Curva de eficiência de L1PA2 222 pb



A int-cfDNA calculada teve uma média de $0,64 \pm 0,28$; IC95% (0,45-0,83). Esse valor está de acordo com aquele encontrado para o grupo controle em outros trabalhos que utilizaram método semelhante para cálculo da integridade (TUG et al., 2014; BREITBACH et al., 2014). Entretanto, esses valores podem apresentar grande variação dependendo da forma de coleta, do método de isolamento, dos primers e do cálculo utilizados. De fato, o índice de integridade varia entre diferentes tipos de câncer e até mesmo entre diferentes indivíduos (YU, GU, JU, 2014; THIERRY et al., 2016).

A Figura 4 mostra as curvas de melting geradas a partir da amplificação das amostras das curvas padrão, evidenciando que os fragmentos de 90 pb e 222 pb possuem diferentes temperaturas de melting (Tm). Para 90 pb, a Tm média foi de $74,1 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Para 222 pb, a Tm média foi de $76,6 \pm 0,3^\circ\text{C}$.

Figura 4 - Curvas de melting dos fragmentos curtos (vermelho) e longos (verde)



Como diferencial da técnica utilizada no presente trabalho, pode-se citar a preparação de um pool de cfDNA dos controles para realizar a quantificação das sequências L1PA2 curtas e longas e posterior cálculo de integridade. Em outros estudos, isso foi feito por meio de diluições seriadas de apenas uma amostra de controle (UMETANI et al., 2006) ou por meio de curva padrão externa obtida comercialmente (FATOUROS et al., 2010; FAWZY et al., 2016). No estudo de Szpechcinski et al. (2016) foi realizado um pool de amostras de linfócitos obtidas de doadores saudáveis. Entretanto, no presente trabalho, esse pool foi feito com amostras de cfDNA extraídas dos indivíduos controle. A vantagem é que isso reduz as variações intrínsecas da técnica, pois todas as amostras estão submetidas às mesmas condições de extração e reação de qPCR.

Porém, a realização dessa técnica apresenta limitações. Entre elas pode-se citar a influência do processamento inicial das amostras nos resultados finais obtidos. Além disso, a ausência de uma padronização nos métodos utilizados para o cálculo da integridade em trabalhos diferentes dificulta a avaliação dos valores encontrados. Assim, coloca-se como perspectiva futura realizar um estudo incluindo amostras de pacientes oncológicos, para verificar qual será o valor de integridade encontrado e compará-lo com os controles. Isso auxiliará na maior validação da técnica e, através de padronizações futuras, permitirá que seja utilizada como ferramenta de diagnóstico e prognóstico através das biópsias líquidas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos percebe-se que a técnica pode ser aplicada para determinar a integridade do cfDNA, sendo essa uma importante ferramenta de triagem nos casos com suspeita de processos oncológicos, podendo ser incluída em

exames de rotina. No entanto, apenas o resultado da integridade não é capaz de predizer se há ou não a proliferação tumoral, pois outros estados fisiológicos e patológicos podem promover a morte celular por necrose e alterar esse resultado.

Além disso, é necessário explorar a relação entre esses processos oncológicos, a fim de determinar um limite entre estado normal e alterado, uma vez que vários estudos apontam que em indivíduos saudáveis o valor da int-cfDNA é mais baixo do que em doentes, mas não há um consenso desses valores. Outra etapa importante para fazer do cfDNA um biomarcador, é padronizar todas as etapas de obtenção do plasma, extração e amplificação do cfDNA, pois a fonte de variação de valores entre os estudos pode ser devido as etapas de preparação o que afeta a reprodutibilidade do teste.

REFERÊNCIAS

- BREITBACH, S. et al. Direct measurement of cell-free DNA from serially collected capillary plasma during incremental exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 117, n. 2, p. 119-130, 2014.
- BREITBACH, S. et al. Direct measurement of cell-free DNA from serially collected capillary plasma during incremental exercise. **Journal of applied physiology** (Bethesda, Md. : 1985), v. 117, n. 2, p. 119-30, 2014.
- BRONKHORST, A. J. et al. Characterization of the cell-free DNA released by cultured cancer cells. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 1, p. 157-165, 2016.
- BUSTAMANTE, A. et al. Circulating cell-free DNA is a predictor of short-term neurological outcome in stroke patients treated with intravenous thrombolysis. **Journal of Circulating Biomarkers**, v. 3, p.1849454416668791, 2016.
- CROWLEY, E. et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. **Nature reviews. Clinical oncology**, v. 10, n. 8, p. 472-84, 2013.
- DE VLAMINCK, I. et al. Circulating cell-free DNA enables noninvasive diagnosis of heart transplant rejection. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 241, p. 241ra77-241ra77, 2014.
- DELGADO, P. O. et al. Characterization of cell-free circulating DNA in plasma in patients with prostate cancer. **Tumor Biology**, v. 34, n. 2, p. 983-986, 2013.
- FAWZY, A. et al. Quantitative analysis of plasma cell-free DNA and its DNA integrity in patients with metastatic prostate cancer using ALU sequence. **Journal of the Egyptian National Cancer Institute**, v. 28, n. 4, p. 235-242, 2016.

FENG, J. et al. Plasma cell-free DNA and its DNA integrity as biomarker to distinguish prostate cancer from benign prostatic hyperplasia in patients with increased serum prostate-specific antigen. **International Urology and Nephrology**, v. 45, n. 4, p. 1023-1028, 2013.

HA, T. T. N. et al. Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. **PLoS One**, v. 6, n. 10, p. e25969, 2011.

HAO, T. B. et al. Circulating cell-free DNA in serum as a biomarker for diagnosis and prognostic prediction of colorectal cancer. **British Journal of Cancer**, v.111, n. 8, p. 1482-1489, 2014.

HUANG, A. et al. Plasma Circulating Cell-free DNA Integrity as a Promising Biomarker for Diagnosis and Surveillance in Patients with Hepatocellular Carcinoma. **Journal of Cancer**, v. 7, n. 13, p. 1798, 2016.

HUTTUNEN, R. et al. Fatal Outcome in Bacteremia is Characterized by High Plasma Cell Free DNA Concentration and Apoptotic DNA Fragmentation: A Prospective Cohort Study. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. e21700, 2011.

IQBAL, S. et al. Circulating cell-free DNA and its integrity as a prognostic marker for breast cancer. **Springerplus**, v. 4, n. 1, p. 265, 2015.

LEON, S. A. et al. Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy. **Cancer Research**, v. 37, n. 3, p. 646-650, 1977.

OUTINEN, T. K. et al. Plasma Cell-Free DNA Levels Are Elevated in Acute Puumala Hantavirus Infection. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31455, 2012.

PESTRIN, M. Heterogeneity of PIK3CA mutational status at the single cell level in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients. **Molecular Oncology**, v. 9, n. 4, p. 749-757, 2015.

SRIRAM, K. B. et al. Pleural fluid cell-free DNA integrity index to identify cytologically negative malignant pleural effusions including mesotheliomas. **BMC Cancer**, v. 12, n. 1, p. 428, 2012.

SUHAIMI, N-A. M. et al. Non-invasive sensitive detection of KRAS and BRAF mutation in circulating tumor cells of colorectal cancer patients. **Molecular Oncology**, v. 9, n. 4, p. 850-860, 2015.

TAN, E. M. et al. Deoxybonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. **Journal of Clinical Investigation**, v. 45, n. 11, p. 1732-1740, nov. 1966.

THIERRY, A. R. et al. Clinical validation of the detection of KRAS and BRAF mutations from circulating tumor DNA. **Nature Medicine**, v. 20, n. 4, p. 430–5, 23 mar. 2014.

THIERRY, A. R. et al. Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 35, n. 3, p. 347–376, set. 2016.

TYNAN, J. A. et al. Multiplexed analysis of circulating cell-free fetal nucleic acids for noninvasive prenatal diagnostic RHD testing. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 204, n. 3, p. 251.e1-251.e6, 2011.

UMETANI, N. et al. Increased integrity of free circulating DNA in sera of patients with colorectal or periampullary cancer: Direct quantitative PCR for ALU repeats. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1062–1069, 2006.

WANG, B. G. et al. Increased plasma DNA integrity in cancer patients. **Cancer Research**, v. 63, n. 14, p. 3966–8, 2003.

YU, J.; GU, G.; JU, S. Recent advances in clinical applications of circulating cell-free DNA integrity. **Laboratory Medicine**, v. 45, n. 1, p. 6-12, 2014.

ABSTRACT: The presence of cell-free DNA (cfDNA) in plasma was first found in 1948 and, since then, its utilization as a biomarker in pathologic processes, because cfDNA is originated, mainly, from apoptosis, generating short fragments, or from necrosis, generating long fragments. The difference in the size of the fragments can be used to evaluate the integrity of cfDNA (int-cfDNA). This way, the objective of this study was develop a method of int-cfDNA determination in 14 healthy individuals, using qPCR with L1PA2 primers. Two centrifugation steps were made to obtain plasma samples, from which cfDNA was isolated with a column method. The isolated cfDNA was submitted to qPCR using two sets of L1PA2 primers, one for short fragments with 90 bp and another for long fragments with 222 bp. Two standard curves made from a pool of cfDNA of 10 samples of healthy individuals were used to the quantification of the fragments. The efficiency of L1PA2 90 bp curve was 100%, with determination coefficient (r^2) equal to 0,98 and for L1PA 222 bp was 99%, with $r^2=0,97$. The mean int-CFDNA was $0,64\pm0,28$; IC95%(0,45-0,83). The results points that the qPCR with L1PA2 primers can be used in the investigation of pathologic processes related to cellular death. However, it's necessary to explore the relation of the integrity with the origin processes of this fragments to determine the limits between the normal and altered state. This way, the liquid biopsy methodology can be validated to the diagnostic and prognostic in pathologic situations.

KEYWORDS: cfDNA, cfDNA integrity, liquid biopsy, qPCR.

SOBRE AS ORGANIZADORAS

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

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

SOBRE OS AUTORES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-93243-31-8



9 788593 243318