

CRIAÇÃO, DESENVOLVIMENTO E MANUTENÇÃO DO ZEBRAFISH EM LABORATÓRIO

Autor(es): Natielle Rocha Sousa¹, Maria Débora Albino de Andrade², Sandy Carneiro da Costa³, Hélcio da Silva Santos⁴, Jean Parcelli Costa do Vale⁵

¹Ciências Biológicas, CCAB, UVA; E-mail: naty.stiblec@gmail.com, ²Ciências Biológicas, CCAB, UVA; E-mail: deboraalbandrade@gmail.com, ³Química, CCET, UVA; E-mail: sandeuniv@gmail.com, ⁴Docente/pesquisador, CCET, UVA, E-mail: helciodossantos@gmail.com, ⁵Docente/pesquisador, CCET, UVA, E-mail: jeanvale@hotmail.com

Resumo: O *Danio rerio* mais conhecido popularmente como zebrafish, um vertebrado de pequeno porte, listrado, que se mostra promissor no meio científico pelo fato de sua crescente utilização como modelo animal, seu estudo vem tornando-se cada vez mais fascinante a cada pesquisa. Nesse trabalho o objetivo foi garantir aos peixes uma melhor qualidade de vida e também estabelecer parâmetros que possam ser utilizados em laboratórios já que temos poucas literaturas que abordam esse tema no Brasil. Para o ambiente de manejo, utilizamos um aquário de medidas; 50 cm de comprimento, 25 cm de largura e 30 cm de altura, plantas artificiais para simular o ambiente natural, algumas pedras grandes, bomba para oxigenação da água e grades na parte inferior do aquário para facilitar na hora da limpeza, seguindo as normas de criação de peixes ornamentais com alguns cuidados especiais. Conclui-se que, diante dos resultados obtidos a pesquisa atingiu seus objetivos.

Palavras-chave: Manejo, biotério, adaptação, peixe.

INTRODUÇÃO E OBJETIVO(S)

O zebrafish é um peixe da classe Actinopterygii, infraclasse teleósteo, família dos ciprinídeos e seu nome científico é *Danio rerio*. Os indivíduos com mais de 90 dias já são considerados adultos com tamanho médio de 2-3 cm e que continuam crescendo até 4-5 cm quando o ambiente possui a homeostase ideal. É um peixe de água doce nativo do sul-asiático, sendo uma espécie que vive normalmente em regiões com águas calmas e rasas com preferência por locais com penumbra próximo de vegetações, se alimenta principalmente de zooplâncton e alguns insetos (Dammski, 2011).

A popularização desse pequeno peixe como modelo animal se deu principalmente pelo fato de suas características de alta compatibilidade com genes humanos cerca de 70% (Howe, 2013), alta taxa de reprodução, poder trabalhar com ele em qualquer fase da vida seja larval ou adulto, apresenta dimorfismo sexual onde os machos são esguios, alongados e com listras mais escuras enquanto as fêmeas possuem cavidade abdominal um pouco mais volumosa, deposita cerca de cem ovos por dia, o tempo de vida varia de três a cinco anos, vive em bandos com o mínimo de cinco indivíduos e a coloração deles muda conforme o estímulo, por

exemplo, quando estressados ficam mais amarelados e mais preto azulados quando em ambiente estável (Kütter, 2023).

O custo de manutenção do zebrafish quando comparado a outros modelos animais experimentais é baixo apesar de necessitar de alguns equipamentos específicos como medidor de temperatura com sensor externo (Schneider, 2009).

Quem introduziu o zebrafish como modelo animal no mundo científico foi um biólogo, professor da universidade de Oregon, George Streisinger. O professor os utilizava em sua pesquisa sobre genética e percebeu todas as vantagens que esses pequenos peixes poderiam trazer e beneficiar no estudo científico. Publicou na revista Nature em 1981 o artigo que marcou a medicina translacional, e assim, cresceu demasiadamente pelo mundo os estudos sobre esse novo modelo animal. Dando origem também ao Zebrafish International Resource Center – ZIRC órgão central de apoio para informações e que é um repositório de animais mutantes e transgênicos para pesquisa (Silveira, 2012).

Segundo Dammski, Müller, Gaya e Regonato (2011, p. 10) “No Brasil, entretanto, o zebrafish ainda não atingiu seu potencial como modelo de pesquisa, havendo relativamente poucos biotérios que o conheçam ou o utilizem. Essa situação pode ser explicada pela falta de informação adaptada à realidade brasileira”. Neste contexto, o primeiro objetivo deste trabalho é relatar a experiência de manejo, (criação, manutenção e reprodução) e tentar reproduzir ao máximo o ambiente natural para que eles conseguissem se desenvolver bem e ter uma qualidade de vida dentro de laboratório utilizando recursos relativamente fáceis de serem encontrados e trabalhados. Outro objetivo seria a adaptação das técnicas de produção deste animal em laboratório a fim de implantar esta nova e promissora linha de pesquisa na UVA.

O primeiro artigo publicado no Brasil foi em 1999 utilizando ciprinídeos e um deles foi o zebrafish (Marí-Beffa,1999), com isso podemos confirmar o quanto a pesquisa o utilizando é relativamente recente e ainda há muito o que ser abordado.

MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes (Zebrafish) para o desenvolvimento do projeto foram adquiridos em um estabelecimento comercial em Fortaleza-CE, a idade dos peixes recém-chegados tinham de um a três meses de idade, tamanho variando de 1,0 a 2,0 cm centímetros, peso médio de 0,5 a 1 gramas. Os animais foram alocados no laboratório de Análises Orgânicas e Atividades de Produtos Naturais da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA. Para a criação do ambiente, utilizamos um aquário de medidas; 50 cm de comprimento, 25 cm de largura e 30 cm de altura, plantas artificiais para simular o ambiente natural, algumas pedras grandes, bomba para a oxigenação da água e grades na parte inferior do aquário para facilitar na hora da limpeza.

Para a manutenção de uma boa saúde dos animais, a água é tratada com Protect Plus para eliminação de compostos nocivos aos peixes, ocasionalmente se faz necessário o uso de AntiAlgas que combate a formação de algas indesejáveis, Ictio que auxilia no tratamento de doenças causadas por protozoários, Aqualife que é um fungicida e auxilia no tratamento de parasitas e Bacter um antimicrobiano, todos da marca Labcon.

Na execução da pesquisa e criação do biotério foram utilizados cerca de sessenta peixes mesclados entre machos e fêmeas. Para a manutenção e para manter a qualidade da

água diariamente verificávamos o pH da água e mantínhamos em 6,5-7, temperatura entre 26-28°C, observações recorrentes sobre o comportamento, alimentação feita três vezes ao dia com alimentos processados principalmente espirulina da marca Alcon, se fez necessário também o cuidado com ruídos e excesso de luz, a coloração da água também é de extrema importância para o bem-estar do zebrafish.

Na limpeza faz-se a devida higienização das mãos para poder manusear o aquário e logo em seguida retirávamos 70% da água com auxílio de uma mangueira e um balde onde se retirava os dejetos do fundo, realiza-se a limpeza as laterais com uma esponja com a água do próprio aquário, a ambientação e a bomba eram limpas primeiramente com detergente, segundo com álcool, e por fim com água destilada.

Na criação do zebrafish é importante ficar atento a algumas questões, por exemplo, a qualidade da água, onde a temperatura ideal é entre 24-28 C°, o pH entre 6,5 e 8, por isso, se faz necessário a verificação diária desses elementos. Outra questão é que a infraestrutura precisa suportar a umidade e o ambiente possa ser molhado devido a manutenção do aquário, a flexibilidade do local é considerável. Algumas vezes se fez necessário a limpeza total do aquário por contaminações de algas e fungos sendo auxiliado por medicamentos, dessa maneira a contaminação era cessada e os peixes não eram tão prejudicados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante de muitos percalços, como compra e transporte dos peixes, Fortaleza-Sobral, contaminação, falta de energia, ausência de água de qualidade, adaptação de materiais, para se conseguir a manutenção e desenvolvimentos dos indivíduos, pode afirmar que: Conseguiu-se cumprir em parte com os objetivos do projeto de pesquisa em andamento, mantendo 95% dos animais vivos, com bom aspecto, e aparentemente com saúde, como mostram as figuras 01 e 02 abaixo.

Figura 01: Zebrafish no ambiente do biotério



Fonte: A autora



Fonte: A autora

Uma certa quantidade de peixes foram utilizados contribuindo com outros trabalhos de pesquisa. Outra parte permaneceu para o estudo de manejo e manutenção para aperfeiçoamento das técnicas de criação no laboratório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos fatos, resultados obtidos e reportados podemos afirmar que o bem-estar dos peixes foi mantido, as observações tiveram caráter positivo, eles tiveram um crescimento considerável de tamanho e peso, tiveram as melhores respostas aos estímulos do meio abiótico do aquário. Os parâmetros que foram utilizados foram ideais e demonstraram uma boa adaptação, logo, temos em vista a repetição desses métodos com grupos maiores, propiciando condições ideais para que os mesmos possam produzir e fertilizar ovos, desenvolver as fases larval, fase de alevinos e a fase adulta no laboratório.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da bolsa da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e da Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), nossos sinceros agradecimentos.

REFERÊNCIAS

DAMMSKI, Ana Paula. MÜLLER, Bruno Roberto. GAYA, Carolina. REGONATO, Daiane. Zebrafish: Manual de Criação em Biotério. Curitiba: UFPR, 2011. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2013/06/ZEBRAFISH.pdf.pdf>

HOWE, Kerstin. et al.,, A sequência do genoma de referência do Zebrafish e sua relação com o genoma humano. Nature, v. 496, n. 7446, pág. 498-503, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23594743/>

KÜTTER, Mateus. BARCELLOS, Leonardo. BOYLE, Robert. MARINS, Luis. Ciência Animal Brasileira, Rio Grande do Sul, v24, e-74134P, p. (01-24), fevereiro, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/WDngysK5xbDWzQmYCTT4yjL/?format=pdf&lang=pt>

Marí-Beffa M, Palmqvist P, Marín-Girón F, Montes GS, Becerra J. Morphometric study of the regeneration of individual rays in teleost tail fins. Journal of Anatomy. 1999;31(195):393-405. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.1999.19530393.x>

SCHNEIDER, Ana. SANTOS, Jorge. PORAWSKI, Marilene. SCHAEFER, Pedro. MAURER, Rafael. MATTE, Ursula. SILVEIRA, Themis. Implementação de um novo modelo de experimentação animal – Zebrafish. Porto Alegre: UFRGS, 2009. Disponível em: https://ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/implementation_of_a_new_experimental_animal.pdf

SILVEIRA, Themis. SCHNEIDER, Ana. HAMMES, Thais. Zebrafish: Modelo consagrado para estudo de doenças humanas. São Paulo. V64, no2, np, 2012. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252012000200002