

## Estudo sobre a sensibilidade dos caprinos à toxidez de crotalárias tóxicas para bovinos visando a sua utilização na profilaxia<sup>1</sup>

Ana Paula C. Pires<sup>2\*</sup>, Mariana C. Oliveira<sup>3</sup>, Karina M. Braga<sup>3</sup>, Pedro Malafaia<sup>4</sup>, Janne P.N. Barros<sup>2</sup>, Carlos H. Tokarnia<sup>4</sup> e Marilene F. Brito<sup>5</sup>

**ABSTRACT.-** Pires A.P.C., Oliveira M.C., Braga K.M., Malafaia P., Barros J.P.N., Tokarnia C.H. & Brito M.F. 2015. [Study about the sensitivity of goats to the toxicity of crotalarias poisonous for cattle aiming their use for prophylactic measures.] Estudo sobre a sensibilidade dos caprinos à toxidez de crotalárias tóxicas para bovinos visando a sua utilização na profilaxia. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35(6):501-512. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: [anap.castropires@gmail.com](mailto:anap.castropires@gmail.com)

Plant poisoning is known to be one of the most important causes of death of adult cattle in Brazil. As there are not many possibilities for treatment, all efforts must focus on 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. Single or daily doses of seeds of *Crotalaria spectabilis* and *Crotalaria juncea* were given to eight young adult goats of both sexes divided randomly in two groups of four goats, e.g. one group for each plant. None of the four goats that received seeds of *Crotalaria juncea* developed clinical signs of poisoning or showed changes in the biochemistry examination. Out of the four goats that received seeds of *Crotalaria spectabilis*, three died. One goat received a 20g/kg single dose of seeds and developed signs of acute poisoning. Postmortem and histopathological examination revealed marked centrilobular hemorrhagic necrosis. The other two goats developed chronic poisoning by the administration of 2g/kg daily doses of seeds for 35 and 150 days respectively. One goat showed severe interstitial pneumonia and mild hepatic lesions, while the other goat presented only chronic hepatic lesions. Both goats showed transient changes in the biochemistry examination. The fourth goat received a 10g/kg single dose of seeds and did not develop significant clinical or biochemical changes. 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 a prophylactic measure against poisoning by *Crotalaria juncea*.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Crotalaria* spp., goat, plant poisoning, biological control.

**RESUMO.-** A intoxicação por plantas é sabidamente uma das principais causas de morte de bovinos adultos no Brasil. Uma vez que pouco pode ser feito no que diz respeito

ao tratamento destas intoxicações, os esforços devem se concentrar na adoção de medidas profiláticas alternativas, como a utilização de uma espécie menos sensível no local de

<sup>1</sup> Recebido em 14 de maio de 2015.

Aceito para publicação em 25 de maio de 2015.

Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Doutorandas do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRRJ), Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. Bolsista CAPES. \*Autor para correspondência: [anap.castropires@gmail.com](mailto:anap.castropires@gmail.com)

<sup>3</sup> Bolsistas de PIBIC do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000.

<sup>4</sup> Departamento de Nutrição Animal e Pastagem, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica, RJ 23851-970.

<sup>5</sup> Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Setor de Anatomia Patológica, UFRRJ, Rodovia BR-465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000.

ocorrência de determinadas plantas. Objetivou-se com esse trabalho verificar a sensibilidade de caprinos às crotalárias (*Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea*) para que estes possam ser utilizados na profilaxia da intoxicação por essas plantas em bovinos. Sementes de *C. spectabilis* e *C. juncea* foram fornecidas em doses únicas ou diárias a 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 as sementes de *C. juncea*, nenhum desenvolveu sinais clínicos de intoxicação ou apresentou alterações significativas no exame bioquímico. Entre os quatro caprinos que receberam sementes de *C. spectabilis* três morreram. Um animal recebeu uma dose única de 20g/kg de sementes da planta e desenvolveu sinais de intoxicação aguda, caracterizadas macro e microscopicamente por necrose hemorrágica centrolobular. Os outros dois caprinos desenvolveram um quadro de intoxicação crônica pela administração de doses diárias de 2g/kg de sementes da planta por 35 e 150 dias respectivamente. Um animal apresentou uma marcada pneumonia intersticial e lesões hepáticas leves, enquanto no outro caprino observaram-se apenas lesões hepáticas crônicas. Ambos os animais apresentaram alterações transitórias ao exame bioquímico. O quarto caprino recebeu a dose única de 10g/kg, sobreviveu e não apresentou alterações clínicas ou da bioquímica sanguínea significativas. Os resultados do trabalho mostraram que não se deve usar caprinos como medida profilática na intoxicação por *C. spectabilis*, mas que pode se recomendar esta espécie na profilaxia da intoxicação por *C. juncea*.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Plantas tóxicas, *Crotalaria* spp., caprinos, intoxicação por plantas, controle biológico.

## INTRODUÇÃO

A intoxicação por plantas é tida como uma das mais importantes causas de mortes de bovinos adultos no Brasil, e é capaz de influenciar a produção animal por acarretar em sérios prejuízos econômicos, diretos e indiretos, ao agronegócio (Riet-Correa et al. 2007, Tokarnia et al. 2012).

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 das áreas infestadas em determinadas épocas do ano (Tokarnia et al. 2012). 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 (Riet-Correa & Medeiros 2001).

Dentre estes métodos, destaca-se a utilização de uma espécie animal menos sensível no local de ocorrência de determinadas plantas tóxicas, técnica já usada na profilaxia da intoxicação por *Senecio* spp. na espécie bovina, que 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 adoecem (Grecco et al. 2012).

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 (Lucena et al. 2010).

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 causar uma série de danos aos animais de produção que vierem a consumi-la (Bellodi 2010).

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.

## 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/UFRJ), tendo sido aprovado pelo mesmo sob processo de número 23083.007636/2013-38, protocolo 387/13.

A pesquisa foi realizada nas dependências da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRJ)/Anexo 1 do Instituto de Veterinária (IV)/Setor de Anatomia Patológica (SAP). As necropsias foram realizadas no SAP, os exames histopatológicos no Laboratório de Histopatologia da mesma instituição, e as análises bioquímicas no Laboratório de Pesquisas Clínicas do IV da UFRJ e no Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Pará (UFPA).

As sementes de *Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria juncea* utilizadas no experimento foram adquiridas através de uma empresa fornecedora de sementes para pastagens, gramados e leguminosas. A concentração de alcaloides pirrolizidínicos (APs) nas sementes de ambas as plantas foi realizada no Laboratório de Pesquisa de Plantas tóxicas do Serviço de Pesquisa Agrícola (ARS) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

Oito caprinos adultos, de ambos os sexos, sete Saanen e um mestiço de Saanen com Boer, com idade que variou entre 1,5 e 7 anos de idade foram divididos aleatoriamente em dois grupos de quatro animais cada, sendo um grupo para cada planta.

Antes da realização dos experimentos, os caprinos foram pesados, vermifugados e passaram por um período de adaptação e observação clínica prévia com duração de 7 dias; eram alojados em baias individuais equipadas com bebedouro, cocho e solário e receberam alimentação à base de ração de milho e farelo de trigo, feno de Tifton e água à vontade.

Sementes de *C. spectabilis* e *C. juncea* (Fig.1) foram fornecidas por via oral aos caprinos juntamente com a alimentação acima citada. 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 de diárias de sementes de *C. spectabilis* foram administradas durante 35 dias a um caprino e por 150 dias ao outro (Quadros 1 e 2). No caso da *C. spectabilis*, as sementes eram administradas até o aparecimento da anorexia.

Antes e durante os experimentos, os caprinos foram examinados clinicamente, ocasião em que se avaliaram os seguintes parâ-

metros: 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 experimental se realizou a coleta de san-



Fig.1. (A) *Crotalaria spectabilis* (Cortesia de Daniel Ubiali). (B) Detalhe das sementes de *C. spectabilis*. (C) *Crotalaria juncea*. (D) Detalhes das sementes de *C. juncea*.

**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	Cerca de 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.

gue desses animais uma vez por semana. O sangue foi obtido através de venopunção jugular com o auxílio de agulhas descartáveis 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 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.

Os caprinos que morreram entre 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, processados rotineiramente, cortados a 5µm e corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (HE). Cortes selecionados de fígado foram adicionalmente corados pelo Tricrômico de Masson. Ao fim dos experimentos, aqueles animais que não morreram foram devolvidos ao seu local de origem.

Para verificar 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) dos caprinos foram coletadas até 48 ou 72 horas após a ingestão das sementes para a realização de um teste de germinação a campo.

## RESULTADOS

A análise da concentração de alcaloides pirrolizidínicos (APs) nas amostras das plantas estudadas mostrou que as sementes de *Crotalaria spectabilis* possuíam 2,3% (23mg/g) de APs totais e monocrotalina como alcaloide principal. Já as sementes de *Crotalaria juncea* mostraram um teor de 0,18% (1.8mg/g) de alcaloides totais, sendo trichodesmine, junceína e isohemijunceínas os APs encontrados em maior quantidade.

O delineamento experimental e o desfecho dos experimentos com *C. spectabilis* e *C. 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

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

Valores de referência		AST	ALT	ALP	GGT	Proteína total	Albumina	Bilirrubina	Bilirrubina	Ureia	Creatinina
		(UI/L)	(UI/L)	(UI/L)	(UI/L)	(g/dL)	(g/dL)	direta (mg/dL)	total (mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
		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
	T4	77	22	87	21,4	6,1	2,72	0,33	0,09	30	1,03
Caprino 2	T0	91	6	52	20,8	5,44	2,5	0,24	0,23	25	0,84
	T1	75	8	91	22,9	6,27	2,8	0,31	0,25	36	1,19
Caprino 3	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
	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	
Caprino 4	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**

Valores de referência		AST	ALT	ALP	GGT	Proteína total (g/dL)	Albumina (g/dL)	Bilirrubina direta (mg/dL)	Bilirrubina total (mg/dL)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
		(UI/L)	(UI/L)	(UI/L)	(UI/L)	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
Caprino 7	T0	88	21	113	19,7	6,56	3,2	0,18	0,2	32	1,06
	T1	65	4	595	40	6,72	2,9	0,44	0,45	29	0,97
	T2	71	6	515	33	6,3	3,2	0,07	0,1	74	0,7
	T3	71	8	654	31	5,5	2,5	0,13	0,2	63	0,7
	T4	70	9	563	31	2,5	1,5	0,11	0,1	60	0,7
	T5	68	10	524	31	5,9	6,1	0,22	0,3	55	0,8
	T6	70	12	608	30	4,5	2,1	0,16	0,2	68	0,8
	T7	81	6	428	32	5,9	2,8	0,13	0,2	47	1,2
	T8	85	10	1034	39,4	6,16	3,01	0,43	0,61	27	0,9
	T9	69	10	540	31	5,5	2,6	0,21	0,2	49	0,9
	T10	68	10	481	29	5,2	2,5	0,13	0,2	36	0,8
	T11	79	13	610	36	5,4	2	0,03	0,1	44	0,9
	T12	71	12	461	44	5,4	2,7	0,05	0,1	42	1
T13	75	10	565	40	5,4	2,8	0,13	0,1	42	0,9	
Caprino 8	T0	76	7	810	28,4	5,8	3,3	0,2	0,25	33	1,1
	T1	81	20	567	30,5	6,78	3,11	0,1	0,33	30	0,89
	T2	128	17	511	39	5,6	2,4	0,22	0,4	62	0,7
	T3	100	8	610	44	5,6	2,3	0,35	0,5	56	0,8
	T4	193	19	551	62	5,6	2,2	0,32	0,4	50	0,8
	T5	73	14	488	45,5	6,62	2,78	0,29	0,68	41	1,23
	T6	68	19	555	56	6,1	2,3	0,28	0,4	38	1
	T7	65	14	576	48	5,8	6,1	0,28	0,4	31	0,9
	T8	58	14	541	48	6	2,3	0,3	0,4	41	0,9
T9	68	14	628	41	5,6	2	0,37	0,5	39	0,8	
T10	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 e cianótico +; coração: difusamente pálido, com equimoses na superfície epicárdica e ventrículo esquerdo com 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; demais órgãos: sem alterações significativas.
Caprino 3	Estado nutricional: regular; olhos: escleras cianóticas +; mucosas: oral cianótica +; pulmão: armado, difusamente vermelho arroxeado e enfisematoso, com consolidação difusa do parênquima e 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 ictericas +; pulmão: pequenas áreas com enfisema (+) distribuídas pelo parênquima; coração: edema amarelado da borda epicárdica (+), líquido translúcido amarelado + no saco pericárdico + (+); 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 discretas, + leves, +(+) leves a moderadas, ++ moderadas, +++ acentuadas.

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).

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 relevantes no quadro clínico ou nos exames bioquímicos durante o experimento.

O Caprino 2 (20g/kg em dose única) morreu cerca de dois dias após a ingestão das sementes. 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 caracterizou por inapetência, anorexia, tendência ao decúbito esternal, sialorreia, extremidades frias, mucosa oral levemente pálida e cianótica, apatia progressiva e crescente dificuldade respiratória (respiração predominantemente abdominal). Ao exame clínico observou-se taquipneia, taquicardia e hipotonia ruminal. 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. Os rins apresentavam áreas pálidas e irregulares na superfície, e ao corte notava-se um leve edema da pelve. O fígado estava difusamente vermelho escuro a cianótico e congesto (Fig.2A) e havia acentuado edema de vesícula biliar (Fig.2B). No rúmen foi possível observar sementes de *C. spectabilis* não digeridas em meio ao conteúdo.

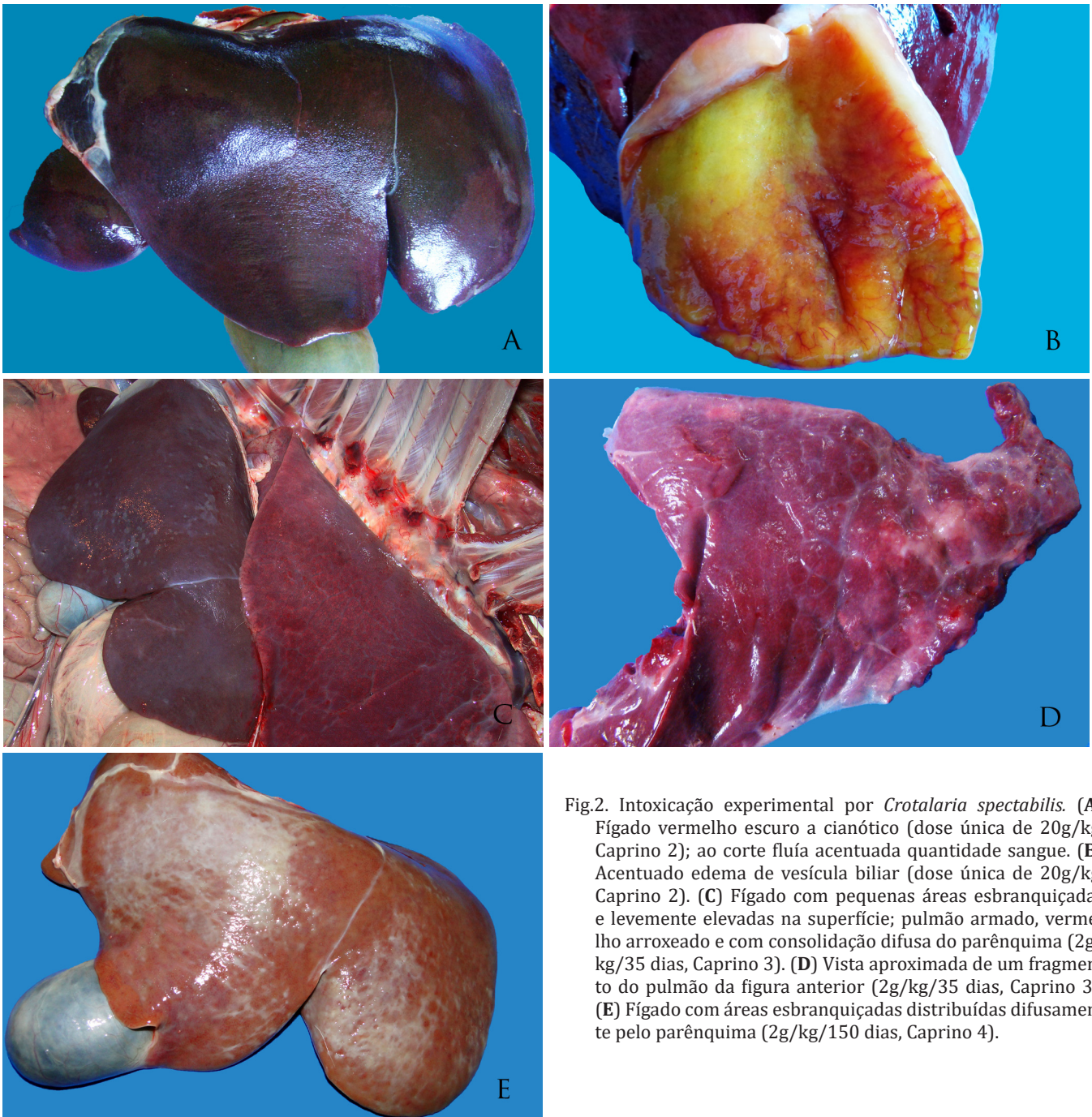


Fig.2. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis*. (A) Fígado vermelho escuro a cianótico (dose única de 20g/kg, Caprino 2); ao corte fluía acentuada quantidade de sangue. (B) Acentuado edema de vesícula biliar (dose única de 20g/kg, Caprino 2). (C) Fígado com pequenas áreas esbranquiçadas e levemente elevadas na superfície; pulmão armado, vermelho arroxeado e com consolidação difusa do parênquima (2g/kg/35 dias, Caprino 3). (D) Vista aproximada de um fragmento do pulmão da figura anterior (2g/kg/35 dias, Caprino 3). (E) Fígado com áreas esbranquiçadas distribuídas difusamente pelo parênquima (2g/kg/150 dias, Caprino 4).



**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 cariorexia +++; rim: congestão/hemorragia +, vacuolização dos túbulos uriníferos com picnose ++; demais órgãos: sem alterações significativas.
Caprino 3	Fígado: congestão/hemorragia +, vacuolização centrolobular e periportal de hepatócitos ++, 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 epiteliação ++, 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 de hepatócitos +(+) , 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, fibrose difusa ++; 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 leves, +(+) leve a moderadas, ++ moderadas, ++(+ ) moderadas a acentuadas, +++ acentuadas. BALT = tecido linfóide associado aos brônquios.

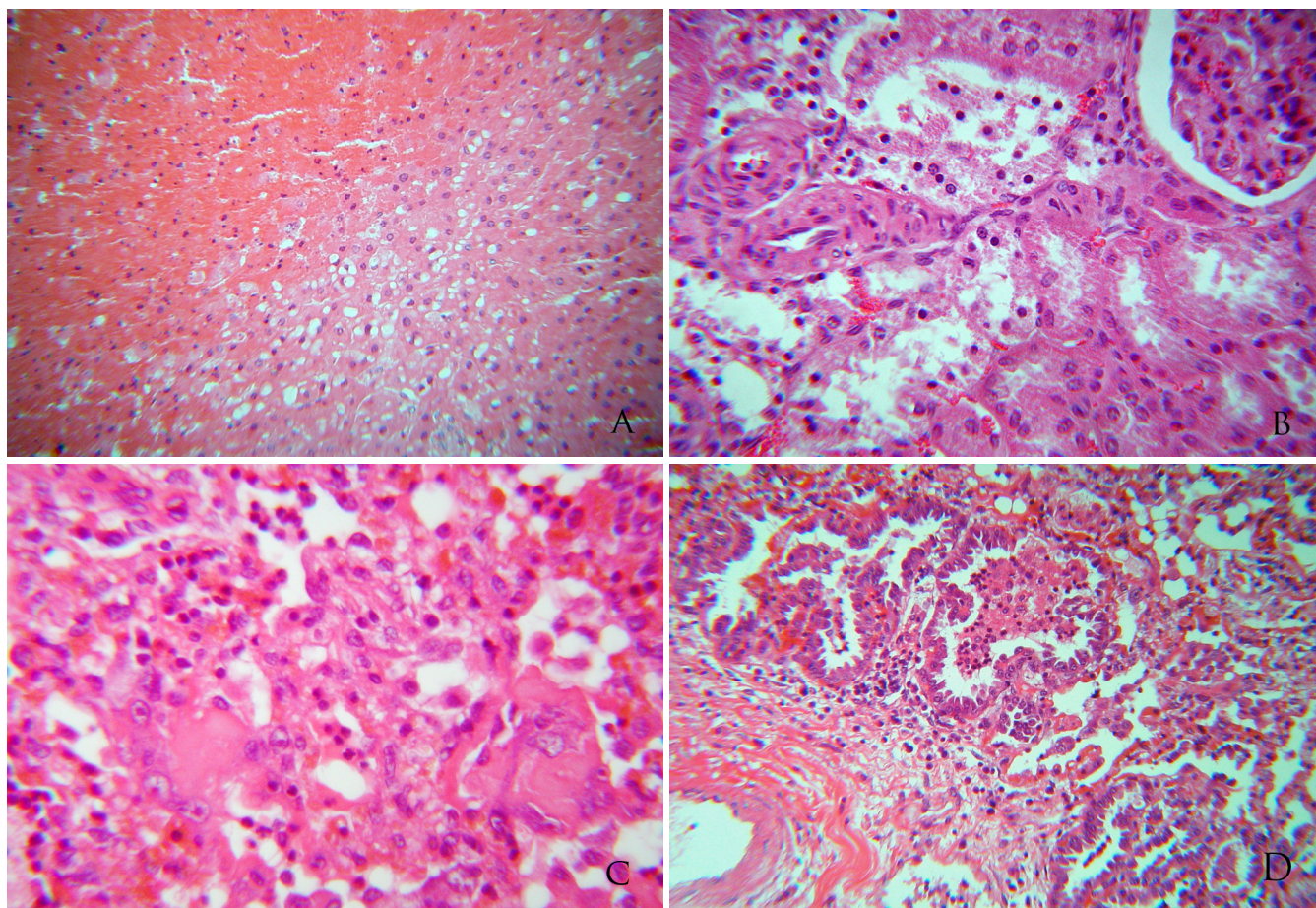


Fig.3. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis*. (A) Necrose coagulativa hemorrágica centrolobular e vacuolização de hepatócitos na periferia da área necrótica, HE, obj.16x. (dose única de 20g/kg, Caprino 2). (B) Rim com vacuolização e picnose das células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais. HE, obj.40x. (dose única de 20g/kg, Caprino 2). (C) Pulmão com infiltração por macrófagos alveolares e células multinucleadas bizarras em meio a infiltrado inflamatório por polimorfonuclear. HE, obj.25x. (2g/kg/35 dias, Caprino 3). (D) Pulmão com focos de epiteliação (hiperplasia de pneumócitos tipo II). HE, obj.16x. (2g/kg/35 dias, Caprino 3).

As principais lesões histológicas se encontravam no fígado. Havia necrose coagulativa hemorrágica centrolobular, com picnose e cariorexia nuclear, juntamente com

áreas focalmente extensas de leve a moderada vacuolização (Figura 3A); a coloração pelo Tricrômico de Masson se mostrou negativa. No rim havia áreas de vacuolização de



células epiteliais de túbulos uriníferos com picnose nuclear (Fig.3B).

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. O início dos sinais clínicos ocorreu 17 dias após o início do experimento e a evolução do quadro foi de 45 dias. Este animal apresentou sinais de inapetência, anorexia, tosse seca, apatia, tendência ao decúbito esternal, acentuada dificuldade respiratória com respiração predominantemente abdominal e ruidosa, dispnéia, mucosas levemente cianóticas, hipertermia, coloração amarelada do soro, estertores crepitantes secos em todos os campos pulmonares e evolução para prostração, decúbito lateral e morte.

Nos exames bioquímicos (Quadro 3) observaram-se alterações transitórias na atividade das enzimas AST e GGT. Durante todo o período experimental houve variações nas concentrações de ALP, com tendência a valores acima do normal. De forma semelhante, a concentração de ureia oscilou entre valores normais e anormais durante todo o experimento. 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 podia notar áreas de enfisema. Havia áreas vermelho escuras de consolidação, e à palpação essas áreas eram mais firmes e pouco crepitantes (Fig.2C,D). No fígado notaram-se pequenas áreas esbranquiçadas levemente elevadas ao corte (Fig.2C). Havia áreas mais claras, o órgão parecia mais firme e fluía pouco sangue ao corte. Outras alterações estão descritas no Quadro 5.

Histologicamente (Quadro 6), o pulmão apresentava moderada a acentuada pneumonia intersticial difusa com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, por vezes composto por células multinucleadas bizarras (Fig.3C). Notaram-se focos de hiperplasia do epitélio dos bronquíolos e diversas áreas de epitelização (hiperplasia de pneumócitos do tipo II) (Fig.3D); por vezes os pneumócitos apresentavam uma aparência bizarra. Observaram-se ainda áreas de broncopneumonia secundária associada à hiperplasia do tecido linfóide associado aos brônquios (BALT). No fígado havia focos de vacuolização de hepatócitos predominantemente centrolobular; em outras áreas notava-se microvacuolização de hepatócitos. Havia ainda hepatócitos em processo de lise, células de Kupffer ativadas e

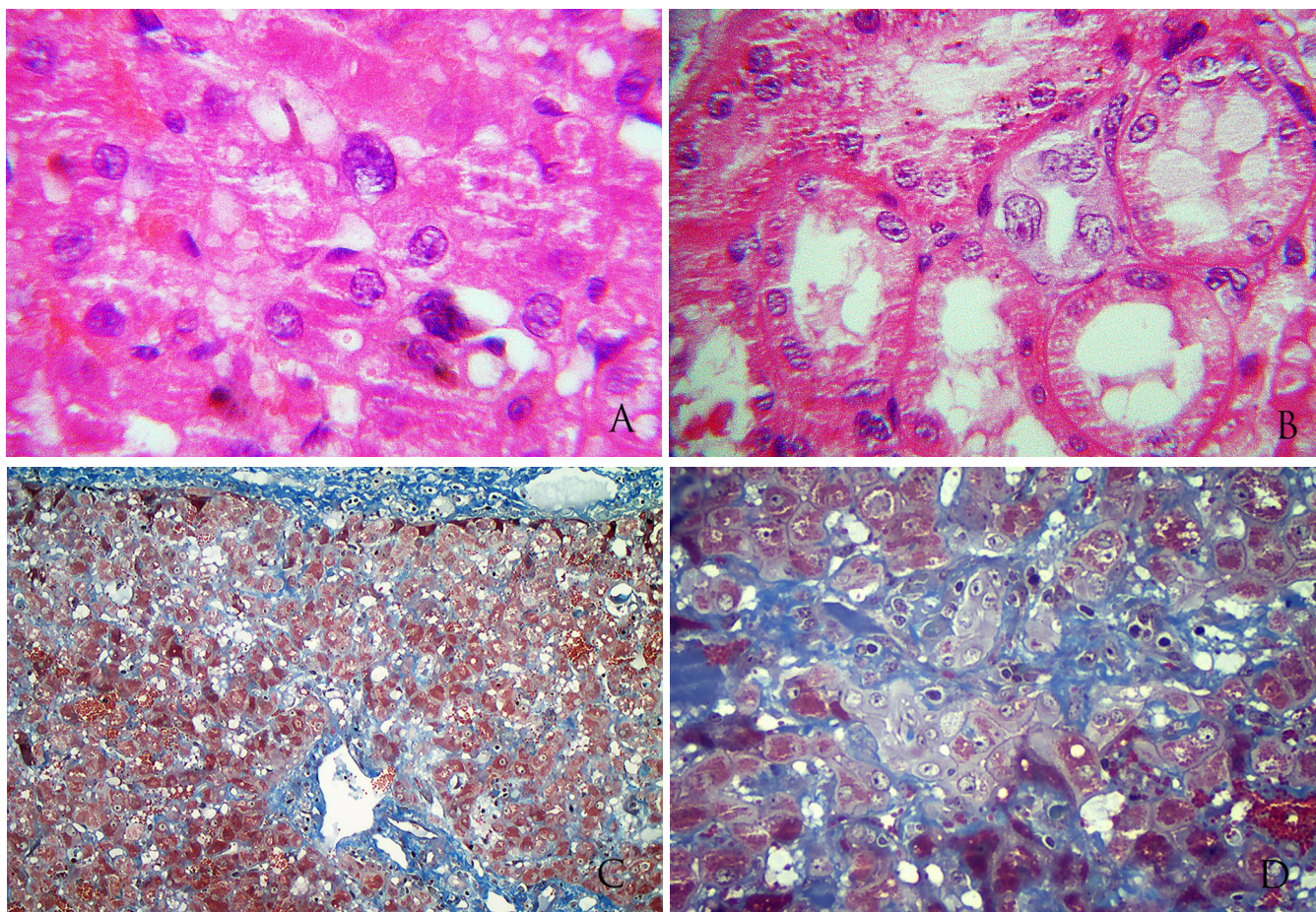


Fig.4. Intoxicação experimental por *Crotalaria spectabilis* (2g/kg/150 dias, Caprino 4). (A) Megalocitose e aspecto bizarro de hepatócitos. HE, obj.40x. (B) Megalocitose e aspecto bizarro das células epiteliais dos túbulos uriníferos. HE, obj.40x. (C) Fígado com fibrose difusa. Tricrômico de Masson, obj.10x. (D) Fibrose difusa em meio a hepatócitos necróticos e atróficos. Tricrômico de Masson, obj.25x.



leve megalocitose. Não foram observados indícios de fibrose pela coloração do Tricrômico de Masson.

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 das sementes, 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, leve a moderada hipotonia ruminal, leve apatia, e um quadro de icterícia caracterizado pelo amarelamento das mucosas oral e ocular, esclera, urina, e principalmente do soro sanguíneo.

A análise da função hepática e renal desse Caprino (Quadro 3) demonstrou alterações transitórias nos valores de AST, ALT, bilirrubina direta e bilirrubina total. Os níveis de GGT se mostraram aumentados a partir dos 49 dias de ingestão das sementes e assim permaneceram até o fim do experimento. Oscilações entre valores normais, valores próximos da normalidade e valores anormais foram observados nas concentrações de ureia e creatinina durante todo o período experimental. Foram observados ainda aumentos isolados nos níveis de ALP, proteínas totais e albumina aos 64, 99 e 111 dias de ingestão de sementes, respectivamente. À necropsia observou-se que o estado geral do animal era ruim e que as mucosas estavam acentuadamente pálidas e levemente ictericas. O fígado foi o órgão que mais apresentou alterações; se mostrou pálido, com áreas esbranquiçadas irregulares em mais de 70% da superfície (Fig.2E), 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 observou-se espessamento da cápsula e suas células se encontravam ativas e com aspecto bizarro. Havia áreas de moderada hemossiderose, além de pequenos focos de infiltração por neutrófilos e necrose de hepatócitos. Observou-se acentuada megalocitose; estes hepatócitos de uma forma geral mostraram um aspecto bizarro (Fig.4A), com marcada anisocitose, anisocariose, núcleos hiper cromáticos e citoplasma de aspecto espumoso. Outra alteração que chamou atenção foi proliferação, neoformação e dilatação dos ductos biliares; por vezes, as células das vias biliares se encontravam proliferadas e desorganizadas. Havia ainda áreas de leve vacuolização com evolução para lise de hepatócitos e ativação das células de Kupffer. A coloração pelo Tricrômico de Masson revelou fibrose difusa; observou-se grupos ou cordões de hepatócitos e lóbulos hepáticos separados por moderada quantidade de tecido conjuntivo fibroso (Fig.4C,D).

No rim havia ativação das células da cápsula de Bowman, hiperplasia e ativação das células mesangiais, e presença de alguns cilindros na região medular. Tanto no córtex quando na medula as células epiteliais dos túbulos uriníferos e alças de Henle mostravam um aspecto bizarro (Fig.4B), com núcleos grandes, células planas (dimorfismo), e células em picnose; havia hiperplasia destas células, as quais assumiam um aspecto enfileirado em algumas áreas.

No teste de germinação a campo, das duas espécies de *Crotalaria* estudadas, apenas as sementes de *C. spectabilis* germinaram e se transformaram em plantas adultas.

## 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. Acreditamos que esta alteração tenha ocorrido em virtude do desafio da eimeriose, confirmado através de exame parasitológico de fezes, e não teve nenhuma relação com a ingestão das sementes, 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, palatabilidade 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 seu uso na alimentação animal (Martin et al. 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 alcaloides pirrolizidínicos (APs) existente em cada amostra da planta (Torres et al. 1997).

Os APs observados em maior quantidade nesta espécie de *Crotalaria* são junceine e trichodesmine, este último um composto que pertence ao subgrupo da monocrotalina (Adams & Gianturco 1956). As sementes de *C. juncea* utilizadas em nosso experimento apresentaram uma concentração de APs de 0,18%, um valor mais alto quando comparado aos estudos de Adams & Gianturco (1956) e Williams & Molyneux (1987), que registraram valores de 0,003% e 0,02% respectivamente, mas semelhante ao observado por Colegate et al. (2012) (0,15%). Ji et al. (2005) relatam que apesar da concentração de alcaloides em *C. juncea* variar consideravelmente entre um exemplar da planta e outro, no geral essa concentração será baixa, quando comparada com as concentrações de APs encontrados em outras crotalárias.

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 et al. 2012). Tais observações estão de acordo com o que foi observado no nosso estudo, uma vez que nem os caprinos que receberam doses únicas de sementes da planta por um curto período de tempo (10 e 20g/kg), 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.

É interessante ressaltar que durante os experimentos do presente estudo, os caprinos que receberam *C. juncea* aceitaram as sementes da planta 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 AP encontrado nas nossas amostras de sementes de *C. spectabilis* foi a monocrotalina, de forma semelhante ao que é descrito por outros autores (Johnson et al. 1985, Willians & Molyneux 1987). A concentração de alcaloides nas sementes de *C. spectabilis* dos nossos experimentos foi de 2,3%, um dos percentuais mais altos entre as espécies de *Crotalaria* já estudadas, o que torna esta planta uma das mais tóxicas do gênero (Willians & Molyneux, 1987).

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 quando presentes na dieta em grandes quantidades ou se forem ingeridas por longos períodos de tempo. Em nossos experimentos, foi possível reproduzir o 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 por 35 e 150 dias, o que evidencia a sensibilidade dos caprinos à toxidez desta *Crotalaria*.

Os estudos de Anjos et al. (2010) e Riet-Correa et al. (2011) mostraram que ovinos se tornam resistentes à intoxicação por *C. retusa* ao receber pequenas doses de sementes da planta por um período de tempo prolongado, o que sugere que estes animais poderiam ser utilizados como controle biológico na intoxicação por esta planta. Riet-Correa et al. (2011) sugeriram ainda que este modelo de controle biológico poderia ser aplicado a outras crotalárias que possuem monocrotalina como alcaloide principal, como *C. spectabilis*. Estes resultados não foram compatíveis ao encontrados nos nossos estudos, uma vez que ambos os caprinos que receberam pequenas doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* por um longo período de tempo morreram e desenvolveram sinais de intoxicação crônica.

Maia et al. (2014) observaram que a indução da resistência nos 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 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). A evolução e os achados microscópicos devem ser diferenciados de outras causas de necrose hepática na espécie caprina, em especial da intoxicação por plantas hepatotóxicas agudas, como *Cestrum laevigatum* e *Trema micrantha* (Tokarnia et al. 2012).

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 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 monocrotalina 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* (Souza et al. 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.

O Caprino 4 que recebeu doses diárias de 2g/kg de sementes de *C. spectabilis* por 150 dias, 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



é causada pela ingestão de pequenas doses repetidas do princípio e que haveria uma predominância de lesões hepáticas crônicas, com 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 et al. 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).

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 glomerúlos também podem estar severamente afetados, com lesões tanto nas células epiteliais quanto nas endoteliais. Alterações semelhantes também foram descritas em suínos intoxicados experimentalmente com sementes de *C. spectabilis* (Souza et al. 1997, Torres et al. 1997).

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 com a 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 2008, 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 (Stegelmeier 2011), de forma semelhante ao observado nos dois caprinos intoxicados cronicamente em nossos experimentos. 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).

No teste de germinação a campo, apenas as sementes de *C. spectabilis* germinaram. 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 que influencia o aparecimento de sementes viáveis nas fezes é o seu rápido escape do rúmen para o intestino delgado (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.

## CONCLUSÕES

Caprinos que receberam doses altas únicas de 10g/kg e 20g/kg, e doses diárias de 2g/kg por 60 dias de sementes de *Crotalaria juncea* não desenvolveram quadros de intoxicação.

Caprinos se mostraram susceptíveis à intoxicação por *Crotalaria spectabilis* e podem desenvolver tanto quadros agudos quanto crônicos desta intoxicação.

Em caprinos, a intoxicação aguda por *C. spectabilis* foi 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 *Crotalaria* for usada na adubação verde, o que minimizaria os riscos de intoxicação.

**Agradecimentos.** À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro e ao Dr. Dale R. Gardner (Poisonous Plant Research Lab/USDA/ARS) pela análise da concentração de alcaloides pirrolizidínicos nas espécies de *Crotalaria*.

## REFERÊNCIAS

- Adams R. & Gianturco M. 1956. The alkaloids of *Crotalaria juncea*. J. Am. Chem. Soc. 78(9):1919-1921.
- Anjos B.L., Nobre V.M., Dantas A.F., Oliveira Neto T.S., Molyneux R.J. & Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. Toxicon 55(1):28-32.
- Bellodi C. 2010. Intoxicação experimental de cães com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leg. Papilionoideae). Dissertação de Mestrado em Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP. 74p.
- Cheeke P.P. 1988. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. J. Anim. Sci. 66:2243-2350.
- Colegate S.M., Gardner D.R., Joy R.J., Betz J.M. & Panter K.E. 2012. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv. 'Tropic Sun'). J. Agric. Food Chem. 60:541-3550.
- Freitas F.L.C., Yamamoto B.L., Freitas W.L.C., Almeida K.S., Alessi A.C., Machado R.Z. & Machado C.R. 2009. Aspectos anatomopatológicos e bioquímicos da coccidiose hepática em coelhos. Rev. Patol. Trop. 38(2):125-155.
- Grecco F.B., Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P., Raffi M.B. & Schild A.L. 2012. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência à intoxicação. Pesq. Vet. Bras. 32(9):912-916.
- Hatayde M.R., Pereira W.A.B., Godoy G.S. & Alessi A.C. 2008. Efeitos da ingestão de sementes de *Crotalaria spectabilis* sobre o desempenho produtivo de galinhas poedeiras. Vet. Notícias 14(2):19-28.
- Hooper P.T. 1978. Pyrrolizidine alkaloid poisoning: pathology with particular reference to differences in animal and plant species, p.161-176. In: Keeler R.F., Van Kampen K.R. & James L.F. (Eds), Effects of Poisonous Plants on Livestock. Academic Press, New York.
- Ji X., Khan I., Mosjidis J.A., Wang H. & Livant P. 2005. Variability for the presence of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria juncea* L. Pharmazie 60(8):620-622.
- Johson A.E., Molyneux R.J. & Merrill G.B. 1985. Chemistry of toxic range plants. Variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia*, and *Crotalaria* species. J. Agricult. Food Chem. 33(1):50-55.
- Jones R.M. & Simão Neto M. 1987. Recovery of pasture seed ingested by ruminants. 3. The effects of the amount of seed in the diet and of diet quality on seed recovery from sheep. Aust. J. Exp. Agricult. 27:253-256.

- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M. 1997. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5th ed. Professional Publishing, Philadelphia. 932p.
- Kerr M.G. 2003. Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia. 2ª ed. Roca, São Paulo. 436p.
- Lalich J.J. & Merkow M.S. 1961. Pulmonary arteritis produced in rats by feeding *Crotalaria spectabilis*. Lab. Invest. 10:744-750.
- Lovesio C. 2008. Medicina Intensiva. 6ª ed. Corpus, Murcia. 2148p.
- Lucena R.B., Rissi D.R., Maia L.A., Flores M.M., Dantas A.F.M., Nobre V.M.T., Riet-Correa F. & Barros C.S.L. 2010. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 30(5):447-452.
- Maia L.A., Lucena R.B., Nobre V.M., Dantas A.F., Colegate S.M. & Riet-Correa F. 2013. Natural and experimental poisoning of goats with the pyrrolizidine alkaloid producing plant *Crotalaria retusa* L. J. Vet. Diagn. Invest. 25(5):592-595.
- Maia L.A., Pessoa C.R.M., Rodrigues A.F., Colegate S., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T. & Riet-Correa F. 2014. Duration of an induced resistance of sheep to acute poisoning by *Crotalaria retusa* seeds. Ciência Rural 44(6):1054-1059.
- Martin J.H., Leonard W.H. & Stamp D.L. 1976. Principles of field crop production. 3rd ed. MacMillan Publishing Co., New York. 1118p.
- Meyer D.J. & Harvey J.W. 2004. Veterinary Laboratory Medicine: interpretation and diagnosis. 3rd ed. W.B. Saunders, Missouri. 351p.
- Mosjidis J.A., Burke J.H. & Hess J.B. 2012. The facts about sunhemp toxicity. Crop Sci. 52:1469-1474.
- Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Riet-Correa F., Barbosa Filho J.M., Tabosa I.M. & Vasconcelos J.S. 2005. Acute intoxication by *Crotalaria retusa* in sheep. Toxicon 45(3):347-352.
- Purseglove J.W. 1981. Tropical crops: Dicotyledons. Longman Group, Essex. 719p.
- Riet-Correa F. & Medeiros R.M.T. 2001. Intoxicação por plantas tóxicas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. Pesq. Vet. Bras. 21(1):38-42.
- Riet-Correa F., Carvalho K.S., Dantas A.F. & Medeiros R.M. 2011. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. Toxicon 58(7):606-609.
- Riet-Correa F., Medeiros R.M.T., Tokarnia C.H. & Döbereiner J. 2007. 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. & Pfister J.A. (Eds), Poisonous Plants: global research and solutions. CAB International, Wallingford.
- Romin A.E. & Fitt R.H. 1938. The feeding of sunhemp hay (*Crotalaria juncea*) as compared with cowpea hay (*Vigna catjang*) in a fattening ration for bullocks. Rhodesian Agriculture J. 35:15-19.
- Rotar P.P. & Joy R.J. 1983. "Tropic Sun" sunn hemp *Crotalaria juncea* L. Research Extension Series 36:1-7.
- Roth R.A., Dotzlaw L.A., Baranyi B., Kuo C.H. & Hook J.B. 1981. Effect of monocrotaline ingestion on liver, kidney and lungs of rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 60:193-203.
- Simão Neto M. & Jones R.M. 1987. Recovery of pasture seed ingested by ruminants. 2. Digestion of seed *in sacco* and *in vitro*. Recovery of 1987. Aust. J. Exp. Agricult. 27:247-251.
- Souza A.C., Hatayde M.R. & Bechara G.H. 1997. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis*. Pesq. Vet. Bras. 17(1):12-18.
- Stegelmeier B.L. 2011. Pyrrolizidine alkaloid- containing toxic plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp.). Vet. Clin. North Am., Food Anim. 27(2):419-428.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro. 566p.
- Torres M.B.A., Salles M.W.S., Headley S.A. & Barros C.S.L. 1997. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae) em suínos. Ciência Rural 27(2):302-307.
- Ubiali D.G., Boabaid F.M., Borges N.A., Caldeira F.H.B., Lodi L.R., Pescador C.A., Souza M.A. & Colodel E.M. 2011. Intoxicação aguda com sementes de *Crotalaria spectabilis* (Fabaceae) em suínos. Pesq. Vet. Bras. 31(4):313-318.
- Vandoni R. 1952. Contribuição para o conhecimento de algumas leguminosas como forrageiras: aceitação, palatabilidade e toxidez. Anais Esc. Sup. Agricult. Luiz de Queiroz, Piracicaba, 9:196-214.
- Williams M.C. & Molyneux R.J. 1987. Occurrence, concentration, and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. Weed Sci. 35:476-484.