

Avaliação de métodos para o congelamento do nematoide *Caenorhabditis elegans*

Sofia Biondo, Sergio Echeverrigaray ; Ana Paula Longaray Delamare;

INTRODUÇÃO

Os nematoides são organismos pertencentes ao filo *Nemata* (=Nematoda), e constituem o mais numeroso grupo de metazoários existentes no solo [1]. O *Caenorhabditis elegans* [2], pequeno nematoide de vida livre, utilizado como organismo modelo em estudos biológicos, pois possui uma série de características que o torna ideal para esse tipo de pesquisa, entre elas fácil e rápido crescimento. As conservações desses animais para futuros estudos, em sua maioria, são feitas em nitrogênio líquido, o que se torna um processo caro e pouco viável para alguns laboratórios. O objetivo deste trabalho é testar a eficiência de dois métodos de congelamento de nematoides.

METODOLOGIA

Para este trabalho, primeiramente, os nematoides foram crescidos em meio NGM + *Escherichia coli*, até ter uma predominância de larvas no estágio L1 e L2 (Fig.1). Os testes com o congelamento foram realizados com adição de meio tampão fosfato + 24% de glicerol e sulfato de magnésio (SF1) e na outra metodologia foi adicionado tampão fosfato de potássio + 30% de glicerol (SF2). Após a adição dos compostos os nematoides foram aliquotados e congelados em freezer a -80°C. Para a avaliação da viabilidade, foram retiradas amostras nos tempos 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias. As amostras retiradas foram descongeladas a temperatura ambiente, inoculadas em placas NGM com *E. coli* e a viabilidade de larvas foi avaliada após 15 min pela determinação de movimento larval.

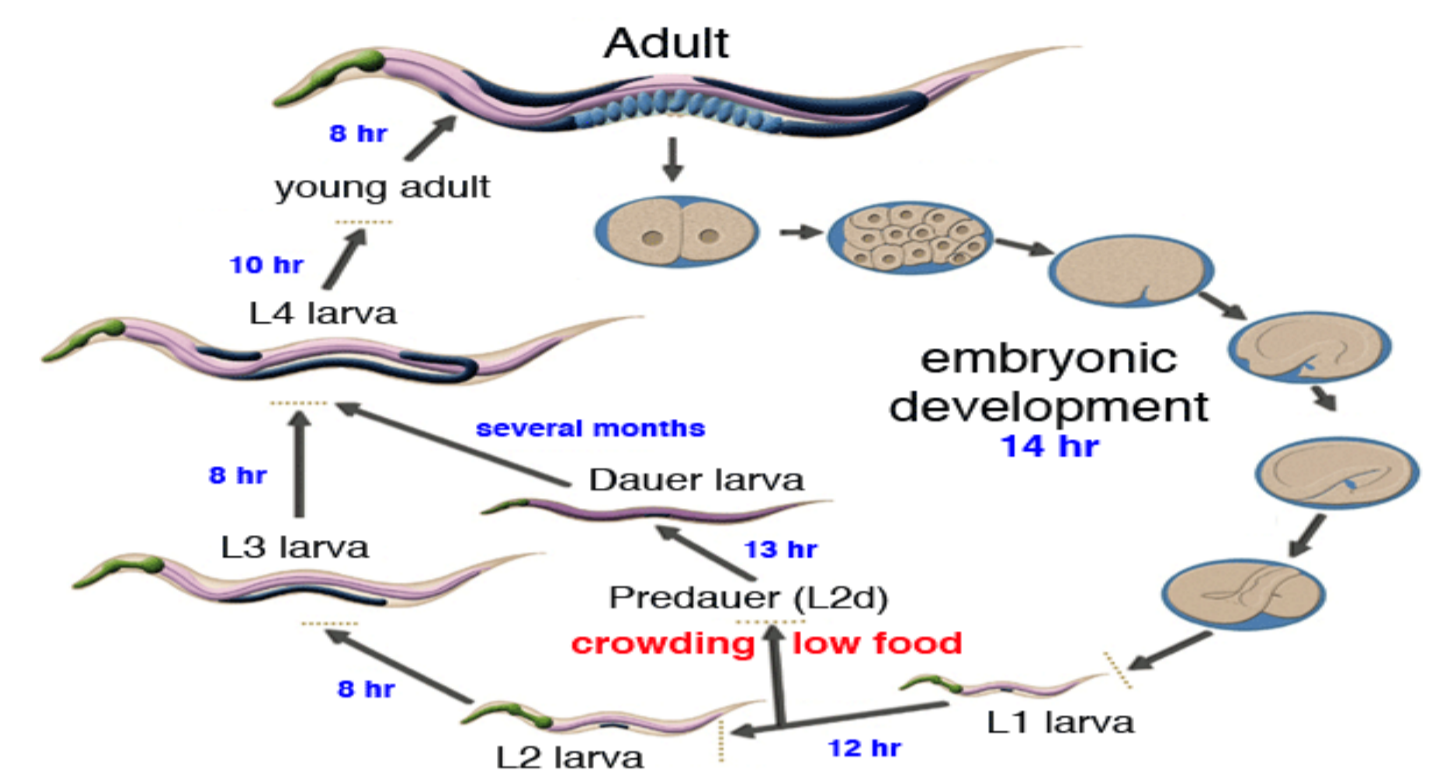


Fig 1: Representação do ciclo de vida do nematoide *C. elegans*

RESULTADOS E DISCUSSÃO



No método SF1 a viabilidade das larvas nos tempos 7 e 15 dias foi de aproximadamente 60%, sendo no dia 7 a bactéria utilizada apresentou contaminação, impossibilitando uma contagem exata das larvas presente neste dia, já nos tempos 30, 45 e 60 dias caiu para aproximadamente 27, 15 e 11% respectivamente.



No método SF2 a viabilidade das larvas nos tempos de 7 e 15 dias foi de aproximadamente 7%, já nos tempos 30, 45 e 60 dias houve um aumento de 13, 24 e 33%, respectivamente.

Os resultados mostram que o método SF1, contendo meio de cultivo e sulfato de magnésio, apresenta resultados superiores ao método SF2, nos primeiros 15 dias, tempo muito reduzido pensando em sistemas de criopreservação. Alternativas em curso para otimização destes métodos incluem variações na concentração de glicerol, sincronização de larvas em L1, e ajuste de tempo vrs. temperatura de recuperação pós-congelamento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados tem mostrado uma maior eficiência do método SF1, apesar de uma redução significativa da viabilidade. O método SF2 precisa de maiores pesquisas a respeito do estranho aumento da viabilidade larval, conforme o tempo passou. Estes métodos ainda serão avaliados, visando a manutenção da viabilidade das larvas por períodos prolongados, e o método SF2 será reavaliado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] DIOGO Ana; MOTA Manuel M. *Caenorhabditis elegans: modelo biológico para o século XXI*. Laboratório de Nematologia/ ICAM Dept. de Biologia, Universidade de Évora.
 [2] A short history of *C. elegans* Research. Disponível em: <<http://wormclassroom.org/short-history-c-elegans-research>> acesso dia 10 de agosto de 2016.

AGRADECIMENTOS