

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA  
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA  
SAÚDE CURSO DE MEDICINA**

**EDILSON DA PAZ LIRA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA  
DE CAGAITA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE  
ZEBRAFISH**

Barreiras - BA

2025

**EDILSON DA PAZ LIRA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA  
DE CAGAITA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE  
ZEBRAFISH**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para a obtenção do grau de Bacharel no curso de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Oeste da Bahia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabela Barbosa Moraes.

Barreiras – BA

2025

## FICHA CATALOGRÁFICA

---

L768 Lira Júnior, Edilson da Paz.

Avaliação da toxicidade do extrato etanólico da folha de cagaita no desenvolvimento embrionário de zebrafish. / Edilson da Paz Lira Júnior. – 2025.

31f.: il.

Orientador: Profa. Dra Izabela Barbosa Moraes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina) –. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2025.

1. Plantas medicinais. 2. Toxicidade. 3. Zebrafish. I. Moraes, Izabela Barbosa. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia - Centro das Ciências Exatas e das Tecnologias. III. Título.

CDD 616

---

**Biblioteca Universitária de Barreiras - UFOB**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA  
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE MEDICINA



ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE  
CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 28 dias do mês de fevereiro de 2025, às 9h, em sessão pública pelo Aplicativo *Google Meet*, na presença da Banca Examinadora presidida pela Profa. Dra. Izabela Barbosa Moraes, e composta pelos examinadores: Profa. Dra. Pablinny Moreira Galdino de Carvalho e Prof. Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Oliveira, o estudante **EDILSON DA PAZ LIRA JÚNIOR** apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DA FOLHA DE CAGAITA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE ZEBRAFISH**. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela aprovação do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente ao estudante e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais examinadores.

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** IZABELA BARBOSA MORAES  
Data: 06/03/2025 23:36:57-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Presidente da Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** PABLINNY MOREIRA GALDINO DE CARVALHO  
Data: 28/02/2025 10:43:39-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Examinador 01

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** LUIZ GUSTAVO RODRIGUES OLIVEIRA  
Data: 28/02/2025 13:28:47-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Examinador 02

## Resumo

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e apresenta uma rica diversidade de espécies vegetais. Nesse sentido, muitas dessas espécies de plantas são utilizadas pela população como medicamentos naturais, na forma de chás, garrafadas, sucos, entre outros. Dentre essas plantas medicinais, a cagaita ou cagaiteira possui uma gama de possibilidades dentro da medicina tradicional. Nessa perspectiva, a cagaita é utilizada, principalmente, no tratamento de doenças do trato gastrointestinal, trato genit urinário, diabetes e icterícia. No entanto, a cagaiteira, assim como outras diversas plantas medicinais, pode conter substâncias com efeitos tóxicos ao organismo humano e, dessa forma, é importante estudar os possíveis efeitos de toxicidade da planta. Com o intuito de averiguar e garantir a segurança do uso dessa planta, esse projeto teve como objetivo avaliar o efeito de toxicidade do extrato etanólico da cagaita em embriões de zebrafish. Foi utilizado o protocolo estabelecido pela OECD para testes de toxicidade aguda de extratos vegetais e substâncias isoladas. Para essa averiguação, foram utilizados 20 embriões para cada concentração do extrato a ser avaliado, por um período de exposição de 3hpf (*hours post fertilization*) a 120hpf. Foram avaliados, nesse intervalo de tempo, alterações do padrão de desenvolvimento embrionário do zebrafish, como disfunções no desenvolvimento da cauda, formação de edema de vesícula vitelínica e/ou cardíaca, alteração no padrão de somitos e atraso do desenvolvimento embrionário. Para isso, os embriões foram expostos às concentrações de 50, 100, 200, 400, 600 e 800 µg/mL, controle negativo (E3) e controle positivo (DMSO 0,05%), com avaliação a cada 24h. Os resultados do presente trabalho demonstraram toxicidade do extrato com efeito dose-dependente ao longo das 120h, com alta taxa de mortalidade nas concentrações maiores, alterações morfológicas, redução na taxa de eclosão e alterações comportamentais. Os elementos obtidos evidenciam a toxicidade do extrato etanólico das folhas de cagaita durante todo o período embrionário e demonstra a necessidade de mais estudos para identificar as moléculas com potencial tóxico e aumentar a segurança no uso da cagaita.

**Palavras-Chave:** cagaita; cerrado; plantas medicinais; toxicidade; zebrafish.

## Abstract

The Cerrado is the second largest Brazilian biome and presents a rich diversity of plant species. In this sense, many of these plant species are used by the population as natural medicines, in the form of teas, bottled preparations, juices, among others. Among these medicinal plants, cagaita or cagaiteira has a range of possibilities within traditional medicine. In this perspective, cagaita is mainly used in the treatment of diseases of the gastrointestinal tract, genitourinary tract, diabetes and jaundice. However, cagaiteira, like several other medicinal plants, can contain substances with toxic effects on the human body and, therefore, it is important to study the possible toxicity effects of the plant. In order to investigate and ensure the safety of the use of this plant, this project aimed to evaluate the toxicity effect of the ethanolic extract of cagaita in zebrafish embryos. The protocol established by the OECD for acute toxicity tests of plant extracts and isolated substances was used. For this investigation, 20 embryos were used for each concentration of the extract to be evaluated, for an exposure period of 3hpf (hours post fertilization) to 120hpf. Alterations in the zebrafish embryonic development pattern, such as dysfunctions in tail development, formation of yolk sac and/or cardiac edema, alteration in the somite pattern and delayed embryonic development were evaluated in this time interval. For this, the embryos were exposed to concentrations of 50, 100, 200, 400, 600 and 800  $\mu\text{g/mL}$ , negative control (E3) and positive control (DMSO 0.05%), with evaluation every 24h. The results of the present work demonstrated toxicity of the extract with a dose-dependent effect over 120h, with a high mortality rate at higher concentrations, morphological changes, reduction in the hatching rate and behavioral changes. The elements obtained show the toxicity of the ethanolic extract of cagaita leaves throughout the embryonic period and demonstrate the need for more studies to identify molecules with toxic potential and increase safety in the use of cagaita.

**Keywords:** cagaita; cerrado; medicinal plants; toxicity; zebrafish.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Frutos maduros da cagaita <i>in natura</i> .....	9
<b>Figura 2 -</b>	Representação de indivíduo adulto da espécie <i>Danio rerio</i> .....	11
<b>Figura 3 -</b>	Representação de um embrião de zebrafish.....	12
<b>Figura 4 -</b>	Estágios do desenvolvimento embrionário do zebrafish.....	13
<b>Figura 5 -</b>	Gráfico de sobrevivência.....	17
<b>Figura 6 -</b>	Gráfico de eclosão.....	18
<b>Figura 7 -</b>	Larva de zebrafish com 120hpf em extrato 100µg/mL.....	19
<b>Figura 8 -</b>	Imagens representativas de embriões e larvas de zebrafish.....	22
<b>Figura 9 -</b>	Imagens representativas de larvas de zebrafish com 96 hpf.....	23

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Parâmetros teratogênicos.....	20
--	----

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
	1.1 BIOMA CERRADO.....	8
	1.2 CAGAITA.....	8
	1.3 TOXICIDADE EM PLANTAS MEDICINAIS.....	10
	1.4 ZEBRAFISH.....	11
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
	3.1 OBJETIVO GERAL.....	14
	3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	14
<b>4</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>14</b>
	4.1 PREPARO DO EXTRATO ETANÓLICO.....	14
	4.2 MANEJO DOS ANIMAIS E COLETA DOS EMBRIÕES.....	15
	4.3 ENSAIO DE TOXICIDADE.....	16
	4.4 AVALIAÇÃO DA EMBRIOTOXICIDADE.....	16
	4.5 ANÁLISE DE DADOS.....	16
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>24</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>25</b>

## 1. Introdução

### 1.1 Bioma cerrado

O Cerrado brasileiro ou a savana brasileira é um dos biomas que apresenta a maior biodiversidade de fauna e flora do mundo. Nesse sentido, constitui-se como o segundo maior bioma nacional, com aproximadamente 2 milhões de quilômetros quadrados, localizando-se na região central do Brasil (Rezende-Silva et al., 2019). Esse bioma possui cerca de 12.300 espécies vegetais, entre árvores, arbustos, plantas herbáceas e trepadeiras, as quais muitas possuem utilização na área comercial, no ramo alimentar, na medicina popular e farmacológica. Dentre essas, destaca-se a *Eugenia dysenterica*, árvore que possui diversos usos descritos na literatura (Gasca et al., 2017; Silva et al., 2023).

### 1.2 Cagaita

A *Eugenia dysenterica*, conhecida popularmente como cagaita ou cagaiteira, é uma árvore frutífera do cerrado brasileiro pertencente à família Myrtaceae. Devido às condições climáticas e as características do solo presentes no bioma de savana, a árvore possui diversos aspectos que permitem a adaptação e sobrevivência ao seu *habitat*, como troncos tortuosos, cilíndricos e com aspecto esfoliativo. O seu fruto, por sua vez, varia de acordo com o seu tempo de maturação, alternando-se de um tom verde, quando jovens, para um amarelo-pálido quando prontos para o consumo (conforme apresentado na **Figura 1**), com padrão de sazonalidade compreendida entre os meses de setembro a novembro. Suas folhas são simples e aromatzadas, enquanto as flores são brancas e adocicadas (Campos et al., 2016). Além disso, a cagaita possui uma ampla área de distribuição, estando presentes em todos os estados que estão inseridos no bioma cerrado, em virtude de sua capacidade de sobreviver a solos rasos e ricos em ferro (Silva et al., 2015).

**Figura 1:** Frutos maduros da cagaita *in natura*, com apresentação do aspecto da polpa e semente na figura da esquerda, e na direita o fruto íntegro.



**Fonte:** Silva et al., 2023.

A cagaiteira é uma árvore que possui diversas aplicações em relação à medicina tradicional. Nesse contexto, diversas partes da cagaita são descritas na literatura com potencial uso farmacológico (Souza et al., 2011). As folhas são utilizadas no tratamento de diarreias e disenterias, assim como na terapia de doenças cardiovasculares, icterícia e dislipidemia (Lima et al., 2011). Em contrapartida, os frutos possuem atividade laxativa, antidiabetogênica, hipoglicemiante e protetora contra infecções dermatológicas (De Araújo et al., 2021; Justino et al., 2022; Da Silva et al., 2023). Por fim, suas flores são utilizadas na etnomedicina para o tratamento de infecções do trato geniturinário e da derme (Lima et al., 2011; Silva et al., 2023). Ademais, a espécie é altamente implementada no ramo da indústria alimentícia, com o comércio voltado para a produção de sorvetes, licores, geleias, sucos e a venda da polpa *in natura* (Cardoso et al, 2011).

O uso popular da *E. dysenterica* como planta medicinal está associado às moléculas biologicamente ativas presentes principalmente em suas folhas e frutos. Nesse contexto, foram encontrados em suas folhas a catequina, quercetina e flavonoides naturais conhecidos pelos seus efeitos antioxidantes e de proteção neural contra espécies reativas de oxigênio (EROS) (Gasca et al., 2017). Por outro lado, nos frutos foram encontrados compostos polifenólicos, como galato de epicatequina e proantocianidinas, que possuem efeitos benéficos no controle dos sinais e sintomas das manifestações clínicas do diabetes (Justino et al., 2020).

Posto isso, diante do cenário de fragilidade e vulnerabilidade social

enfrentado por parte da população do cerrado, a disponibilidade de medicamentos farmacologicamente testados ainda é limitada a uma parcela da população, sendo os medicamentos naturais, em alguns casos, a única opção (Campos et al., 2016). Nesse viés, as plantas, de maneira geral, produzem diversas substâncias que podem provocar diferentes respostas celulares, como alteração do desenvolvimento, estresse oxidativo e morte celular (Yang et al., 2021). Além disso, há relatos na literatura que afirmam que, quando expostas a altas concentrações de extratos orgânicos da cagaita, as células sofrem efeitos de citotoxicidade (Cecilio et al., 2012). Portanto, devido às evidências de toxicidade celular com o uso da *E. dysenterica* e, por sua grande popularidade na medicina tradicional, é necessário aumentar o número de estudos que demonstram a segurança do seu uso para a comunidade.

### 1.3 Toxicidade em plantas medicinais

Toxicidade é definida como a capacidade de uma substância gerar estresse oxidativo, dano ou morte de um organismo, tecido ou célula. Esse efeito está intrinsecamente relacionado ao tipo de exposição e da concentração em que o alvo está submetido (Ottoboni, 1992).

O uso de plantas medicinais consiste em uma prática milenar difundida por diversos povos ao redor do mundo, sendo comum até hoje através das gerações (FIGUEIRA, 2013). Em 1990, a Organização Mundial da Saúde divulgou estudo que demonstrou que entre 60 a 80% da população dos países em desenvolvimento depende de medicamentos naturais (Veiga Junior et al., 2005). No entanto, a maioria das plantas produz várias substâncias como mecanismo de defesa, que podem apresentar efeitos de toxicidade em seres humanos ou em outras espécies animais, como a estricnina, presente na voz-vômica e glicosídeos cianogênicos, presentes na mandioca-brava (Mengue et al., 2001). Nesse sentido, as principais reações tóxicas e efeitos adversos oriundos do uso de plantas medicinais são: efeitos citotóxicos ou genotóxicos, hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, teratogenicidade e reações de hipersensibilidade (Veiga Junior et al., 2005; Lourenço et al., 2009; Borges et al., 2015; Pinheiro et al., 2020; Santos et al., 2021).

Por outro lado, além da importância de catalogar os componentes tóxicos

presentes nas plantas, a análise toxicológica permite identificar novas substâncias com potenciais farmacológicos expressivos, como no caso da atropina e da morfina que são originadas, respectivamente, a partir da *Atropa belladonna* e *Papaver somniferum* (Campos et al., 2016). Diversos modelos experimentais são utilizados para avaliação de toxicidade, incluindo cultura de células, invertebrados e modelos de vertebrados, como roedores e zebrafish. Nessa perspectiva, os embriões de zebrafish são um modelo ideal para análise toxicológica de espécies vegetais, devido ao seu aspecto transparente, rápido desenvolvimento e não requer técnicas invasivas (Falcão et al., 2018).

#### 1.4 Zebrafish

O zebrafish (*Danio rerio*), conhecido popularmente no Brasil como paulistinha ou peixe-zebra, é um teleosteo da família Cyprinidae, originário da região Sudoeste Asiática. A característica física que dá o nome popular à espécie é o padrão de listras, conforme apresentado na Figura 2. Essa espécie foi introduzida na pesquisa experimental na década de 1980, pelo biólogo norte-americano George Streisinger da Universidade do Oregon (Streisinger et al., 1981). Considerando a complexidade genômica do zebrafish, um vertebrado diploide que tem a vantagem de ter um desenvolvimento embrionário e uma função neuronal relativamente simples de serem analisados, esse modelo tornou-se extremamente prático e amplamente utilizado em todo o mundo (Zorzetto, 2013). Dessa forma, o *D. rerio* se estabelece no meio científico como um organismo padrão para avaliação de efeitos de toxicidade no desenvolvimento embrionário (Jagadeeshan et al., 2017), estudos comportamentais (Paiva et al., 2020) e testes para novos agentes farmacológicos (Português et al., 2022).

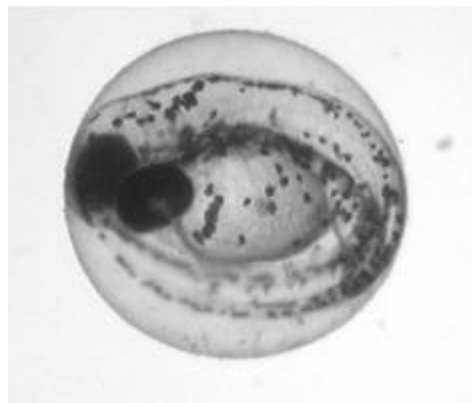
**Figura 2:** Representação de indivíduo adulto da espécie *Danio rerio* (zebrafish).



**Fonte:** <http://www.abc.net.au/news/2017-04-11/zebrafish/8433206>

O zebrafish possui diversos atributos que tornam seu uso seguro e vantajoso quando comparado a outros modelos animais. Nesse contexto, devido ao seu tamanho, de aproximadamente 3 a 4 cm na fase adulta, o espaço necessário para acomodá-los é menor, o que facilita o seu manejo e reduz os custos de manutenção. Além disso, o volume de substâncias a serem testadas e a quantidade de resíduos gerados são menores se comparadas a outras espécies, como os roedores. Outra vantagem no uso dessa espécie é a rápida taxa de reprodução, de modo que um casal é capaz de produzir de 200 a 300 ovos em uma manhã e, se mantido de forma adequada, esse padrão pode se repetir por até 7 dias. Ademais, a translucência dos embriões permite a avaliação de alterações morfológicas no período de desenvolvimento embrionário (Hill et al, 2005). Na Figura 3 está uma representação do embrião do zebrafish demonstrando o seu aspecto translúcido.

**Figura 3:** Representação de um embrião de zebrafish.



**Fonte:** Sant'anna, 2009, apud Federal Research Centre for Fisheries.

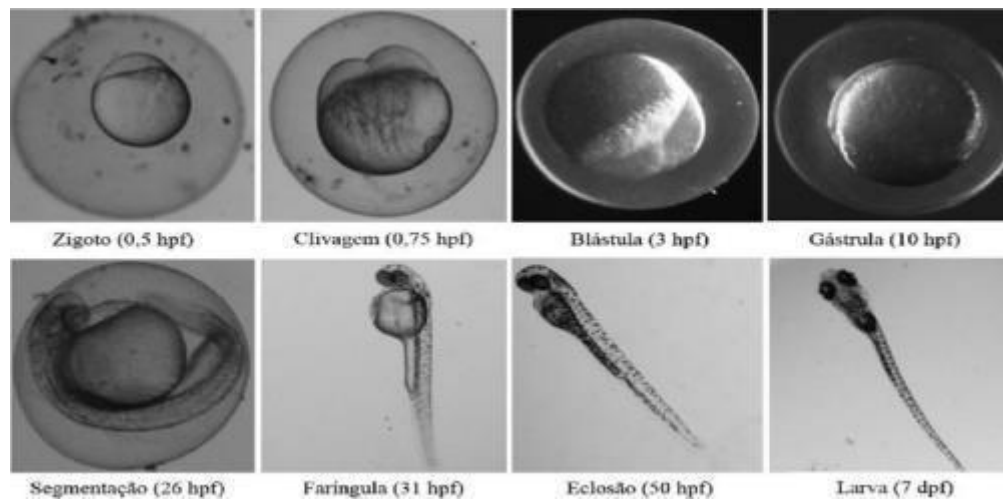
Ademais, a partir do sequenciamento completo do genoma do *D. rerio*, evidenciou-se que dos mais de 26.000 genes codificados, aproximadamente 70% são correspondentes (ortólogos) aos genes dos seres humanos (Howe et al, 2013). Além disso, quando analisados somente genes relacionados a doenças, esse número de homólogos sobe para 84%, evidenciando as vantagens do uso do zebrafish como modelo para doenças e condições humanas (Escaleira, 2017).

Outro fator que confere vantagem a esse modelo é que, quando comparado a outras espécies animais, o zebrafish demonstra uma maior sensibilidade ao serem expostos a substâncias que apresentam toxicidade, mesmo em doses

baixas (Falcão et al., 2018). Nesse viés, a análise de embriotoxicidade no *D. rerio* consiste em identificar alterações tanto funcionais quanto morfológicas, apresentadas da seguinte forma: modificação no desenvolvimento da cauda, formação de edema de vesícula vitelínica e/ou cardíaca, alteração no padrão de somitos, atraso no desenvolvimento embrionário, ausência de células embrionárias, dentre outros (Nguyen et al., 2021).

Diante disso, as alterações morfofuncionais nos embriões de zebrafish estão associadas, principalmente, a moléculas causadoras de dano celular. Lesões celulares, por sua vez, podem levar a formação de EROS que afetam, por exemplo, as células embrionárias (XIA et al., 2020). Esse perfil de alterações já descrito, pode ser acompanhado por meio das etapas do desenvolvimento embrionário do *D. rerio* (Hill et al., 2005), apresentado na Figura 4 em 7 estágios: zigoto, clivagem, blástula, gástrula, segmentação, faríngula e eclosão da larva (Siebel et al., 2015).

**Figura 4:** Estágios do desenvolvimento embrionário do zebrafish.



**Fonte:** Siebel et al., 2015.

## 2. Justificativa

A cagaita, planta abundante no cerrado, é amplamente utilizada na região Oeste da Bahia, especialmente por comunidades mais vulneráveis e de recursos limitados. Seu emprego é notável na produção de alimentos, como sucos, sorvetes, licores e consumo *in natura*. Além disso, destaca-se na medicina popular, sendo empregada no tratamento de problemas gastrointestinais, infecções geniturinárias e dermatológicas.

Nesse contexto, a população reconhece e aprecia as propriedades benéficas das plantas locais, compreendendo sua aplicação no tratamento de diversas enfermidades. Além disso, a desigualdade e a vulnerabilidade sociais nas comunidades do bioma cerrado, localizadas na região central do país, limitam o acesso a medicamentos industrializados e cientificamente testados. Diante desse cenário, a medicina popular ganha destaque, impulsionada pelas condições socioeconômicas da população, promovendo assim a prática da etnomedicina.

Posto isso, é necessário entender melhor os riscos e benefícios do uso da cagaita, já que essa planta possui uma grande aplicação para as comunidades locais. Diante disso, devido à escassez de trabalhos relacionados à segurança do consumo e práticas medicinais da cagaita, esse estudo possui um papel social relevante, principalmente para a comunidade do cerrado.

### **3. Objetivos**

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de toxicidade do extrato etanólico de folha de cagaita em embriões de zebrafish.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Estabelecer a DL50 dos extratos a serem avaliados no desenvolvimento embrionário de zebrafish;
- Avaliar as alterações morfológicas no desenvolvimento de embriões de zebrafish expostos a diferentes concentrações dos extratos;
- Avaliar as alterações funcionais no desenvolvimento de embriões de zebrafish expostos a diferentes concentrações;

### **4. Métodos**

#### 4.1 Preparo do extrato etanólico

Os espécimes foram coletados em áreas preservadas do Cerrado, próximas ao município de Barreiras-BA. Após a coleta das folhas, o material foi identificado e desidratado em estufa a 40°C durante 24h. Depois de retiradas da estufa, as folhas

de cagaita foram trituradas separadamente e, posteriormente armazenado em local apropriado, protegido da umidade e luz. Em seguida, para a obtenção do extrato etanólico, as folhas foram submetidas ao processo de maceração estática em etanol à 98%, em uma proporção de 1:5. Para isso, foram usados 100g de folha para 500ml de etanol, por um período de 7 dias à temperatura ambiente. A solução obtida durante esse processo foi filtrada e o solvente remanescente foi removido por meio da rotaevaporação a 40°C sob pressão reduzida. A solução resultante foi congelada e posteriormente liofilizada. Ao extrato bruto, foi utilizado o DMSO 0,05% como solvente, para o preparo das diferentes concentrações do extrato.

#### 4.2 Manejo dos animais e coleta dos embriões

Os animais adultos (3-6 meses) de zebrafish (*Danio rerio*) foram mantidos no laboratório 105, do Prédio de Laboratórios, da Universidade Federal do Oeste Bahia, em aquários de polietileno com capacidade de 30L, com uma densidade populacional máxima de 5 peixes para cada litro de água, com machos e fêmeas dividindo o mesmo espaço. A água era mantida em temperatura de  $\pm 26^{\circ}\text{C}$ , com fotoperíodo de 14h de luz e 10h de escuro, com controle de qualidade de água com pH e amônia, seguindo os parâmetros adequados para a espécie. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia com ração em flocos e com artêmia salina para estimular o instinto de caça e melhorar a ingestão de proteínas. Todas as ações realizadas foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFOB), sob o número de registro 0002-2023.

Com relação a reprodução dos peixes, eles foram separados em aquários específicos para reprodução, com o uso de água destilada, numa proporção de macho e fêmea de um para um, com 5 peixes de cada sexo no aquário, separados por uma barreira de plástico, sendo separados no período vespertino, um dia antes da reprodução.

Na manhã seguinte, a divisória do criadouro foi retirada e os machos e fêmeas foram mantidos juntos por 40 minutos para que a reprodução fosse completada. Após esse período, os adultos foram retirados e armazenados em aquários de manutenção. Os embriões foram coletados e selecionados para análise, utilizando uma placa de petri contendo solução E3 (solução contendo  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , sal marinho e água destilada).

A seleção de embriões viáveis foi feita por meio de um estereoscópio e, a

partir disso, os embriões foram transferidos para uma placa de 96 poços e expostos a diferentes concentrações do extrato etanólico das folhas de cagaita.

#### 4.3 Ensaio de toxicidade

Os embriões foram expostos às concentrações de 50, 100, 200, 400, 600 e 800 µg/mL do extrato etanólico de folha de cagaita, sendo selecionados em estágios de até 3 hpf, seguindo os padrões da OECD. No entanto, o tempo de avaliação foi estendido de 96 hpf para 120 hpf, já que o cório confere proteção para os embriões até aproximadamente 72 horas. Os embriões foram colocados em placas de 96 poços, contendo um volume de 100 µL de extrato, com 20 indivíduos, um em cada poço, para cada concentração do extrato, totalizando 60 embriões por grupo ou concentração de extrato. Esses foram submetidos a avaliação de toxicidade aguda, ou seja, o extrato foi inserido somente no momento inicial de até 3 hpf. Além disso, também foram avaliados os grupos controle negativo (solução E3) e controle contendo o solvente DMSO 0,05%, contendo 20 embriões para cada reprodução.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os embriões foram mantidos em estufa, com temperatura de aproximadamente 26°C entre as análises.

#### 4.4 Avaliação da embriotoxicidade

Os embriões selecionados foram mantidos em contato com o extrato e analisados até 120 hpf, sendo avaliados critérios subletais e letais a cada 24 horas. Com relação aos parâmetros não letais, foram analisados a taxa de eclosão (24, 48, 72, 96, 120 h), alteração comportamental, efeitos teratogênicos, como escoliose, retardo no desenvolvimento, formação de edema, sendo ambos avaliados em um tempo de até 120 hpf. Com relação aos fatores letais, foram avaliados a presença de coagulação do embrião (0, 24 h) e não formação de somitos (24, 48, 72, 96, 120 h). Todos esses parâmetros foram avaliados de acordo com as normas estabelecidas pela OECD 2013.

#### 4.5 Análise dos dados

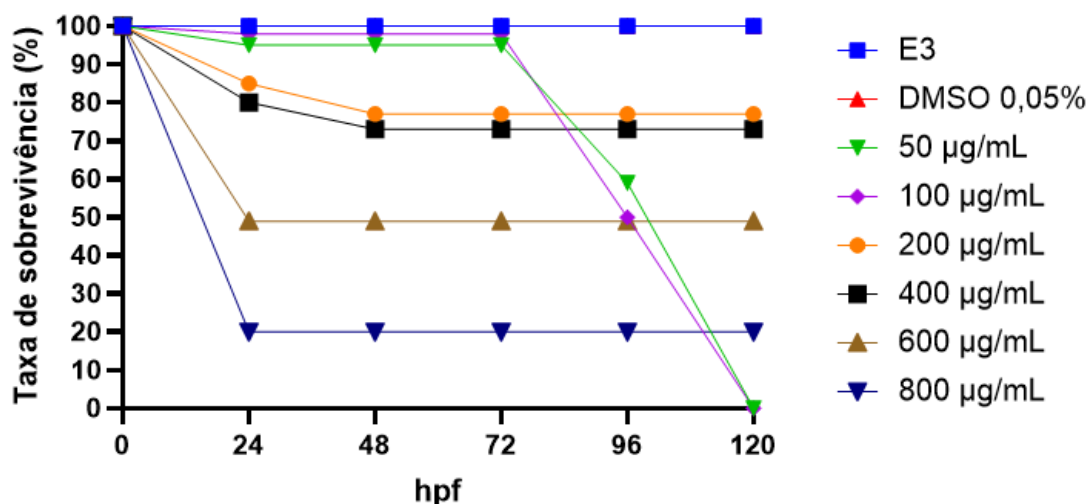
Os dados foram tabulados por meio do Excel e a análise descritiva foi realizada utilizando os dados em medida absoluta e relativa. O programa GraphPad Prism foi utilizado para confecção dos gráficos. A análise qualitativa da diferença entre os valores dos grupos foi utilizada para a descrição dos resultados.

## 5. Resultados e Discussão

A avaliação de toxicidade do extrato etanólico de folhas de cagaita foi realizada conforme descrito no protocolo da OECD, e para isso, foram analisadas 6 concentrações do extrato, de modo que essas concentrações foram estabelecidas seguindo uma diluição seriada iniciando em 400 $\mu$ g/mL. As concentrações de 600 $\mu$ g/mL e 800 $\mu$ g/mL foram utilizadas para a determinação da DL50. A taxa de sobrevivência dos indivíduos descreve o perfil de toxicidade do extrato. Esses resultados estão apresentados na figura 5.

Identificou-se que, a partir das 120 horas de observação, os embriões de *D. rerio* expostos aos extratos mais concentrados, de 800 e 600  $\mu$ g/mL, apresentaram a maior taxa de mortalidade, com 80% e 41,6%, respectivamente, já nas primeiras 24h. Em comparação, os grupos controles, representados pela solução E3 e E3 acrescida de DMSO 0,05%, obtiveram taxa de sobrevivência de 100%, validando o experimento e sendo expressa na figura 5.

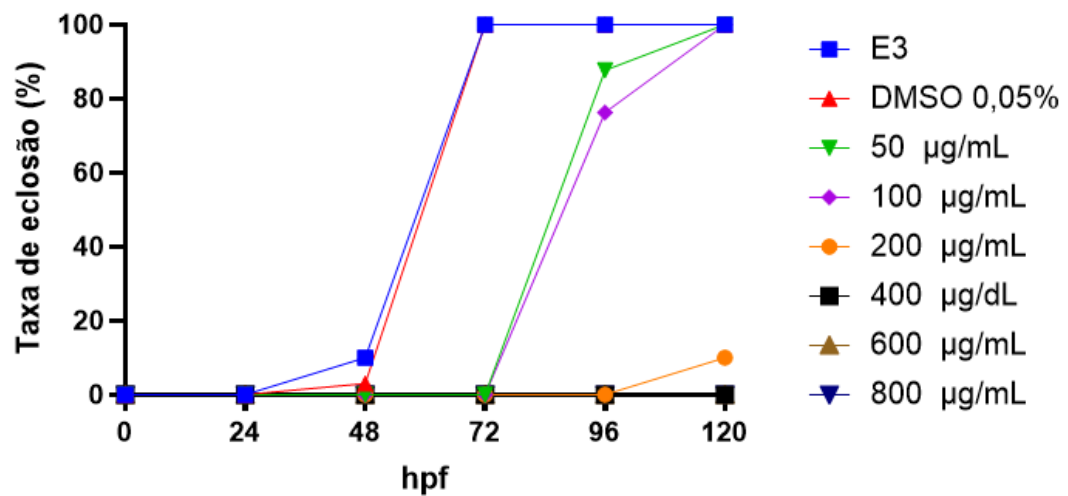
**Figura 5:** Análise de sobrevivência dos embriões e larvas de *D. rerio* expostos ao extrato etanólico das folhas da cagaita.



Hpf= horas pós fertilização; n= 20 (em triplicata).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

**Figura 6:** Análise de eclosão dos embriões e larvas de *D. rerio* expostos ao extrato etanólico das folhas da cagaita por 120h.



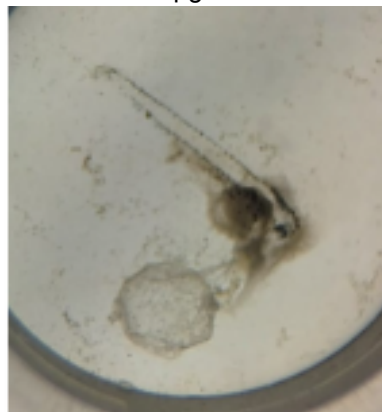
Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

Por conseguinte, a taxa de sobrevivência influencia diretamente na taxa de eclosão dos embriões (Figura 6). Nesse sentido, os grupos controles obtiveram 100% de eclosão, enquanto concentrações mais elevadas, como em 800µg/mL, 600µg/mL e 400µg/mL, não apresentaram essa etapa do desenvolvimento embrionário. Nas concentrações de 100 µg/mL e 50 µg/mL, as quais a letalidade foi menor, a taxa de eclosão aproximou-se em números quando comparados aos grupos controle, com 87% e 76%, respectivamente. Entretanto, apesar da eclosão ter ocorrido em doses subletais, como em 200µg/mL, 100µg/mL e 50µg/mL L, o tempo para a realização desse evento foi superior ao padrão da espécie, ocorrendo somente após as 96 hpf. A eclosão em embriões de peixes teleosteos, como o *D.rerio*, depende de dois fatores, o químico e o físico (Gaspar, et al., 1999; Schoots, et al., 1982). A partir de enzimas proteolíticas liberadas pelo embrião, o cório passa por um processo de “amolecimento”, reduzindo a sua espessura e elasticidade (Kim,

et al., 2006). Com isso, o embrião deve realizar movimentos espontâneos para romper o cório e eclodir, constituindo a etapa física da eclosão. No presente trabalho, podemos identificar, por meio da observação direta, que havia movimentos espontâneos nos embriões que não eclodiram, logo é possível deduzir que a ausência de eclosão pode ter sido devido a alguma alteração na etapa química.

Além disso, foi observado que após 24 horas pós-eclosão, os embriões expostos ao extrato sofriam degeneração tecidual e conseqüentemente morriam. Esse processo foi evidenciado em 100% dos embriões das concentrações de 200µg/mL, 100µg/mL e 50µg/mL que passavam pela eclosão. Para que haja a sobrevivência das larvas de zebrafish, alguns parâmetros de qualidade devem ser mantidos. A presença de poluentes ambientais ou substâncias com potencial tóxico, como o extrato etanólico das folhas de cagaita, podem alterar o pH, a disponibilidade de oxigênio e gerar a presença de espécies reativas de oxigênio. Além disso, alterações morfológicas e funcionais durante o desenvolvimento, como a presença de edemas, alterações de coluna e alteração do sistema neuromotor, afetam de forma direta as chances de sobrevivência das larvas. Em ensaio realizado com camundongos, foi evidenciado que o extrato hidroalcolólico das folhas de cagaita possui atividade antimitótica e citotóxica com mecanismos de apoptose em células tumorais (Andrade, 2011). Esses mecanismos podem explicar a ocorrência de malformações presentes nos embriões e larvas, assim como o processo de degeneração tecidual presente nos indivíduos pós-eclosão, já que nessa fase de desenvolvimento embrionário, há uma grande atividade mitótica.

**Figura 7:** Imagem representativa de larva de zebrafish com 120 *hpf* exposta ao extrato de 100µg/mL.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2024.

Na análise morfológica foram identificadas alterações teratogênicas em embriões e larvas. Os grupos controles não apresentaram alterações morfológicas, enquanto foi possível identificar alterações nos grupos expostos, variando de acordo com a concentração.

Os parâmetros teratogênicos analisados nos embriões e larvas foram: a presença de edema de pericárdio e de saco vitelínico, alteração de coluna, atraso no desenvolvimento embrionário (Tabela 1). As ocorrências desses eventos, com exceção do atraso no desenvolvimento, foram pouco significativas quando comparadas ao grupo controle. A alta taxa de mortalidade nas concentrações maiores, 600µg/mL e 800µg/mL, e a ausência de eclosão em doses subletais, reduziram o número de indivíduos e dificultaram a análise, pois parâmetros como alteração de coluna, só podem ser visualizadas de forma direta na fase larval.

**Tabela 1:** Parâmetros teratogênicos e números de indivíduos que apresentaram alterações morfológicas, com número amostral de 60 embriões para cada concentração.

Parâmetros teratogênicos	Extrato µg/mL							
	E3	DMSO 0,05%	50	100	200	400	600	800
Formação de edema	0	0	1	3	2	5	0	0
Alteração de coluna	0	0	2	3	0	0	0	0
Atraso no desenvolvimento	0	0	57	51	48	45	33	12

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2025.

O atraso no desenvolvimento embrionário foi evidenciado em todas as concentrações, com uma relação de dose-dependência. Nas concentrações de 400µg/mL, 600µg/mL e 800µg/mL, mesmo os indivíduos que não coagularam não apresentaram eclosão. As outras concentrações, apesar de ter ocorrido a eclosão, o tempo para sua ocorrência foi superior quando comparada ao grupo controle. Esse retardo no desenvolvimento aconteceu por dois mecanismos visualizados durante a pesquisa: atraso no processo de embriogênese e suas etapas (clivagem, blástula, gástrula e organogênese) e por defeitos nos mecanismos de eclosão (químico e físico). Como dito anteriormente, a atividade citotóxica pode interferir nas etapas de embriogênese e retardar o desenvolvimento embrionário. Assim como, defeitos no processo de amolecimento e enfraquecimento do cório podem retardar a ocorrência

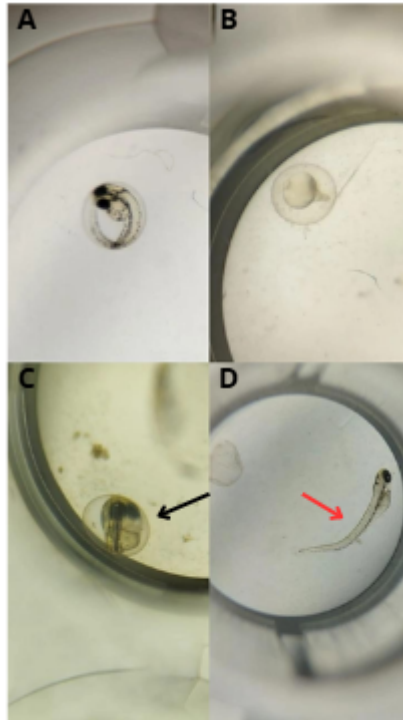
da eclosão.

Os peixes de água doce, devido a osmolaridade do meio em que habitam, possuem mecanismos que impedem a formação de edema, tanto de pericárdio, quanto de saco vitelínico. Para isso, essas espécies fazem uso de sistemas que impedem o influxo e sistemas que aumentam o efluxo de água (Hill, et al., 2004). O *D. rerio*, mesmo em momentos iniciais (<48hpf), possui uma barreira embrionária que impede a entrada livre de líquido e isso previne a formação de edemas. Posteriormente, sua função osmótica é melhorada com a formação do pronefron, possibilitando a regressão ou redução de edemas (Hill, et al., 2004). O sistema cardiovascular, por sua vez, funciona como um sistema de efluxo, aumentando a excreção a partir da via renal. Desse modo, a redução da frequência cardíaca e pressão arterial altera o sistema circulatório, diminuindo assim a função renal (Antkiewicz, et al, 2005; Bittencourt, et al., 2018). Posto isso, apesar de um valor pouco significativo, com 5 embriões (em 60 indivíduos) na concentração de 400µg/mL sendo o mais acometido, a presença de edema de saco e pericárdio no presente estudo pode ser deduzida a partir de algum defeito desses sistemas de barreiras que impedem o influxo e aumentam o efluxo de acordo com a necessidade do embrião/larva.

As malformações de coluna foram pouco presentes na pesquisa vigente, com 2 e 3 indivíduos, nas concentrações de 50µg/mL e 100µg/mL, respectivamente. As alterações teratogênicas na coluna e cauda dependem de diversas causas, como somitogênese defeituosa, modificação na notocorda, erro de migração celular, doenças musculares e defeitos em canais e bombas iônicas (Hen Chow, et al., 2009). A partir das análises, por meio da observação direta, não foi possível identificar alterações estruturais e nem alteração no padrão dos somitos. Desse modo, os defeitos visualizados, como a escoliose, podem estar relacionados a defeitos músculoesquelético ou nos canais/bombas de íons. Ademais, a ausência de eclosão nas concentrações mais elevadas, nas quais era esperada a presença de mais alterações teratogênicas, subestima o percentual encontrado de alterações de coluna, já que essa análise é dificultada em larvas presas dentro do cório.

Todas as alterações teratogênicas, como a formação de edema, alteração de coluna e atraso no desenvolvimento, estão representadas na figura 8.

**Figura 8:** Imagens representativas de embriões e larvas de zebrafish em diferentes estágios de desenvolvimento. Indivíduo A (controle) com 48 hpf, B (100 µg/mL) com 48 hpf, C (400 µg/mL) e D (50 µg/mL). A seta preta representa edema generalizado e a seta vermelha escoliose.



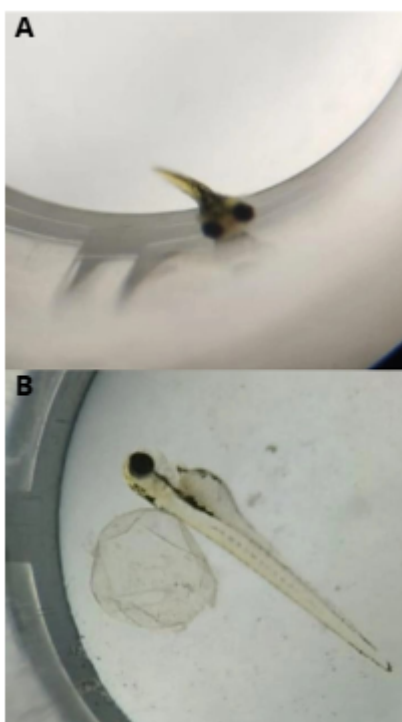
**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2024.

Nos dados da figura 8, observou-se que os indivíduos A e B, apesar de possuírem o mesmo tempo de fertilização, estão em etapas diferentes no desenvolvimento embrionário. O A já apresenta pigmentação e desprendimento de cauda, enquanto o B não apresenta pigmentação e cauda com desprendimento incompleto. O embrião C apresenta um edema global volumoso, apontado pela seta preta. A larva D apresenta alteração de coluna (escoliose), apontada pela seta vermelha.

No presente estudo, observou-se também que as larvas expostas ao extrato apresentam comportamentos diferentes quando comparadas ao grupo controle, como demonstra a figura 9. As posições adotadas por essas larvas eram de lateralização dentro do poço, nado lateral e em círculos ao redor do poço, com presença de espasmos e agitação. Isso evidencia que o extrato etanólico da cagaita pode influenciar no desenvolvimento neuromotor, fundamentado na alteração de comportamento em relação aos grupos E3 e DMSO 0,05%. O tectum óptico é uma

estrutura anatômica e funcional com o objetivo sensorial e programação motora da larva e do futuro peixe adulto (Easter Jr, et al., 1996). Em 60 *hpf*, a larva já é capaz de perceber e responder a estímulos visuais, em especial, variações de luz. Nesse sentido, o primeiro reflexo a ser desenvolvido é o *startle* (nado errático e rápido), comportamento esse, fundamental para fuga de predadores e sobrevivência no ambiente natural (Kimmel, et al., 1974). A ausência desse padrão esperado de comportamento, quando comparado aos grupos controle, demonstra a embriotoxicidade no desenvolvimento neuromotor nas larvas de zebrafish. Além disso, a posição lateralizada adotada pelas larvas no fundo do poço, pode estar relacionada a defeitos presentes na bexiga natatória, órgão imprescindível para o equilíbrio e coordenação motora dos peixes.

**Figura 9:** Imagens representativas de larvas de zebrafish com 96 hpf. Indivíduo A (controle) e indivíduo B (50 µg/mL).



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2024.

Na figura 9, está representada a posição adotada pelas larvas dentro do poço. O controle, representado pela figura A adota uma posição verticalizada em relação ao observador, enquanto a larva B (50 µg/mL), adota uma posição lateralizada e de inércia dentro do poço.

A DL50 foi determinada a partir da curva de sobrevivência, por meio da equação da reta, com  $R^2 = 0,921$ , apresentando valor de aproximadamente 568,42

µg/dL.

## **6. Conclusão**

O presente trabalho demonstrou que o extrato etanólico das folhas de cagaita possui efeito de embriotoxicidade, levando a alterações teratogênicas, retardo no desenvolvimento embrionário e alterações nos padrões de comportamento. Esses resultados demonstram que, mesmo em doses subletais, o extrato traz prejuízos morfofuncionais que são imprescindíveis para a sobrevivência dos peixes, tanto em ambiente laboratorial, quanto em ambiente natural.

A cagaita é uma planta medicinal amplamente distribuída e utilizada pelas populações do cerrado brasileiro. Desse modo, é necessário expandir os estudos sobre os seus usos, com o intuito de identificar moléculas com potenciais tóxicos e terapêuticos, a fim de garantir uma maior segurança quanto ao seu uso, assim como gerar novas formulações farmacêuticas e medicinais.

## 7. Referências

ANDRADE, W. M. **Investigação da atividade antitumoral in vitro e in vivo da *Eugenia dysenterica* DC. (MYRTACEAE)**. Disponível em:

<<http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/2115>>. Acesso em: 10 fev. 2025.

ANTKIEWICZ, D. S. et al. Heart Malformation Is an Early Response to TCDD in Embryonic Zebrafish. **Toxicological Sciences**, v. 84, n. 2, p. 368–377, 5 jan. 2005.

ÁVILA, R. I. DE et al. *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) exerts chemopreventive effects against hexavalent chromium-induced damage in vitro and in vivo.

**Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 11, p. 2652–2663, 1 nov. 2016.

BITTENCOURT, T. Q. M. et al. Efeitos tóxicos de compostos de vanádio sobre os parâmetros biológicos de embriões e adultos de zebrafish ( *Danio rerio* ). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 6, p. 1877–1886, dez. 2018.

BORGES, R. A. M. et al. Riscos associados ao uso de plantas medicinais durante o período da gestação: uma revisão. **Revista Uniandrade**, v. 16, n. 2, p. 101-108, 2015.

CAMPOS, S. C. et al. **Toxicidade de espécies vegetais. Revista Brasileira de Plantas Medicinai**Instituto de Biociencias, , 2016.

CARDOSO et al. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. *Food Research International*, v. 44, n. 7, p. 2151–2154, 1 ago. 2011. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996911001621>>.

Acesso em: 14 nov. 2023.

CECÍLIO, A. B. et al. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 141, n. 3, p. 975–981, 1 jun. 2012. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874112001912>>.

Acesso em: 16 nov. 2023.

DA SILVA, S. M. M. et al. Emulsão incorporando extrato aquoso de *Eugenia dysenterica* aprisionado em micropartículas de quitosana como novo tratamento tópico de infecções cutâneas. **Jornal de Ciência e Tecnologia de Entrega de Medicamentos** , v. 101372, 2020.

DE ARAUJO, R. L. et al. Efeito pós-prandial de redução da glicose do suco de fruta cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) em indivíduos disglucêmicos com síndrome metabólica: um estudo exploratório. **Food Research International** , v. 110209, 2021.

EASTER, S. S. et al. The development of vision in the zebrafish (*Danio rerio*). **Developmental Biology**, v. 180, n. 2, p. 646–663, 15 dez. 1996.

ESCALEIRA, R. O Zebrafish (*Danio rerio*). **Arquivos Brasileiros de Medicina Naval**, v. 78, n. 1, p. 43-48, 2017.

FALCÃO, M. A. P. et al. Zebrafish as an alternative method for determining the embryo toxicity of plant products: a systematic review. **Environmental Science and Pollution ResearchSpringer Verlag** , 1 dez. 2018.

FIGUEIRA, A. C. G. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS POR MEIO DO BIOENSAIO COM *Artemia salina***. [s.l: s.n.].

GASPAR, I. et al. The hatching gland cells of trout embryos: characterisation of N- and O-linked oligosaccharides. **Journal of Anatomy**, v. 194, n. 1, p. 109–118, jan. 1999.

GASCA, C. A. et al. Assessment of anti-cholinesterase activity and cytotoxicity of cagaita (*Eugenia dysenterica*) leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 996-1002, 2017.

HEN CHOW, E. S. et al. Cadmium affects retinogenesis during zebrafish embryonic development. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 235, n. 1, p. 68–76, fev. 2009.

HILL, A. et al. Zebrafish as a Model Vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. **Toxicological Sciences**, v. 86, n. 1, p. 6–19, 9 fev. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/toxsci/article/86/1/6/1654090?login=false>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

HILL, A. J. Water Permeability and TCDD-Induced Edema in Zebrafish Early-Life Stages. **Toxicological Sciences**, v. 78, n. 1, p. 78–87, 21 jan. 2004.

HOWE, K. et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498-503, 2013.

JAGADEESHAN, S. et al. Toxicity and anti-angiogenicity evaluation of Pak1 inhibitor IPA-3 using zebrafish embryo model. **Cell Biology and Toxicology**, v. 33, n. 1, p. 41– 56, 2017.

JUSTINO, A. B. et al. Potencial inibitório de  $\alpha$ -glucosidase e glicação não enzimática de extratos de polpa de fruta de *Eugenia dysenterica*. **Biociência Alimentar** , v. 35, p. 100573, 2020.

KIM, D.-H. . et al. Mechanical Analysis of Chorion Softening in Prehatching Stages of Zebrafish Embryos. **IEEE Transactions on Nanobioscience**, v. 5, n. 2, p. 89–94, jun. 2006.

KIMMEL, C. B. et al. The development and behavioral characteristics of the startle response in the zebra fish. **Developmental Psychobiology**, v. 7, n. 1, p. 47–60, jan. 1974.

LIMA, T. B. et al. Efeitos in vivo de extratos de folhas de cagaita (*Eugenia dysenterica*, DC.) no tratamento da diarreia. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências** , v. 2011, 2010.

LOURENÇO, A. C. S. et al. Óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf.) em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embriofetal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 407-413, 2009.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 11, p. 21-35, 2001.

NGUYEN, T. H. et al. Developmental toxicity of *Clerodendrum cyrtophyllum* turcz ethanol extract in zebrafish embryo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, p. 113538, 2021.

OTTOBONI, A. The Dose Makes the Poison. *Garbage*, v. 4, n. 5, p. 38–43, 1992. Disponível em: <<https://eric.ed.gov/?id=EJ463124>>. Acesso em: 16 nov. 2023.

PAIVA, I. M. et al. Behavioral plasticity and gene regulation in the brain during an intermittent ethanol exposure in adult zebrafish population. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 192, n. July 2019, p. 172909, 2020a.

PINHEIRO, S. et al. Hepatotoxicidade de plantas medicinais e produtos herbais. **Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás**, v. 3, n. 01, p. 132–137, 2020. Disponível em: <<https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/rrsfesgo/article/view/210>>. Acesso em: 16 nov. 2023.

PORTUGUÊS, V. R. et al. Avaliação acerca do Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo biomédico para determinação da toxicidade do dimesilato de lisdexanfetamina. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e50911528491-e50911528491, 2022.

REZENDE-SILVA, S. L. et al. A. *Pouteria torta* is a remarkable native plant for biomonitoring the glyphosate effects on Cerrado vegetation. *Ecological Indicators*, v. 102, p. 497-506, 2019. DOI: 10.1016/j.ecolind.2019.03.003.

SANT'ANNA, M. C. B. Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro. *Pucrs.br*, 2014. Disponível em: <<https://meriva.pucrs.br/dspace/handle/10923/1450>>. Acesso em: 17 nov. 2023.

SANTOS, R. X.; VOLEJO, I. P. G. Estudo experimental in vivo e in vitro de plantas medicinais nos processos de embriotoxicidade e teratogenicidade. *Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar, [S. l.]*, v. 10, p. 227–240, 2021. DOI: 10.24302/sma.v10.2797. Disponível em: <http://www.periodicos.unc.br/index.php/sma/article/view/2797>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SCHOOTS, A. F.M. et al. Hatching in teleostean fishes: Fine structural changes in the egg envelope during enzymatic breakdown in vivo and in vitro. **Journal of ultrastructure research**, v. 80, n. 2, p. 185–196, 1 ago. 1982.

SIEBEL, A. M. et al.; Zebrafish como modelo para estudos comportamentais. **Resende RR, organizador. Biotecnologia aplicada à saúde: fundamentos e aplicações. São Paulo: Blucher**, p. 15-56, 2015.

SILVA, J. F. et al. Cerrado fruits, study on their technological and medicinal applications: a review. **Seven Editora**, 2023.

SILVA, S. M. M. et al. *Eugenia Disenterica* Mart. Ex DC.(cagaita): Planta brasileira com potencial terapêutico. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 1, pág. 49-95, 2015.

SOUZA, P. M. Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do bioma cerrado. 2011. 90 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

STREISINGER, G. et al. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*, v. 291, n. 5813, p. 293–296, 1 maio 1981. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/291293a0>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

VEIGA JUNIOR, V. F. et al. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

XIA, Z. et al. Roots and stems of *Kadsura coccinea* extract induced developmental toxicity in zebrafish embryos/larvae through apoptosis and oxidative stress. **Pharmaceutical Biology**, v. 58, n. 1, p. 1294–1301, 2020.

YANG, X et al. Developmental toxicity caused by sanguinarine in zebrafish embryos via regulating oxidative stress, apoptosis and wnt pathways. **Toxicology Letters**, v. 350, p. 71-80, 2021.

ZORZETTO, R. *Um peixe modelo*. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/um-peixe-modelo/>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

## Anexo 01- Certificado de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA  
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação dos efeitos de teratogenicidade e toxicidade de extratos vegetais no desenvolvimento embrionário do *Danio rerio* (zebrafish)**”, protocolado sob o CEUA nº **0002-2023**, sob responsabilidade de **Izabela Barbosa Moraes** e equipe: **Isabella Cristina Barbosa de Andrade**, para fins de pesquisa científica ou ensino, está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, com o decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Oeste da Bahia (CEUA/UFOP) na reunião de 25/05/2023.

We certify that the proposal entitled “**Evaluation of the effects of teratogenicity and toxicity of plant extracts on the embryonic development of *Danio rerio* (zebrafish)**”, protocol number CEUA No. **0002-2023**, under the responsibility of **Izabela Barbosa Moraes** and team: **Isabella Cristina Barbosa de Andrade**, for scientific research purposes or teaching, is in accordance with Law 11,794 of October 8, 2008. Decree 6,899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of West Bahia (CEUA/UFOP) in the meeting of 05/25/2023.

**Finalidade da Proposta:** Pesquisa (Acadêmica)

**Vigência da Proposta:** 08/2023 a 09/2024

**Área:** Ciências Biológicas/Morfologia/Embriologia

**Origem:** Animais adultos provenientes de criatórios comerciais do tipo Pet Shop

**Idade:** Adultos entre quatro a 6 meses) embriões de 0 a 96 horas após a fertilização

**Espécie:** *Danio rerio*

**Peso:** 0,400 a 0,600g

**Linhagem:** -

**N:** 60 animais adultos e 620 embriões

**Sexo:** Animais adultos (30 machos e 30 fêmeas)

**Local do experimento:** Os experimentos serão realizados no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Oeste da Bahia.

**Telefone:** (77) 9 91769199

Barreiras – BA, 30 de Maio de 2023.

Documento assinado digitalmente  
gov.br TARCISIO MACEDO SILVA  
Data: 30/05/2023 19:54:34-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
gov.br CAROLINA CARVALHO DE SOUZA  
Data: 02/06/2023 08:35:15-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Tarcísio Macedo Silva

Carolina Carvalho de Souza

**Coordenador da CEUA/UFOP**

**Vice coordenadora da CEUA/UFOP**