

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA ANIMAL

DISSERTAÇÃO

**ESTUDO SOBRE A SENSIBILIDADE DOS CAPRINOS À TOXIDEZ DE
CROTALÁRIAS TÓXICAS PARA BOVINOS, VISANDO A SUA
UTILIZAÇÃO NA PROFILAXIA**

ANA PAULA DE CASTRO PIRES

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE POS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PATOLOGIA ANIMAL

**ESTUDO SOBRE A SENSIBILIDADE DOS CAPRINOS À TOXIDIZ DE
CROTALÁRIAS TÓXICAS PARA BOVINOS, VISANDO A SUA
UTILIZAÇÃO NA PROFILAXIA**

ANA PAULA DE CASTRO PIRES

Sob Orientação da Professora
Marilene de Farias Brito Queiroz

E Coorientação do Professor
Carlos Maria Antonio Hubinger Tokarnia

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2015

636.3908959 Pires, Ana Paula de Castro, 1989-
P667e Estudo sobre a sensibilidade dos
T caprinos à toxidez de crotalárias
tóxicas para bovinos, visando a sua
utilização na profilaxia / Ana Paula de
Castro Pires. - 2015.

70 f.: il.

Orientador: Marilene de Farias Brito
Queiroz.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária - Patologia e
Ciências Clínicas.

Bibliografia: f. 54-61.

1. Caprino - Toxicologia - Teses. 2.
Plantas venenosas para o gado - Teses.
3. Crotalaria - Teses. 4. Plantas
venenosas - Controle biológico - Teses.
5. Toxicologia veterinária - Teses. I.
Queiroz, Marilene de Farias Brito,
1960- II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação
em Medicina Veterinária - Patologia e
Ciências Clínicas. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANA PAULA DE CASTRO PIRES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária** no Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Animal

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/02/2015

Marilene de Farias Brito Queiroz. Dra. UFRRJ
Orientadora

Jürgen Döbereiner. Dr. Embrapa

Saulo Andrade Caldas. Dr. UFRRJ

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Mayra Alves e Edivaldo Neiva, pelo apoio e carinho incondicionais durante esta etapa da minha vida...

AGRADECIMENTOS

À professora Marilene Brito pelas oportunidades, disponibilidade, infindáveis ensinamentos e apoio incondicional. Obrigada por ter confiado em mim;

Ao professor Carlos Tokarnia pelos ensinamentos e por ser este exemplo de profissional e ser humano;

À todos os meus familiares, em especial os meus pais, que nem sempre puderam estar presentes, mas sempre estavam torcendo por mim;

À Flávia Jabour por ter aberto o caminho para que eu chegasse onde eu cheguei;

Aos caprinos do meu experimento: Alex, Naya, Aslan, Luke, Gema, Savanna, Lea, Emily, Dominika e Siena. Nada disso seria possível se não fosse por vocês. Para aqueles animais que deram suas vidas durante esta longa jornada, fica aqui a minha eterna gratidão;

À Mariana Correia e Karina Braga pela ajuda indispensável durante a realização dos experimentos;

Aos meus amigos do Setor de Anatomia Patológica: André, Mariana, Samay, Gabriela, Ileana e Daniel. Minha família longe de casa;

À Leticia, técnica do laboratório, pela amizade e por sempre estar disposta a me ajudar em momentos de necessidade;

Ao responsável pelo Setor de Caprinocultura do IZ/UFRRJ, Everton da Silva Mattos (Betinho), bem como à técnica Tatiana Lebre da Silva e todos os funcionários do setor pelo apoio logístico durante a condução dos experimentos;

Ao professor Pedro Malafaia pelo auxílio durante a realização dos testes de germinação a campo;

À professora Rita Botteon, à Janne Paula e ao técnico do Laboratório de Patologia Clínica da UFPA, Antônio José Nogueira Leão pelo auxílio na realização dos exames bioquímicos do experimento;

Aos integrantes do Laboratório de Doenças Parasitárias, em especial ao professor Aivaldo Fonseca pelo apoio durante a realização dos experimentos;

À CAPES pela concessão da bolsa;

À todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho, fica aqui o meu eterno agradecimento.

RESUMO

PIRES, Ana Paula de Castro. **Estudo sobre a sensibilidade dos caprinos à toxidez de crotalárias tóxicas para bovinos, visando a sua utilização na profilaxia.** 2015. 70p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

A intoxicação por plantas em animais de produção no Brasil é sabidamente uma das mais importantes causas de mortes. Tendo em vista que pouco pode ser feito no que diz respeito ao tratamento dessas intoxicações, os esforços devem se concentrar na adoção de medidas profiláticas alternativas, entre estas a utilização de uma espécie menos sensível no local de ocorrência de determinadas plantas. Objetivou-se com esse trabalho verificar a sensibilidade de caprinos às crotalárias (*Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea*) para que possam ser utilizados na profilaxia da intoxicação por essas plantas em bovinos. Para a realização dos experimentos foram utilizados oito caprinos adultos jovens, de ambos os sexos, divididos aleatoriamente em dois grupos de quatro animais (um grupo para cada planta). Dos quatro caprinos que receberam doses únicas ou diárias de sementes de *Crotalaria juncea*, nenhum desenvolveu sinais clínicos de intoxicação ou apresentou alterações no exame bioquímico, com exceção de um animal que apresentou aumento isolado nos níveis de ALP e albumina. Entre os quatro caprinos que receberam doses únicas ou diárias de sementes de *Crotalaria spectabilis*, três morreram. Desses, apenas o animal que recebeu uma dose única de 10g/kg de sementes da planta sobreviveu, e não apresentou alterações clínicas ou bioquímicas durante o período experimental. O animal que recebeu uma dose única de 20g/kg de sementes morreu dois dias após a ingestão e apresentou inapetência, apatia e hipotonia ruminal. Tanto à necropsia quanto à histopatologia, se destacaram as lesões hepáticas, caracterizadas por necrose hemorrágica centrolobular. O caprino que recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes de *Crotalaria spectabilis* por 35 dias e morreu 58 dias após o início do experimento, apresentou sinais de apatia, anorexia e crescente dificuldade respiratória, além de soro sanguíneo amarelado. À necropsia as lesões hepáticas e pulmonares chamaram a atenção, e na histologia as principais alterações eram de pneumonia intersticial. Esse animal apresentou alterações transitórias nos valores de AST, ALP, GGT, proteína total e bilirrubina total e conjugada. O caprino que recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes da planta por 150 dias foi eutanasiado *in extremis*. O quadro clínico foi de inapetência, emagrecimento progressivo, apatia, hipotonia ruminal e mucosas e soro sanguíneo amarelados. À necropsia e ao exame histopatológico havia predominância de lesões hepáticas. À microscopia, as lesões mais importantes foram megalocitose e aspecto bizarro de hepatócitos e das células epiteliais dos túbulos renais. O estudo da bioquímica sanguínea mostrou alterações transitórias de AST, ALT, ALP, GGT, proteína total, ureia e bilirrubina (total e conjugada). Os resultados do trabalho mostraram que não se deve usar caprinos como medida profilática na intoxicação por *Crotalaria spectabilis*, mas que pode se recomendar esta espécie na profilaxia da intoxicação por *Crotalaria juncea*.

Palavras-chave: *Crotalaria* spp., caprinos, controle biológico.

ABSTRACT

PIRES, Ana Paula de Castro. **Study about the sensitivity of goats to the toxicity of crotalarias poisonous for cattle, aiming their use for prophylactic measures.** 2015. 70p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Animal Pathology). Instituto de Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Plant poisoning of farm animals in Brazil is known to be one of the most important causes of death. As there are not many possibilities for treatment of those cases, all efforts must focus on the application of alternative prophylactic measures, among them the use of a less sensitive animal species in areas of the occurrence of certain plants. This study aimed to ascertain the sensibility of goats to crotalarias (*Crotalaria spectabilis* and *Crotalaria juncea*), so that this animal species could be used as a prophylactic measure against those plants poisonous for cattle. In order to perform the experiments, 8 young adult goats of both sexes were used, which were randomly divided into two groups of 4 goats, e.g. one group for each plant. None of the 4 goats that received single or daily doses of *Crotalaria juncea* seeds, developed clinical signs of poisoning or showed changes in the biochemistry examinations, except one goat that exhibited an isolated rise in the levels of alkaline phosphatase. Out of the 4 goats that received single or daily doses of *Crotalaria spectabilis* seeds, three died. Among these, only the goat that received a 10g/kg single dose of the seeds survived and did not show any clinical sign or biochemical changes during the experiment. The goat that received a 20g/kg single dose of seeds died two days after the intake and exhibited loss of appetite, apathy and ruminal hypotonia. Postmortem and histopathological examination revealed marked centrilobular hemorrhagic necrosis. The goat that received daily doses of 2g/kg of *Crotalaria spectabilis* seeds for 35 days and died 58 days after the beginning of the experiment showed clinical signs of apathy, anorexia and a growing respiratory distress, besides the yellowish color of the blood serum. At histopathology the main lesion was interstitial pneumonia. This goat exhibited transient changes in the liver of AST, ALP, GGT, total protein, and direct and indirect bilirubin. The goat that received daily doses of 2g/kg of seeds for 150 days was euthanized *in extremis*. The clinical profile was loss of appetite, progressive emaciation, apathy, ruminal hypotonia and yellowish discoloration of mucous membranes and blood serum. At postmortem and histopathological examination, there was prevalence of the hepatic lesion. The most important microscopic lesions were megalocytosis and bizarre appearance of liver cells and epithelial cells of kidney tubules. Biochemistry showed transient changes in the activity of AST, ALT, ALP, GGT, total protein, urea and direct and indirect bilirubin levels. The results of the present study showed that goats are not indicated to be used as a prophylactic measure against poisoning by *Crotalaria spectabilis*, but can be recommended as an animal species to graze in areas invaded by *Crotalaria juncea* for the prevention of poisoning.

Keys words: *Crotalaria* spp., goats, biological control.

LISTA DE QUADROS

| | Página |
|---|---------------|
| Quadro 1 Delineamento experimental e desfecho da intoxicação por <i>Crotalaria spectabilis</i> em caprinos | 31 |
| Quadro 2 Delineamento experimental e desfecho da intoxicação por <i>Crotalaria juncea</i> em caprinos | 31 |
| Quadro 3 Bioquímica sanguínea na intoxicação experimental por <i>Crotalaria spectabilis</i> em caprinos | 32 |
| Quadro 4 Bioquímica sanguínea na intoxicação experimental por <i>Crotalaria juncea</i> em caprinos | 33 |
| Quadro 5 Lesões macroscópicas na intoxicação experimental por <i>Crotalaria spectabilis</i> em caprinos | 34 |
| Quadro 6 Lesões microscópicas na intoxicação experimental por <i>Crotalaria spectabilis</i> em caprinos | 35 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** (A) *Crotalaria spectabilis*. (B) Detalhe das sementes de *Crotalaria spectabilis*. (C) *Crotalaria juncea*. (D) Detalhes das sementes de *Crotalaria juncea*. 25
- Figura 2** Caprino 2. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (20g/Kg dose única). (A) Animal com acentuada apatia e prostração. (B) Sementes de *Crotalaria spectabilis* não digeridas no conteúdo ruminal. (C) Acentuado edema de vesícula biliar. (D) Fígado de cor que varia do vermelho escuro ao cianótico; ao corte fluía acentuada quantidade de sangue. (E) Rim com áreas pálidas e irregulares na superfície. (F) Coração com equimoses no endocárdio do ventrículo esquerdo. 36
- Figura 3** Caprino 2. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (20g/kg dose única). (A) Necrose coagulativa hemorrágica centrolobular no fígado (setas), HE, obj. 4x. (B) Necrose coagulativa hemorrágica centrolobular e vacuolização de hepatócitos na periferia da área necrótica, HE, obj 16x. (C) Rim com vacuolização e picnose (seta) das células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais. HE, obj. 25x. 37
- Figura 4** Caprino 3. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/35 dias). (A) Apatia e dificuldade respiratória evidenciada pela postura de cabeça apoiada no solo e pescoço estirado. (B) Soro amarelado (à direita) em comparação com o soro de um caprino que não ingeriu *Crotalaria spectabilis* (à esquerda). (C) Fígado com pequenas áreas esbranquiçadas e levemente elevadas na superfície; pulmão armado, de cor vermelho arroxeadado e com consolidação difusa do parênquima. (D) Vista aproximada de um fragmento do pulmão da figura anterior. 38

- Figura 5** Caprino 3. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/35 dias). (A) Pulmão com focos de epitelação (hiperplasia de pneumócitos tipo II). HE, obj. 16x. (B) Pulmão com infiltração por macrófagos alveolares e células multinucleadas bizarras em meio a infiltrado inflamatório por polimorfonuclear. HE, obj. 25x. (C) Pulmão com hiperplasia do epitélio dos bronquíolos. HE, obj. 40x. (D) Megalocitose de hepatócitos. HE, obj. 40x. (E) Rim com ativação de células mesangiais. HE, obj. 40x. 39
- Figura 6** Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). (A) Animal com acentuado emagrecimento e apatia. (B) Soro amarelado (à esquerda) em comparação com o soro de um caprino que não ingeriu *Crotalaria spectabilis* (à direita). (C) Fígado com áreas esbranquiçadas distribuídas difusamente pelo parênquima. 40
- Figura 7** **Figura 7.** Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). (A) Fígado com neoformação e dilatação de ductos biliares. HE, obj. 6,3x. (B) Megalocitose e aspecto bizarro de hepatócitos. HE, obj. 40x. 41
- Figura 8** Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). (A) Rim com megalocitose e aspecto bizarro das células epiteliais dos túbulos uriníferos. HE, obj. 40x. (B) Rim com megalocitose das células epiteliais das alças de Henle. HE, obj. 40x. (C) Proliferação e ativação das células mesangiais do rim. HE, obj. 40x. 42

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

| | |
|-----------------------|---|
| ALT/TGP | Alanina aminotransferase |
| ALP | Fosfatase alcalina |
| AST | Aspartato transaminase |
| APs | Alcaloides pirrolizidínicos |
| BALT | Tecido linfoide associado a brônquios |
| BPM | Batimentos por Minuto |
| CAEV | Artrite Encefalite Caprina |
| CEUA | Comitê de tica no uso de animais |
| <i>C. juncea</i> | <i>Crotalaria juncea</i> |
| <i>C. retusa</i> | <i>Crotalaria retusa</i> |
| <i>C. spectabilis</i> | <i>Crotalaria spectabilis</i> |
| GGT | Gama-glutamil transferase |
| HE | Hematoxilina e Eosina |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IV | Instituto de Veterinária |
| IZ | Instituto de Zootecnia |
| MCT | Monocrotalina |
| ORO | Orifício retículo-omasal |
| RPM | Respiraes por minuto |
| SAP | Setor de Anatomia Patológica |
| UFPA | Universidade Federal do Pará |
| UFRRJ | Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 2 |
| 2.1 Plantas Tóxicas | 2 |
| 2.2 Controle biológico de plantas tóxicas através do uso de animais resistentes | 4 |
| 2.3 O Gênero <i>Crotalaria</i> | 6 |
| 2.3.1 <i>Crotalaria spectabilis</i> | 7 |
| 2.3.1.1 Descrição botânica | 7 |
| 2.3.1.2 Distribuição e habitat | 7 |
| 2.3.1.3 Aplicações na agricultura | 8 |
| 2.3.1.4 Princípio tóxico | 9 |
| 2.3.1.5 Tipos de evolução clínica na intoxicação por <i>Crotalaria spectabilis</i> | 9 |
| 2.3.1.6 Intoxicação natural por <i>Crotalaria spectabilis</i> | 9 |
| 2.3.1.6.1 Bovinos | 10 |
| 2.3.1.6.2 Suínos | 11 |
| 2.3.1.7 Intoxicação experimental por <i>Crotalaria spectabilis</i> | 11 |
| 2.3.1.7.1 Bovinos | 12 |
| 2.3.1.7.2 Ovinos | 13 |
| 2.3.1.7.3 Caprinos | 13 |
| 2.3.2 <i>Crotalaria juncea</i> | 14 |
| 2.3.2.1 Descrição botânica | 14 |
| 2.3.2.2 Distribuição e habitat | 14 |
| 2.3.2.3 Aplicações na agricultura e alimentação animal | 14 |
| 2.3.2.4 Princípio tóxico | 15 |
| 2.3.2.5 Tipos de evolução clínica na intoxicação por <i>Crotalaria juncea</i> | 16 |
| 2.3.2.6 Intoxicação natural por <i>Crotalaria juncea</i> | 16 |
| 2.3.2.7 Intoxicação experimental por <i>Crotalaria juncea</i> | 16 |
| 2.4 Alcaloides pirrolizidínicos (APs) | 18 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 22 |
| 3.1 Local | 22 |
| 3.2 Animais | 22 |
| 3.3 Sementes | 22 |
| 3.4 Procedimentos | 22 |
| 4 RESULTADOS | 26 |
| 5 DISCUSSÃO | 43 |
| 6 CONCLUSÕES | 53 |

| | |
|---|----|
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |
| ANEXOS | 62 |
| Anexo A: Protocolo dos casos experimentais da intoxicação por <i>Crotalaria spectabilis</i> em caprinos | 62 |
| Anexo B: Protocolo dos casos experimentais da intoxicação por <i>Crotalaria juncea</i> em caprinos | 68 |

1 INTRODUÇÃO

A intoxicação por plantas é sabidamente umas das mais importantes causas de mortes de bovinos adultos no Brasil.

Tendo em vista que pouco pode ser feito no que diz respeito ao tratamento dessas intoxicações, todos os esforços devem se concentrar na adoção de medidas profiláticas, tais como a erradicação da planta, a adoção de cuidados por ocasião da transferência de animais, e a não introdução ou remoção de animais em determinadas épocas do ano. Entretanto, a aplicação das medidas supracitadas nem sempre é viável, de modo que há um crescente interesse por parte dos produtores no investimento em métodos profiláticos alternativos.

Dentre estes métodos, destaca-se a utilização de uma espécie animal menos sensível no local de ocorrência de determinadas plantas, técnica já usada na profilaxia da intoxicação por *Senecio* spp. na espécie bovina, onde se recomenda colocar uma lotação suficientemente alta de ovinos comprovadamente mais resistentes que os bovinos à intoxicação por esta planta e que ingerem a brotação da mesma, de modo a evitar que os bovinos consumam a planta e adoçam.

Na literatura é amplamente descrito que caprinos são mais resistentes aos efeitos dos alcaloides pirrolizidínicos (APs) presentes em várias espécies de plantas tóxicas. Apesar disso, ainda são poucas as pesquisas que visam a utilização de caprinos na profilaxia da intoxicação em bovinos, de modo que muitas plantas ainda não foram estudadas nesse sentido, entre as quais as crotalárias.

Várias espécies de *Crotalaria* spp. são importantes na agricultura devido à sua vasta utilização como adubo verde e para controle de nematoides. No entanto, uma vez incorporada à terra, suas sementes podem contaminar a ração e as pastagens e acarretar uma série de danos aos animais de produção que vierem a consumi-la.

Devido aos impactos negativos causados pela intoxicação por plantas em bovinos, juntamente com o crescente interesse no investimento de métodos alternativos de controle dessas intoxicações, objetivou-se com esse trabalho verificar a sensibilidade de caprinos às crotalárias (*Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea*) tóxicas para bovinos e até que ponto caprinos podem ser usados na profilaxia da intoxicação por essas plantas em bovinos. Adicionalmente avaliou-se o quadro clínico patológico produzido por estas plantas na espécie caprina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas tóxicas

A bovinocultura de corte no Brasil é essencialmente baseada em sistemas de pastagens, uma vez que estas representam uma fonte de alimentação de menor custo, que permitem a preservação dos recursos ambientais e a sustentabilidade dos sistemas de produção. No entanto, quando manejadas de maneira ineficiente, essas pastagens podem apresentar vários estágios de degradação, cuja principal consequência é a infestação por plantas invasoras e tóxicas (RUGGIERI et al., 2010).

Pode-se definir como planta tóxica de interesse pecuário aquela que quando ingerida por animais de fazenda, em condições naturais, é capaz de causar danos à saúde dos animais, podendo, inclusive, levar à morte (TOKARNIA et al., 2012).

Embora a maioria dessas plantas não seja palatável para bovinos, situações como a fome causada por seca, doença, superlotação, queimadas, mudanças de pastagens e deficiências de minerais podem levar os animais a ingerí-las (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Notadamente, observa-se que boa parte das intoxicações ocorre em animais que passaram por um período de restrição alimentar, situação de comum ocorrência no período de outono e inverno, e na seca, quando a disponibilidade de forragem diminui consideravelmente (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 2008).

As intoxicações por plantas em animais de produção são conhecidas desde que os pioneiros espanhóis e portugueses introduziram as primeiras cabeças de gado em pastagens naturais. No Brasil, o número de plantas identificadas como tóxicas para ruminantes e equídeos aumenta constantemente; atualmente já se conhecem cerca de 131 plantas pertencentes a 79 gêneros. (TOKARNIA et al., 2012)

Embora muitas vezes subestimada, a intoxicação por plantas está entre as três causas mais importantes de mortalidade de bovinos adultos no Brasil, junto com a raiva transmitida por morcegos hematófagos e com o botulismo epizootico secundário à deficiência de fósforo (TOKARNIA et al., 2012).

As perdas econômicas causadas pelas intoxicações por plantas muitas vezes são difíceis de serem estimadas, devido principalmente à escassez de dados confiáveis sobre o assunto. Nesse sentido, o prejuízo causado pela morte de animais é mais fácil de ser determinado, tendo como base os dados elaborados pelos laboratórios de diagnóstico sobre a

frequência das causas de mortalidade dos animais, nas suas respectivas áreas de abrangência (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001).

Levando-se em consideração dados levantados em diversas regiões brasileiras, estima-se que 10-14% de todas as mortes em bovinos ocorram devido à intoxicação por plantas. Sendo assim, para um rebanho bovino que atualmente gira em torno de 211 milhões de cabeças no Brasil, podem ser estimadas perdas que variam de 1.055.000 a 1.477.000 animais por ano, o que equivale a um prejuízo de 263.750.000 a 369.250.000 US\$ anuais se atribuído um preço médio de 250 US\$ por animal (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; IBGE, 2014).

Os prejuízos econômicos causados pelas plantas tóxicas vão muito além da morte dos animais, e podem ser classificados em diretos e indiretos. Além da mortalidade, outras perdas diretas incluem a diminuição dos índices reprodutivos (aborto, infertilidade e malformações), redução da produtividade nos animais sobreviventes e outras alterações devido a doenças transitórias e subclínicas como a diminuição da produção de leite, carne ou lã e aumento da suscetibilidade a outras enfermidades devido à depleção imunológica (RIET-CORREA et al., 2007).

Os prejuízos indiretos por sua vez, estão relacionados aos custos de controlar as plantas tóxicas nas pastagens, e às medidas de manejo para evitar a intoxicação, como a utilização de cercas, a redução do valor da forragem devido ao atraso na sua utilização, a redução no valor da terra, a compra de gado para substituir os animais mortos, além dos gastos associados aos diagnósticos das intoxicações e ao tratamento dos animais afetados. Outro aspecto da ingestão de plantas tóxicas pelos animais é que ocasionalmente as toxinas podem ser transferidas para o homem através do consumo de produtos de origem animal, como carne, leite e ovos, o que representa um risco para a saúde pública (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001).

A eliminação de princípios tóxicos pelo leite é considerada uma via de menor importância, mas não deve ser descartada quando se trata da saúde do recém-nascido e da segurança alimentar do homem, principalmente no que diz respeito aos Alcaloides pirrolizidínicos (APs), por serem substâncias que possuem efeitos mutagênicos e teratogênicos (DICKINSON; COOKE; MOHAMED, 1976; PANTER; JAMES, 1990).

Sabe-se que em países desenvolvidos, o risco de intoxicação por toxinas excretadas no leite é remoto, no entanto essa situação não se aplica ao Brasil, em que o risco de intoxicação persiste em pequenas cidades ou propriedades rurais onde o leite é consumido sem um processo de industrialização prévio (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001).

Existe ainda uma série de plantas cujo néctar produz mel tóxico, onde já foram registrados diversos casos de intoxicação; afirma-se inclusive, que até as abelhas poderiam se intoxicar (TOKARNIA et al., 2012). Nesse sentido, sabe-se que mel oriundo das flores de *Echium plantagineum* e *Senecio jacobaea* contém APs e poderiam representar um risco caso fossem consumidos por humanos (DEINZER et al., 1977; SEAWRIGHT et al., 1984).

2.2 Controle biológico de plantas tóxicas através do uso de animais resistentes

Sabe-se que um dos métodos mais eficientes para se evitar a morte de bovinos intoxicados por plantas é a prevenção (CARVALHO; BRAGANÇA; PORFÍRIO, 2009). A profilaxia e controle das plantas tóxicas vêm sendo realizados através da associação de fatores relacionados às plantas, aos animais e ao manejo, os quais determinam a ocorrência, frequência e distribuição geográfica das intoxicações (RIET-CORREA; MENDÉZ; SCHILD, 1993).

Nesse sentido, as principais práticas recomendadas para o controle de plantas tóxicas incluem o manejo das pastagens e dos animais, de modo a evitar o pastejo excessivo, o cuidado ao introduzir animais recentemente transportados em locais infestados por essas plantas, a utilização controlada de sementes para evitar a difusão de espécies tóxicas, a confecção de fenos e silagens não contaminadas por plantas tóxicas e a eliminação das espécies tóxicas das pastagens (TOKARNIA et al., 2012).

A erradicação das plantas das pastagens é considerada um dos métodos mais eficientes e imperativos para muitas espécies tóxicas, e pode ser realizado através de técnicas mecânicas (retirada manual, corte, anelamento do caule, desenraizamento, queimadas, roçadas, capinas, lavrações), químicas (herbicidas) e biológicas. Porém, as grandes extensões das pastagens nativas no Brasil, e também o eficiente sistema radicular de algumas destas plantas como *Meternichia princeps* e *Amorimia* spp., faz com que esta técnica nem sempre possa ser aplicada (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001; TOKARNIA et al., 2012).

Evitar o excesso de lotação é um dos pontos essenciais para reduzir a incidência de intoxicações. Se os bovinos não passam fome, esses animais terão maior oportunidade de selecionar apenas plantas forrageiras, além de que pastagens não degradadas são naturalmente menos infestadas por plantas tóxicas. Roçar é paliativo, tendo em vista que, com a rebrota, o problema das intoxicações tende a se agravar. Em alguns casos também, as folhas de certas plantas tóxicas quando murchas ou secas são mais palatáveis para os animais (TOKARNIA et al., 2012).

O que se observa, entretanto, é que as técnicas supracitadas apresentam resultados limitados, de modo que Riet-Correa e Medeiros (2001) criaram um projeto com o intuito de desenvolver medidas profiláticas alternativas, mais eficientes no controle dessas intoxicações. Algumas dessas medidas incluem: vacinação, controle biológico, detoxificação microbiana no rúmen, uso de substâncias que neutralizam os princípios tóxicos, aversão alimentar condicionada e utilização de programas de seleção para obtenção de variedades de forrageiras ou grãos não tóxicos ou menos tóxicos.

Dentre essas técnicas, merece destaque a utilização de espécies animais menos sensíveis em locais de ocorrência de determinadas plantas. Essa medida já é amplamente utilizada na intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos. Nesse caso, para se evitar a intoxicação, recomenda-se que uma lotação suficientemente alta de ovinos seja colocada junto aos bovinos. Os ovinos, por serem mais resistentes à intoxicação por APs presentes nas espécies de *Senecio* spp., e por a ingerirem mais prontamente, podem consumir e controlar a planta sem adoecer (GRECO et al., 2012).

Sabe-se que o pastejo ovino interfere negativamente no desenvolvimento de espécies de *Senecio*, pois ao pastarem muito rente ao solo impedem a reprodução desta planta ou faz com que esta ocorra de forma pouco vigorosa, com pouca produção de sementes. Dessa forma, se estas plantas forem expostas ao pastejo ovino contínuo, a maioria delas não conseguirá se estabelecer no ambiente (KARAM; MORAES; SCHILD, 2013). Nesse sentido, experimentos realizados anteriormente mostraram que é possível controlar a população de *Senecio* spp. em campos nativos utilizando-se uma lotação permanente de 0,43 ovinos por hectare, o que demonstra a viabilidade da técnica (SOARES et al., 2000).

Os experimentos de Grecco et al. (2012) mostraram que ovinos adquirem resistência aos efeitos deletérios de *Senecio* spp. após a ingestão de doses diárias de 15g/kg da planta verde por 30 dias, seguido de doses diárias de 30g/kg durante 10 dias, um claro indicativo que esta resistência está associada à ingestão contínua de pequenas quantidades da planta. Outros estudos obtiveram resultados semelhantes (ESTIMA-SILVA et al., 2009),

Deve-se levar em consideração que ovinos introduzidos em altas lotações, em áreas severamente invadidas por *Senecio* spp. em plena fase de crescimento, podem se intoxicar (MÉNDEZ; RIET-CORREA, 1993). Grecco et al. (2012) demonstraram que apesar de ovinos serem mais resistentes aos efeitos tóxicos provocados por *Senecio* spp., também são susceptíveis à forma aguda da intoxicação se ingerirem uma dose única mínima de 90g/kg. É importante ressaltar ainda que a intoxicação crônica por *Senecio* spp. já foi reproduzida

experimentalmente na espécie ovina pela administração de uma dose equivalente a 2,5g/kg da planta verde por um período de 60 dias. Estes dados sugerem que apesar do uso de ovinos para controle biológico de espécies de *Senecio* ser muito eficiente, é uma técnica que se deve ser utilizada com cautela (BARROS et al., 1989).

Ovinos resistentes também podem ser utilizados no controle biológico da intoxicação por *C. retusa*, além de outras espécies de *Crotalaria* que possuam a Monocrotalina (MCT) como principal alcaloide. Animais que recebem pequenas doses diárias não tóxicas de 2g/kg da planta por um período de 70 dias, não adoecem, mas sim desenvolvem uma grande resistência à administração de posteriores doses tóxicas, sejam elas repetidas ou únicas (ANJOS et al., 2010). Em uma pesquisa realizada por Riet-Correa et al. (2011), 21 ovinos saudáveis que foram introduzidos em um pasto infestado por *C. retusa* foram capazes de erradicar a planta em três anos, e não apresentaram qualquer alteração clínica ou bioquímica durante o processo. Entretanto, recentemente foi demonstrado que essa resistência é de curta duração, entre 7 e 15 dias após suspensão a exposição a doses não tóxicas, de modo que para a eficácia da técnica é necessário que os ovinos estejam continuamente em contato com planta (MAIA et al., 2014).

Ovinos também parecem não ser afetados pela intoxicação por *Turbina cordata*, de modo que os criadores estão minimizando os problemas causados por esta planta ao substituir rebanhos caprinos por ovinos (DANTAS et al., 2007).

Búfalos são menos sensíveis que bovinos no que diz respeito à intoxicação por *Palicourea marcgravii*, *Palicourea juruana* e *Arrabidaea bilabiata*. De acordo com esse estudo, os búfalos são aproximadamente seis vezes mais resistentes à ação dessas plantas do que os bovinos, de modo que a criação de búfalos em locais infestados por essas plantas pode resultar na diminuição dos prejuízos econômicos (BARBOSA et al., 2003).

De maneira semelhante aos ovinos, os caprinos também são considerados altamente resistentes à ação dos APs, principalmente àqueles presentes nas plantas dos gêneros *Senecio* spp. e *Crotalaria* spp. Essa maior resistência pode ser atribuída a uma maior capacidade de detoxificação pelas enzimas hepáticas desses animais, assim como uma maior biotransformação do princípio tóxico pelas bactérias do rúmen. Dessa forma, já foi demonstrado que caprinos também podem ser utilizados na profilaxia da intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos (DOLLAHITE, 1972; LUCENA et al., 2010).

2.3 O gênero *Crotalaria*

O gênero *Crotalaria*, pertencente à família Leguminosae, subfamília Papilionoidea, possui cerca de 600 espécies espalhadas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, em especial no hemisfério Sul, onde são mais numerosas na África, Ásia, Índia, México e Brasil, locais que representam os principais centros de diversidade das espécies (POLHILL, 1982).

Plantas desse gênero são popularmente conhecidas por “xique-xique”, “guizo de cascavel” e “chocalho de cascavel”, pois seus frutos, quando secos, produzem um som semelhante ao de um chocalho quando tocado. Foi dessa particular característica que se originou o nome do gênero (*Crotalaria*), palavra em latim que significa “chocalho” (TOKARNIA et al., 2012).

Vários exemplares desse gênero são capazes de causar intoxicação em animais de produção, e dentro desse grupo as espécies consideradas mais tóxicas são *C. retusa*, *C. mucronata*, *C. crispata*, *C. dura* e *C. spectabilis* (JONES; HUNT, 1997).

2.3.1 *Crotalaria spectabilis*

2.3.1.1 Descrição botânica

Crotalaria spectabilis é uma planta anual, subarborescente, ereta, ramificada, glabra, que mede entre 70 e 100cm e se reproduz através de sementes. Suas folhas são simples, mucronadas no ápice, glabras na face superior e pubescentes na face inferior. As flores são amarelas e crescem por via de ráceros terminais e auxiliares. As vagens com sementes imaturas são verdes e vão escurecendo gradualmente até tornarem-se pretas quando do amadurecimento; as sementes se apresentam firmes, pretas e lustrosas; suas raízes são profundas, capazes de romper camadas compactadas do solo (LORENZI, 2008).

2.3.1.2 Distribuição e habitat

Esta espécie pode se adaptar às mais variadas condições ambientais (FLORES; MIOTO, 2005). Comumente é encontrada em ambientes que sofreram algum tipo de desequilíbrio, como próximo a estradas, terrenos baldios e pastagens nativas. Além desses, observa-se sua ocorrência em campos alagáveis, áreas alteradas por atividade agrícola, leiras provenientes de desmatamento e pastagens cultivadas. Pode ainda ser encontrada em vários tipos de solo, mas possui preferência pelos férteis (LORENZI, 2008). Atualmente, é considerada uma espécie invasora devido à sua vasta disseminação, e por esse motivo é facilmente encontrada em plantações de grãos e pastagens (CHEECKE, 1998).

2.3.1.3 Aplicações na agricultura

Crotalaria spectabilis é uma leguminosa de grande importância para a agricultura, sendo utilizada em sistemas de rotação de cultura, adubação verde, cobertura morta e controle de nematoides em vários países, inclusive no Brasil (SOUZA; HATAYDE; BECHARA, 1997).

No que diz respeito ao controle de nematoides, Lordello (1973) relata que larvas infestantes do nematoide das gralhas (*Meloidogyne* spp.) penetram nas raízes de *C. spectabilis*, mas não conseguem sobreviver, e morrem prematuramente sem deixar sobreviventes. Outro trabalho demonstrou o grande efeito da palhada de *C. spectabilis* na redução de nematoides, especialmente do gênero *Pratylenchus* (SILVEIRA; RAVA, 2004).

Adubação verde é uma prática que pode ser definida como a utilização de plantas em rotação, sucessão ou consorciação com as culturas, incorporadas ou não ao solo (COSTA, 1993). Via de regra, as plantas empregadas para adubação verde e cobertura de solo na agricultura pertencem à família das leguminosas, dentre as quais se destacam as do gênero *Crotalaria*, sendo *C. spectabilis* e *C. juncea* as mais comumente utilizadas. A razão pela preferência dessas plantas é o seu sistema radicular ramificado e profundo, além da capacidade de suas raízes de fixarem o nitrogênio do ar através de bactérias do gênero *Rhizobium* e formar nódulos que enriquecem o solo com esse nutriente. A cobertura do solo proporcionada pela folhagem dessas leguminosas também tem a função de controlar a infestação por plantas invasoras, diminuir as perdas de água, solo e nutrientes por erosão hídrica, bem como as flutuações de temperatura do solo, de forma a contribuir para a recuperação de áreas degradadas (LOPES, 2000). Para esse fim, *C. spectabilis* é plantada e posteriormente incorporada ao solo, principalmente em lavouras de milho e soja, a fim de melhorar e/ou restaurar os teores de matéria orgânica e nutrientes (SILVA; DONADIO; CARLOS, 1999). Entretanto, após a incorporação ao solo, a crotalária pode crescer espontaneamente nessas plantações, e suas sementes são colhidas juntamente com o milho ou soja (PEREIRA et al., 2011). Uma vez que esse milho ou soja contaminados sejam vendidos a empresas produtoras de alimentos para animais, a ração também será contaminada, o que pode acarretar danos aos animais que vierem a ingerir esse produto (BELLODI, 2010). Outro problema está relacionado à própria característica invasora das crotalárias que podem facilmente escapar do cultivo e se espalhar ao longo de cercas e valas, e contaminar campos e pastagens (STEGELMEIER, 2011).

2.3.1.4 Princípio tóxico

Espécies do gênero *Crotalaria* possuem APs, constituintes comuns de uma centena de espécies de vegetais, e que são as principais toxinas derivadas de plantas que acometem humanos e animais (MATTOCKS, 1986). O principal princípio tóxico encontrado em *C. spectabilis* é o AP denominado monocrotalina (MCT), o que foi isolado por Neal, Rusoff e Ahmann (1935), e pode ser encontrado em todas as partes da planta, sendo a sua concentração maior nas sementes, tida como a parte mais tóxica dessa crotalária (PIERCY; RUSOFF, 1946; JOHSON; MOLINEUX; MERRIL, 1985). *C. spectabilis* é considerada a crotalária mais tóxica, dado que a concentração de MCT nas suas sementes é maior quando comparada a outras espécies do gênero (WILLIAMS; MOLYNEUX, 1987). Outro AP que também pode ser encontrado nessa espécie é a espectabilina, porém, em quantidades mínimas e não significativas quando comparada à MCT (FLETCHER et al., 2009).

2.3.1.5 Tipos de evolução clínica na intoxicação por *Crotalaria spectabilis*

Dois tipos de intoxicação por *C. spectabilis* são conhecidas, a aguda e a crônica. A intoxicação aguda se manifesta poucos dias após a ingestão da planta e requer que uma grande quantidade do princípio tóxico seja ingerida em um período curto de tempo. Todas as espécies animais susceptíveis, de uma forma geral, desenvolvem uma necrose hemorrágica severa no fígado e morrem rapidamente (EMMEL; SANDERS, 1942; MATTOCKS, 1986). A forma crônica da intoxicação é a mais comum e resulta da ingestão frequente de pequenas quantidades da crotalária por um período de tempo prolongado. Inicialmente, os animais intoxicados podem não apresentar manifestações clínicas, mas desenvolvem aumento transitório das enzimas hepáticas (STEGELMEIER, 2011). Com o tempo, a ingestão contínua de APs leva a lesões hepáticas crônicas caracterizadas principalmente por megalocitose dos hepatócitos e fibrose (CHEEKE, 1988). Além do fígado, outros órgãos também podem ser acometidos como pulmão, rim, vasos sanguíneos, pâncreas, trato gastrointestinal, medula óssea e cérebro (HATAYDE et al., 2008).

2.3.1.6 Intoxicação natural por *Crotalaria spectabilis*

Nos Estados Unidos, casos de intoxicação natural foram descritos em equinos, bovinos, caprinos, ovinos, suínos e aves (CLARKE; CLARKE, 1967). Os surtos de intoxicação parecem ser mais comuns no início da primavera e fim do verão, quando há pouca

forragem disponível e a crotalária se mantém verde e succulenta (EMMEL; SANDERS, 1942). Nessas condições bovinos e equinos parecem ser as espécies com maior probabilidade de sofrer uma intoxicação em regime de pastagens (WILLIAM; MOLINEUX, 1987).

Na Austrália também são descritos casos de intoxicação natural esporádicos envolvendo equinos, bovinos e ovinos que pastavam em campos com *Crotalaria* spp., e de suínos e aves cuja ração estava contaminada com sementes da planta (FLETCHER et al., 2009).

2.3.1.6.1 Bovinos

É descrito que bovinos podem desenvolver tanto a forma aguda quanto crônica da intoxicação, sendo que a aguda é caracterizada por apatia, perda de apetite, presença de sangue nas fezes, sialorreia, descarga nasal (por vezes sanguinolenta), membranas mucosas visíveis amareladas e morte dentro de 5 a 10 dias. Na intoxicação crônica, a forma mais comumente observada em bovinos em regime de campo, há pouca evidência da doença até 7-14 dias antes da morte. A pelagem pode parecer espessada e pode haver uma leve queda de produtividade. Geralmente, o primeiro sinal clínico que chama a atenção é a presença de sangue nas fezes. Outros sinais que podem ser observados incluem perda de apetite, sialorreia, mucosas amareladas, eversão parcial do reto e fraqueza. Os animais morrem de 2 a 6 meses após a ingestão da planta. Estes mesmos autores relatam que caprinos e ovinos desenvolveriam sintomatologia semelhante à dos bovinos, porém, com um período de evolução menor (WEST; EMMEL, 1960).

No estado da Louisiana, durante um período de um ano, 40 bovinos morreram após terem acesso a *C. spectabilis*. A planta havia sido semeada em consórcio para adubação verde, e as suas sementes se espalharam para áreas próximas. Um desses animais, uma vaca de 6 anos de idade apresentou sialorreia, permanecia em decúbito esternal, incapaz de se levantar, e foi eutanasiada após um período de 15 horas. À necropsia observaram-se espessamento (edema) da parede do abomaso, aumento de volume da vesícula biliar, e áreas hemorrágicas no coração. Outro animal apresentou sinais semelhantes e morreu após 24 horas. O exame microscópico mostrou extensa hemorragia do tecido subcutâneo e da maioria das vísceras e edema da parede do abomaso (PIERCY; RUSOFF, 1946).

De forma semelhante, foram relatados casos de mortandade em um rebanho de bovinos que pastavam em campos com *C. spectabilis*. Dos 65 animais que constituíam esse rebanho, 12 ficaram doentes em um período de 6 meses, e dentre estes, apenas um sobreviveu.

O quadro clínico foi caracterizado por perda de apetite, ascite, diarreia, fraqueza e tenesmo, com eversão parcial do reto. A necropsia, de uma forma geral, mostrou hidroperitônio, fígado endurecido e com coloração acinzentada, aumento de volume da vesícula biliar, leve icterícia e edema das pregas abomasais, do duodeno e do cólon. Microscopicamente havia distensão dos vasos linfáticos, presença de células epiteliais atípicas no trato gastrointestinal, fibrose no baço e fígado com espessamento da cápsula e do parênquima; os cordões de hepatócitos estavam separados e comprimidos por fibrose. As paredes alveolares de muitos lóbulos do pulmão se encontravam espessadas por proliferação de tecido conjuntivo fibroso (SANDERS; SHEALY; EMMEL, 1936).

2.3.1.6.2 Suínos

No Brasil, foi relatado apenas um surto de intoxicação natural envolvendo *C. spectabilis*, na espécie suína. Na ocasião, foram observadas em quatro propriedades, mortes de animais que consumiram ração de sorgo contaminada com sementes de *C. spectabilis*. No total, cerca de 67 suínos morreram e 9 ficaram doentes, com um período de evolução que variou de 24-36 horas. O quadro clínico era caracterizado por depressão, letargia, inapetência, anorexia, decúbito esternal com movimentos de pedalagem e convulsões seguido de morte. As principais alterações macroscópicas foram observadas no fígado, que se encontrava aumentado de tamanho, com evidência do padrão lobular na superfície capsular e ao corte. Outros achados incluíram líquido de coloração amarelo-avermelhado contendo grumos com aspecto de fibrina nas cavidades abdominal, torácica e pericárdica; os linfonodos estavam aumentados, e havia edema pulmonar interlobular e do mesocólon. À histologia, as lesões mais evidentes também foram encontradas no fígado, e caracterizavam-se por uma necrose hepatocelular coagulativa centrolobular e massiva (UBIALI et al., 2011).

2.3.1.7 Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis*

Experimentalmente a intoxicação por *C. spectabilis* já foi realizada em bovinos (SANDERS; SHEALY; EMMEL, 1936; EMMEL; SANDERS, 1942; PIERCY; RUSOFF, 1946), suínos (SOUZA; HATAYDE; BECHARA, 1997; TORRES et al., 1997; UBIALI et al., 2011), aves (HATAYDE et al., 1997; NAKAGE et al., 2000; HATAYDE et al., 2008; PEREIRA et al., 2011), cães (BELLODI, 2010), ovinos (SÁNCHEZ, 2011) e caprinos (MEDEIROS; GÓRNIK; GUERRA, 1999).

2.3.1.7.1 Bovinos

Inicialmente, Sanders, Shealy e Emmel (1936) testaram os efeitos da planta em bovinos ao administrá-la na quantidade de aproximadamente 1kg a uma novilha de um ano de idade e nas quantidades de 5 e 8kg a duas vacas de quatro anos de idade. Iniciou-se a administração com doses diárias de 20g para a novilha e com 50g para as vacas e aumentou-se gradativamente a dose diária até atingir a quantidade total em um período de 30 dias para a novilha e de 60 dias para as vacas. Os autores observaram que a severidade dos sinais clínicos variou com a quantidade da planta ingerida, de modo que a novilha apenas apresentou uma leve coloração amarelada da esclera, enquanto que as vacas também desenvolveram tenesmo com eversão parcial do reto, diarreia, sialorreia, depressão e andar cambaleante. As mucosas, bem como a esclera mostraram uma coloração amarelada e áreas púrpuras surgiram na pele das regiões lateral e ventral; a pele desses locais encontrava-se crepitante. Os sinais clínicos gradativamente aumentaram em intensidade após 10 dias da ingestão da crotalária e se tornaram graves ao fim do período experimental (cerca de 2 meses). Ao fim do experimento todos os animais foram eutanasiados e à necropsia observou-se tecido subcutâneo de cor alaranjada, além de congestão e edema na região cervical. A mucosa do abomaso estava edemaciada e extensas áreas com petéquias e equimoses eram vistas na mucosa do intestino delgado, mucosa da bexiga e pâncreas. O omento e o mesentério estavam icterícos e com numerosas petéquias, e os linfonodos mesentéricos edemaciados e icterícos. O fígado se encontrava firme e esverdeado e a vesícula biliar distendida, com erosões na mucosa e a bile espessa e escura. O rim estava congesto, e o baço aumentado de volume. Os órgãos da região torácica, de uma forma geral, se mostravam icterícos e os pulmões com áreas de congestão, edema e enfisema. Hipertrofia da parede do ventrículo ocorreu em um caso, e petéquias na base do pericárdio em outro. Histologicamente, observaram-se dilatação de vasos linfáticos no trato gastrointestinal e congestão do abomaso. O fígado estava congesto e havia proliferação de tecido conjuntivo, marcada picnose e atrofia de hepatócitos. Os órgãos, de uma forma geral, apresentavam graus variados de congestão e hemorragia. Havia ruptura de alvéolos e extensas áreas de congestão e enfisema no pulmão.

Piercy e Rusoff (1946) não observaram efeitos deletérios ao alimentar uma novilha com 10 libras (4,5kg) de feno de *C. spectabilis* por 10 dias. A intoxicação só foi reproduzida quando esse procedimento foi repetido duas vezes, e adicionalmente foram administradas, sob forma de uma cápsula, 117g de sementes da planta. Os sinais clínicos não foram marcados até 112 dias após a introdução do feno e 36 dias após a administração das sementes. O animal

apresentou perda de apetite, inquietação, salivação, apatia, e morreu rapidamente. Os autores concluíram que a morte poderia ocorrer após um curso agudo ou crônico da doença, a depender da quantidade de princípio tóxico ingerido.

Outros estudos realizados nesse sentido concluíram que 4kg da planta seca é o suficiente para matar uma novilha de 136kg em aproximadamente 4 dias (EMMEL; SANDERS, 1942)

2.3.1.7.2 Ovinos

Sánchez (2011), ao avaliar os efeitos tóxicos das sementes de *C. spectabilis*, quando trituradas e adicionadas à ração de 15 ovinos na proporção de 0,4, 0,6 e 1% durante 28 dias, não observou sinais clínicos da intoxicação ou morte natural dos animais. Apenas um ovino do grupo de 1% de ingestão das sementes apresentou, no 21^o dia da intoxicação, depressão, diminuição do apetite e hipomotilidade ruminal, seguido de decúbito esternal, inapetência, timpanismo, fezes pastosas e pelos eriçados. Ao serem notados os primeiros sinais de intoxicação a administração da planta foi suspensa, e o animal tratado com protetores hepáticos. A biópsia hepática mostrou degeneração hidrópica difusa, infiltrado polimorfonuclear multifocal, degeneração gordurosa difusa e infiltrado inflamatório mononuclear multifocal e centrolobular. Nos animais que receberam concentrações maiores de sementes de *C. spectabilis* foi observado ainda necrose multifocal, e em um ovino, proliferação dos ductos biliares com fibrose. Em todos os ovinos não foram observadas alterações significativas nos níveis de GGT, AST e proteína total; apenas nos níveis de albumina foi verificado um pico nas concentrações séricas entre o 14^o e 21^o dias de administração das sementes.

2.3.1.7.3 Caprinos

Em relação aos caprinos, Medeiros, Górnaiak e Guerra (1999) alimentaram uma cabra lactante com ração suplementada com 0,5% de sementes de *C. spectabilis* por um período de duas semanas com o intuito de verificar os possíveis efeitos tóxicos que o leite desse animal poderia trazer. Para esse fim, o leite congelado da cabra foi incorporado à ração comercial para ratos na proporção de 11,23% e a mistura fornecida a esses animais por um período de 60 dias. Ao final do período experimental os ratos apresentaram alterações microscópicas em fígado, pulmão e rim, ao passo que a cabra não apresentou qualquer sinal de intoxicação.

2.3.2 *Crotalaria juncea*

2.3.2.1 Descrição botânica

Crotalaria juncea é uma leguminosa da família Leguminosae, subfamília Papilionoidea originada do subcontinente indiano. Trata-se de um arbusto anual alto (3-4m) cujas partes vegetativas são recobertas com pelos curtos e raízes longas, ramificadas e resistentes. As folhas são simples, com estípulas pontiagudas, pecíolo curto e coloração verde brilhante, e as flores pequenas, vistosas e de coloração amarela. As sementes são numerosas, pequenas e achatadas, com coloração que varia do preto ao acinzentado (CHAUDHURY; SINGH; HAZRA, 1978).

2.3.2.2 Distribuição e habitat

Crotalaria juncea é uma espécie que se encontra extensamente distribuída por países tropicais e subtropicais, e em menores proporções em países de clima mais frio, particularmente Índia, Bangladesh e Brasil, onde é amplamente cultivada (MOSJIDIS; WANG, 2011).

2.3.2.3 Aplicações na agricultura e alimentação animal

Trata-se de uma planta que vem recebendo muita atenção recentemente devido às suas notáveis características que possibilitam seu uso para adubação verde, o que inclui fixação de nitrogênio, rápida produção de biomassa, incremento da matéria orgânica do solo e sequestro de carbono, serve como uma excelente opção de manejo rotacionado para sistemas de agricultura orgânica e de subsistência e para controle de muitos nematoides parasitas de plantas. Além disso, *C. juncea* pode ser utilizada ainda para controle de erosão do solo, produção de forragens e confecção de produtos derivados do seu cânhamo como fios, telas e papeis (WANG; SIPES; SCHMITI, 2001).

De acordo com a literatura, *C. juncea* possui a capacidade de aumentar a população de fungos antagonistas de nematoides e controlar infestações de solo por *Rotylenchulus reniformis* e *Meloidogyne incognita*, além de deixar os terrenos mais férteis através do estímulo da produção de agentes que contribuem para a reciclagem de nutrientes do solo (QUIROGA-MADRIGAL et al., 1999; WANG; SIPES; SCHMITT, 2001; WANG; SIPES; SCHMITT, 2002). Essa leguminosa é ainda uma excelente barreira física contra ervas daninhas. Monqueiro et al. (2009) ao avaliarem o efeito de diferentes plantas sobre a

emergência e biomassa seca de algumas espécies de plantas daninhas verificaram que *C. juncea* foi a espécie mais eficiente na redução da germinação de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*, eficiência essa que foi comprovada para outras espécies de plantas indesejáveis (MOREIRA et al., 2012).

Devido ao seu alto teor proteico, *C. juncea* também é utilizada para suplementação animal. O valor nutritivo do feno de *C. juncea* já foi determinado, tendo sido introduzido de maneira eficaz na dieta de aves e bovinos (REDDY; RAO; SUBHAN, 1971; REDDY; MURTY, 1972), além de poder ser adicionada, de maneira segura, à ração de ovinos e caprinos (GROSH et al., 1990; REDDY et al., 1999). Outros autores também relatam que caprinos e ovinos que pastam em locais com cultivares novos da planta desenvolvem boa performance (BURKE et al., 2011).

Entretanto, há controvérsias na literatura no que diz respeito ao real valor nutritivo dessa leguminosa na alimentação animal. Muitos autores sugerem que *C. juncea* não é tóxica para animais de produção e que dessa forma poderia ser usada livremente para suplementar a dieta desses animais (ROMIN; FITT, 1938; PURSEGLOVE, 1981; ROTAR; JOY, 1983), enquanto outros trabalhos indicam que tanto as folhas quanto as sementes da planta são nocivas para bovinos e outras espécies domésticas, de modo que seu uso na alimentação animal deve ser evitado (MARTIN; LEONARD; STAMP, 1976; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, 1979). Atualmente sabe-se que *C. juncea* é inegavelmente uma espécie tóxica e que, a depender da espécie animal envolvida, da quantidade e duração da ingestão pode causar efeitos deletérios nesses animais, inclusive a morte (MOSJIDIS; BURKE; HESS, 2012).

2.3.2.4 Princípio tóxico

Assim como outras espécies do gênero, *C. juncea* tem como princípio tóxico os APs, substâncias que apesar de não serem diretamente tóxicas, formam metabólitos que interagem com o DNA das células (KEELER; VAN KANPEN; JAMES, 1978). Já foi relatado que as sementes dessa crotalaria possuem os seguintes APs: riddelliine, senecionine, seneciphylline, junceine e trichodesmine; os dois últimos mais importante e presentes em maior quantidade (ADAMS; GIANTURCO, 1956). Porém, a concentração dessas substâncias na planta é baixa. Em um estudo realizado por Willians e Molyneux (1987), *C. juncea* apresentou uma concentração de apenas 0,02% de APs nas suas sementes, o percentual mais baixo entre as espécies de *Crotalaria* estudadas.

2.3.2.5 Tipos de evolução clínica na intoxicação por *Crotalaria juncea*

Devido à baixa concentração de APs encontrados nas sementes e folhas desta planta, acredita-se que *C. juncea*, ao contrário de outras espécies mais tóxicas como *C. retusa* e *C. spectabilis*, não leva a quadros de intoxicação aguda (MOSJIDIS; BURKE; HESS, 2012).

A intoxicação crônica por *C. juncea* parece ocorrer, em sua maioria, associada a ingestão de grandes doses da planta por períodos de tempos prolongados. Os animais intoxicados desenvolvem comumente marcadas lesões pulmonares e lesões hepáticas com menor frequência e gravidade. A principal alteração histológica é uma proliferação das células Clara do pulmão (NOBRE; DAGLL; HARAGUCHI, 1994; PESSOA et al., 2013).

2.3.2.6 Intoxicação natural por *Crotalaria juncea*

No Brasil, apenas um surto de intoxicação por *C. juncea* foi relatado numa propriedade no estado de Minas Gerais onde a planta era amplamente cultivada para fins comerciais. Na ocasião, 20 equinos que haviam sido alimentados com uma dieta composta de 60% de milho triturado e 40% de sementes trituradas de *C. juncea* morreram entre 30 e 60 dias após o início da administração da planta. Todos os animais apresentaram um quadro clínico semelhante caracterizado por andar trêpego, febre, dispneia e morte. À necropsia, as alterações mais proeminentes foram encontradas nos pulmões onde observaram-se congestão, edema e áreas difusas de consolidação do parênquima pulmonar. Outro achado que chamou a atenção foi o fígado congesto e aumentado de volume. À histologia a principal lesão encontrada foi alveolite fibrosante difusa; os septos alveolares estavam espessados devido à presença de edema e infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear composto por alguns fibroblastos e macrófagos espumosos. Foram observadas ainda áreas de epiteliação, hiperplasia dos epitélios dos brônquios e bronquíolos, enfisema e focos de distensão e ruptura alveolar. O fígado mostrou congestão dos sinusoides e leve vacuolização de hepatócitos. Bovinos que haviam recebido a mesma dieta que os equinos não demonstraram qualquer sinal clínico de intoxicação (NOBRE; DAGLL; HARAGUCHI, 1994).

2.3.2.7 Intoxicação experimental por *Crotalaria juncea*

Com o intuito de confirmar o diagnóstico de intoxicação por *C. juncea*, Nobre, Dagll e Haraguchi (1994) tentaram reproduzir o quadro de intoxicação em cobaios (porquinhos da Índia). Os experimentos mostraram que animais que receberam na dieta a mesma proporção de sementes da planta que os equinos desenvolveram lesões pulmonares e hepáticas semelhantes às observadas no caso natural da intoxicação por esta mesma planta.

Recentemente, o quadro da intoxicação foi reproduzido em asininos. Foram realizados experimentos de longa duração com doses baixas e altas de sementes de *C. juncea*. Três jumentos receberam pequenas doses da planta (1g/kg, 0,6g/kg e 0,3g/kg) durante 365 dias, enquanto outros dois receberam doses maiores 5g/kg e 3g/kg por 48 e 83 dias respectivamente. Os asininos alimentados com doses baixas de *C. juncea* não apresentaram qualquer sinal clínico, alteração bioquímica ou lesão pulmonar, e à histologia, um dos animais apresentou apenas megalocitose hepática. Os animais intoxicados com doses altas desenvolveram um quadro clínico respiratório caracterizado essencialmente por relutância em se movimentar, anorexia, dispneia severa e dilatação das narinas entre 40 e 70 dias após o início da administração. À necropsia observou-se nos pulmões áreas de enfisema e atelectasia, além de nódulos coalescentes na superfície pulmonar. A principal lesão histológica foi proliferação das células de Clara nos bronquíolos terminais associada à proliferação de tecido conjuntivo, além de edema alveolar e leve infiltração por neutrófilos nos alvéolos pulmonares. A dosagem dos níveis de AST e GGT não mostrou anormalidades. Nenhuma lesão hepática foi observada nesses animais (PESSOA et al., 2013).

Por outro lado Rodrigues e Nobre (2011) ao administrarem diariamente sementes de *C. juncea* nas doses de 10mg/kg, 5mg/kg e 2,5mg/kg a um grupo de três asininos durante aproximadamente 6 meses não observaram qualquer alteração clínica ou bioquímica que pudessem ser associadas a um quadro de intoxicação, de modo que os animais continuaram a ingerir sementes da planta.

Em ovinos as sementes da planta fornecida em doses altas por um período de 26 dias causaram intoxicação (RITCHEY et al., 1941). De maneira semelhante, um ovino ao qual foram administradas doses diárias equivalentes a meia libra (cerca de 225g) apresentou sinais de fraqueza e morreu cerca de 20 dias após o início da administração (POISONOUS..., 1920).

Outros trabalhos ainda associam *C. juncea* à intoxicação em bovinos e suínos (STEGELMEIER, 2011). Zhang (1985) relata que trichodesmine isolada de exemplares da planta é capaz de matar suínos na dose de 20mg/kg.

O extrato etanólico das sementes dessa leguminosa em doses diárias de 200mg/kg também se mostrou deletério para ratos, que apresentaram lesões significativas em fígado, rim, baço e adrenal em um período de 10-30 dias (PRAKASH; DEHADRAL; JONATHAN, 1995).

2.4 Alcaloides pirrolizidínicos (APs)

Os APs são substâncias de caráter básico que possuem um núcleo pirrolizidino em sua estrutura e contém nitrogênio formando um anel heterocíclico. São compostos fisiológica e farmacologicamente ativos, de sabor amargo e que funcionam como uma defesa química das plantas contra herbívoros. Os APs são os responsáveis pela toxidez de muitas espécies de plantas, em especial as das famílias Boraginacea, Compositae e Leguminosae, sendo estas amplamente distribuídas por todo o mundo (CHEEKE, 1988). Estima-se que mais de 350 tipos de APs já tinham sido isolados de mais de 6.000 espécies vegetais, de modo que cerca de 3% das plantas com flores de todo o mundo possuem essas substâncias em alguma proporção (LOGIE; GRUE; LIDDEL, 1994; STEGELMEIER et al., 1999). Entretanto, apesar destes compostos terem estrutura química semelhante, geralmente possuem efeitos tóxicos variados (YAN; COOPER; HUXTABLE, 1995).

Diversos fatores influenciam na susceptibilidade à intoxicação por APs como espécie animal, idade, sexo e estado fisiológico, nutricional e bioquímico (STEGELMEIER, 2011).

Em relação à espécie animal, Hooper (1978), ao estudar as diferentes susceptibilidades dos animais de produção aos efeitos dos APs, constatou que suínos e aves são os mais sensíveis, seguido de bovinos e equinos que também apresentam um grau elevado de sensibilidade, e por último ovinos e caprinos, consideradas as espécies mais resistentes.

Esta diferença entre as espécies está diretamente relacionada ao balanço entre as reações de bioativação, desintoxicação e excreção dos alcaloides. Dessa forma, ovinos e caprinos são mais resistentes devido à capacidade de detoxificar os APs no fígado, característica essa proveniente da dieta antes da domesticação; por serem menos seletivos, acabaram por desenvolver resistência às toxinas presentes nos alimentos. A resistência desses animais também é atribuída a uma maior quantidade de microrganismos no rúmen, capazes de transformar os princípios tóxicos com mais eficiência do que em outras espécies domésticas (CHEEKE, 1988).

Outros fatores como idade e estado nutricional também devem ser considerados quando se trata da susceptibilidade aos APs. De uma maneira geral, animais mais jovens, são

mais sensíveis (recém-nascidos e filhotes), podendo ser afetados inclusive sem que a mãe tenha desenvolvido qualquer sintomatologia. De forma semelhante, animais mal nutridos e submetidos a estresses excessivos e prolongados costumam ser mais propensos a se intoxicarem. Estas diferenças também estão relacionadas à taxa do metabolismo, à capacidade do organismo de metabolizar o princípio tóxico e do fígado de reparar as lesões por ele provocadas, além da resistência individual de cada animal (STEGELMEIER, 2011).

Os alcaloides não são diretamente tóxicos. Após a sua ingestão, esses compostos são absorvidos principalmente pelo intestino delgado, e no fígado são transformados em moléculas altamente solúveis e excretados rapidamente pela urina de forma inalterada, logo quimicamente inativos. No entanto, durante esse processo pode ocorrer uma bioativação, reação que converterá os APs em metabólitos mais tóxicos que as substâncias de origem, os chamados pirróis. As principais rotas de metabolismo hepático dos APs são a hidrólise pelo éster, a N-oxidação e a desidrogenação. As duas primeiras representam mecanismos de desintoxicação, enquanto que a última é a responsável pela formação dos pirróis, sendo o equilíbrio entre essas reações o que determina o efeito tóxico dos APs (MATTOCKS, 1986; CHEEKE, 1988). Como o fígado é o local de produção dessas toxinas, será também o principal órgão a ser afetado, seguido dos pulmões. Os pirróis podem promover um elo cruzado do DNA de cadeia dupla e promover um efeito antimitótico nos hepatócitos, de modo que essas células não conseguem se dividir e frequentemente se transformam em megalócitos, com expansão do citoplasma e sem divisão nuclear. À medida que os hepatócitos morrem são substituídos por tecido conjuntivo, o que em estágios avançados leva à fibrose e consequentemente à insuficiência hepática (SMITH, 2006).

A monocrotalina (MCT) é o principal AP encontrado em plantas do gênero *Crotalaria*, em especial em *C. retusa* e *C. spectabilis*, e embora seja um composto primariamente hepatotóxico, efeitos pneumotóxicos, nefrotóxicos, cardiotoxicos, teratogênicos e carcinogênicos também estão associados a ele (MATTOCKS, 1986).

A MCT é um alcaloide tipo retronecina formado por uma base de necina (retronecina) com dupla ligação entre os carbonos 1 e 2, associada a um ácido necínico (ácido monocrotálico). Os ácidos necínicos contêm de quatro a seis átomos de carbono, sendo encontrados principalmente nos APs que exibem efeitos tóxicos e são derivados de ésteres de álcoois básicos (WANG et al., 2005).

Altas doses de MCT causam hepatotoxicidade massiva com quadros de necrose hemorrágica. No início da fase aguda a toxina lesiona as células parenquimais centrolobulares

e danifica as células endoteliais das vênulas centrais e dos sinusoides, o que resulta em congestão e dilatação desses vasos, além de hemorragia e ativação do sistema de coagulação levando à deposição de fibrina em regiões centrolobulares. Posteriormente segue-se uma fase subaguda em que ocorre a obliteração de vênulas intra-hepáticas associada à fibrose dos sinusoides, processo conhecido como doença veno-oclusiva hepática ou síndrome da obstrução sinusoidal (COOPLE; GANEY; ROTH, 2003). Ao exame bioquímico, algumas alterações que podem ocorrer incluem aumento da atividade das enzimas AST, GGT e ALP (STEGELMEIER, 2011).

Pequenas doses de MCT ingeridas por um longo período de tempo, levam a um quadro de doença hepática crônica, além de eventualmente causar lesões em outros órgãos como pulmões, rins, vasos sanguíneos, pâncreas, medula óssea, trato gastrointestinal e cérebro (FU et al., 2002). Os animais afetados desenvolvem alterações transitórias nos níveis das enzimas AST, GGT e ALP e podem permanecer assintomáticos e sem apresentar anormalidades nos exames bioquímicos por meses ou anos após o contato com a planta, mesmo em estágios avançados da intoxicação (STEGELMEIER, 2011).

No fígado ocorre gigantismo citoplasmático e nuclear (megalocitose), fibrose progressiva, proliferação de ductos biliares, degeneração gordurosa, hiperplasia nodular e veno-oclusão, o que leva à diminuição das funções hepáticas (MATTOCKS, 1986). Os níveis de proteína sérica tornam-se diminuídos devido à diminuição na síntese protéica que conduz a ascite e ao edema (CHEEKE; GARMAN, 1974; MIRANDA et al., 1980).

Alguns metabólitos dos APs podem causar alterações nos pulmões caracterizadas por lesão intersticial e arteriolar pulmonar. O quadro é característico de uma pneumonia intersticial associada a congestão, hemorragia, edema, fibrose, epitelização e enfisema. Outras alterações incluem hidrotórax, hipertrofia da túnica média das arteríolas, e em alguns casos, infiltração por macrófagos alveolares (LALICH; MERKOL, 1961; HOOPER, 1978).

Nos rins são observadas, em sua maioria, lesões tubulares e glomerulonefrite. A principal alteração é uma megalocitose das células epiteliais dos túbulos proximais e das alças de Henle. Os glomérulos também podem ser severamente afetados, com lesões tanto nas suas células epiteliais quanto endoteliais (HOOPER, 1978).

Não se conhece tratamento específico ou sintomático para plantas que contêm pirrolizidinas, e os animais raramente se recuperam. A profilaxia consiste em evitar pastos muito invadidos pela planta, em especial no período da seca, e tentar eliminá-la manualmente

ou com herbicidas, principalmente quando pastagens contaminadas são utilizadas para animais em confinamento (TOKARNIA et al., 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo atende aos princípios éticos de experimentação animal adotados pelo Comitê de Ética no uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/IV/UFRRJ), tendo sido aprovado pelo mesmo sob processo de número 23083.007636/2013-38, protocolo 387/13.

3.1 Local

A pesquisa foi realizada nas dependências da UFRRJ/Anexo 1 do IV/Setor de Anatomia Patológica (SAP), onde os animais foram mantidos em baias individuais de alvenaria medindo 3x4m, equipadas com bebedouro, cocho e solário. As necropsias foram realizadas no SAP, os exames histopatológicos no Laboratório de Histopatologia de mesma instituição, e as análises bioquímicas no Laboratório de Pesquisas Clínicas do IV da UFRRJ e no Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Pará (UFPA).

3.2 Animais

Foram utilizados oito caprinos adultos, de ambos os sexos, sete Saanen e um mestiço de Saanen com Bôer, entre 1,5 e 7 anos de idade, cujos pesos variaram entre 22 e 53,4kg. Os animais foram gentilmente cedidos pelo Setor de Caprinocultura do Instituto de Zootecnia (IZ)/UFRRJ.

3.3 Sementes

As sementes de *Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria. juncea* foram adquiridas através da empresa fornecedora de sementes para pastagens, gramados e leguminosas BRSEEDS®.

3.4 Procedimentos

Os oito caprinos foram divididos aleatoriamente em dois grupos de quatro animais, de modo que um dos grupos recebeu sementes de *C. spectabilis*, enquanto o outro recebeu sementes de *C. juncea*.

Antes da realização dos experimentos, os caprinos foram pesados, vermifugados com 1ml de ivermectina a 1% (Ivergen®) por via subcutânea, e passaram por um período de adaptação e observação clínica prévia com duração de 7 dias; eram alojados em baias individuais e receberam a seguinte alimentação: 300g de ração de milho e farelo de trigo, 500g de feno de Tifton, e água à vontade.

Sementes de *C. spectabilis* e *C. juncea* (Figura 1) foram fornecidas por via oral aos caprinos juntamente com a alimentação, após um jejum alimentar prévio de 24 horas. Em ambos os grupos, um animal recebeu uma dose única de 10g/kg de sementes, um animal recebeu uma dose única de 20g/kg de sementes e dois animais receberam doses diárias de 2g/kg de sementes da planta. As doses diárias de sementes de *C. juncea* foram administradas a ambos os animais por um período de 60 dias, enquanto que as doses diárias de sementes de *C. spectabilis* foram administradas durante 35 dias a um caprino e por 150 dias ao outro. (Quadros 1 e 2). A administração das sementes, no caso da *C. spectabilis*, era fornecida até o aparecimento da anorexia.

Embora a administração das sementes das duas crotalárias tenha sido por via oral, nem sempre havia aceitação e ingestão espontânea, e por vezes alguns caprinos ficavam relutantes. Nesses casos as sementes eram colocadas na boca. Em um caso (Caprino 2) foi necessário que o restante da dose fosse moído no liquidificador até a formação de um pó, e esse pó foi misturado com água até ficar com a consistência pastosa.

Antes e durante os experimentos, os caprinos foram examinados clinicamente, ocasião em que se avaliaram os seguintes parâmetros: comportamento, atitude, apetite, cor das mucosas, temperatura retal, frequências cardíaca e respiratória, frequência e intensidade dos movimentos ruminais e aspecto das fezes e urina. Durante esse período os animais eram observados diariamente e examinados semanalmente ou diariamente. Quando em estado terminal os animais eram observados continuamente.

Durante o período das intoxicações se realizou a coleta de sangue desses animais uma vez por semana. O sangue foi obtido através de venopunção jugular com o auxílio de agulhas 40/12mm. Uma coleta de sangue prévia à administração das sementes serviu como controle para cada animal.

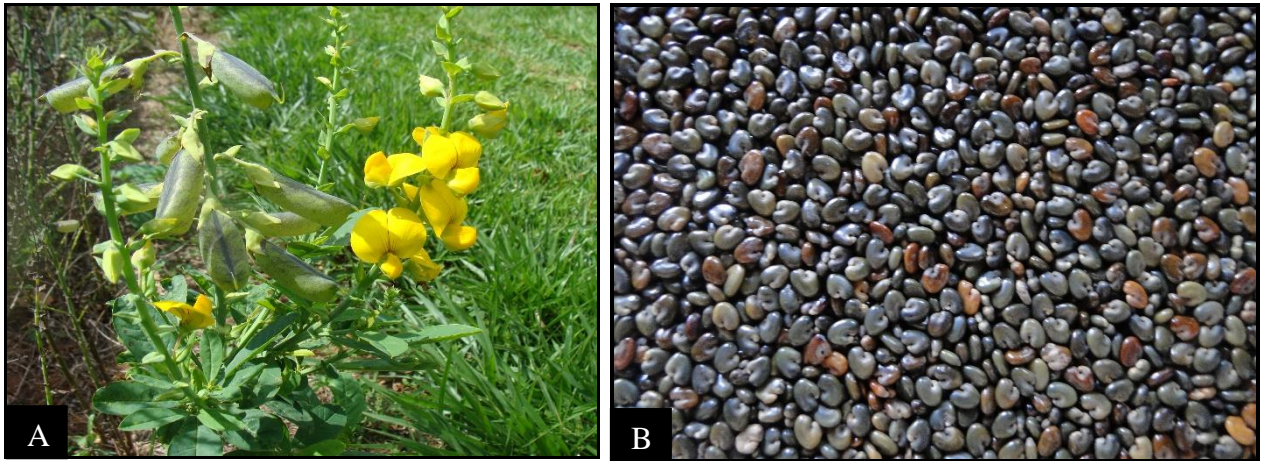
Após a separação do soro, as amostras sanguíneas foram acondicionadas em tubos de *Eppendorf*, e mantidas congeladas a uma temperatura de -20°C até a realização das provas de função hepática e renal que compreenderam a dosagem de Aspartato transaminase (AST), Alanina aminotransferase (ALT/TGP), albumina, bilirrubina (total e conjugada), fosfatase

alcalina (ALP), Gama-glutamil transferase (GGT), proteína total, ureia e creatinina. As análises bioquímicas foram realizadas com um analisador químico BS-120, seguindo-se a metodologia de ponto final e tempo fixo e cinético (autofração).

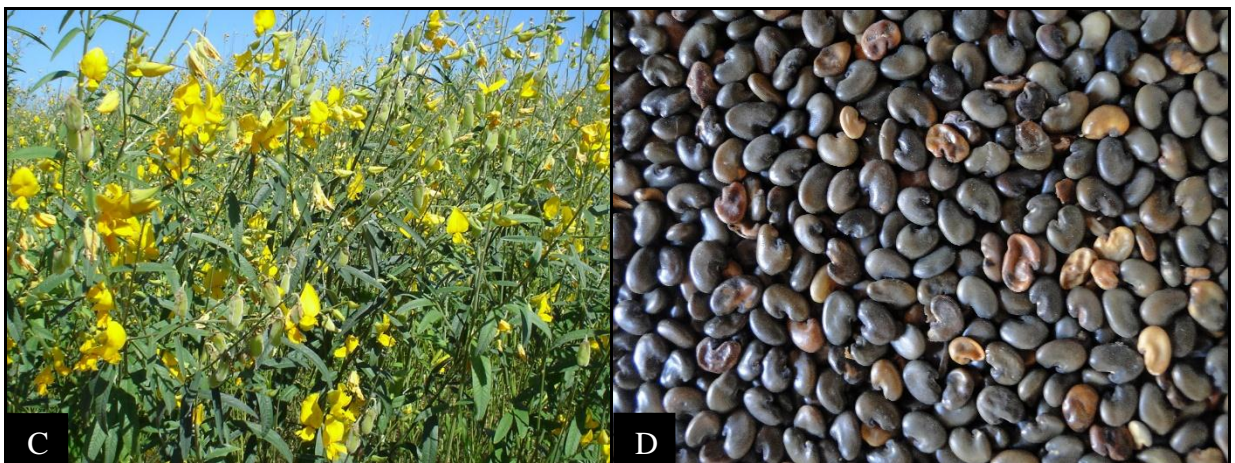
Os caprinos que morreram durante os experimentos foram imediatamente necropsiados e se procedeu a coleta de fragmentos de vários órgãos, tendo em vista a realização do exame histopatológico. Os tecidos foram fixados em formalina a 10% tamponada com carbonato de cálcio, desidratados em álcool, clarificados com xilol, incluídos em parafina, cortados a 5µm e corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (HE).

Ao fim dos experimentos, aqueles animais que não morreram foram devolvidos ao seu local de origem.

Para checar a possibilidade de que sementes íntegras e viáveis de *C. Spectabilis* e *C. juncea* possam ser dispersas por via fecal (endozoocoria), amostras de fezes (cerca de 150g) foram coletadas dos animais que ingeriram uma dose única das sementes e daqueles que também ingeriam doses diárias das sementes por vários dias. As fezes foram coletadas após 24 horas da administração oral das sementes, diretamente no chão das baias. As amostras foram identificadas e armazenadas sob refrigeração (4 a 8 °C). Terminada a fase de coleta, as amostras fecais foram levadas para o teste de germinação a campo. Esse teste procurou simular, de forma mais natural possível o que aconteceria se caprinos ingerissem, na natureza, sementes de *C. Spectabilis* e *C. juncea*. Para tal, uma área de aproximadamente 10 m² de um gramado sem presença de leguminosas foi devidamente capinada e revolvida até que não houvesse mais vestígios das partes aéreas e de raízes das gramíneas existentes. Com o auxílio de tijolos, enterrados a 5 cm dentro do solo, foram feitos quadrados de 40 cm de lado onde, para cada dia de coleta, e cada leguminosa investigada, foram dispersas as fezes dos animais experimentais. Assim, não haveria possibilidade das sementes se misturarem ou se perderem com as chuvas. Foram anotados o dia da dispersão das fezes no solo e as eventuais plântulas que germinassem. A área foi molhada apenas no dia em que as fezes foram dispersas no chão. Uma vez por semana, cada quadrado era examinado atenciosamente para checar se houve germinação das sementes das leguminosas; qualquer outra planta que porventura aparecesse dentro dos quadrados era imediatamente removida. A germinação das sementes de crotalária foi observada durante três meses.



A - Fonte: Cortesia Daniel Ubiali



C - Fonte: <http://www.brseeds.com>

Figura 1. (A) *Crotalaria spectabilis*. (B) Detalhe das sementes de *Crotalaria spectabilis*. (C) *Crotalaria juncea*. (D) Detalhes das sementes de *Crotalaria juncea*.

4. RESULTADOS

O delineamento experimental e o desfecho dos experimentos com *Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea* se encontram detalhados nos Quadros 1 e 2 respectivamente.

Dos quatro caprinos que receberam doses únicas ou diárias de sementes de *C. juncea* (Caprinos 5, 6, 7 e 8), nenhum desenvolveu sinais clínicos de intoxicação ou apresentou alterações no exame bioquímico, com exceção do **Caprino 7** que teve aumento significativo, porém, isolado nos níveis de ALP aos 29 dias de ingestão diária de 2g/kg de sementes da planta (Quadro 4).

Em um caprino (Caprino 6) notou-se sementes de *C. juncea* não digeridas em meio às fezes no dia seguinte à administração da planta.

Os animais continuaram a ser acompanhados periodicamente, mesmo após o fim dos experimentos, por aproximadamente seis meses, e não apresentaram qualquer alteração que pudesse ser relacionada à ingestão das sementes.

Entre os quatro caprinos que receberam doses únicas ou diárias de sementes de *C. spectabilis*, três morreram. Apenas o **Caprino 1** (10g/kg em dose única) sobreviveu e não apresentou alterações no quadro clínico durante o experimento. Esse animal foi acompanhado por um período de aproximadamente três meses após a intoxicação e seu quadro clínico permaneceu inalterado. Também não foram observadas alterações dignas de nota no que diz respeito ao exame bioquímico.

O **Caprino 2** que recebeu uma dose única de 20g/kg de sementes de *C. spectabilis* morreu cerca de dois dias após a ingestão. Os sinais clínicos apareceram 36 horas após a administração das sementes da planta, e a evolução do quadro se deu em torno de cinco horas. O quadro clínico se iniciou com uma leve inapetência e hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade moderada) no dia seguinte à administração das sementes da planta. Houve rápida evolução para anorexia, tendência ao decúbito esternal, sialorreia, extremidades frias, mucosa oral levemente pálida e cianótica, apatia progressiva (Figura 2A) e uma crescente dificuldade respiratória (respiração predominantemente abdominal); o animal levantava quando estimulado, mas de forma relutante, e quando em estação ficava encostado na parede da baia. Ao exame clínico observou-se taquipneia (48 RPM), taquicardia (132 BPM) e hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade leve a moderada). O quadro evoluiu para prostração e decúbito lateral seguido de morte.

Não foram observadas alterações bioquímicas dignas de nota nesse animal (Quadro 3).

À necropsia (Quadro 5), o **pulmão** se encontrava colabado, difusamente pálido e discretamente cianótico. O **coração** se encontrava difusamente pálido, havia equimoses na superfície do epicárdio e hemorragia subendocárdica no ventrículo esquerdo (Figura 2F). Os **rins** apresentavam áreas pálidas e irregulares na superfície (Figura 2E), e ao corte notava-se um leve edema da pelve. O **fígado** estava difusamente vermelho escuro a cianótico e congesto (Figura 2D) e havia acentuado edema de **vesícula biliar** (Figura 2C). No **rúmen** foi possível observar sementes de *C. spectabilis* não digeridas em meio ao conteúdo (Figura 2B).

As principais lesões histológicas se encontravam no **fígado**. Havia necrose coagulativa hemorrágica centrolobular difusa massiva (Figura 3A), com picnose e carriorexia nuclear, juntamente com áreas focalmente extensas de leve a moderada vacuolização (Figura 3B). Observou-se ainda congestão de moderada a acentuada, principalmente nas veias centrolobulares. No **rim** havia áreas de leve congestão e hemorragia, e vacuolização de células epiteliais de túbulos uriníferos com picnose nuclear (Figura 3C). Os demais órgãos não apresentaram alterações significativas (Quadro 6).

O **Caprino 3** recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* durante 35 dias e morreu 58 dias após o início da administração das sementes da mesma. O início dos sinais clínicos ocorreu 17 dias após o início do experimento e a evolução do quadro foi de 45 dias. Em um primeiro momento, o animal apresentou apenas uma leve tosse seca, inapetência e hiporexia. Esse quadro evoluiu para apatia (Figura 4A), anorexia, decúbito esternal, dificuldade respiratória com respiração predominantemente abdominal e ruidosa, dispneia, mucosas levemente cianóticas, hipertermia (40°C), coloração amarelada do soro (Figura 4B), estertores crepitantes secos em todos os campos pulmonares, prostração, decúbito lateral e morte.

Nos exames bioquímicos (Quadro 3) observou-se uma alteração transitória na atividade da enzima **AST** que aumentou progressivamente entre 22 e 35 dias de ingestão de sementes da planta e caiu nos tempos seguintes, porém, sempre dentro dos limites de normalidade. Comportamento semelhante foi observado nos níveis de **GGT**, cujos valores se mostraram progressivamente anormais entre 35 dias de ingestão da planta e 7 dias após suspensa a ingestão da mesma. Durante todo o experimento houve variações nas concentrações de **ALP**, com tendência a valores acima do normal, sendo os maiores valores observados entre 22 e 29 dias de ingestão das sementes. A concentração de **ureia** também foi bastante variável, oscilando valores normais e anormais durante todo o período experimental. Houve ainda aumentos isolados na contagem de **proteínas totais** 21 dias após suspensa a

ingestão das sementes da planta e na concentração de **bilirrubina direta** aos 7 dias de ingestão de sementes da planta e logo após suspensa a administração da mesma.

À necropsia as lesões pulmonares e hepáticas foram as que mais chamaram atenção. O **pulmão** se encontrava armado, difusamente vermelho arroxeado, especialmente no lobo caudal esquerdo, onde se podiam notar áreas de enfisema. Havia áreas vermelho escuras de consolidação, e à palpação essas áreas eram mais firmes e pouco crepitantes (Figuras 4C e 4D). O órgão de uma forma geral, apresentava um aspecto “cárneo”. No **fígado** notaram-se pequenas áreas esbranquiçadas levemente elevadas ao corte (Figura 4C). Havia áreas mais claras, o órgão parecia mais firme e fluía pouco sangue ao corte. Outras alterações podem ser encontradas no Quadro 5.

Histologicamente (Quadro 6), o **pulmão** apresentava moderada a acentuada pneumonia intersticial difusa, em que as paredes alveolares se encontravam espessadas e preenchidas por infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear; em algumas áreas notou-se a presença de células multinucleadas bizarras (Figura 5B) e hiperplasia do tecido linfóide associado aos brônquios (BALT). Observaram-se áreas focalmente extensas de congestão e hemorragia, alguns bronquíolos se encontravam espessados devido à hiperplasia do epitélio (Figura 5C); notaram-se diversos focos de epitelização (hiperplasia de pneumócitos do tipo II) (Figura 5A) e alguns pneumócitos apresentavam aparência bizarra. Em algumas áreas o parênquima pulmonar (brônquios, bronquíolos e alvéolos) se encontrava preenchido por infiltrado inflamatório polimorfonuclear (broncopneumonia secundária). No **fígado** havia pequenos focos de congestão, hemorragia e áreas de vacuolização predominantemente centrolobular, e em outras áreas notava-se microvacuolização dos hepatócitos. Observaram-se ainda ativação das células de Kupffer, megalocitose (Figura 5D), e hepatócitos em processo de lise. No **rim** havia pequenos focos de congestão e hemorragia, ativação das células mesangiais e aumento do filtrado glomerular (Figura 5E). Outras lesões histológicas podem ser vistas no Quadro 6.

O **Caprino 4** recebeu 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* durante 150 dias e foi eutanasiado *in extremis* ao fim desse período. Os sinais clínicos começaram a se manifestar 62 dias após o início da ingestão da planta, e a evolução do quadro (até a eutanásia) foi de 91 dias. O caprino apresentou inapetência, hiporexia, perda de peso progressiva, diminuição do volume das fezes, hipotonia ruminal leve a moderada, leve apatia (Figura 6A), e um quadro de icterícia caracterizado pelo amarelamento das mucosas oral e ocular, esclera, urina, além de coloração amarelada do soro (Figura 6B)

A análise da função hepática e renal desse caprino (Quadro 3) demonstrou alterações transitórias nos níveis de **AST₂** que aumentou progressivamente entre 41 e 70 dias da ingestão das sementes da planta, diminuiu nos tempos seguintes e oscilou entre valores mais altos e mais baixos dentro dos limites de normalidade. Comportamento semelhante foi observado na concentração de **ALT** que apresentou valores alterados entre 49 e 91 dias da ingestão da planta, oscilou dentro de níveis normais nos tempos seguintes e atingiu a normalidade aos 117 dias de ingestão da planta. Os níveis de **GGT** se mostraram aumentados aos 49 dias da ingestão diária das sementes e assim permaneceram durante todo o experimento; os maiores valores foram observados entre 64 e 76 dias da ingestão da planta. Oscilações entre valores normais, valores próximos da normalidade e valores anormais foram observados nas concentrações de **ureia** e **creatinina** durante todo o experimento. Houve aumento progressivo nas concentrações de **bilirrubina direta** entre 64 e 99 dias de ingestão das sementes da planta, que diminuiu nos tempos seguintes, porém, sem regredir a normalidade. De maneira semelhante a atividade da **bilirrubina total** se mostrou aumentada entre 70 e 99 dias de ingestão da planta, diminuiu nos tempos seguintes e oscilou entre valores normais e anormais até o fim do experimento. Foram observados ainda aumentos isolados nos níveis de **ALP**, **proteínas totais** e **albumina** aos 64, 99 e 111 dias de ingestão da planta respectivamente.

À necropsia observou-se que o estado geral do animal era ruim e que as mucosas estavam acentuadamente pálidas e levemente ictéricas. O **fígado** foi o órgão que mais apresentou alteração; se mostrou pálido, com áreas esbranquiçadas irregulares em mais de 70% da superfície (Figuras 6C), ao corte fluía pouco sangue e as áreas mais claras também eram visíveis. O **rim** apresentava áreas pálidas e irregulares no córtex. Outros achados de necropsia desse caprino podem ser encontrados no Quadro 5.

Na histologia do **fígado** observaram-se espessamento e atipia das células da cápsula, as quais apresentavam-se ativadas e com aspecto bizarro. Havia áreas de leve congestão e moderada hemossiderose, além de pequenos focos de neutrófilos, necrose de hepatócitos e acentuada megalocitose, e esses hepatócitos de uma forma geral mostravam um aspecto bizarro (Figura 7B). Havia marcada anisocitose e anisocariose, núcleos hipercromáticos e hepatócitos com aspecto espumoso (vacuolizado). Áreas de leve vacuolização com evolução para lise também podiam ser vistas, além de ativação das células de Kupffer. Havia ainda proliferação, neoformação e dilatação dos ductos biliares (Figura 7A), e células das vias biliares proliferadas e desorganizadas. No **rim** havia ativação das células da cápsula de Bowman, hiperplasia e ativação das células mesangiais (Figura 8C), e presença de alguns

cilindros na região medular. Tanto na cortical quanto na medular as células epiteliais dos túbulos uriníferos mostravam um aspecto bizarro (Figuras 8A e 8B), com núcleos grandes, células planas (dimorfismo), e células em picnose; havia hiperplasia destas células, as quais assumiam um aspecto enfileirado em algumas áreas. Foi possível observar ainda poucos focos de infiltrado inflamatório polimorfonuclear na luz dos túbulos, e uma área focalmente extensa de infiltrado inflamatório mononuclear composto predominantemente por linfócitos. O **pulmão** apresentava apenas alguns pequenos focos de leve enfisema e atelectasia.

Em relação ao teste da **germinação das sementes** de *Crotalaria* a campo, das duas espécies da planta estudadas, apenas *C. spectabilis* germinou; seis sementes desta leguminosa produziram plântulas saudáveis que se transformaram em plantas adultas.

Quadro 1. Delineamento experimental e desfecho da intoxicação por *Crotalaria spectabilis* em caprinos

| Animal | Raça | Peso (kg) | Idade (anos) | Sexo | Dose (g/kg) | Início dos sintomas | Evolução | Desfecho |
|-----------|--------|--------------|-----------------|------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| Caprino 1 | Saanen | 30 | 3,5 | F | 10 (dose única) | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos |
| Caprino 2 | Saanen | 38,5 | 3 | F | 20 (dose única) | 36 horas | Aproximadamente 5 horas | Morreu |
| Caprino 3 | Saanen | 25 | 1,5 | M | 2 (diária por 35 dias) | 17 dias | 45 dias | Morreu |
| Caprino 4 | Saanen | 38,5 | 3 | F | 2 (diária por 150 dias) | 62 dias | 91 dias | Eutanásia |

F= Fêmea, M= Macho

Quadro 2. Delineamento experimental e desfecho da intoxicação por *Crotalaria juncea* em caprinos

| Animal | Raça | Peso (kg) | Idade (anos) | Sexo | Dose (g/kg) | Início dos sintomas | Evolução | Desfecho |
|-----------|-----------------------|--------------|-----------------|------|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Caprino 5 | Saanen | 32 | 2 | F | 10 (única) | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos |
| Caprino 6 | Saanen | 26,5 | 3 | F | 20 (única) | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos |
| Caprino 7 | Saanen | 22 | 1,5 | M | 2 (diárias por 60 dias) | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos |
| Caprino 8 | Mestiço (Saanen/Boer) | 53,4 | 7 | F | 2 (diárias por 60 dias) | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos | Sem sinais clínicos |

F= Fêmea, M= Macho

Quadro 3. Bioquímica sanguínea na intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* em caprinos

| | AST(UI/L) | ALT (UI/L) | ALP(UI/L) | GGT(UI/L) | Proteína total (g/dL) | Albumina (g/dL) | Bilirrubina direta (mg/dL) | Bilirrubina total (mg/dL) | Ureia (mg/dL) | Creatinina (mg/dL) | |
|------------------------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------------------|-----------------|----------------------------|---------------------------|---------------|--------------------|------|
| Valores de referência | 167-513 | 6-19 | 93-387 | 20-56 | 6,4-7 | 2,7-3,9 | <0,4 | 0,1-1,2 | 21,4-42,8 | 1-1,82 | |
| Caprino 1 | T0 | 128 | 18 | 89 | 41,5 | 6,75 | 2,8 | 0,35 | 0,41 | 29 | 1,05 |
| | T1 | 125 | 14 | 81 | 22,6 | 5,94 | 3,2 | 0,29 | 0,22 | 33 | 1 |
| | T2 | 74 | 19 | 49 | 27 | 5,4 | 2,7 | 0,15 | 0,3 | 73 | 0,7 |
| | T3 | 73 | 14 | 75 | 27,4 | 6,17 | 3,53 | 0,27 | 0,28 | 32 | 1,06 |
| Caprino 2 | T4 | 77 | 22 | 87 | 21,4 | 6,1 | 2,72 | 0,33 | 0,09 | 30 | 1,03 |
| | T0 | 91 | 6 | 52 | 20,8 | 5,44 | 2,5 | 0,24 | 0,23 | 25 | 0,84 |
| Caprino 3 | T1 | 75 | 8 | 91 | 22,9 | 6,27 | 2,8 | 0,31 | 0,25 | 36 | 1,19 |
| | T0 | 102 | 17 | 596 | 51,2 | 6,86 | 3,01 | 0,51 | 0,39 | 45 | 1,37 |
| | T1 | 108 | 10 | 612 | 36,3 | 6,6 | 2,81 | 0,85 | 0,62 | 40 | 1,2 |
| | T2 | 106 | 11 | 1054 | 36 | 5,6 | 2,5 | 0,28 | 0,4 | 67 | 0,8 |
| | T3 | 177 | 14 | 952 | 47 | 6 | 2,6 | 0,3 | 0,5 | 47 | 0,9 |
| | T4 | 252 | 20 | 1504 | 77 | 6,3 | 2,2 | 0,3 | 0,5 | 55 | 0,8 |
| | T5 | 430 | 17 | 696 | 174,9 | 6,49 | 3,3 | 0,87 | 0,57 | 24 | 0,8 |
| | T6 | 187 | 12 | 610 | 277 | 6,3 | 2,3 | 0,27 | 0,5 | 36 | 0,8 |
| Caprino 4 | T7 | 124 | 11 | 706 | 204 | 6 | 2,2 | 0,33 | 0,5 | 39 | 0,8 |
| | T8 | 119 | 13 | 479 | 97,3 | 7,27 | 3,82 | 0,18 | 0,11 | 11 | 0,37 |
| | T0 | 68 | 17 | 243 | 33,8 | 5,92 | 2,7 | 0,29 | 1,01 | 30 | 0,31 |
| | T1 | 78 | 18 | 170 | 32,9 | 6 | 2,31 | 0,2 | 0,34 | 28 | 0,95 |
| | T2 | 80 | 19 | 76 | 49 | 4,1 | 2,7 | 0,28 | 0,3 | 83 | 1,1 |
| | T3 | 74 | 17 | 64 | 52 | 5,3 | 2,7 | 0,17 | 0,2 | 33 | 1,4 |
| | T4 | 91 | 20 | 84 | 49 | 5,3 | 2,8 | 0,21 | 0,2 | 40 | 2,1 |
| | T5 | 41 | 20 | 197 | 37,8 | 5,68 | 2,65 | 0,52 | 0,37 | 40 | 1,24 |
| | T6 | 94 | 19 | 81 | 50 | 4,3 | 3,6 | 0,2 | 0,3 | 74 | 1 |
| | T7 | 219 | 26 | 76 | 78 | 5,4 | 2,8 | 0,14 | 0,2 | 25 | 1,1 |
| | T8 | 210 | 52 | 570 | 663,5 | 6,5 | 3,11 | 0,78 | 0,8 | 28 | 0,95 |
| | T9 | 1421 | 94 | 270 | 3030 | 5,9 | 2,6 | 2,23 | 2,2 | 38 | 0,9 |
| | T10 | 540 | 45 | 213 | 2260 | 5,8 | 1,5 | 2,54 | 3,3 | 29 | 1 |
| | T11 | 153 | 23 | 132 | 50 | 5,6 | 2,4 | 4,37 | 3,8 | 47 | 1,1 |
| | T12 | 114 | 120 | 108 | 770 | 5,6 | 1,6 | 4,6 | 5,8 | 41 | 1,2 |
| | T13 | 86 | 33 | 314 | 513,9 | 7,96 | 3,62 | 15,54 | 16,2 | 46 | 1,5 |
| | T14 | 88 | 68 | 124 | 620 | 6,8 | 2,7 | 6,45 | 6,1 | 41 | 2,9 |
| | T15 | 110 | 56 | 80 | 610 | 5,9 | 9,9 | 5,11 | 3,7 | 37 | 1,4 |
| | T16 | 123 | 6 | 264 | 310 | 6,71 | 3 | 5,38 | 6,36 | 16 | 0,37 |
| T17 | 181 | 22 | 105 | 68 | 5,3 | 2,7 | 1,16 | 1,4 | 38 | 0,7 | |
| T18 | 193 | 18 | 97 | 732 | 6 | 2,3 | 0,64 | 0,8 | 36 | 0,8 | |
| T19 | 243 | 11 | 224 | 311,4 | 6,57 | 3,6 | 1,41 | 2,44 | 25 | 0,82 | |

T0 = coleta de sangue antes da intoxicação.

T1-T19 = tempos de coleta de sangue semanais durante a evolução da intoxicação.

Valores de Referência: Fonte: Kaneko, Harvey, Bruss (1997); Meyer e Harvey (2004).

Quadro 4. Bioquímica sanguínea na intoxicação experimental por *Crotalaria juncea* em caprinos

| | AST(UI/L) | ALT(UI/L) | ALP(UI/L) | GGT(UI/L) | Proteína total (g/dL) | Albumina (g/dL) | Bilirrubina direta (mg/dL) | Bilirrubina total (mg/dL) | Ureia (mg/dL) | Creatinina (mg/dL) | |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------------|-----------------|----------------------------|---------------------------|---------------|--------------------|------|
| Valores de referência | 167-513 | 6-19 | 93-387 | 20-56 | 6.4-7 | 2.7-3.9 | <0,4 | 0,1-1,2 | 21,4-42,8 | 1-1,82 | |
| Caprino 5 | T0 | 107 | 17 | 89 | 43,6 | 4,49 | 2,8 | 0,57 | 0,43 | 32 | 1,07 |
| | T1 | 147 | 22 | 46 | 29 | 5,9 | 2,7 | 0,19 | 0,4 | 83 | 0,9 |
| | T2 | 92 | 20 | 95 | 18,1 | 6,47 | 3,4 | 0,27 | 0,28 | 29 | 0,95 |
| | T3 | 74 | 19 | 49 | 27 | 5,4 | 2,7 | 0,15 | 0,3 | 73 | 0,7 |
| | T4 | 91 | 6 | 52 | 20,8 | 5,4 | 2,6 | 0,23 | 0,24 | 26 | 0,84 |
| Caprino 6 | T0 | 87 | 17 | 113 | 23,8 | 7,36 | 2,5 | 0,34 | 0,36 | 44 | 1,41 |
| | T1 | 99 | 21 | 26 | 29 | 6,6 | 2,4 | 0,34 | 0,5 | 39 | 0,9 |
| | T2 | 85 | 20 | 54 | 25 | 6,3 | 2,6 | 0,21 | 0,4 | 55 | 1 |
| | T3 | 75 | 17 | 101 | 32 | 6,81 | 3,4 | 0,06 | 0,41 | 12 | 0,41 |
| | T4 | 80 | 19 | 47 | 30 | 6,5 | 2,6 | 0,18 | 0,4 | 46 | 1 |
| | T5 | 74 | 21 | 63 | 29 | 6,6 | 2,6 | 0,18 | 0,4 | 61 | 0,9 |
| | T6 | 88 | 21 | 113 | 19,7 | 6,56 | 3,2 | 0,18 | 0,2 | 32 | 1,06 |
| Caprino 7 | T0 | 65 | 4 | 595 | 40 | 6,72 | 2,9 | 0,44 | 0,45 | 29 | 0,97 |
| | T1 | 71 | 6 | 515 | 33 | 6,3 | 3,2 | 0,07 | 0,1 | 74 | 0,7 |
| | T2 | 71 | 8 | 654 | 31 | 5,5 | 2,5 | 0,13 | 0,2 | 63 | 0,7 |
| | T3 | 70 | 9 | 563 | 31 | 2,5 | 1,5 | 0,11 | 0,1 | 60 | 0,7 |
| | T4 | 68 | 10 | 524 | 31 | 5,9 | 6,1 | 0,22 | 0,3 | 55 | 0,8 |
| | T5 | 70 | 12 | 608 | 30 | 4,5 | 2,1 | 0,16 | 0,2 | 68 | 0,8 |
| | T6 | 81 | 6 | 428 | 32 | 5,9 | 2,8 | 0,13 | 0,2 | 47 | 1,2 |
| | T7 | 85 | 10 | 1034 | 39,4 | 6,16 | 3,01 | 0,43 | 0,61 | 27 | 0,9 |
| | T8 | 69 | 10 | 540 | 31 | 5,5 | 2,6 | 0,21 | 0,2 | 49 | 0,9 |
| | T9 | 68 | 10 | 481 | 29 | 5,2 | 2,5 | 0,13 | 0,2 | 36 | 0,8 |
| | T10 | 79 | 13 | 610 | 36 | 5,4 | 2 | 0,03 | 0,1 | 44 | 0,9 |
| | T11 | 71 | 12 | 461 | 44 | 5,4 | 2,7 | 0,05 | 0,1 | 42 | 1 |
| | T12 | 75 | 10 | 565 | 40 | 5,4 | 2,8 | 0,13 | 0,1 | 42 | 0,9 |
| | T13 | 76 | 7 | 810 | 28,4 | 5,8 | 3,3 | 0,2 | 0,25 | 33 | 1,1 |
| Caprino 8 | T0 | 81 | 20 | 567 | 30,5 | 6,78 | 3,11 | 0,1 | 0,33 | 30 | 0,89 |
| | T1 | 128 | 17 | 511 | 39 | 5,6 | 2,4 | 0,22 | 0,4 | 62 | 0,7 |
| | T2 | 100 | 8 | 610 | 44 | 5,6 | 2,3 | 0,35 | 0,5 | 56 | 0,8 |
| | T3 | 193 | 19 | 551 | 62 | 5,6 | 2,2 | 0,32 | 0,4 | 50 | 0,8 |
| | T4 | 73 | 14 | 488 | 45,5 | 6,62 | 2,78 | 0,29 | 0,68 | 41 | 1,23 |
| | T5 | 68 | 19 | 555 | 56 | 6,1 | 2,3 | 0,28 | 0,4 | 38 | 1 |
| | T6 | 65 | 14 | 576 | 48 | 5,8 | 6,1 | 0,28 | 0,4 | 31 | 0,9 |
| | T7 | 58 | 14 | 541 | 48 | 6 | 2,3 | 0,3 | 0,4 | 41 | 0,9 |
| | T8 | 68 | 14 | 628 | 41 | 5,6 | 2 | 0,37 | 0,5 | 39 | 0,8 |
| | T9 | 76 | 16 | 535 | 29,6 | 6,15 | 2,64 | 0,12 | 0,29 | 16 | 0,48 |

T0 = coleta de sangue antes da intoxicação.

T1-T13 = tempos de coleta de sangue semanais durante a evolução da intoxicação.

Valores de Referência: Fonte: Kaneko, Harvey, Bruss (1997); Meyer e Harvey (2004).

Quadro 5. Lesões macroscópicas na intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* em caprinos

| Animal | Lesões macroscópicas |
|---------------|---|
| Caprino 2 | Estado nutricional: regular; mucosas: pálidas e cianóticas ++; traqueia: líquido espumoso esbranquiçado +; pulmão: colabado, difusamente pálido, cianótico +; coração: difusamente pálido, com equimoses na superfície epicárdica e ventrículo esquerdo (hemorragia subendocárdica); cavidade abdominal: presença de coágulo de albumina; fígado: difusamente vermelho escuro a cianótico e congesto ++; vesícula biliar: edema +++; rins: áreas pálidas e irregulares na superfície, edema da pelve renal; rúmen: sementes de <i>C. spectabilis</i> não digeridas no conteúdo; abomaso: inúmeras úlceras na região fúndica; glândula mamária: líquido branco amarelado; demais órgãos: sem alterações significativas. |
| Caprino 3 | Estado nutricional: regular; olhos: escleras cianóticas +; mucosas: oral cianótica +; pulmão: armado, difusamente avermelhado e arroxeadado e enfisematoso, com áreas de consolidação, e com aspecto “cárneo”; após fixação alguns fragmentos afundaram no formol; coração: líquido translúcido no saco pericárdico +; áreas esbranquiçadas mal delimitadas no epicárdio do ventrículo esquerdo; fígado: áreas esbranquiçadas levemente elevadas na superfície, áreas firmes e mais claras ao corte; abomaso: mucosa avermelhada +; demais órgãos: sem alterações significativas. |
| Caprino 4 | Estado nutricional: ruim; mucosas: pálidas +++ e ictéricas +; pulmão: pequenas áreas com enfisema (+) distribuídas pelo parênquima; coração: edema amarelado da gordura epicárdica (+), líquido translúcido no saco pericárdico +(+) , amarelado +; cavidade abdominal: presença de líquido amarelado (+); fígado: pálido ++, áreas esbranquiçadas irregulares na superfície hepática, superfície irregular na face ventral; baço: aumentado +, evidenciação dos folículos linfóides; rins: áreas pálidas e irregulares no córtex; bexiga: repleta, urina amarelada +; demais órgãos: sem alterações significativas. |

Lesões em grau discreto = (+); leve = +; leve a moderado = +(+); moderado = ++; acentuado = +++.

Quadro 6. Lesões microscópicas na intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* em caprinos

| Animal | Lesões microscópicas |
|---------------|--|
| Caprino 2 | Fígado: congestão/hemorragia ++(+), vacuolização ++, necrose coagulativa centrolobular difusa com picnose e carriorexia +++; rim: congestão/hemorragia +, vacuolização dos túbulos uriníferos com picnose ++; demais órgãos: sem alterações significativas. |
| Caprino 3 | Fígado: congestão/hemorragia +, vacuolização centrolobular e periportal ++, megalocitose +(+); ativação de células de Kupffer ++, microvacuolização de hepatócitos ++; rim: congestão/hemorragia ++, ativação das células mesangiais, aumento do filtrado glomerular; pulmão: congestão/hemorragia ++(+), infiltrado inflamatório mononuclear nas paredes alveolares (pneumonia intersticial) ++(+), hiperplasia do epitélio bronquiolar ++, focos de epitelização ++, hiperplasia de BALT ++(+), infiltrado inflamatório polimorfonuclear no parênquima e no interior de brônquios, bronquíolos e alvéolos ++, presença de células multinucleadas bizarras no lúmen alveolar e nas paredes dos alvéolos; demais órgãos: sem alterações significativas. |
| Caprino 4 | Fígado: Espessamento da cápsula ++, ativação e aspecto bizarro das células da cápsula; congestão +, hemossiderose ++, áreas de vacuolização com evolução para lise ++(+), focos de neutrófilos (+), proliferação das células das vias biliares ++, necrose de hepatócitos +, megalocitose ++(+), hepatócitos com aspecto bizarro, proliferação (neoformação) e dilatação de ductos biliares, ativação das células de Kupffer; rim: ativação das células da cápsula de Bowman, hiperplasia das células mesangiais, hiperplasia de células epiteliais, células epiteliais com aspecto bizarro e megalocitose, presença de alguns cilindros na região medular, infiltrado inflamatório polimorfonuclear no interior de túbulos renais, foco de infiltrado inflamatório linfocítico; pulmão: enfisema e atelectasia +; demais órgãos: sem alterações significativas. |

Lesões em grau leve = +; leve a moderado = ++(+); moderado = ++; moderado a acentuado = ++(+); acentuado = +++; BALT = tecido linfoide associado aos brônquios.

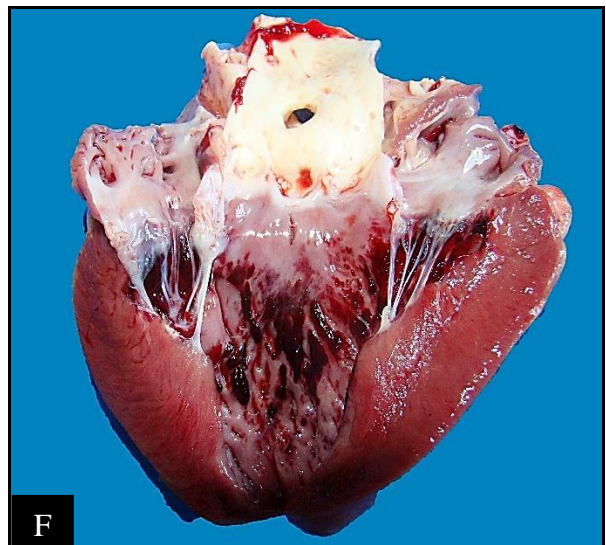
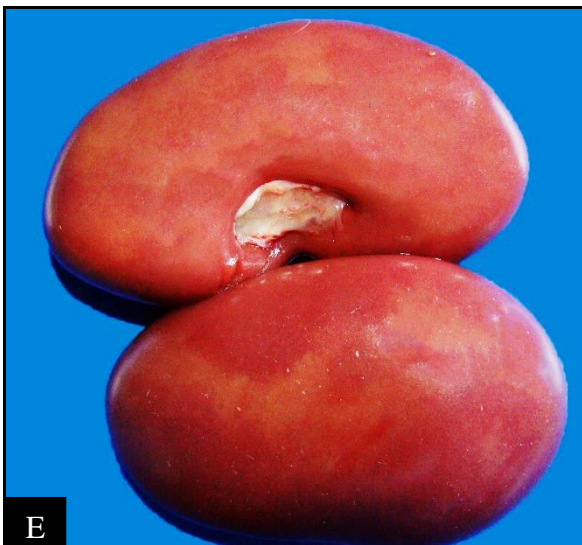
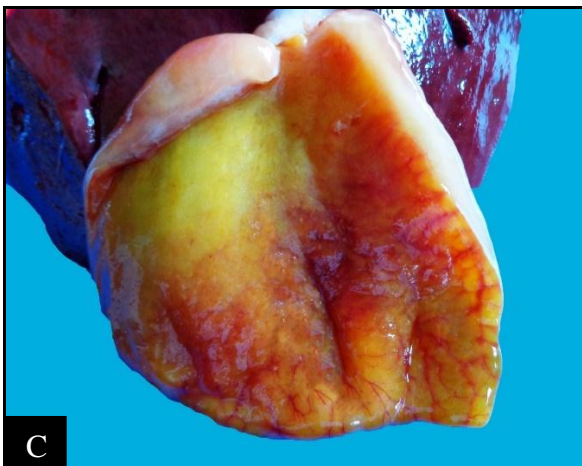


Figura 2. Caprino 2. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (20g/Kg dose única). **(A)** Animal com acentuada apatia e prostração. **(B)** Sementes de *Crotalaria spectabilis* não digeridas no conteúdo ruminal. **(C)** Acentuado edema de vesícula biliar. **(D)** Fígado de cor que varia do vermelho escuro ao cianótico; ao corte fluía acentuada quantidade sangue. **(E)** Rim com áreas pálidas e irregulares na superfície. **(F)** Coração com equimoses no endocárdio do ventrículo esquerdo.

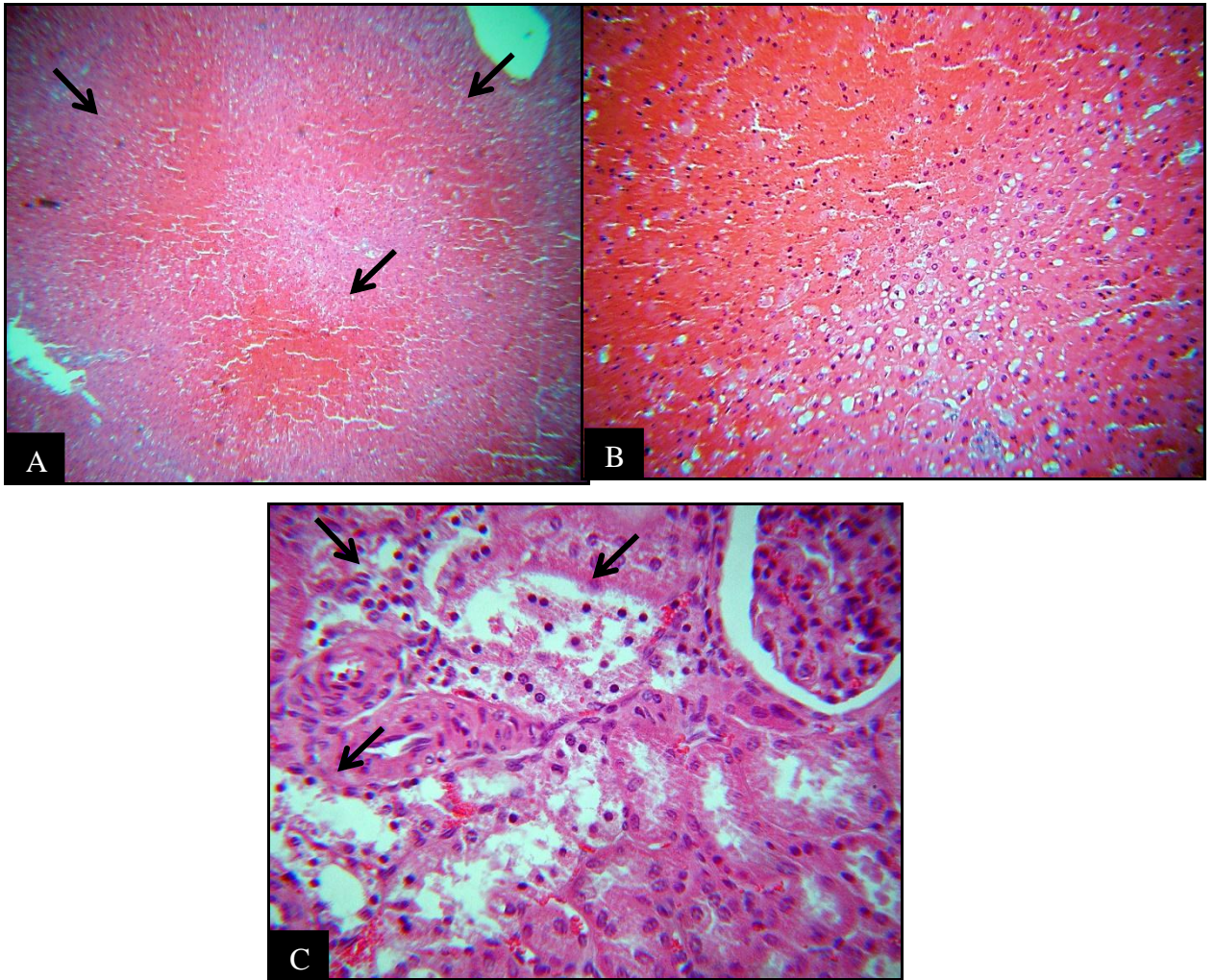


Figura 3. Caprino 2. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (20g/kg dose única). **(A)** Necrose coagulativa hemorrágica centrolobular no fígado (setas), HE, obj. 4x. **(B)** Necrose coagulativa hemorrágica centrolobular e vacuolização de hepatócitos na periferia da área necrótica, HE, obj 16x. **(C)** Rim com vacuolização e picnose (setas) das células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais. HE, obj. 40x.

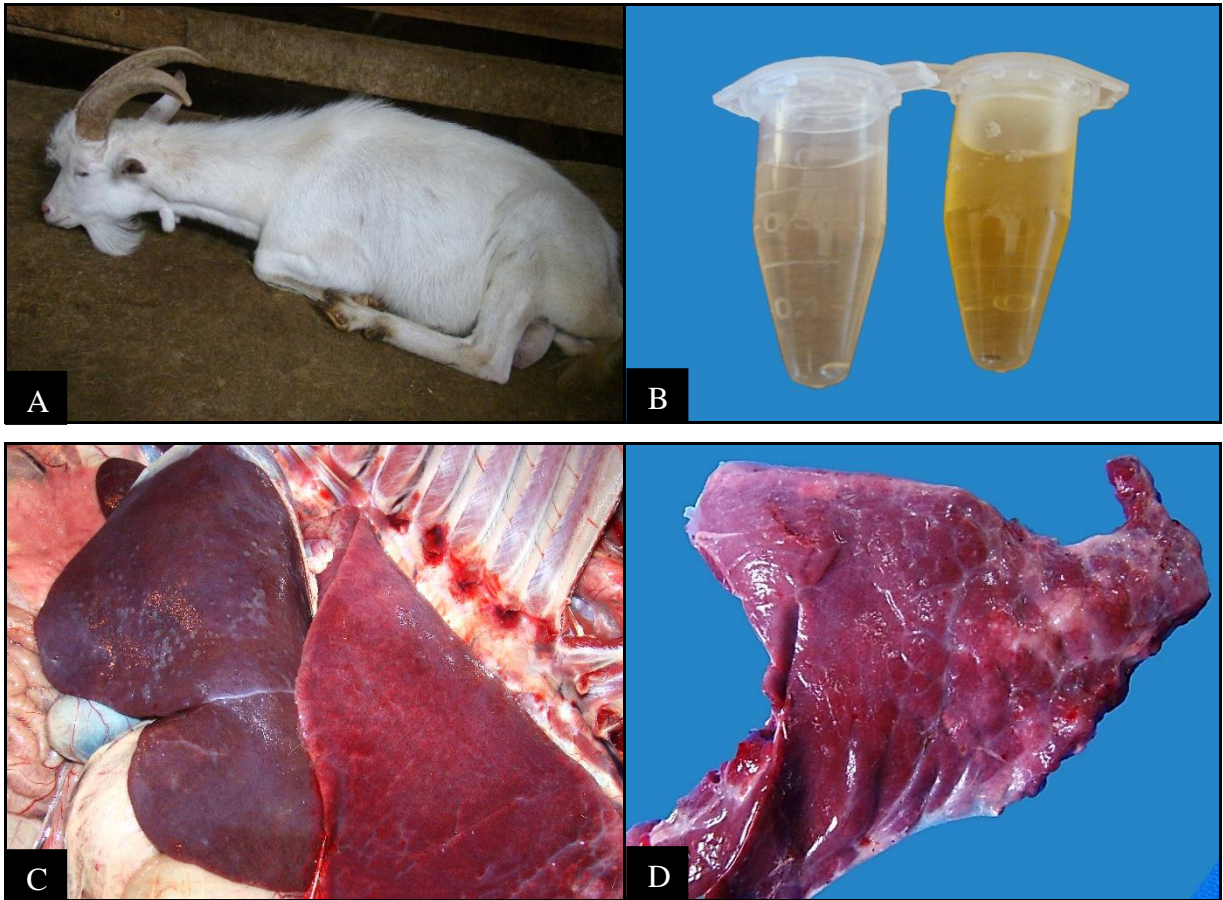


Figura 4. Caprino 3. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/35 dias). **(A)** Apatia e dificuldade respiratória evidenciada pela postura de cabeça apoiada no solo e pescoço estirado. **(B)** Soro amarelado (à direita) em comparação com o soro de um caprino que não ingeriu *Crotalaria spectabilis* (à esquerda). **(C)** Fígado com pequenas áreas esbranquiçadas e levemente elevadas na superfície; pulmão armado, de cor vermelho arroxeadado e com consolidação difusa do parênquima. **(D)** Vista aproximada de um fragmento do pulmão da figura anterior.

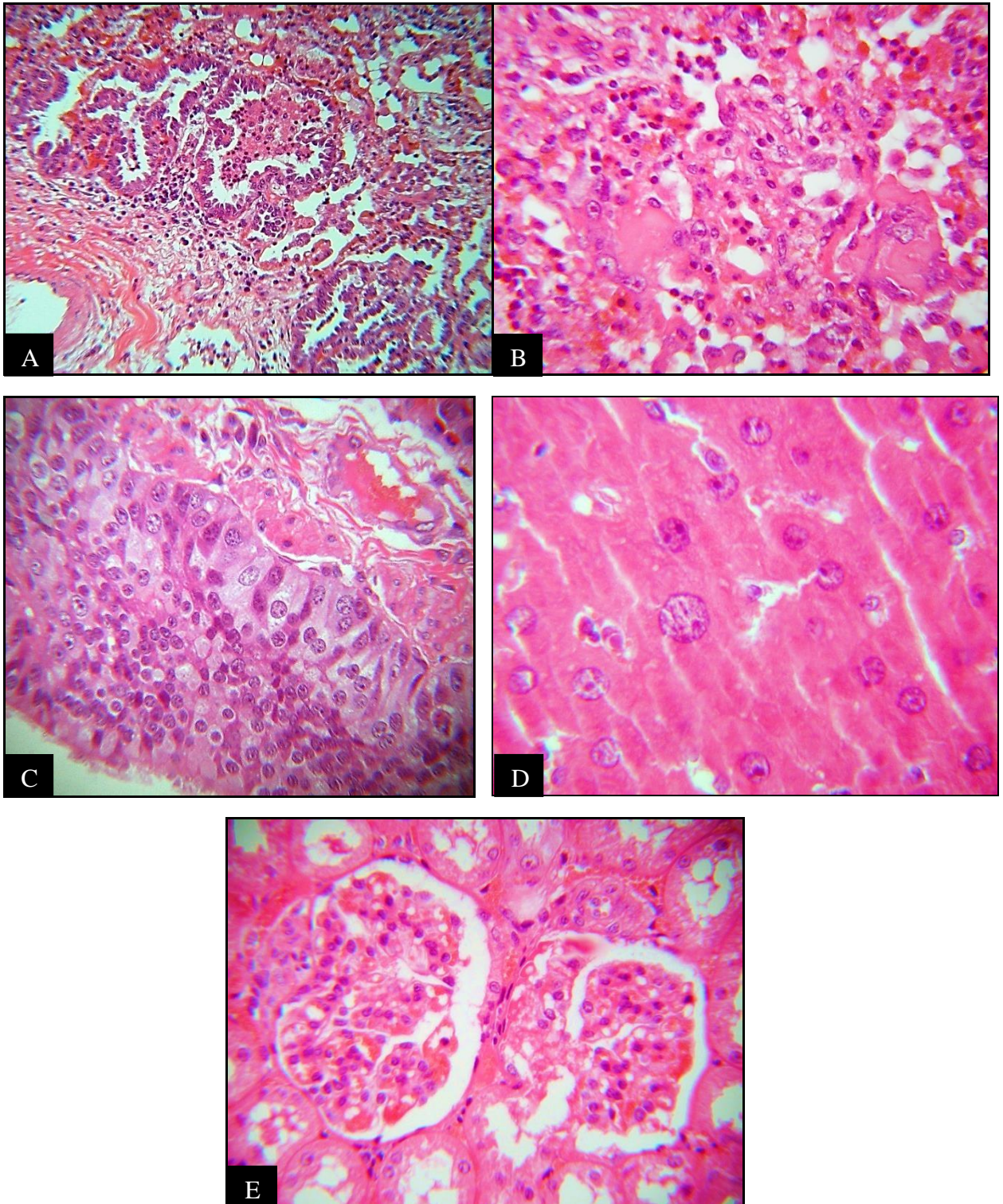


Figura 5. Caprino 3. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/35 dias). (A) Pulmão com focos de epitelição (hiperplasia de pneumócitos tipo II). HE, obj. 16x. (B) Pulmão com infiltração por macrófagos alveolares e células multinucleadas bizarras em meio a infiltrado inflamatório por polimorfonuclear. HE, obj. 25x. (C) Pulmão com hiperplasia do epitélio dos bronquíolos. HE, obj. 40x. (D) Megalocitose de hepatócitos. HE, obj. 40x. (E) Rim com ativação de células mesangiais. HE, obj. 40x.

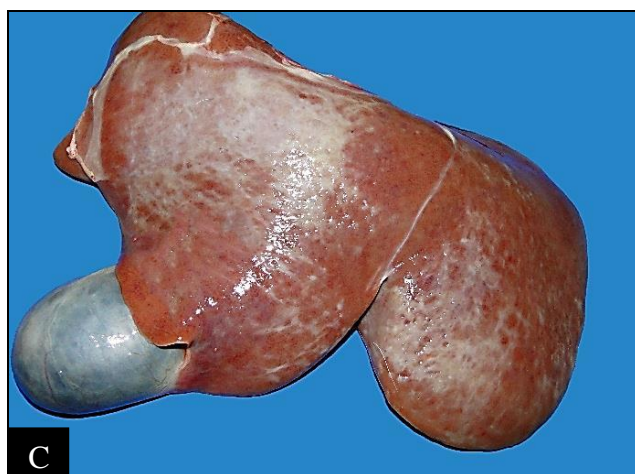


Figura 6. Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). (A) Animal com acentuado emagrecimento e apatia. (B) Soro amarelado (à esquerda) em comparação com o soro de um caprino que não ingeriu *Crotalaria spectabilis* (à direita). (C) Fígado com áreas esbranquiçadas distribuídas difusamente pelo parênquima.

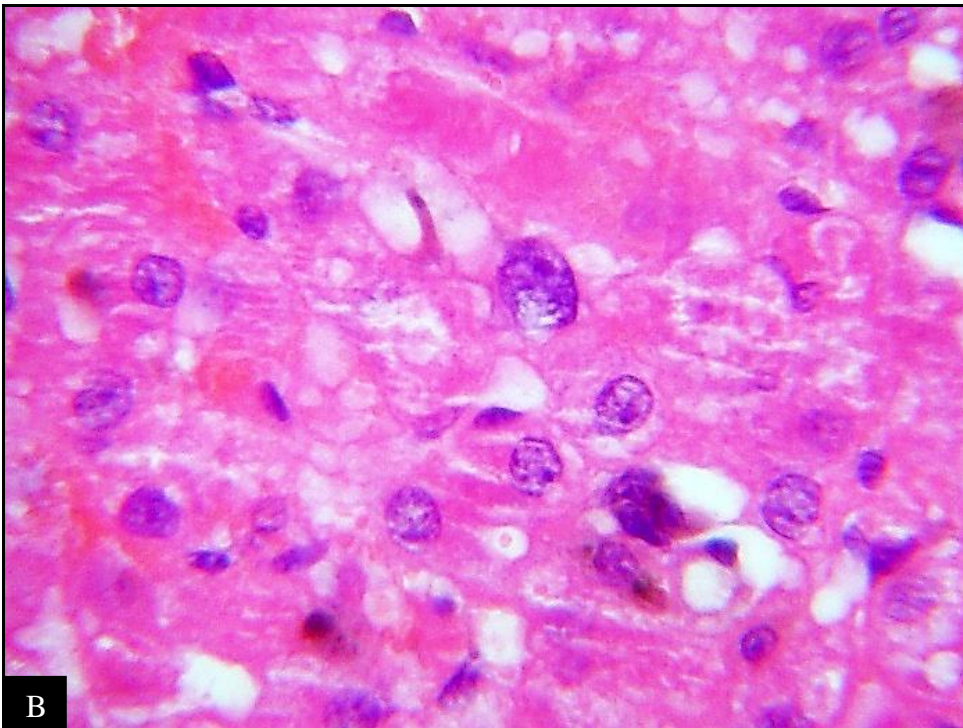
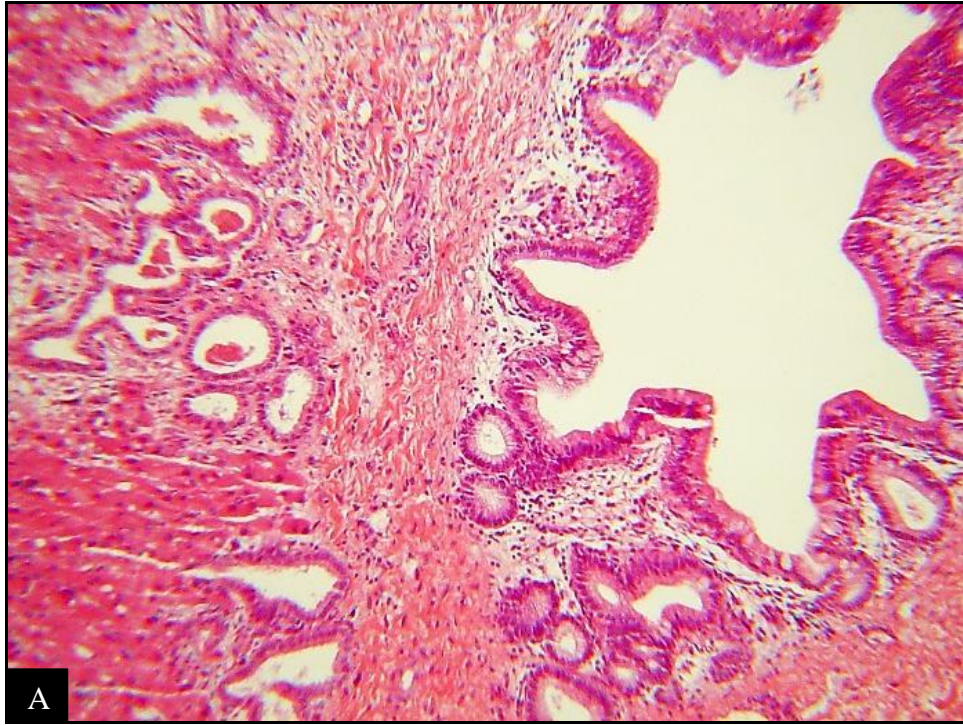


Figura 7. Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). **(A)** Fígado com neoformação e dilatação de ductos biliares. HE, obj. 6,3x. **(B)** Megalocitose e aspecto bizarro de hepatócitos. HE, obj. 40x.

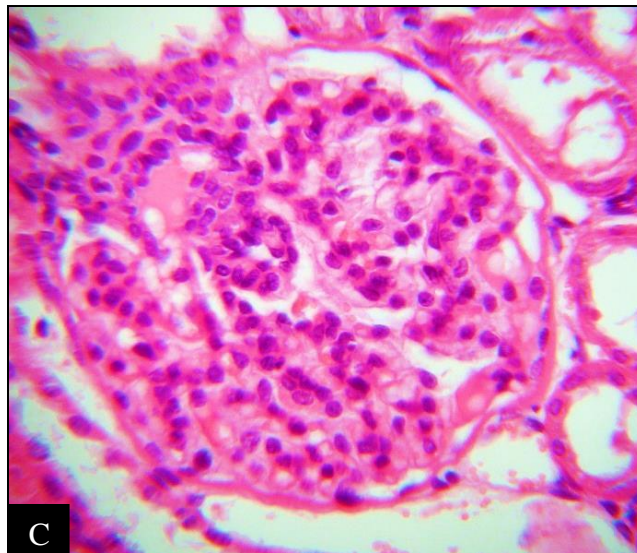
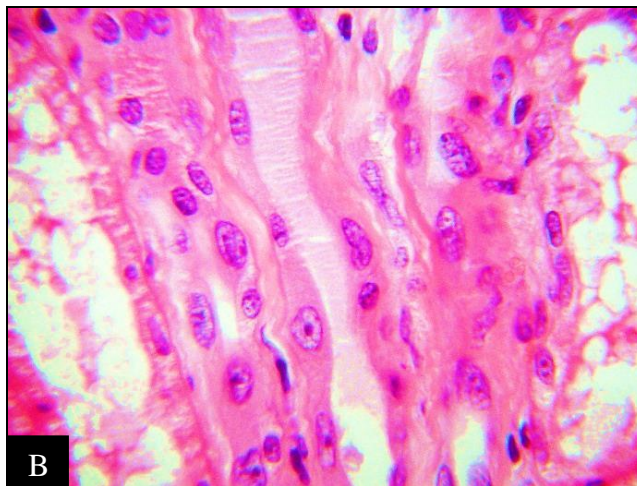
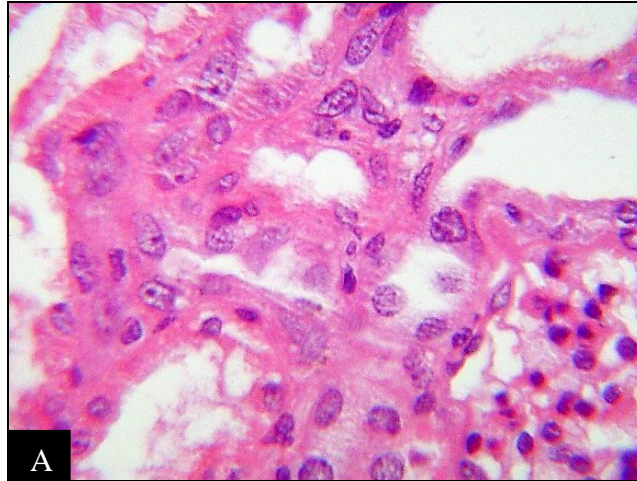


Figura 8. Caprino 4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias). **(A)** Rim com megalocitose e aspecto bizarro das células epiteliais dos túbulos uriníferos. HE, obj. 40x. **(B)** Rim com megalocitose das células epiteliais das alças de Henle. HE, obj. 40x. **(C)** Proliferação e ativação das células mesangiais do rim. HE, obj. 40x.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, nenhum caprino que recebeu doses únicas ou diárias de sementes de *Crotalaria juncea*, desenvolveu sinais clínicos de intoxicação ou alterações significativas no exame bioquímico. Uma exceção foi o Caprino 7, que apresentou aumento significativo, porém, isolado, na concentração de ALP aos 29 dias de ingestão das sementes. Quando esta alteração ocorreu, observou-se que o caprino se encontrava um pouco apático, com as fezes levemente amolecidas e as mucosas discretamente pálidas. Foi então realizado um exame parasitológico de fezes que demonstrou a presença de oocistos de *Eimeria* spp. na amostra analisada. Acredita-se, portanto, que as alterações no exame bioquímico tenham ocorrido em virtude do desafio da eimeriose, e não tiveram nenhuma relação com a ingestão das sementes da planta, já que segundo Freitas et al. (2009), infecções por espécies de *Eimeria* podem levar a aumento nos níveis de ALP e outras enzimas.

Na literatura consultada, observaram-se notáveis discrepâncias no que diz respeito à aceitação, palatibilidade e toxicidade de *C. juncea*. Diversos autores sugerem que a planta não seria tóxica para animais de produção e que devido ao seu alto valor proteico poderia ser usada para suplementar a dieta destes animais (ROMIN; FITT, 1938; PURSEGLOVE, 1981; ROTAR; JOY, 1983; WILLIAMS; MOLYNEUX, 1987). Por outro lado, há autores que afirmam que tanto as folhas quanto as sementes de *C. juncea* são nocivas para bovinos e outras espécies domésticas e desaconselham sua aplicação na alimentação animal (MARTIN; LEONARD; STAMP, 1976).

É possível que esta divergência entre os autores ocorra devido a diferenças climáticas, do solo, do período vegetativo, da variedade de *C. juncea* ou ainda da concentração de APs existente em cada amostra da planta (TORRES et al., 1997)

Os APs observados em maior quantidade nesta espécie de crotalária são o junceine e o trichodesmine, este último um composto que pertence ao subgrupo da MCT (ADANS; GIANTURCO, 1995). No entanto, como já comentado anteriormente, pode haver uma considerável variação na concentração de alcaloides em cada amostra da planta. No estudo realizado por Ji et al. (2005) a quantidade de APs encontrados em *C. juncea* variou entre 0,82 e 3,8 mMol/g, enquanto que a concentração destas mesmas substâncias apresentou uma média de 60mMol/g para *C. spectabilis*.

Apesar desta variação, a concentração de APs presentes em *C. juncea* em geral é baixa. Adams e Gianturco (1956) encontraram apenas 0,003% de alcaloides nas sementes

desta planta, enquanto que no trabalho de Williams e Molineux (1987) esta concentração foi de 0,02%, o percentual mais baixo entre as espécies de crotalária estudadas. Yan, Cooper e Huxtable (1995) apontam que o trichosdemine presente em *C. juncea* pode ser até seis vezes mais tóxico que a MCT encontrada em *C. spectabilis* e *C. retusa*, mas como está presente em quantidades infinitamente menores, não causa os mesmos prejuízos.

Estes resultados sugerem que *C. juncea*, ao contrário de outras espécies de crotalária mais tóxicas, como *C. spectabilis* e *C. retusa*, não leva a quadros de intoxicação aguda e que apenas traria problemas se fosse ingerida em grandes quantidades e por um longo período de tempo (MOSJIDIS; BURKE; HESS, 2012). Tais observações estão de acordo com o que foi observado no nosso estudo, uma vez que nem os caprinos que receberam doses altas de sementes da planta por um curto período de tempo (10 e 20g/kg em dose única), nem os animais que receberam doses pequenas diárias de sementes da planta por um longo período de tempo (2g/kg por 60 dias) desenvolveram quadros clínicos ou bioquímicos de intoxicação.

Os experimentos de Pessoa et al. (2013) reiteram parcialmente estes achados. Neste estudo, três jumentos que receberam pequenas doses de 1g/kg, 0,6g/kg e 0,3 g/kg de sementes de *C. juncea* durante 365 dias não apresentaram qualquer sinal de intoxicação, enquanto que outros dois animais que receberam doses maiores de 5g/kg e 3g/kg de sementes da planta por 48 e 83 dias respectivamente desenvolveram sinais respiratórios e lesões macro e microscópicas pulmonares. De maneira semelhante, o surto de intoxicação natural por *C. juncea* em equinos relatado por Nobre, Dagll e Haraguchi (1994) ocorreu após estes animais terem sido alimentados com uma dieta composta de 60% de milho triturado e 40% de sementes trituradas da planta durante 30 a 60 dias, logo uma dose alta da crotalária por um período de tempo relativamente prolongado. Nesse surto, além da dose alta, as sementes eram trituradas e administradas, o que favorece uma maior biodisponibilidade, do que quando as sementes são ingeridas inteiras. Estes mesmos autores sugeriram que a dose ingerida e a espécie animal seriam os principais fatores relacionados à toxidez de *C. juncea*, o que também está de acordo com os nossos estudos, já que os caprinos são considerados a espécie mais resistente aos efeitos dos APs presentes nestas plantas e conseqüentemente poderiam ingerir quantidades maiores das mesmas sem adoecer (HOOPER, 1978). É interessante ressaltar que durante os experimentos do presente estudo, os caprinos que receberam *C. juncea* aceitaram as sementes da planta a com muito mais facilidade, chegando, inclusive a ingeri-la prontamente, quando comparados àqueles animais que receberam doses de *C. spectabilis*, o que sugere que *C. juncea* é uma espécie mais palatável e que os caprinos poderiam consumi-

la com mais facilidade em condições naturais. Esta suposição é compatível com o que foi observado por Vandoni (1952) em coelhos, ao constatar que *C. juncea* é palatável para esta espécie.

Por outro lado, verificamos que caprinos são susceptíveis à intoxicação por *C. spectabilis* e que podem desenvolver tanto quadros agudos quanto crônicos desta intoxicação, a depender da dose e período de tempo de ingestão.

A toxidez do gênero *Crotalaria* está relacionada à concentração dos APs nele presentes, o que por sua vez, determina a natureza aguda ou crônica da intoxicação. O principal encontrado na *C. spectabilis* é a MCT, que pode ser vista em todas as partes da planta, mas está presente em maior quantidade nas suas sementes (JOHSON; MOLINEUX; MERRIL, 1985). Neste sentido, *C. spectabilis* é tida como a mais tóxica do gênero, uma vez que a concentração de MCT nas suas sementes é a maior dentre todas as crotalárias já estudadas (WILLIANS; MOLINEUX, 1987).

Uma série de fatores pode influenciar a susceptibilidade da intoxicação por APs, tais como espécie animal, raça, sexo, idade e estado fisiológico, nutricional e bioquímico do animal (STEGELMEIER, 2011). De uma forma geral, filhotes e recém-nascidos são mais sensíveis do que animais adultos. No estudo de Peckham, Sangster e Jones (1974), a idade dos suínos experimentais influenciou de maneira significativa a gravidade das lesões causadas por *C. spectabilis*, de modo que leitões desmamados foram mais severamente afetados e apresentaram uma taxa de mortalidade maior quando comparados a suínos com peso próximo do abate (100kg). De maneira semelhante, animais mal nutridos e submetidos a situações de estresse excessivo e prolongado costumam ser mais propensos a se intoxicar (STEGELMEIER, 2011). No nosso estudo, todos os animais eram adultos jovens e hígidos, de modo a eliminar fatores que pudessem vir a influenciar os resultados.

Caprinos, de maneira semelhante aos ovinos, são altamente resistentes à ação dos APs presentes nas espécies de *Crotalaria*; esta resistência está diretamente relacionada à maior capacidade de detoxificação pelas enzimas hepáticas, assim como a uma maior biotransformação do princípio tóxico pelas bactérias do rúmen (CHEEKE, 1988). No entanto, fica claro pelos nossos estudos que as crotalárias ricas em APs, como é o caso de *C. spectabilis*, podem desencadear quadros de intoxicação em caprinos se estiverem presentes na dieta em grandes quantidades ou se forem ingeridas por longos períodos de tempo. Em nossos experimentos, fomos capazes de reproduzir um quadro de intoxicação aguda pela administração de uma dose única de 20g/kg de sementes de *C. spectabilis* e quadros de

intoxicação crônica pela administração de doses diárias de 2g/kg de sementes da planta por 35 e 150 dias, o que evidencia a sensibilidade dos caprinos à toxidez desta crotalária.

Os experimentos de Anjos et al. (2010) mostraram que ovinos são altamente susceptíveis à intoxicação aguda por MCT pela administração de uma dose única de 3g/kg de sementes de *C. retusa*, mas que se tornam altamente resistentes ao receberem dose diárias de 2g/kg de sementes da planta por 70 dias, o que sugere que estes animais poderiam ser utilizados para o controle biológico de *C. retusa*. Estes resultados não foram semelhantes ao encontrados nos nossos estudos, uma vez que o caprino que foi tratado com doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* por 35 dias morreu naturalmente e apresentou sinais de intoxicação crônica. A diferença na dose necessária para induzir intoxicação aguda observada entre o nosso experimento e o de Anjos et al. (2010) poderia ser explicada pela via de administração da planta. Enquanto que em nosso trabalho, todas as doses foram administradas por via oral, numa tentativa de simular os eventos da ingestão natural da forma mais precisa possível, as doses únicas do trabalho destes autores foram administradas com o auxílio de uma sonda gástrica, que pode ter acelerado o processo metabólico dos APs, já que segundo Stegelmeier (2011), o modo de exposição ao princípio tóxico é um dos fatores que interferem na susceptibilidade da intoxicação por estas substâncias.

Riet-Correa et al. (2011) observaram que ovinos sobreviventes a um surto de intoxicação natural aguda por *C. retusa* se tornaram resistentes a novas exposições e foram capazes de controlar a planta em um período de três anos, sem adoecer durante o processo. Com isso, os autores sugeriram que, nestas circunstâncias, os ovinos poderiam ser utilizados para o controle biológico de *C. retusa*, porém, com algumas ressalvas. Os animais teriam que ser introduzidos em pastos infestados com a planta nas fases em que a mesma não estivesse produzindo sementes, para que desta forma os ovinos pudessem passar por um período de adaptação antes de serem expostos à planta madura, que é muito mais tóxica. Os autores apontam ainda que este modelo biológico poderia ser aplicado a outras crotalárias que possuam a MCT como alcaloide principal, como é o caso da *C. spectabilis*. Apesar de não ter sido possível descartar esta hipótese em nossos experimentos, com relação à *C. spectabilis* esta técnica não seria muito eficiente, uma vez que as sementes utilizadas em larga escala para adubação verde, que se misturam às plantações de milho, arroz e outros vegetais, podem se espalhar indevidamente e contaminar pastagens, o que é um dos principais fatores de risco relacionados à intoxicação por esta planta nas espécies domésticas.

Recentemente, Maia et al. (2014) observaram que a indução da resistência dos ovinos à intoxicação por *C. retusa* através da administração de pequenas doses diárias de sementes da planta tem duração limitada, entre 7 e 15 dias após suspensa a exposição a doses não tóxicas, de modo que a eficiência desta técnica seria condicionada ao contato contínuo dos animais com a planta. Os autores atribuíram esta rápida perda de resistência pelo fato de xenobióticos, como é o caso dos APs, serem capazes de induzir a processos de detoxificação no fígado, mas perderem este efeito adaptativo rapidamente depois de cessada a exposição.

Resultados semelhantes foram obtidos com a indução da resistência de ovinos à intoxicação por espécies de *Senecio*. Grecco et al. (2012) observaram que animais que recebiam doses diárias de 15g/kg de folhas e talos da planta, seguido de doses diárias de 30g/kg durante 10 dias desenvolviam resistência aos efeitos da planta, mas que esta resistência desaparecia rapidamente 15 dias após suspensa a administração. A explicação proposta para este fenômeno foi que a injúria provocada pelos APs fez com que os hepatócitos passassem por uma série de alterações benéficas em seu metabolismo de reparação e detoxificação com o objetivo de restaurar a homeostasia do funcionamento hepático. Dessa forma, se o estímulo é removido, os hepatócitos retornam ao seu estado fisiológico anterior, pelo decréscimo de proteínas específicas, e há degradação lisossomal de enzimas adaptadas. Em consequência, no momento do desafio, os animais não conseguem detoxificar a carga excessiva de APs e se intoxicam.

É descrito que a intoxicação aguda por *Crotalaria* spp. ocorre após a ingestão de doses altas da planta em um curto período de tempo e se manifesta poucos dias após a exposição (EMMEL; SANDERS, 1942). Estes dados estão de acordo com os nossos estudos, uma vez que o Caprino 2 desenvolveu um quadro de intoxicação aguda após receber uma dose única de 20g/kg de sementes de *C. spectabilis*. Este tipo de intoxicação não é frequente sob condições naturais, mas pode ocorrer se os animais tiverem acesso a uma grande quantidade da planta em períodos de seca e escassez de alimentos, quando não houver outra forragem disponível (NOBRE et al., 2005).

Os achados clínicos, macro e microscópicos do **Caprino 2** na intoxicação experimental por *C. spectabilis* foram compatíveis com o que já havia sido relatado na intoxicação natural e experimental por *C. spectabilis* em suínos (TORRES et al., 1997; UBIALI et al., 2011) e na intoxicação natural e experimental de caprinos e ovinos por *C. retusa* (ANJOS et al., 2010; NOBRE et al., 2005; RIET-CORREA et al., 2011; MAIA et al., 2013). Nestes trabalhos, os principais achados macroscópicos foram o fígado aumentado de

volume, com coloração avermelhada e marcada evidenciação do padrão lobular, tanto na superfície quanto ao corte, e vesícula biliar edemaciada e aumentada de volume. Em caprinos e ovinos também podem ser observadas hemorragias na forma de petéquias e equimoses no pericárdio, endocárdio e miocárdio, e eventualmente em outros tecidos como subcutâneo, musculatura e membranas serosas. Em todas as espécies citadas, é comum o aparecimento de derrames cavitários, como hidroperitônio, hidrotórax e hidropericárdio, porém, estes achados não foram observados no Caprino 2.

Microscopicamente, a lesão observada com mais frequência é uma necrose coagulativa hemorrágica centrolobular, por vezes com hepatócitos tumefeitos e vacuolizados circundando as áreas necróticas. O Caprino 2 desse estudo apresentou ainda lesões microscópicas renais caracterizadas por vacuolização e picnose das células epiteliais dos túbulos uriníferos. As principais alterações observadas nos rins em casos de intoxicação por APs são lesões tubulares e glomerulonefrite (HOOPER, 1978), porém, na literatura consultada, não foram encontrados relatos de lesões renais associadas à intoxicação aguda por *Crotalaria*.

O **Caprino 3**, que recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* por 35 dias desenvolveu um quadro de intoxicação crônica com predominância de lesões pulmonares, caracterizadas por pneumonia intersticial, além de lesões hepáticas e renais menos proeminentes. Embora os APs sejam predominantemente hepatotóxicos, é descrito que nas intoxicações crônicas outros órgãos podem ser afetados, principalmente pulmões e rins (HATAYDE et al., 2008). Há inclusive relatos de ratos que receberam MCT e desenvolveram lesões pulmonares antes das alterações hepáticas (ROTH et al., 1981).

As lesões pulmonares na intoxicação por *Crotalaria* spp. podem se apresentar na forma de alterações vasculares e reações do interstício; o quadro é característico de uma pneumonia intersticial associada a edema e congestão, com áreas consolidadas no parênquima, hemorragia, fibrose e epitelização. Outras lesões incluem hipertrofia da túnica média das arteríolas, e em alguns casos, infiltração por macrófagos alveolares (LALICH; MERKOL, 1961; HOOPER, 1978). Lesões pulmonares semelhantes às observadas no Caprino 3 desse estudo foram vistas em suínos intoxicados experimentalmente por sementes de *C. spectabilis* que apresentaram os pulmões vermelhos, mais firmes à palpação, com os septos interlobulares evidentes; ao corte havia áreas esbranquiçadas intercaladas por áreas avermelhadas. Microscopicamente nestes animais havia graus variados de espessamento dos septos alveolares, edema, congestão, hemorragia, fibrose, proliferação de pneumócitos tipo II, infiltrado linfocitário e neutrocitário, células em megalocitose, além de alterações vasculares

caracterizadas por tumefação das células endoteliais da adventícia (SOUZA; HATAYDE; BECHARA, 1997).

As lesões pulmonares observadas no Caprino 3 devem ser diferenciadas de outras condições que causam pneumonia nesta espécie, como a artrite encefalite caprina (CAEV), infecção por *Mannheimia* spp. e micoplasmoses, que apesar de levar a quadros parecidos, apresentam lesões distintas.

Na infecção pelo vírus da CAEV, os pulmões não colapsam totalmente quando se abre a cavidade torácica, são firmes ao tato, se apresentam com uma aparência acinzentada e nota-se a presença de focos branco-acinzentados de 1-2mm de diâmetro distribuídos pelo tecido pulmonar. À histologia observa-se infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, organizado em folículos volumosos, primariamente linfóides. A maioria dos alvéolos pulmonares encontra-se revestida por pneumócitos tipo II hiperplásicos, com presença de fluido de natureza protéica no lúmen (RIET-CORREA et al., 2001).

Mannheimia haemolytica é considerado um dos principais patógenos respiratórios de ruminantes domésticos e pode causar pneumonia grave e morte em bovinos, ovinos e caprinos, especialmente em animais mais jovens. A infecção pulmonar aguda por esta bactéria é caracterizada por uma resposta inflamatória fibrinossupurativa e necrótica, e as lesões macroscópicas e histológicas são compatíveis com broncopneumonia fibrinosa ou pneumonia lobar (ARAÚJO; COSTA; ECCO, 2009).

A forma pulmonar da micoplasmose em pequenos ruminantes é conhecida como pleuropneumonia contagiosa dos caprinos, que pode ser causada por várias espécies de *Mycoplasma* spp. A doença aguda ocorre com mais frequência em rebanhos não acometidos, de áreas recentemente afetadas; animais de todas as idades e sexos podem se infectar. As lesões são caracterizadas por pleuropneumonia, normalmente com a ocorrência de consolidação unilateral, pleurite e acúmulo de líquido pleural. À microscopia observam-se infiltrados serofibrinosos com presença de células inflamatórias, principalmente neutrófilos, nos bronquíolos, brônquios, septo intersticial e tecido conjuntivo subpleural. Edemas intra e interlobulares, bem como infiltrado inflamatório mononuclear também podem estar presentes (NICHOLAS, 2002).

O **caprino 4** recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* por 150 dias e desenvolveu intoxicação crônica com alterações clínicas, macro e microscópicas características de um quadro de insuficiência hepática. Cheeke (1988) sugeriu que a intoxicação crônica por APs poderia ser causada tanto pela ingestão de pequenas doses

repetidas quanto pela ingestão de uma dose única alta, e que em ambos os casos, haveria uma predominância de lesões hepáticas crônicas, e eventual envolvimento de outros órgãos.

As lesões hepáticas, macro e microscópicas observadas no Caprino 4 foram semelhantes às descritas na intoxicação experimental crônica de suínos por *C. spectabilis* (SOUZA; HATAYDE; BECHARA, 1997; TORRES et al., 1997) e na intoxicação crônica natural e experimental de ovinos por *C. retusa* (NOBRE et al., 2005; ANJOS et al., 2010; RIET-CORREA et al., 2011). Segundo estes autores, à necropsia, o fígado pode se apresentar diminuído, firme ao corte, com a cápsula espessada e com aderência fibrosa entre os lobos. Em alguns casos notam-se áreas avermelhadas entremeadas por áreas esbranquiçadas na superfície hepática, em outros o padrão de coloração é vermelho alaranjado e moteado com áreas marrons claras e vermelhas. Em estágios mais avançados da doença, pode-se observar ainda a presença de diversos nódulos amarelados distribuídos difusamente pelo parênquima, indicativo de cirrose hepática. Histologicamente, as descrições das lesões hepáticas não diferem muito entre os autores e são caracterizadas por graus variados de fibrose, principalmente periportal, proliferação de ductos biliares, megalocitose, áreas de vacuolização, infiltrado inflamatório mononuclear ou neutrocitário, bilestase e espessamento da cápsula hepática.

No Caprino 4 dos nossos experimentos não foi observado um grau significativo de fibrose hepática nos cortes histológicos, uma das alterações descritas com mais frequência na intoxicação crônica por *Crotalaria* spp., e nós acreditamos que isso tenha acontecido devido ao estágio da lesão. Os metabólitos tóxicos dos APs promovem um elo cruzado do DNA de cadeia dupla e causam um efeito antimitótico nos hepatócitos, de modo que estas células não conseguem se dividir e frequentemente se transformam em megalócitos. À medida que os hepatócitos morrem, são substituídos por tecido conjuntivo, o que em estágios avançados leva à fibrose (SMITH, 2006).

O Caprino 4 apresentou ainda lesões histológicas renais proeminentes que consistiam de megalocitose e aspecto bizarro de células epiteliais dos túbulos uriníferos, hiperplasia das células mesangiais e ativação das células da cápsula de Bowman. Segundo Hooper (1978) a principal alteração renal causada pela intoxicação por APs é uma megalocitose das células epiteliais dos túbulos proximais e das alças de Henle, e que em alguns casos, os glomerulos também podem estar severamente afetados, com lesões tanto nas suas células epiteliais quanto endoteliais. Alterações semelhantes foram descritas em suínos intoxicados experimentalmente

com sementes de *C. spectabilis* (SOUZA; HATAYDE; BECHARA, 1997; TORRES et al., 1997).

Nos nossos estudos houve uma diferença significativa no que diz respeito ao início dos sinais clínicos, evolução e lesões observadas nos dois caprinos que desenvolveram quadros de intoxicação crônica e que recebiam a mesma dose diária de sementes de *C. spectabilis*, o que pode ser atribuído à resistência individual de cada animal, uma vez que este é um dos fatores que podem influenciar significativamente na susceptibilidade à intoxicação por APs (STEGELMEIER, 2011).

O Caprino 2 não apresentou alterações dignas de nota no **exame bioquímico**, enquanto que os Caprinos 3 e 4 desenvolveram alterações transitórias nos valores de AST, ALP, GGT, proteína total, ureia e bilirrubina (total e direta). É descrito que a intoxicação aguda por APs pode levar a aumento massivo das concentrações de AST, ALP, GGT e bilirrubina, porém, deve-se levar em consideração que em casos de necrose hepática aguda, estes valores podem variar com o tempo de evolução e etiologia da doença, de modo que nem sempre os níveis enzimáticos estão relacionados com a gravidade do processo e valores normais não são definitivos para se descartar a presença de lesões (LOVESIO, 2001; STEGELMEIER, 2011).

Na intoxicação crônica por APs é comum que os animais não apresentem sinais clínicos no início do quadro, mas desenvolvam alterações transitórias nas concentrações de enzimas hepáticas, de forma semelhante ao observado nos dois caprinos intoxicados cronicamente nos nossos experimentos (STEGELMEIER, 2011). Isso acontece porque em processos mais crônicos da insuficiência hepática pode não haver mais tecido suficiente para liberar as enzimas, o que acaba eliminando as alterações nos exames bioquímicos (KERR, 2003).

O **teste de germinação a campo** foi encerrado após três meses da dispersão das sementes no solo devido ao fato de que as sementes das leguminosas forrageiras germinam de forma gradativa, pois possuem mecanismos fisiológicos adaptativos que evitam a germinação da maioria das sementes num curto espaço de tempo (IZHAKI; NE'MAN, 1997). Das duas espécies de crotalária, apenas *C. spectabilis* germinou no teste de campo. Mesmo assim, de todas as amostras fecais dispersas no campo, apenas seis sementes de *C. spectabilis* germinaram e produziram plântulas saudáveis e que se transformaram em plantas adultas. Para uma semente aparecer viável nas fezes dos ruminantes, ela deve escapar ilesa quando a digesta ruminal voltar à boca para ser ruminada; isso é garantido quando a semente é

minúscula ou quando a mesma possui uma considerável dureza de seu tegumento. Outro fator responsável pelo aparecimento de sementes viáveis nas fezes é o seu rápido escape do rúmen para o intestino delgado; isso é verificado quando a semente for muito pequena, ao ponto de fluir facilmente pelo orifício retículo-omasal (ORO) do animal e quando a semente for muito pesada, o que favorece sua disposição espacial perto do ORO (JONES; SIMÃO NETO 1987; SIMÃO NETO; JONES, 1987). Provavelmente *C. spectabilis* possui essas características acima descritas e *C. juncea* não, o que acaba se tornando outro fator importante para a disseminação das sementes desta espécie nas pastagens e ambiente, uma vez que um dos principais fatores que afetam o recrutamento de plantas é justamente a dispersão das suas sementes (WENNY; LEVEY, 1998).

6 CONCLUSÕES

- Caprinos que recebem doses altas únicas de 10g/kg e 20g/kg, e doses diárias de 2g/kg por 60 dias de sementes de *Crotalaria. juncea* não desenvolvem quadros de intoxicação;
- Caprinos são susceptíveis à intoxicação por *Crotalaria. spectabilis* e podem desenvolver tanto quadros agudos quanto crônicos desta intoxicação;
- Em caprinos, a intoxicação aguda por *C. spectabilis* é induzida pela administração de uma dose única alta de sementes da planta e a crônica pela ingestão de doses pequenas diárias por longos períodos de tempo;
- Não se recomenda o uso de caprinos como medida profilática da intoxicação por *C. spectabilis* devido ao risco destes animais adoecerem;
- Pode se recomendar o uso de caprinos como medida profilática na intoxicação por *C. juncea*, especialmente quando esta crotalária for usada na adubação verde, o que minimizaria os riscos de intoxicação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.; GIANTURCO, M. The alkaloids of *Crotalaria juncea*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 9, p. 1919-1921, 1956.
- ANJOS, B. L. et al. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. **Toxicon**, v. 55, n. 1, p. 28-32, 2010.
- ARAÚJO, M. R.; COSTA, M. C.; ECCO, R. *Mannheimia haemolytica* em ovinos de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 9, p. 719-724, 2009.
- BARBOSA, J. D. et al. Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 4, p. 167-172, 2003.
- BARROS, C. L. S. et al. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Compositae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 55-67, 1989.
- BELLODI, C. **Intoxicação experimental de cães com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae)**. 2010. 74 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, 2010.
- BURKE, J. M. et al. Sunn hemp with chicory or pearl millet to minimize gastrointestinal nematode infection in weaned goats. **Journal of Animal Sciences**, v. 89, p. 17-18, 2011.
- CARVALHO, G. D.; BRAGANÇA, H. B. N.; PORFÍRIO, L. C. Principias plantas tóxicas causadoras de morte súbita em bovinos no estado do Espírito Santo – Brasil. **Arquivos de Zootecnia**, v. 58, p. 87-98, 2009.
- CHAUDHURY, J.; SINGH, D. P.; HAZRA, S. K. Sunn hemp. **Central Research Institute for jute and allied (ICAR)**. 1978. Disponível em: <<http://assamagribusiness.nic.in/sunnhemp.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2014.
- CHEECKE, P. R. **Natural toxicants in feeds, forages and poisonous plants**. 2. ed. Danville: Interstate Publishers, 1998. 479 p.
- CHEEKE, P. P. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2243-2350, 1988.
- CHEEKE, P. R.; GARMAN, G. R. Influence of dietary protein and sulfur amino acid levels on the toxicity of *Senecio jacobaea* (Tansy Ragwort) to rats. **Nutrition Reports International**, v. 9, p. 197-207, 1974.
- CLARKE, E. C. G.; CLARKE, M. L. **Garner's Veterinary Toxicology**. 3. ed. Baillière: Tindall and Cassel, 1967. 477 p.
- COOPLE, B. L.; GANEY, P. E.; ROTH, R. A. Liver inflammation during monocrotaline hepatotoxicity. **Toxicology**, v. 190, n. 3, p. 155-169, 2003.

- COSTA, M. B. B. **Adubação verde no Sul do Brasil**. Rio de Janeiro: ASPTA, 1993. 346 p.
- DANTAS, A. F. M. et al. Swainsonine-induced lysosomal storage disease in goats caused by the ingestion of *Turbina cordata* in Northeastern Brazil. **Toxicon**, v. 49, p. 111-116, 2007.
- DEINZER, M. L. et al. Pyrrolizidine alkaloids: Their occurrence in honey from tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.). **Science**, v.190, p. 497-499, 1977.
- DICKINSON, J. O.; COOKE, M. P.; MOHAMED, P. A. Milk transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 169, n. 2, p. 1192-1196, 1976.
- DOLLAHITE, J. W. The use of sheep and goats to control *Senecio* poisoning in cattle. **South Veterinary**, v. 25, n. 3, p. 223-226, 1972.
- EMMEL, M. V.; SANDERS, D. A. *Crotalaria spectabilis* and *C. retusa* poisoning of livestock. **Florida Agricultural Experiment Station**, v. 574, p. 1-3, 1942.
- ESTIMA-SILVA, P. et al. Indução de resistência à intoxicação por *Senecio brasiliensis* em ovinos. In: ENPOS- I AMOSTRA CIENTÍFICA, 11., 2009, Pelotas. **Anais...** Pelotas, 2009.
- FLETCHER, M. T et al. Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria taxa* from Northern Australia: risk to grazing livestock. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 57, p. 311-319, 2009.
- FLORES, A. S.; MIOTTO, S. T. S. Aspectos fitogeográficos das espécies de *Crotalaria* L. (Leguminosae-Faboideae) na região Sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, p. 245-249, 2005.
- FREITAS, F. L. C. et al. Aspectos anatomopatológicos e bioquímicos da coccidiose hepática em coelho. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 2, p. 125-155, 2009.
- FU, P. P. et al. Pyrrolizidine alkaloids tumorigenic components in Chinese herbal medicines and dietary supplements. **Journal of Food and Drugs Analysis**, v. 10, n. 4, p. 198-211, 2002.
- GRECCO, F. B. et al. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência a intoxicação. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 912-916, 2012.
- GROSH, T. K. et al. A note on the use of sunhemp (*Crotalaria juncea*) seeds in the feeding of goats. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 215-216, 1990.
- HATAYDE, M. R. et al. Estudo experimental sobre a intoxicação de *Gallus gallus domesticus* com sementes de *Crotalaria spectabilis*. I – Efeito em aves na fase inicial de crescimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, p. 332-336, 1997.
- HATAYDE, M. R. et al. Efeitos da ingestão de sementes de *Crotalaria spectabilis* sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras. **Veterinária Notícias**, v. 14, n. 2, p. 19-28, 2008.

HOOPER, P. T. Pyrrolizidine alkaloid poisoning - Pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In: KEELER, R.; VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L. F. **Effects of poisonous plants on livestock**. New York: Academic Press, 1978. cap. s/n, p. 600.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**. 2014. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://ibge.gov.br>>. Acesso em 26 nov 2014.

IZHAKI, I.; NE'EMAN, G. Hares (*Lepus* spp.) as seeds dispersers of *Retama raetam* (Fabracea) in a sandy landscape. **Journal of Arid Environments**, v. 37, p. 343-354, 1997.

JI, X. et al. Variability for the presence of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria juncea* L. **Pharmazie**, v. 60, n. 8, p. 620-622, 2005.

JOHSON, A. E.; MOLYNEUX, R. J.; MERRIL, G. B. Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine, alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 50-55, 1985.

JONES, R. M.; SIMÃO NETO, M. Recovery of pasture seed ingest by ruminants. 3. The effects of the amount of seed in the diet and of diet quality on seed recovery from sheep. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 27, p. 253-256, 1987.

JONES, T. C.; HUNT, R. D. **Veterinary Pathology**. 6 ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 1997. 1792 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: Gulf Professional Publishing, 1997. 932 p.

KARAM, F. C.; MORAES, J. C. F.; SCHILD, A. L. Controle de *Senecio* spp. com pastoreio ovino de acordo com sua infestação e fenologia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 9, p. 1109-1115, 2013.

KEELER, R. F.; VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L. F. **Effects of poisonous plants on livestock**. New York: Academic Press, 1978. 600 p.

KERR, M. G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.

LALICH, J. J.; MERKOW, M. S. Pulmonary arteritis produced in rats by feeding *Crotalaria spectabilis*. **Laboratory Investigation**, v. 10, p. 744-750, 1961.

LOGIE, C. G.; GRUE, M. R.; LIDDELL, J. R. NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids. **Phytochemistry**, v. 37, p. 43-109, 1994.

LOPES, O. M. N. ***Crotalaria juncea* L. e *Crotalaria spectabilis* ROTH leguminosas para adubação verde e alimentação animal**. Altamira: Embrapa Amazônia oriental, 2000. 2 p.
LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 624 p.

- LORDELLO, L. G. E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1973. 197 p.
- LOVESIO, C. Insuficiência hepática aguda fulminante. **Libro Virtual Intramed**, 2001. Disponível em: <http://www.enfermeriaintensiva.files.wordpress.com/2011/04/insuficiencia-aguda-hepatica-fulminante-lovesio.pdf>. Acesso em: 12 Dez 2014.
- LUCENA, R. B. et al. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 447-452, 2010.
- MAIA, L. A. et al. Natural and experimental poisoning of goats with the pyrrolizidine alkaloid producing plant *Crotalaria retusa* L. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 5, p. 592-595, 2013.
- MAIA, L. A. et al. Duration of an induced resistance of sheep to acute poisoning by *Crotalaria retusa* seeds. **Ciência Rural**, v. 44, n. 6, p. 1054-1059, 2014.
- MARTIN, J. H.; LEONARD, W. H.; STAMP, D. L. **Principles of field crop production**. 3. ed. New York: Macmillan Publishing Co, 1976. 1118 p.
- MATTOCKS, A. R. **Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids**. New York: Academic Press, 1986. 393 p.
- MEDEIROS, R. M. T.; GÓRNIK, S. L.; GUERRA, J. L. Effects of milk from goat fed *Crotalaria spectabilis* seeds on growing rats. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 2, 1999.
- MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Intoxication by *Senecio tweediei* in cattle in southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 35, n. 1, p. 55, 1993.
- MÉNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. **Plantas tóxicas e micotoxícoses**. 2. ed. Pelotas: Editora e Gráfica universitária, 2008. 298p.
- MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and diagnosis**. 3. ed. Missouri: W. B. Saunders, 2004. 351 p.
- MIRANDA, C. L. et al. Toxicity of *Senecio jacobaea* (Tansy Ragwort) in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 56, p. 431-442, 1980.
- MONQUEIRO, P. A. et al. Efeito de adubos verdes na supressão de espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 85-89, 2009.
- MOREIRA, J. A. A. et al. Espaçamento de *Crotalaria juncea* L. no controle de plantas daninhas visando o cultivo subsequente do milho orgânico no sistema de plantio direto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS NA ERA DA BIOTECNOLOGIA, 18., 2012, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SPCPD, 2012. p. 781-785.
- MOSJIDIS, J. A.; WANG, M. L. *Crotalaria*. In: KOLE, C. **Wild crop relatives: Genomic and breeding sources**. Springer-Verlag: Industrial Crops, 2011. p. 63-69.

MOSJIDIS, J. A.; BURKE, J. M.; HESS, J. B. The facts about sunhemp toxicity. **Crop Science**, v. 52, p. 1469-1474, 2012.

NAKAGE, A. P. M. et al. Estudo hematológico e hormonal de frangos de corte tratados com contaminantes do milho: *Crotalaria spectabilis* e *Senna occidentalis*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 5, p. 377-381, 2000.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. **Tropical legumes: Resources for the future**. Washington: National Academy of Science, 1979. 331 p.

NEAL, W. M.; RUSOFF, L. L.; AHMANN, C. F. The isolation and some properties of an alkaloid from *Crotalaria spectabilis* roth. **Journal of the American Chemical Society**, v. 57, p. 2560-2561, 1935.

NICHOLAS, R. A. J. Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. **Small Ruminants Research**, v. 45, n. 2, p. 145-149, 2002.

NOBRE, D.; DAGLL, M. L. Z.; HARAGUCHI, M. *Crotalaria juncea* intoxication in horses. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 36, n. 5, p. 445-448, 1994.

NOBRE, V. M. T. et al. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. **Toxicon**, v. 45, n. 3, p. 347-352, 2005.

PANTER, K. E.; JAMES, L. F. Natural plant toxicants in milk: a review. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 892-904, 1990.

PECKHAM, J. C.; SANGSTER, L. T.; JONES, Jr. O. H. *Crotalaria spectabilis* poisoning in swine. **Journal of the Veterinary Medical Association**, v. 165, p. 633-638, 1974.

PEREIRA, W. A. B. et al. Alterações clínico-patológicas de galinhas poedeiras (*Gallus gallus domesticus*) intoxicadas experimentalmente com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae). **Ars Veterinária**, v. 27, n. 1, p. 45-50, 2011.

PESSOA, C. R. M. et al. Pulmonary and hepatic lesions caused by dehydropyrrolizidine alkaloid-producing plants *Crotalaria juncea* and *Crotalaria retusa* in donkeys. **Toxicon**, v. 71, p. 113-120, 2013.

PIERCY, P. L.; RUSOFF, L. L. *Crotalaria spectabilis* poisoning in Louisiana livestock. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 108, n. 1946, p. 69-72, 1946.

POISONOUS properties of sunn hemp (*Crotalaria juncea*). **Rhodesia Agricultural Journal**, v. 17, 1920. 1 p.

POLHILL, R. M. ***Crotalaria* in Africa and Madagascar**. Rotterdam: A. A. Balkema, 1982. 186 p.

PRAKASH, A. O.; DEHADRAI, S.; JONATHAN, S. Toxicological studies on the ethanolic extract of *Crotalaria juncea* seeds in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 45, n. 3, p. 167-176, 1995.

- PURSEGLOVE, J. W. **Tropical crops: Dicotyledons**. Essex: Longman Group, 1981. 719 p.
- QUIROGA-MADRIGAL, R. R. et al. Nematode populations and enzymatic activity in rhizospheres of tropical legumes in Auburn, Alabama. **Nematropica**, v. 29, n. 129, p. 2000-2017, 1999.
- REDDY, M. R.; MURTY, V. N. Nutritive value of sunhemp hay and its supplementation to paddy straw as a complete feed for cattle. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 42, p. 558-561, 1972.
- REDDY, M. R.; RAO, C. V.; SUBHAN, M. A. Studies on sunhemp meal as a component of poultry feeds. **Indian Veterinary Journal**, v. 48, p. 984-990, 1971.
- REDDY, V. et al. Nutritional evaluation of sunhemp (*Crotalaria juncea*) hay as sole roughage and their use in complete ration for sheep. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v.16, n. 1, p. 38-43, 1999.
- RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2 ed. São Paulo: Varela editora e livraria LTDA, 2001. 1000 p.
- RIET-CORREA, F. et al. Toxic plants for livestock in Brazil: economic impact, toxic species, control measures and public health implications, p. 2-14. In: PANTER, K. E.; WIERENGA, T. L.; PFISER, J. A. **Poisonous plants: global research and solutions**. Wallingford: CAB International, 2007. 568 p.
- RIET-CORREA, F. et al. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. **Toxicon**, v. 58, n. 7, p. 606-609, 2011.
- RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. **Intoxicação por plantas e micotoxícoses em animais domésticos**. Pelotas: Editorial Hemisfério Sul do Brasil, 1993. 340 p.
- RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicação por plantas tóxicas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 38-42, 2001.
- RITCHEY, G. E. et al. *Crotalaria* for forage. Florida: Gainesville, 1941. 361 p.
- RODRIGUES, A. F.; NOBRE, M. T. Intoxicação experimental de asininos por sementes de *Crotalaria retusa* e *Crotalaria juncea*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, 8., 2011, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande, 2011.
- ROMIN, A. E.; FITT, R. H. The feeding of sunhemp hay (*Crotalaria juncea*) as compared with cowpea hay (*Vigna catjang*) in a fattening ration for bullocks. **Rhodesia Agricultural Journal**, v. 35, p. 15-19, 1938.
- ROTAR, P. P.; JOY, R. J. "Tropic Sun" sunn hemp *Crotalaria juncea* L. **Research Extension Series**, v. 36, p. 1-7, 1983.

ROTH, R. A. et al. Effect of monocrotaline ingestion on liver, kidney and lungs of rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 60, p. 193-203, 1981.

RUGGIERI, A. C. et al. Principais plantas tóxicas que afetam bovinos de corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. v. 2. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 1191-1232.

SÁNCHEZ, D. C. C. **Evidências clínico-patológicas de ovinos intoxicados experimentalmente com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae)**. 2011. 50 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2011.

SANDERS, D. A.; SHEALY, A. L.; EMMEL, M. W. The pathology of *Crotalaria spectabilis* ROTH poisoning in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 89, n. 2, p. 150-156, 1936.

SEAWRIGHT, A. A. et al. **Plant toxicology**. Yeerongpilly: Queensland Poisonous Plants Committee, 1984. 664 p.

SILVA, J. A. A.; DANODIO, L. C.; CARLOS, J. A. **Adubação verde em citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. 37 p.

SILVEIRA, P. M.; RAVA, C. A. Utilização de crotalária no controle de nematoides da raiz do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 2 p.

SIMÃO NETO, M.; JONES, R. M. Recovery of pasture seed ingested by ruminants. 2. Digestion of seed *in sacco* and *in vitro*. Recovery of 1987. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 27, p. 247-251, 1987.

SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2006. 1784 p.

SOARES, M. P. et al. Controle biológico de *Senecio* spp. com pastoreio de ovinos. In: II REUNIÓN ARGENTINA DE PATOLOGIA VETERINARIA, 2000, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste, 2000. p. 79.

SOUZA, A. C.; HATAYDE, M. R.; BECHARA, G. H. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 12-18, 1997.

STEGELMEIER, B. L. et al. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 8, p. 95-116, 1999.

STEGELMEIER, B. L. Pyrrolizidine alkaloid- containing toxic plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp.). **Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 2, p. 419-428, 2011.

TOKARNIA, C. H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. 566 p.

TORRES, M. B. A. et al. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em suínos. **Ciência Rural**, v. 27, n. 2, p. 302-307, 1997.

UBIALI, D. G. et. al. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em suínos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 313-318, 2011.

VANDONI, R. Contribuição para o conhecimento de algumas leguminosas como forrageiras – aceitação, palatibilidade e toxidez. In: E. S. A. L. Q., 9, 1952, Piracicaba. **Anais... Piracicaba: USP**, 1952. p. 196-214.

WANG, K. H. B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Management *Rotylenchulus reniformis* in pineapple, *Ananas comosus*, by intercycle cover. **Journal of Nematology**, v. 34, p. 106-114, 2002.

WANG, K. H. B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Suppression of *Rotylenchulus reniformis* by *Crotalaria juncea*, *Brassica napus*, and *Target erecta*. **Nematropica**, v. 31, p. 237-251, 2001.

WANG, P. Y. et al. Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid N-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. **Toxicology Letters**, v. 155, n. 3, p. 411-420, 2005.

WENNY, D. G.; LEVEY, D. J. Directed seed dispersal by bellbirds in a tropical cloud forest. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, v. 95, p. 6204-6207, 1998.

WEST, E.; EMMEL, M. W. **Plants that poison farm animals**. Florida: Gainesville, 1960. 26p.

WILLIAMS, M. C.; MOLYNEUX, R. J. Occurrence, concentration, and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. **Weed Science**, v. 35, p. 476-481, 1987.

YAN, C. C.; COOPER, R. A.; HUXTABLE, R. J. The comparative metabolism of the four pyrrolizidine alkaloids seneciphylline, retrorsine, monocrotaline and trichodesmine in the isolated, perfused, rat liver. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 133, p. 277-284, 1995.

ZHANG, X. L. Toxic components of the seed of *Crotalaria juncea* and their toxicity for pigs. **Journal of Veterinary Science and Technology**, v. 7, p. 13-17, 1985.

ANEXOS

Anexo A: Protocolo dos casos experimentais da intoxicação por *Crotalaria spectabilis* em caprinos

Caprino 1 (Brinco 36), fêmea, Saanen, 3,5 anos, 30kg. Em **8/10/13** animal chegou ao Setor de Anatomia Patológica (SAP). Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em **9/10/13** coletou-se sangue para exame bioquímico. Em **14/10/13** animal passou por um jejum de 24 horas antes do início do experimento. Em **15/10/13** realizada coleta de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. O caprino recebeu 10g/kg (300g) de sementes de *C. spectabilis* em dose única. Por volta das 10:00h foi oferecida as sementes da planta misturada com um pouco de ração de milho e farelo de trigo, sal e água. O animal ingeriu um pouco espontaneamente, mas logo perdeu o interesse e se mostrou relutante. Institui-se então a administração por oral, que terminou por volta das 15:30h. Em **13/11/13** o animal foi devolvido ao setor de Caprinocultura da UFRRJ. Nesse intervalo, o caprino foi observado diariamente e realizaram-se exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. Durante esse período, todos os parâmetros clínicos e bioquímicos permaneceram dentro do padrão de normalidade. O animal continuou a ser observado periodicamente no seu local de origem, até ser vendido cerca de dois meses depois, ainda sem apresentar qualquer sinal clínico de intoxicação.

Caprino 2 (Brinco 249), SAP 32767, fêmea, Saanen, 3 anos, 38,5kg. Em **14/1/14** animal chegou ao SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea e coleta de sangue para exame bioquímico. Em **20/1/14** o animal passou por um jejum de 24 horas antes do início do experimento. Em **21/1/14** foi coletada amostra de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. Por volta das 9:30h o caprino recebeu 20g/kg (770g) de sementes de *C. spectabilis* em dose única. As sementes foram oferecidas misturadas a um pouco de ração de milho e farelo de trigo. O animal ingeriu um pouco espontaneamente, mas logo perdeu o interesse. Institui-se então a ingestão administração por oral. O método foi eficaz durante algum tempo, porém, o caprino começou a ficar relutante, impossibilitando que todo o montante de sementes fosse administrado dessa maneira. O restante da dose foi então moído no liquidificador até a formação de um pó. Esse pó foi misturado com água até ficar com a consistência pastosa, e essa mistura fornecida ao

animal por ingestão oral. A administração terminou por volta das 16:25h. Após a administração das sementes foi fornecido um pouco de feno para o animal, o qual foi bem aceito. Em **22/1/14** o animal comeu feno normalmente pela manhã, mas apenas um pouco de ração. À tarde o caprino se mostrou relutante em ingerir feno. Por volta das 17:30h foi realizado exame clínico; o animal que demonstrou uma leve hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade moderada) e também estava defecando menos. Em **23/1/14** pela manhã o caprino estava apático, já apresentando tendência ao decúbito esternal e não quis se alimentar, não demonstrando o menor interesse pelo alimento. Por volta das 9:50h observou-se que a mucosa oral da cabra estava levemente pálida e cianótica e as extremidades frias. O animal estava relutante em ficar em estação, e quando o fazia, ficava encostado na parede da baia. Por volta das 10:30h um exame clínico foi realizado, onde se constatou que o caprino apresentava taquipneia (48 RPM), taquicardia (132 BPM) e hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade moderada). Por volta das 10:15h o animal começou a apresentar dificuldade respiratória (respiração predominantemente abdominal), sialorreia, e a apatia piorou consideravelmente. Às 11:50h a cabra estava em decúbito esternal com a cabeça apoiada no chão, por vezes tentava se levantar e não conseguia. Durante esse período o animal não se alimentou, não bebeu água e não defecou ou urinou. O quadro evoluiu para decúbito lateral e morte, que foi constatada por volta das 12:30h. A **necropsia** revelou mucosas pálidas e cianóticas ++; líquido espumoso esbranquiçado na traqueia +; pulmão colabado, difusamente pálido e levemente cianótico; coração difusamente pálido, com equimoses na superfície epicárdica e ventrículo esquerdo (hemorragia subendocárdica); presença de coágulo de fibrina na cavidade abdominal; fígado difusamente avermelhado, escuro a cianótico e congesto ++; edema de vesícula biliar +++; áreas pálidas e irregulares na superfície do rím e edema de pelve renal; sementes de *C. spectabilis* não digeridas no conteúdo do rumem; inúmeras úlceras na região fúndica do abomaso; líquido branco amarelado na glândula mamária. Demais órgãos não apresentaram alterações significativas. A **histologia** mostrou fígado com congestão e hemorragia ++(+), vacuolização de hepatócitos ++; necrose coagulativa hemorrágica centrolobular difusa com picnose e carriorexia; rím com congestão e hemorragia +, vacuolização dos túbulos uriníferos com picnose ++. Demais órgãos não apresentaram alterações dignas de nota. O perfil bioquímico hepático e renal permaneceu dentro dos padrões de normalidade.

Caprino 3, SAP 32646, macho, Saanen, 1,5 anos, 25kg. Em **8/10/13** animal chegou ao SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em

9/10/13 coletou-se sangue para exame bioquímico. Em **14/10/13** animal passou por um jejum de 24 horas antes do início do experimento. Em **15/10/13** foi realizada coleta de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. O animal recebeu 2g/kg (50g) de sementes de *C. spectabilis* diariamente por 35 dias (dose total: 1.700g). As sementes foram fornecidas misturadas a um pouco de ração de milho e farelo de trigo e sal no cocho. O caprino comeu toda a dose espontaneamente. Nos dias seguintes, a dose foi oferecida misturada à ração, o que teve boa aceitação pelo animal. Em **27/10/13** o caprino começou a apresentar uma leve tosse seca. Essa tosse permaneceu constante (sem piora ou melhora) até o momento do agravamento do quadro. Em **14/11/13** o animal mostrou-se com o apetite diminuído e caprichoso (preferência por feno). A ingestão das sementes passou a ser feita por via oral. Em **19/11/13** a administração da planta foi suspensa; o soro do animal mostrou-se amarelado. Em **7/12/13** o apetite normalizou. Em **9/12/13** o caprino começou a apresentar uma leve dificuldade respiratória e tendência ao decúbito esternal. Em **10/12/13** o quadro evoluiu. A dificuldade respiratória se mostrou de moderada a acentuada (respiração predominantemente abdominal), e a mucosa oral e esclera ocular estavam levemente azuladas. À auscultação observou-se estertores crepitantes (secos) em todo o campo pulmonar e a respiração estava bastante ruidosa. O animal passou a maior parte do tempo em decúbito esternal, praticamente sem apetite e apático. A tosse piorou consideravelmente, e a temperatura retal foi de 40°C. Em **11/12/13** a dificuldade respiratória se mostrava ainda mais acentuada, a língua do caprino estava com uma coloração azulada, a apatia mais marcada, e não apresentou apetite (comeu apenas um pouco de feno e ração). Por volta das 18:05h a respiração estava praticamente abdominal e o animal se encontrava prostrado. As 20:30h se encontrava em decúbito esternal, por várias vezes tentou se levantar e não conseguiu. O quadro evoluiu para decúbito lateral e morte por volta das 20:50h. Durante todo o período do experimento o caprino era observado diariamente e eram realizados exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. À **necropsia** observou-se escleras cianóticas +; mucosa oral cianótica +; pulmão armado, difusamente avermelhado a arroxeadado e enfisematoso, com áreas de hepatização e aspecto “cárneo”; após fixação alguns fragmentos afundaram no formol; coração com pequena quantidade de líquido translúcido no saco pericárdico, áreas esbranquiçadas mal delimitadas no epicárdio do ventrículo esquerdo; fígado com áreas esbranquiçadas levemente elevadas na superfície, e áreas mais firmes e claras ao corte; abomaso com mucosa avermelhada; demais órgãos não apresentaram alterações significativas. A **histologia** mostrou fígado com congestão e hemorragia +,

ativação das células de Kupffer ++, microvacuolização de hepatócitos ++; rim com congestão e hemorragia ++, ativação das células mesangiais e aumento do filtrado glomerular; pulmão com congestão e hemorragia +(), infiltrado inflamatório mononuclear nas paredes alveolares (pneumonia intersticial) ++(+), hiperplasia do epitélio bronquiolar ++, focos de epitelização ++, hiperplasia de BALT +(), infiltrado inflamatório polimorfonuclear no parênquima e interior de brônquios, bronquíolos e alvéolos ++ e presença de células multinucleadas bizarras; demais órgãos sem alterações significativas. O exame bioquímico da função hepática e renal revelou uma alteração transitória na atividade da enzima **AST** que aumentou progressivamente entre 22 e 35 dias de ingestão de sementes da planta e caiu nos tempos seguintes, porém, sempre dentro dos limites de normalidade. Comportamento semelhante foi observado nos níveis de **GGT**, cujos valores se mostraram progressivamente anormais entre 35 dias de ingestão da planta e 7 dias após suspensa a ingestão da mesma. Evidenciou-se oscilações nas concentrações de **ALP** durante todo o experimento, com tendência a valores aumentados, sendo as maiores concentrações observadas entre 22 e 29 dias de ingestão das sementes. Houve ainda aumentos isolados na contagem de **bilirrubina direta** e **proteínas totais** aos 22 dias de ingestão da planta e 21 dias após suspensa a ingestão respectivamente

Caprino 4 SAP 32827, fêmea, Saanen, 3 anos, 38,5kg. Em **10/2/13** animal chegou ao SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em **11/12/13** foi coletada amostra sanguínea para a realização de exame bioquímico. Em **17/12/13** caprino passou por um período de jejum de 24 horas para o início do experimento; realizou-se coleta de amostra sanguínea para exame bioquímico. Em **18/12/13**, por volta das 9:00h iniciou-se o experimento. O animal recebeu 2g/kg (77g) de sementes de *C. spectabilis* durante 150 dias (dose total: 11.550g). Em um primeiro momento as sementes foram oferecidas ao caprino misturado com um pouco de ração de milho e farelo de trigo, o qual não foi aceito pelo animal. A mistura foi colocada no cocho para ingestão espontânea, o que também não surtiu efeito. Adicionou-se então um pouco de água a mistura até atingir uma consistência levemente pastosa; dessa forma o caprino ingeriu um pouco, mas logo perdeu o interesse. Por fim foi instituída a administração por via oral, situação que persistiu até o fim do experimento, com melhor ou pior grau de aceitação. Em **18/2/14** o caprino começou a apresentar uma leve inapetência e diminuição do apetite, com preferência pela ingestão de feno. Em **23/2/14** houve uma leve piora no quadro de inapetência, com o apetite se mostrando diminuindo tanto para feno quanto para ração. O animal começou a demonstrar menos interesse pelo alimento e a ficar mais relutante para ingerir suas doses diárias de sementes de

C. spectabilis. Em **25/2/14** notou-se que o soro do caprino estava com uma coloração amarelada; essa situação persistiu até o fim do experimento. Em **26/2/14** observou-se que a urina da cabra se encontrava com uma coloração mais escura (amarelada). Em **4/3/14** animal estava apresentando acentuada relutância em ingerir a dose diária da planta. A partir desse momento e até o fim do experimento, o animal apresentou essa característica em maior ou menor grau. Em **9/3/14** o apetite havia diminuído consideravelmente e praticamente não se observava a ingestão de ração, apenas uma pequena quantidade de feno; o animal começou a perder peso de forma notável. Em **14/3/14** notou-se ao exame clínico uma leve hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade moderada). Em **16/3/14** observou-se que a mucosa e esclera ocular do caprino se encontravam com uma coloração amarelada (icterícia). Em **18/3/14** houve piora do quadro de hipotonia ruminal (2 movimentos em 5 minutos, com intensidade fraca e grandes intervalos de silêncio). Em **25/3/14** o apetite melhorou um pouco (apesar de ainda estar bastantes diminuído), e o animal voltou a ingerir uma quantidade um pouco maior de ração. Em **28/3/14** os movimentos ruminais normalizaram. Em **1/4/14** o caprino estava se alimentando um pouco melhor, mas as quantidades de ração e feno ainda eram mínimas quando comparadas ao que o animal costumava ingerir antes do estabelecimento do quadro de intoxicação. Ao exame clínico notou-se uma leve hipotonia ruminal (3 movimentos em 5 minutos, intensidade de leve a moderada). Em **8/4/14** os movimentos ruminais voltaram a normalizar. Em **23/4/14** a cabra se mostrava levemente apática e a perda de peso era evidente. Em **29/4/14** a icterícia (amarelamento das mucosas oral e ocular e escleras oculares) parecia estar menos evidente. Em **20/05/14** animal foi eutanasiado (segundo as normas preconizadas pelo CEUA) por volta das 9:30h. Durante todo o período do experimento o caprino era observado diariamente e eram realizados exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. À **necropsia** evidenciou-se estado nutricional ruim; mucosas pálidas +++ e ictericas +; pulmão com pequenas áreas com enfisema (+) distribuídas pelo parênquima; coração com edema amarelado da gordura epicárdica (+) e pequena a moderada quantidade de líquido translúcido no saco pericárdico; superfície levemente amarelada; presença de discreta quantidade de líquido amarelado na cavidade abdominal; fígado pálido ++, áreas esbranquiçadas irregulares na superfície hepática, superfície irregular na face ventral; baço levemente aumentado e com evidenciação dos folículos linfoides; pâncreas atrofiado; rins com áreas pálidas e irregulares no córtex; bexiga repleta e com urina amarelada; demais órgãos sem alterações significativas. À **histologia** observou-se fígado com congestão +, hemossiderose ++, áreas de vacuolização

com evolução para lise ++(+), grupamento de neutrófilos (+), megalocitose ++(+), hepatócitos com aspecto bizarro, proliferação (neoformação) e dilatação de ductos biliares, ativação das células de Kupffer, espessamento da cápsula hepática ++, células da cápsula ativadas e com aspecto bizarro; rim com ativação das células da cápsula glomerular, hiperplasia das células mesangiais, hiperplasia das células epiteliais, células epiteliais com aspecto bizarro e megalocitose, presença de alguns cilindros na região medular, infiltrado inflamatório polimorfonuclear no interior de túbulos renais, foco de infiltrado inflamatório linfocítico; pulmão com pequenas áreas de leve enfisema e atelectasia; demais órgãos sem alterações significativas. O exame bioquímico da função hepática e renal demonstrou alterações transitórias nos níveis de **AST** que aumentaram progressivamente entre 41 e 70 dias da ingestão das sementes da planta, diminuindo nos tempos seguintes e oscilando valores mais altos e mais baixos dentro dos limites de normalidade. Comportamento semelhante foi observado na concentração de **ALT** que apresentou valores alterados entre 49 e 91 dias da ingestão da planta, oscilou níveis normais nos tempos seguintes e atingiu a normalidade aos 117 dias de ingestão da planta. Os níveis de **GGT** por sua vez se mostraram aumentados aos 49 dias da ingestão diária das sementes e assim permaneceram durante todo o experimento, onde os maiores valores foram observados entre 64 e 76 dias da ingestão da planta. Oscilações entre valores normais, valores próximos da normalidade e valores anormais foram observados nas concentrações de **ureia** e **creatinina** durante todo o experimento. Houve aumento progressivo nas concentrações de **bilirrubina direta** entre 64 e 99 dias de ingestão das sementes da planta, que caiu nos tempos seguintes, porém, sem atingir normalidade. De maneira semelhante a atividade da **bilirrubina total** se mostrou aumentada entre 70 e 99 dias de ingestão da planta, caiu nos tempos seguintes e oscilou entre valores normais e anormais até o fim do experimento. Foi observado ainda aumentos isolados nos níveis de **ALP**, **proteínas totais** e **albumina** aos 64, 99 e 111 dias de ingestão da planta respectivamente

Anexo B: Protocolo dos casos experimentais da intoxicação por *Crotalaria juncea* em caprinos

Caprino 5 (Brinco 255), fêmea, Saanen, 2 anos, 32kg. Em **8/10/13** animal chegou ao SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em **9/10/13** coletou-se sangue para exame bioquímico. Em **14/10/13** animal passou por um jejum de 24h antes do início do experimento. Em **15/10/13** realizada coleta de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. O caprino recebeu 10g/kg (320g) de sementes de *C. juncea* em dose única. Por volta das 10:00h as sementes foram oferecidas ao animal misturadas com um pouco de ração de milho e farelo de trigo, água e sal. O caprino ingeriu a mistura espontaneamente em um primeiro momento, mas logo perdeu o interesse e se mostrou relutante. O restante da dose foi então administrado por via oral, e terminou por volta das 14:00h. Em **13/11/13** o animal foi devolvido ao setor de Caprinocultura da UFRRJ. Nesse intervalo, o caprino foi observado diariamente e realizaram-se exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. Durante esse período todos os padrões clínicos e bioquímicos foram considerados normais. O animal continuou a ser observado periodicamente no seu local de origem por um período de 6 meses e não apresentou qualquer sinal clínico relacionado a intoxicação.

Caprino 6, fêmea, Saanen, 3 anos, 26,5kg. Em **14/1/14** animal chegou ao setor de SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea e coleta de sangue para exame bioquímico. Em **20/1/14** o animal passou por um jejum de 24 horas antes do início do experimento. Em **21/1/14** foi coletada amostra de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. Por volta das 9:50h o caprino recebeu 20g/kg (530g) de sementes de *C. juncea* em dose única. As sementes foram fornecidas misturadas com um pouco de ração de milho e farelo de trigo. O caprino comeu a maior parte da dose espontaneamente, mas acabou perdendo o interesse. O restante da dose foi então administrado por via oral, terminando por volta das 14:00h. Após a ingestão das sementes foi fornecido um pouco de feno para o animal, que comeu bem. Em **22/1/14** a cabra comeu normalmente e não apresentou alterações. Observou-se sementes de *C. juncea* não digeridas em meio às fezes do animal. Em **30/4/14** o caprino foi devolvido ao setor de Caprinocultura da UFRRJ. Nesse intervalo, o caprino foi observado diariamente e realizaram-se exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. Durante esse período, todos os parâmetros clínicos e bioquímicos permaneceram dentro do padrão de normalidade. O animal

continuou a ser observado periodicamente no seu local de origem por seis meses e não apresentou qualquer sinal clínico relacionado à intoxicação durante esse tempo.

Caprino 7, macho, Saanen, 1,5 anos, 22kg. Em **8/10/13** animal chegou ao setor de SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em **9/10/13** coletou-se sangue para exame bioquímico. Em **14/10/13** animal passou por um jejum de 24h antes do início do experimento. Em **15/10/13** foi realizada coleta de sangue para exame bioquímico antes da administração da planta. O animal recebeu 2g/kg (44g) de sementes de *C. juncea* diariamente por 60 dias (dose total: 2.640g). As sementes foram fornecidas ao animal misturadas com um pouco de ração de milho e farelo de trigo, água e sal. Houve ingestão espontânea por um curto período de tempo, porém, o animal logo se mostrou relutante e o restante da dose foi fornecida por administração por oral. Em **16/10/13** as sementes foram oferecidas misturadas a ração e o caprino ingeriu toda a dose espontaneamente. Essa situação permaneceu até o fim do experimento. Em **14/12/13** a administração da planta foi suspensa. Em **30/4/14** o animal foi devolvido ao Setor de Caprinocultura da UFRRJ. Nesse intervalo, o caprino foi observado diariamente realizaram-se exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. Durante este período, todos os parâmetros clínicos e bioquímicos foram considerados normais, com exceção de um aumento isolado, porém significativo na concentração de **ALP** aos 29 dias de ingestão da planta. O caprino continuou a ser observado periodicamente no seu local de origem por aproximadamente seis meses até ser vendido. Não foram observados sinais clínicos relacionados à intoxicação nesse ínterim.

Caprino 8 (Brinco 07), fêmea, mestiço de Saanen com Bôer, 7 anos, 53,4kg. Em **10/12/13** animal chegou ao SAP. Realizou-se vermifugação com 1ml de ivermectina (Ivergen®) por via subcutânea. Em **11/12/13** coletou-se amostra sanguínea para realização de exame bioquímico. Em **16/12/13** caprino passou por um período de jejum de 24h antes do início do experimento. Em **17/12/13** foi realizada coleta de sangue para perfil bioquímico antes da administração da planta. Animal recebeu 2g/kg (107g) de sementes de *C. juncea* diariamente por 60 dias (dose total: 6.447g). As sementes foram fornecidas misturadas à ração de milho e farelo de trigo, e o animal comeu toda a dose espontaneamente. Essa situação permaneceu até o fim do experimento, sendo que aproximadamente da metade para o fim, as sementes passaram a ser administradas sem a ração, e o caprino continuou a ingerir tudo

espontaneamente e com voracidade. Em **15/2/14** a administração da planta foi suspensa. Em **30/4/14** o animal foi devolvido ao Setor de Caprinocultura da UFRRJ. Nesse intervalo, o caprino foi observado diariamente e realizaram-se exames clínicos completos e coletas de sangue para perfil bioquímico a cada sete dias. Durante esse período, todos os parâmetros clínicos e bioquímicos foram considerados normais. O caprino continuou a ser observado periodicamente no seu local de origem por um período de seis meses, e não apresentou sinais clínicos relacionados à intoxicação durante esse tempo.