

Desecación y almacenamiento de *Caenorhabditis elegans* para su uso en acuicultura

Sauci Jiménez, M. , Muñoz, M.J. y Brokate Llanos, A.M.

Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica/CABD-UPO, Ctra. Utrera Km 1. 41013 - Sevilla

Introducción

La acuicultura es un sector próspero, aunque actualmente uno de los principales problemas al que se enfrenta es la alimentación de peces en una fase temprana de desarrollo. La especie más utilizada para ello es *Artemia*, pero su disponibilidad es limitante. Los nematodos podrían sustituir a *Artemia* en la cría de larvas de peces gracias a su rápido crecimiento por autofecundación y a la posibilidad de producirse de forma masiva alimentándolos con bacterias. Por tanto, se reduciría el precio de la materia prima.

El uso de nematodos para la alimentación de larvas de peces en acuicultura ha requerido una adaptación a diferentes concentraciones de sal en medio líquido. También es necesario desarrollar un protocolo eficiente para la desecación y el almacenamiento de los nematodos en diferentes estadios larvarios, lo que permitiría transportar el producto a las piscifactorías de todo el mundo.

Estamos desarrollando protocolos de desecación para diferentes condiciones como el tiempo, la temperatura y la humedad relativa. Así podremos determinar cuál de ellos es el más eficaz.

Resultados y conclusiones

- **Ensayo a diferentes concentraciones de sal:** Se ha realizado la adaptación de *C. elegans* a concentraciones de 100 y 300 mM de NaCl en medio líquido. La desecación se realiza en cámaras de desecación hechas a partir de tubos Falcon de 50mL rellenos con 10 mL de sulfato potásico como agente desecante. En el tubo se introduce algodón para que el disco de papel de filtro se mantenga aproximadamente a la altura de 40 mL. La desecación se realiza colocando aproximadamente 500 nematodos, en estadio L1 obtenidos en preparación de huevos, en un volumen de 50 μ L y se almacenan a 20°C. Según pasan los días se rehidratan los nematodos de los tubos y mediante un conteo calculamos el porcentaje de supervivencia para esa concentración y día. Los resultados obtenidos hasta ahora indican que se produce una desecación más efectiva y encontramos un mayor porcentaje de supervivencia en concentraciones de 100 mM de NaCl (ver figura 1). Como podemos ver en las fotografías de la figura 2, las diferencias en la concentración de sal no solo afectan al porcentaje de supervivencia, también al crecimiento de los nematodos
- **Ensayo a diferentes temperaturas:** Repitiendo el proceso anterior se realizó la desecación a 100mM en las temperaturas siguientes: 20, 16 y 8°C. La supervivencia mayor se produce a 8 y 16°C. Es necesario seguir investigando para aumentar la eficiencia en estas temperaturas ya que ciertas modificaciones como realizar una pre-desecación afectó al porcentaje de supervivencia obtenida (ver figura 3).

Referencias

1. McClanahan, P. D., McCloskey, R. J., Hing, M. N. T., Raizen, D. M., & Fang-Yen, C. (2020). Dehydrated *Caenorhabditis elegans* stocks are resistant to multiple freeze-thaw cycles. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(12), 4505–4512. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401825>
2. Erkut, C., Vasilij, A., Boland, S., Habermann, B., Shevchenko, A., & Kurzchalia, T. V. (2013). Molecular strategies of the *Caenorhabditis elegans* dauer larva to survive extreme desiccation. *PLoS ONE*, 8(12), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082473>
3. Stiernagle, T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. *WormBook: The Online Review of C. Elegans Biology*, 6(2000), 1–11. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>

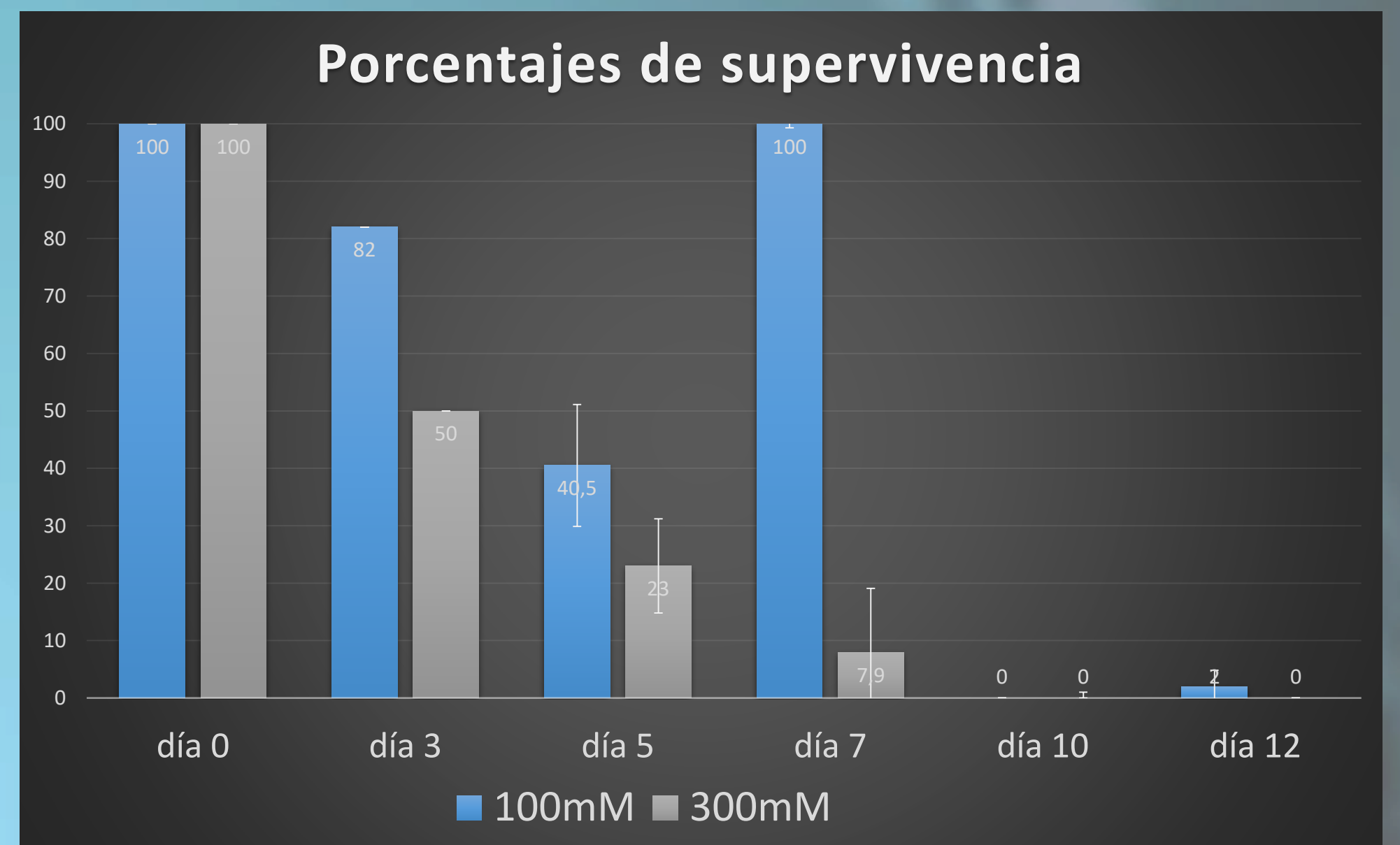


Figura 1. Gráfica que representa los porcentajes de supervivencia obtenidos para las dos concentraciones de sal estudiadas en los días que se realizaron reanimaciones. Se observa que los valores de 100 mM son superiores a los de 300 mM de NaCl.

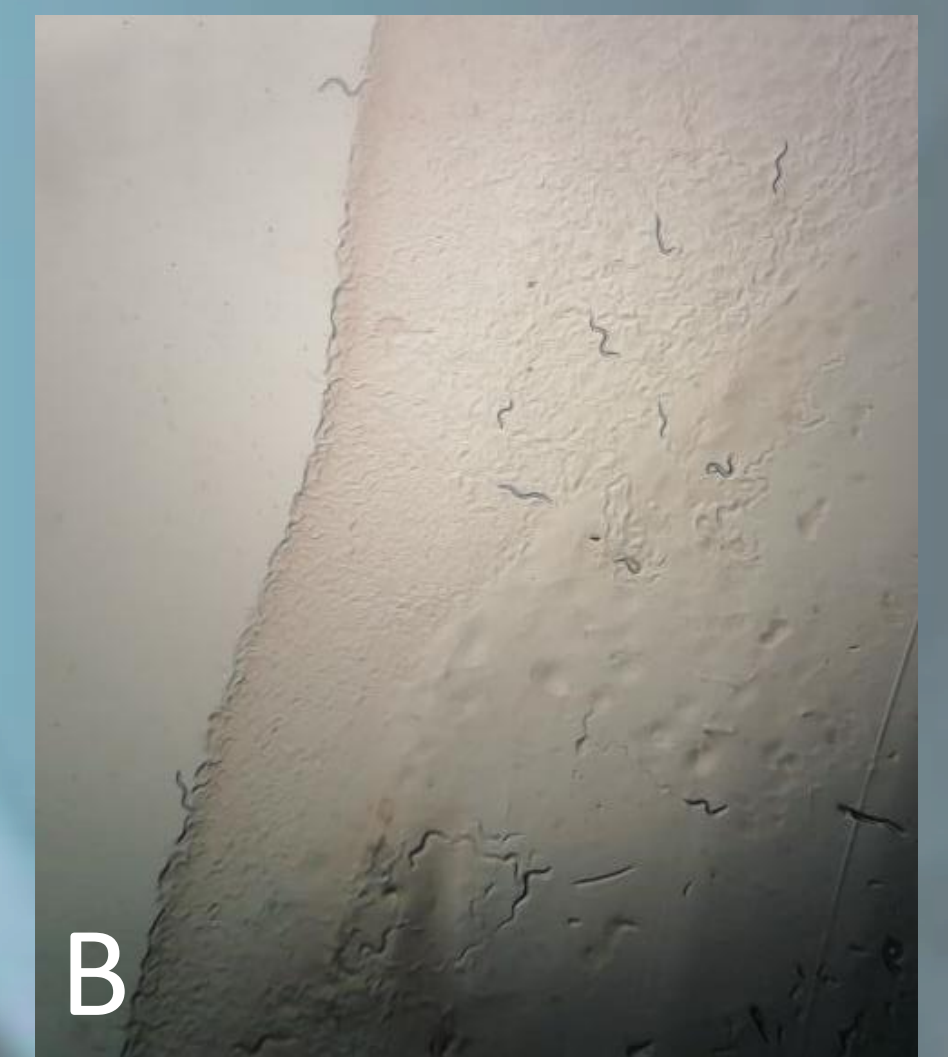


Figura 2. Fotografías realizadas a 16 aumentos el día 7 tras la desecación a 8°C. Imagen A: 100 mM de NaCl. Se observa mayor crecimiento e incluso puesta de huevos. Imagen B: 300 mM de NaCl. Menor porcentaje de supervivencia y aún presentan estadios larvarios.

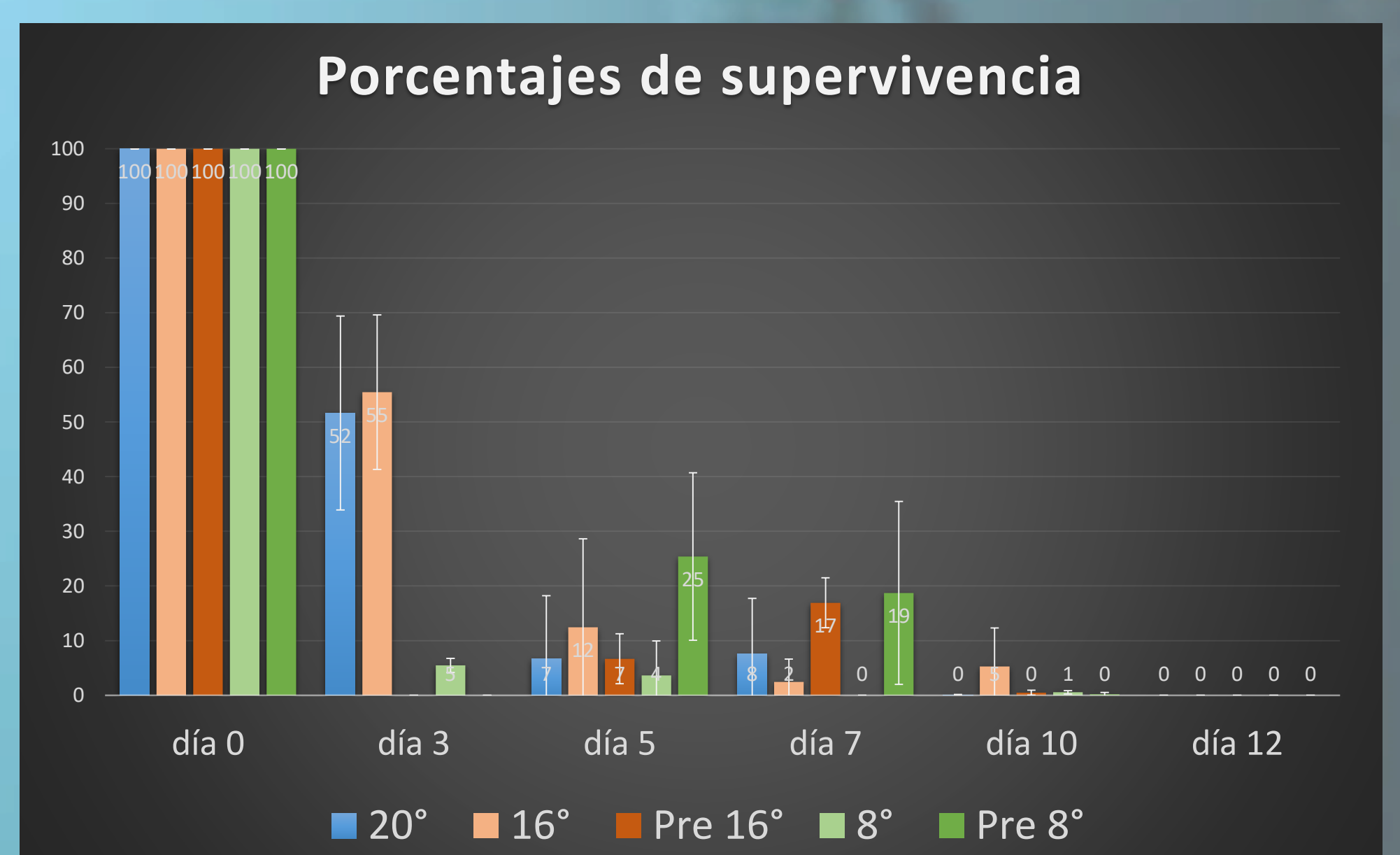


Figura 3. Gráfica que representa los porcentajes de supervivencia obtenidos para las distintas temperaturas estudiadas en los días que se realizaron reanimaciones. Pre 16° y Pre 8° tuvieron un período de pre-desecación de 3 días a 20°C. Se observa que la supervivencia a 16 y 8°C es superior a 20°C si se realiza una pre-desecación.