

## Protocolo para infecção de *Galleria mellonella* com *Heterorhabditis bacteriophora* HP88

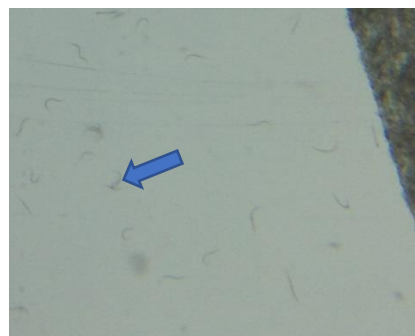
1. Selecione 5 larvas de *Galleria mellonella* de último estágio (*instar*). Submeta as larvas a um choque de 15s a 56 °C<sup>1</sup> utilizando um tubo Falcon de 50 mL com o fundo cortado (ver esquema ao lado) e com um pedaço de gaze preso por barbante ou cordonê.



2. Disponha as larvas pré tratadas a 56 °C sobre um pedaço de papel de filtro úmido, dentro de uma placa de Petri de vidro com 5 cm de diâmetro (ver esquema ao lado).



3. Adicione a suspensão de Juvenis Infectantes (JIs) sobre as larvas dispostas espaçadamente sobre o papel de filtro. Ajuste a suspensão de JIs para 200 juvenis por mL.
4. Distribua um volume da suspensão de modo haja 20 JIs por larva de *Galleria*.
5. Cubra a placa com a tampa e incube a 28 °C por aproximadamente 4 dias. As larvas infectadas ficam com aspecto avermelhado e são muito fracamente bioluminescentes.
6. Após esse tempo coloque as larvas numa armadilha de White (White GF. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66:302-303, 1927)(Ver figuras abaixo). Montar a armadilha colocando uma placa de Petri de vidro de



Larvas de *Galleria mellonella* infectadas com *Heterorhabditis* sp. colocadas nas armadilhas de White. A imagem à direita mostra os JIs já coletados no fundo da placa de Petri maior (flecha azul).

diâmetro menor, dentro de uma maior. Colocar alguns mililitros de água na placa maior e umedecer bem o papel de filtro onde vão ser colocadas as larvas infectadas sobre a placa menor. Conectar os dois ambientes (placa menor e placa maior) com uma tira de papel de filtro umedecido.

<sup>1</sup> As larvas de *Galleria* quando submetidas ao choque térmico não são mais capazes de produzir seda. A seda produzida impede a infecção pelos JIs.