

Cultivo de *Danio rerio* em laboratório para ensaios de toxicidade.

Jhonata Rodrigues de Brito, Luciane Oliveira Crossetti, Alexandre Arenzon.
E-mail para contato- jhonatarbrito@hotmail.com



Laboratório de Ecotoxicologia – Centro de Ecologia - UFRGS



INTRODUÇÃO

Danio rerio é uma espécie de peixe mundialmente utilizada em uma série de experimentos, entre eles estão os ensaios de toxicidade. No laboratório de Ecotoxicologia da UFRGS foi implantado o cultivo de *D. rerio* visando sua utilização em três diferentes tipos de ensaios ecotoxicológicos:

- O ensaio FET (Fish Embryo toxicity Test), que é iniciado 90 minutos após a fecundação dos ovos e estendendo-se até 96 horas pós-fertilização, utilizando 300 embriões por ensaio. (Fig. 1a)
- O ensaio crônico com larvas recém-eclodidas, nas quais os organismos com menos de 24 horas de idade são expostos às amostras por um período de 168 horas (7 dias), utilizando 240 organismos por ensaio. (Fig. 1b)
- O ensaio agudo, que é realizado com organismos com 10 +/-2 dias de vida, com exposição a amostra por 48h, utilizando 120 organismos por ensaio. (Fig. 1c)



Fig. 01. Diferentes fases de vida de *D. rerio* utilizadas nos ensaios de toxicidade.

OBJETIVOS

O principal objetivo da criação de *D. rerio* em laboratório é garantir a disponibilidade de organismos-teste na idade necessária para cada ensaio, bem como possibilitar um maior controle das condições ambientais às quais estes organismos estão sendo submetidos. Desta forma obtendo-se uma maior confiabilidade dos dados que são gerados, bem como a rastreabilidade dos indivíduos submetidos a esses ensaios.



Fig. 04. *D. rerio* em aquário

METODOLOGIA

Para manter a qualidade dos lotes, os seguintes padrões de qualidade devem ser controlados para o sucesso da criação de *D. rerio* em laboratório:

Temperatura	28+/-2°C
Alcalinidade	50-150 mg/L CaCO ₃
Amônia	< 0,02 ppm
Fotoperíodo	15 h claro 9 h escuro
Dureza da água	75 mg/L CaCO ₃
pH	7-8
Alimentação	Larva - <i>Paramecium</i> sp Larva (10- 15 dias - Náuplios de <i>Artemia</i> sp Adultos – Biomassa de <i>Artemia</i> sp

O sistema de filtração da água é formado por um filtro UV e sistemas de filtros mecânico/biológico. O sistema funciona ininterruptamente a partir do bombeamento da água tratada para os aquários e o retorno dessa, por gravidade, ao sistema de filtragem.

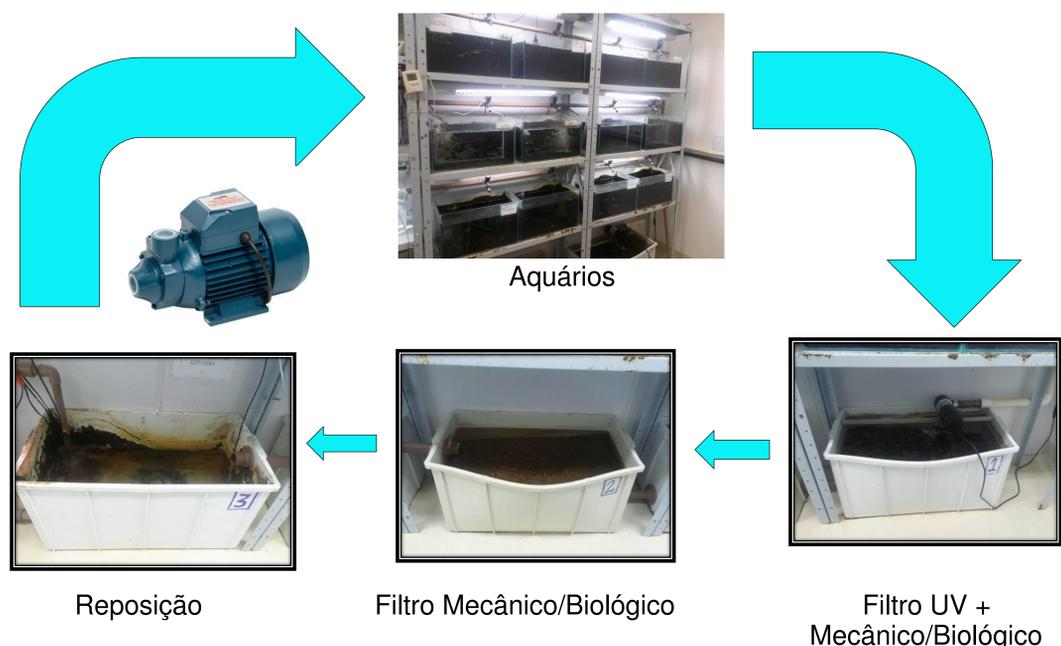


Fig. 06. Esquema de filtração da água na criação de *D. rerio*

Machos e fêmeas são mantidos em aquários separados, sendo unidos apenas na véspera do dia da reprodução. Quatro aquários são utilizados para reprodução, cada um contendo uma fêmea e dois machos. O processo de desova inicia imediatamente após o acendimento das luzes da sala de reprodução.

Resultado e Discussão

Todos os cuidados são necessários quando se depende de lotes numerosos de organismos saudáveis. Por isso é importante que sempre sejam mantidas as condições ideais nos aquários. Nas condições descritas, o sucesso reprodutivo girou em torno de 400 a 600 ovos por casal, sendo que, frequentemente, apenas 1 ou 2 conjuntos reprodutivos desovavam.

Apesar da manutenção dos cultivos nas condições favoráveis, o insucesso reprodutivo é frequente. Vários autores reportam a mesma problemática quando se referem a reprodução de *D. rerio*, sugerindo que sempre seja utilizado um número maior de conjuntos reprodutivos a fim de garantir a quantidade necessária de ovos para os ensaios