

AVALIAÇÃO REPRODUTIVA E DE CRESCIMENTO DE *Danio rerio* EM CONDIÇÕES CONTROLADAS DE CULTIVO

Natália Galoro Leite (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jaísa Casetta, Vanessa Lewandowski, Caio Froemming, Eric Costa Campos, Carlos Antonio Lopes de Oliveira (Orientador), e-mail: caloliveira@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

Zootecnia / Genética e Melhoramento dos Animais Domésticos

Palavras-chave: Zebrafish, Reprodução, Larvicultura

Resumo

O zebrafish (*Danio rerio*) tem grande potencial para utilização como modelo animal. O desenvolvimento de linhagens e protocolos produtivos podem auxiliar no fornecimento de animais com maior padronização genética para uso científico. Para tanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo e de crescimento de seis populações de *Danio rerio* a fim de alicerçar a implantação de um programa de melhoramento genético para produção de linhagens específicas para uso científico. Foram observadas diferenças na fase reprodutiva entre as 6 origens, sendo os maiores valores encontrados para número total de ovos, média de ovos por desova, eclodibilidade e número de desovas apresentados na origem 1. Na larvicultura, os animais da origem 4 apresentaram maior capacidade de ingestão de artêmia e menor mortalidade. Os resultados obtidos indicam a possibilidade de implantação de um programa de melhoramento.

Introdução

O zebrafish (*Danio rerio*), é uma espécie peixe de água doce, de aproximadamente 4 cm de comprimento, com listras claras e escuras alternadas pelo corpo. Seu genoma encontra-se totalmente sequenciado e contém 26,206 genes codificadores de proteínas, valor maior do que o encontrado em ratos, humanos e frangos (Collins et al., 2012)

A espécie se destaca como modelo animal em diversas áreas, isso se deve principalmente ao fato de que 71% dos genes humanos tem pelo menos um gene ortólogo no zebrafish, além de 81% dos genes relacionados à causa de doenças (Howe et al., 2013).

Além disso, atributos como pequeno tamanho, robustez, ciclo de vida curto e facilidade de manejo favorecem a sua utilização em ambientes acadêmicos. Entretanto, na maioria das pesquisas científicas são utilizados exemplares “selvagens”, provenientes da própria natureza ou de pisciculturas comerciais (Nasiadka & Clark, 2012).

Diferentes ambientes, aliado a diferentes manejos sanitários, nutricionais e condições de alojamento, resultam em um conjunto de fatores

ambientais que interferem no desempenho produtivo e reprodutivo dos animais, podendo acarretar disparidades em relação ao comportamento, crescimento e reprodução, o que dificulta a obtenção de resultados precisos nas pesquisas científicas (Martello, 2006).

Desta forma o objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho reprodutivo e de crescimento de seis diferentes populações de *Danio rerio* a fim de alicerçar a implantação de um programa de melhoramento genético para produção de linhagens específicas para uso científico.

Materiais e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Peixes Ornamentais do grupo de pesquisa Peixegen do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, durante seis semanas entre abril e maio de 2016.

Os peixes utilizados foram adquiridos de seis pisciculturas comerciais localizados em três estados brasileiros (Paraná, São Paulo e Minas Gerais). Para cada origem foram selecionados três casais, totalizando 36 animais. Os acasalamentos foram realizados semanalmente na proporção sexual de 1:1 (macho:fêmea) em estruturas de reprodução de 1.5L. Os ovos produzidos foram coletados e incubados em estruturas de plástico de 2L.

Os parâmetros reprodutivos avaliados nesta fase foram: número de desova (ND), número total de ovos por fêmea (NT), eclodibilidade e número médio de ovos por fêmea por desova (NM).

Ao quinto dia após a fertilização, 100 larvas de cada casal foram acondicionadas em aquários de 10L, mantidos com aeração constante. As larvas foram alimentadas com ração farelada diluída em água até o 12º dia após a fertilização, logo após se iniciou o fornecimento de náuplios de artêmia.

O *Danio rerio* apresenta transparência em sua fase larval, conseqüentemente, quando o animal ingere náuplios de artêmia é possível identifica-los pela coloração alaranjada adquirida. Visto isso, nos dias 12, 15, 18, 21 e 25 após a fertilização foi avaliada a ingestão dos náuplios de artêmia (IN) por meio de contagem de larvas que apresentavam coloração alaranjada.

Foi utilizado o PROC GLM do sistema computacional SAS para análises das características NT, NM e ND e as médias posteriormente submetidas ao teste de Tukey a nível de 5% de significância. Para testar o efeito das origens sobre a taxa de eclosão, utilizou-se o PROC GENMOD, considerando a distribuição binomial e função de ligação logit, com as médias posteriormente testadas pelo teste T ($p < 0,05$). O mesmo procedimento foi utilizado para as características IN e mortalidade.

Resultados e Discussão

A estatística descritiva da média dos parâmetros reprodutivos das seis origens demonstrou ND e NT de 2,57, 659,43 respectivamente, e valores

mínimo e máximo de NM de 74,5 e 550 com média de 260,61 ovos. A eclodibilidade apresentou valor máximo de 92,22% com média de 57,17%.

A média de NM observado nas seis origens é maior que estimativas de 200 ovos encontradas na literatura, indicativo da possibilidade de exploração de características favoráveis das origens em programa de melhoramento genético.

A origem 1 apresentou os maiores valores para NT (1430,67) e eclodibilidade (67,94%) em relação às demais origens ($p < 0,05$). Os menores valores foram encontrados na origem 5 (283 e 36,75%, respectivamente). Os valores de NT e eclodibilidade, para as demais origens oscilaram de 455 a 863,67 e 53,06 a 61,95, respectivamente. As diferenças observadas entre os animais das diferentes origens, podem estar associados a componentes genéticos e ambientais.

Para ND observou-se que as origens 1 e 6 apresentaram valores significativamente ($p < 0,05$) maiores comparadas as origens 2 e 3.

Para NM a origem 1 (449,33) apresentou médias superiores ($p < 0,05$) que as médias das fêmeas das origens 4, 5 e 6 (109,83 a 240,94), não diferindo das origens 2 e 3 (272,89 e 277,36). As origens 2 e 3 (455 e 487), não apresentaram diferenças entre si ($p > 0,05$), porém as diferenças na eclodibilidade (59,38%) para origem 2 e 53,06% para origem 3, indicam que a origem 2 produziu cerca de 4,8% mais ovos eclodidos. Portanto, a eclodibilidade pode ser o parâmetro ideal para se escolher o melhor animal para características reprodutivas.

Na tentativa de melhorar a baixa produção de ovos encontrado na origem 5 sugere-se acasalamentos com animais da origem 1.

Na fase de larvicultura a origem 4 obteve a maior IN (74,37%), bem como, menor mortalidade das larvas (15,87%). Nas demais origens não foi observado diferenças significativas, com mortalidade variando de 35 a 39%.

Dentre os alimentos vivo para larvas de peixes, os náuplios de artêmia são um dos principais alimentos nas etapas iniciais do desenvolvimento das larvas. Normalmente, quanto maior a ingestão de artêmia, menor a taxa de mortalidade, como encontrado na larvicultura do mandi-pintado (*Pimelodus britskii*) por Diemer et al (2012). No entanto, os resultados do presente estudo mostram que, com exceção a origem 4 que teve a maior IN e a menor mortalidade, não foi observado essa relação nas demais origens. Tendo como exemplo animais da origem 5 que apresentaram percentual de IN de cerca 36% e a mesma mortalidade dos animais da origem 2, que apresentaram IN de 68%.

No entanto a IN pode ter influenciado positivamente no consumo de ração, auxiliando o crescimento e desenvolvimento das larvas, conforme observado nos animais da origem 5 que apresentaram a menor IN e mortalidade semelhante as origens 1,2,3 e 6.

Foi observado que as larvas da origem 5 conseguiram se desenvolver com menor dependência de IN, pois o consumo inferior desse alimento, não afetou a mortalidade. Indicando que o protocolo de alimentação utilizado na maioria das pesquisas com o fornecimento de artêmia, apresentou

resultados positivos apenas para a origem 4, não resultando em redução da mortalidade das demais origens.

Conclusão

Foram encontradas diferenças significativas no desempenho reprodutivo e na larvicultura nas origens avaliadas. O maior valor para número total de ovos, eclodibilidade, média de ovos por desova e número de desovas foi encontrado nos animais da origem 1 e a maior capacidade de ingestão de artêmia e menor mortalidade em animais da origem 4. Esses resultados demonstram a necessidade da padronização desse material genético e indica a possibilidade de desenvolvimento de um programa de melhoramento genético desta espécie.

Agradecimentos

Agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro a realização do presente trabalho.

Referências

COLLINS, J. E, et al. Incorporating RNA-seq data into the zebrafish Ensembl genebuild. **Genome research**, Cambridgeshire, v. 22, n. 10, p. 2067-2078, 2012.

DIEMER O, et al. Manejo alimentar na larvicultura do mandi-pintado ("Pimelodus britskii"). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Toledo, v. 11, n. 3, 2010.

HOWE K, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, Reino Unido, v. 496, n. 7446, p. 498, 2013.

MARTELLO, L. S. **Interação animal-ambiente: efeito do ambiente climático sobre as respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em free-stall**. 2006. 113f. Tese (Doutorado)-Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

NASIADKA A, CLARK M. D. Zebrafish breeding in the laboratory environment. **ILAR Journal**. Austrália, v. 53, n. 2, p. 161-168, 2012.