

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE EXTRATO VEGETAL DE *Cymbopogon winterianus* SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL DE AVE (*Gallus gallus*)

Letícia Mencatto Bueno^{1*}, Gabrielly Cristina Galvão¹, Juliana Marceli Hofma Lopes¹ e Patricia Franchi de Freitas²

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas
Caixa Postal 157 – CEP 85660-000 Dois Vizinhos – Paraná - E-mail: leticia.m.bueno@hotmail.com

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Professora do Curso de Ciências Biológicas
Caixa Postal 157 – CEP 85660-000 Dois Vizinhos – Paraná

RESUMO

*Com o objetivo de investigar o efeito do extrato vegetal de *Cymbopogon winterianus* sobre o desenvolvimento embrionário de ave, para avaliar o risco de exposição na fase inicial do desenvolvimento, 40 ovos fertilizados foram igualmente divididos em um grupo controle - CF: ovos não injetados, e três grupos tratados - ovos injetados na câmara de ar com 100µl de solução de extrato vegetal de *Cymbopogon winterianus* (EVC) em soro fisiológico em três concentrações: 2,5%, 5%, e 10%. Após as injeções, os ovos foram incubados por 3 dias e então abertos. Quando continha embrião, este foi observado para verificar se estava vivo (batimentos cardíacos), e contabilizado para a análise de mortalidade. Em seguida, os embriões vivos foram eutanaziados, coletados e preparados através da técnica de montagem total em lâmina histológica para a análise morfológica. Essa análise, juntamente com a tomada fotográfica, foi realizada sob estereomicroscópio. Dos quarenta ovos incubados, vinte continham embriões, destes, 20 estavam vivos no momento da abertura do ovo, sendo 6 do grupo CF, 7 do grupo EVC 2,5%, 2 do grupo EVC 5% e 5 do grupo EVC 10%. Foram observadas malformações apenas em 3 embriões dos grupos tratados com o EVC, sendo um embrião malformado para cada uma das concentrações de EVC. Apesar de constituírem resultados preliminares, pois o projeto possui etapas ainda não realizadas, os dados obtidos até o presente momento indicam que o EVC apresenta efeito teratogênico para embriões de ave.*

Palavras-chave: citronela, embriotoxicologia, controle alternativo, ovos fertilizados

INTRODUÇÃO

A intensa utilização dos produtos fitossanitários sintéticos tem causado a seleção de populações de pragas resistentes, eliminação de inimigos naturais, contaminação de alimentos, do solo e da água, além de intoxicação direta do homem (GALLO et al., 2002; GLIESSMAN, 2005). É cada vez mais frequente a procura por alimentos mais “limpos” e saudáveis, de forma que os sistemas alternativos de produção ganham cada vez mais espaço no cenário agrícola nacional, inclusive como parte integrante de políticas governamentais.

Na embriotoxicologia, a utilização do embrião de ave tem sido fortemente ampliada, pois seu desenvolvimento externo evita que determinadas análises, como a exposição a contaminantes, possam sofrer alterações devido à interação embrião/progenitor (MATTSON et al., 2015). Além disso, alguns aspectos favorecem o uso dos embriões de aves como modelo de estudo em toxicologia: (1) os ovos são do tipo megalécito (dispondo de reservas nutricionais e não dependendo do ambiente externo ou organismo materno para o desenvolvimento ocorrer); (2)

apresentam membranas envoltórias resistentes; (3) o tempo total de desenvolvimento é curto (21 dias); (4) os embriões desenvolvem-se na ausência do organismo materno e na região superior do ovo permitindo que o desenvolvimento embrionário possa ser acompanhado diariamente em laboratório (SCHOENWOLF, 1999) e, (5) seu desenvolvimento é muito bem documentado (HAMBURGER; HAMILTON, 1951).

O presente trabalho utilizou o embrião de galinha (*Gallus gallus*) como modelo para avaliar os efeitos tóxicos do extrato vegetal de *Cymbopogon winterianus* (citronela) utilizado como insumo agrícola sobre o desenvolvimento embrionário. Foram analisadas a taxa de mortalidade e de anormalidades, e as malformações anatômicas encontradas.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta ovos fertilizados de *Gallus gallus* foram utilizados para a realização do experimento. Estes foram igualmente divididos em um grupo controle (CF) - ovos não injetados, e três grupos tratados - ovos injetados na câmara de ar com 100µl de solução de extrato vegetal de *Cymbopogon winterianus* (EVC) em soro fisiológico em três concentrações diferentes: EVC a 2,5%, EVC a 5% e EVC a 10%. Após as injeções, os ovos foram incubados por 3 dias (em incubadora Chocmaster Juli 70) e então abertos. Quando continha embrião, este foi observado para verificar se estava vivo (batimentos cardíacos), e contabilizado para a análise de mortalidade. Em seguida, os embriões vivos foram eutanaziados, coletados e preparados através da técnica de montagem total em lâmina histológica para a análise morfológica segundo Hamburger e Hamilton (1951). Essa análise, juntamente com a tomada fotográfica, foi realizada sob estereomicroscópio (Medlux).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incubados por três dias 40 ovos, sendo 10 ovos para cada um dos grupos experimentais (CF, EVC 2,5%, EVC 5%, e EVC 10%). No momento da coleta, foi realizada a análise da mortalidade através da visualização da presença de embrião e de batimentos cardíacos. Os dados desta análise estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Análise da mortalidade

Situação	CF	EVC 2,5%	EVC 5%	EVC 10%
Incubados	10	10	10	10
Vivos	6	7	2	5
Mortos	4	3	2	5
Não desenvolvidos	-	-	6	-

Os vinte embriões que estavam vivos foram coletados e preparados pela técnica de montagem total. Os embriões obtidos por essa técnica foram analisados morfológicamente em estereomicroscópio (Medilux), levando em consideração alguns aspectos de desenvolvimento, como o tamanho e forma dos brotos dos membros, curvatura do corpo, e tamanho e forma das vesículas encefálicas, conforme descrito por Hamburger e Hamilton (1951). Dentre os vinte embriões analisados, três apresentaram malformações (MF), sendo um embrião malformado para cada grupo experimental injetado com EVC. No grupo CF não foi encontrado embrião com malformação (Figura 1a). O embrião que recebeu o EVC 2,5% apresentou agenesia caudal e de brotos de membros e região cefálica totalmente alterada (Figura 1b). Na concentração EVC 5% o embrião apresentou falha no fechamento do tubo neural na região cefálica (Figura 1c). A

malformação encontrada no embrião injetado com EVC 10% foi o encurtamento na região facial e o tubo neural na região do romboencéfalo aberto (Figura 1d).

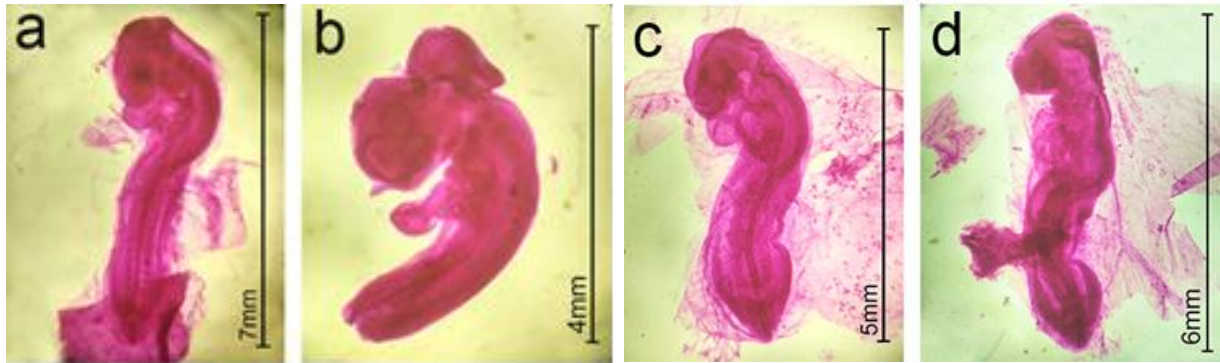


Figura 1 – Embriões de ave (*Gallus gallus*) de três dias preparados por montagem total. a) Embrião do grupo controle fechado: não apresentou malformação. b) Embrião do grupo EVC 2,5%: apresentou malformação nas vesículas encefálicas e agenesia caudal e de brotos de membros. c) Embrião do grupo EVC 5%: apresentou falha no fechamento do tubo neural e, consequentemente, na segmentação das vesículas encefálicas. d) Embrião do grupo EVC 10%: apresentou atrofia da região facial e falha no fechamento do tubo neural na região do romboencéfalo.

Até o momento não existe embasamento teórico em relação aos efeitos do EVC no desenvolvimento embrionário de *Gallus gallus*, portanto, há indícios de possíveis alterações no desenvolvimento dos embriões de ave, com base nos resultados já obtidos.

CONCLUSÕES

Apesar de constituírem resultados parciais e preliminares, pois o projeto possui etapas ainda não realizadas, os dados obtidos até o presente momento indicam que o EVC apresenta efeito teratogênico para embriões de ave.

REFERÊNCIAS

- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, C.G.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002..
- GLIESSMAN, S.R. *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.
- HAMBURGER, V.; HAMILTON, H. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology*, v. 88, p. 49-92, 1951.
- SCHOENWOLF, G. C. *The avian embryo: a model for descriptive and experimental embryology*. In: MOODY, S. A. Cell lineage and fate determination. San Diego: Academic Press, 644p, 1999.