

XVIII Encontro de Jovens Pesquisadores

Universidade de Caxias do Sul - 2010

Otimização de sistemas para cultivo e sincronização do nematóide *Caenorhabditis elegans*

Fernando Joel Scariot (BIC/CNPq), Angélica Carla Onzi, Sergio Echeverrigaray Laguna
(Orientador(a))

O nematóide de vida livre *Caenorhabditis elegans* é considerado um organismo modelo por possuir um curto ciclo de vida, todo o genoma sequenciado e 60% dos genes homólogos a outros nematóides e organismos eucariotos, além do pequeno tamanho e fácil manutenção *in vitro*. Os nematóides parasitas de plantas (fitonematóides) são responsáveis por perdas anuais na ordem de US\$ 100 bilhões ou 12,3% da produção das principais culturas. Os principais gêneros de fitonematóides endoparasitas sedentários são *Globodera*, *Heterodera* (formadores de cistos) e *Meloidogyne* (formadores de galhas). Neste contexto, *C. elegans* está sendo proposto neste projeto como modelo para a prospecção e estudo de compostos nematicidas, tendo como objetivo final o controle de fitonematóides. Nesta etapa inicial dos trabalhos foram avaliados e otimizados métodos para o cultivo e sincronização de *C. elegans*. Para tanto, a linhagem da bactéria *Escherichia coli* OP50 foi mantida em caldo LB, inoculada em meio NGM, e crescida por 18h para posterior inoculação do nematóide. O nematóide foi cultivado em meio NGM à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, repicando quinzenalmente 10 culturas. A desinfecção das culturas *C. elegans* foi realizada através da adição de NaOH e hipoclorito de sódio a 5%, em agitação, e os ovos obtidos foram reinoculados em NGM com *E. coli* previamente crescida. A sincronização inicial dos nematóides foi realizada através da desinfestação das culturas para a obtenção de ovos, transferência dos ovos para tampão M9 e incubação à 20°C por 18h. Esta primeira etapa tem por objetivo remover feromônios do tipo larval *dauer*, que possui maior durabilidade e não completa o ciclo - o que impediria a sincronização das larvas, selecionando larvas em fase L1 (primeiro estágio larval). Para que as larvas alcançassem a fase L4 a adulto, de forma sincrônica, as mesmas foram transferidas para meio S Basal, inoculado previamente com *E. coli*, e mantidas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 37h aproximadamente. Os resultados prévios comprovaram a eficiência dos métodos utilizados, permitindo a obtenção de ovos desinfestados para a manutenção das culturas e larvas L4 sincronizadas para posterior estudo da ação de substâncias nematicidas.

Palavras-chave: *Caenorhabditis elegans*, Ciclo de vida, Larvas.

Apoio: UCS, CNPq.