

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ALTERNATIVA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIO LARVAL COM O PEIXE ZEBRA *Danio rerio*

MENDONÇA, Camila Cristina Silva de¹; COLOMBO, Débora Rodrigues da Silva⁴; BORGES, Caio Wesley⁵; TSUNOUCHI, Camila Xavier⁶; MAYWORM, Marco Aurélio Silveiro⁷; BADARÓ-PEDROSO, Cíntia^{2,3}

1. Bolsista PIBITI/CNPq/Instituto de Pesca – ccsm1997@hotmail.com
2. Pesquisadora Científica - Orientadora – cintia.pedroso@sp.gov.br
3. CPA/Instituto de Pesca/APTA/SAA/SP
4. Mestranda Programa de Pós Graduação do Instituto de Pesca/APTA/SAA-SP
5. Estagiário - UNASP - Centro Universitário Adventista de São Paulo
6. Estagiária UNIP – Universidade Paulista
7. Universidade Adventista de São Paulo - UNASP

Larvas recém eclodidas do peixe *Danio rerio* não estão disponíveis no mercado de aquarofilia tornando inviável a realização do ensaio com duração de 168 horas padronizado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas-ABNT. Visando suprir esta necessidade, o presente projeto teve como objetivos produzir embriões e larvas no Biotério de *D. rerio* do CPA- Centro de Pesquisa em Aquicultura do Instituto de Pesca, e comparar a sensibilidade das metodologias do ensaio com larvas recém eclodidas (168h) com a do ensaio utilizando ovos recém fertilizados-teste Fet (96h), incluindo a eclosão das larvas para avaliação do efeito subletal. Devido a pandemia, não foi possível realizar todos experimentos. Portanto, estão sendo apresentados os resultados referentes as desovas e ensaios com *D. rerio* ocorridos em maio de 2018 no extinto laboratório de Ecotoxicologia da Unidade Laboratorial de Referência em Limnologia do Centro de Recursos Hídricos e, em 2019 no Biotério de Criação de *D. rerio* na Unidade Laboratorial de Referência em Patologia de Organismos Aquáticos do CPA. A reprodução ocorreu na proporção de dois machos por fêmea à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz. Foram realizados ensaios embrio larvais (teste Fet) utilizando como parâmetros letais a coagulação dos ovos, ausência de somitos, não desprendimento da cauda do saco vitelínico e ausência de batimentos cardíacos e, como subletal a não eclosão das larvas para cálculos das CL50; 96h e CL15; 96h utilizando-se os programas estatísticos TSK e de Interpolação Linear, respectivamente. Ovos recém fecundados (2 hpf) foram expostos ao sulfato de cobre e extrato aquoso das folhas de *Terminalia catappa* ou chapéu de sol. No ensaio com 168h de duração, a letalidade foi utilizada para o cálculo da CL15; 168h após a exposição das larvas a *T. catappa* e cálculo com o programa de Interpolação Linear. Em maio e junho de 2018 foram obtidos 313 ovos provenientes de quatro desovas e, em julho e dezembro de 2019 foram 1.841 ovos de seis desovas. A CL50;96h (letalidade) para o extrato aquoso de *T. catappa* foi de 0,075%; a CL15;96h (eclosão das larvas) foi igual a 0,0117% e a CL15; 168h foi igual a 0,0215%. Nos ensaios com cobre, os valores obtidos para CL50;96h e CL15;96h foram iguais a $0,28 \text{ mg.L}^{-1}$ e $\leq 0,03 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados indicam a possibilidade da substituição do ensaio de 168 horas pelo de 96 horas com ovos recém fecundados utilizando-se a eclosão das larvas como parâmetro subletal. Este teste poderia ser denominado de “Ensaio de Eclosão das Larvas” ou “Teste Fet Alternativo”, pois respeita a política dos 3Rs reduzindo o número de organismos necessários, o tempo de exposição, espaço, resíduo gerado, facilidade de execução e substituição do parâmetro de letalidade pela eclosão das larvas.

Palavras-chave: 3Rs, efeitos letal e subletal, teste “Fet”, eclosão das larvas, *Terminalia catappa*

Financiamento: CNPq - Processo 119951/2019-3