



**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DA INTOXICAÇÃO POR *Palicourea aeneofusca***

**MURILO DUARTE DE OLIVEIRA**

**PATOS - PB  
2012**



**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DA INTOXICAÇÃO POR *Palicourea aeneofusca***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Mestrando: Murilo Duarte de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Rosane M. T. Medeiros

Patos-PB  
2012

FICHA CATALOGRÁFICA  
De acordo com AACR2, CDU, CUTTER  
Biblioteca Setorial do CSTR/UFCG – Campus de Patos - PB

O48c  
2013

Oliveira, Murilo Duarte de  
Controle da Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* /  
Murilo Duarte de Oliveira. - Patos - PB: CSTR/PPGMV,  
2012.  
36 f.  
Bibliografia  
Orientadora: Rosane Maria Trindade de Medeiros.  
Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária),  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de  
Saúde e Tecnologia Rural.  
1 – Toxicologia Veterinária - Dissertação. 2 – Aversão  
alimentar condicionada. 3 – Insuficiência cardíaca aguda.  
5 -Resistência às intoxicações I – Título.

CDU: 615.6:619(043)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
CAMPUS DE PATOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DA INTOXICAÇÃO POR *PALICOUREA AENEOFUSCA***

Dissertação elaborada por  
**MURILO DUARTE DE OLIVEIRA**

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Rosane Maria Trindade Medeiros  
UAMV da UFCG/CSTR/HV – PATOS/PB  
(Orientadora)

---

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça  
1º Membro - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - PE

---

Prof. Dr. Suedney de Lima Silva  
2º Membro - Universidade Federal Paraíba – CCA, Areia - PB

**PATOS - PB  
2012**

Dedico aos meus pais Maurílio e Selma, que sempre acreditaram em todo meu potencial.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente Agradeço a Deus, por ter me concebido saúde, coragem e sabedoria para chegar até o fim dessa empreitada da minha vida.

Agradeço também aos meus amados pais Maurílio Oliveira e Selma Duarte, por terem sempre acreditado em mim, e serem para mim as duas pessoas mais importantes da minha vida.

Também para meus estimados irmãos Marina e Marcilio, por todo apoio dado durante essa árdua tarefa.

A minha noiva Aline Macêdo Santana, por ter me dado força e coragem nos momentos que queria fracassar.

A minha Orientadora Professora Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros e ao meu Co-Orientador Professora Dr. Franklin Riet Correa, por toda ajuda e toda compreensão que tiveram à minha pessoa.

Aos meus amigos de Patos por terem me dado todo apoio durante as minhas estadias na cidade, são eles: Lyndemarques Góis, Jackson Moraes.

Aos Meus amigos do Colégio Agrícola Vidal de Negreiros por terem me dado ajuda, e como sou grato, são eles: Genilson, Walcleber, Fabinho, Jerson, Seu Antonio, Joca e ao Professor Dr. George Rodrigo Beltrão da Cruz.

Todas as pessoas que passaram ou entraram na minha vida e me ensinaram algo de ruim ou de bom.

## SUMÁRIO

	Pág
Lista de Quadros -----	8
Resumo -----	9
Abstract -----	11
Introdução -----	13
Referências -----	14
Capítulo I. Aversão alimentar condicionada no controle da intoxicação por <i>Palicourea aeneofusca</i> (Rubiaceae) -----	16
Abstract -----	17
Resumo -----	17
Introdução -----	18
Material e Métodos -----	20
Resultados -----	21
Discussão -----	21
Referências -----	22
Capítulo II Indução de resistência à intoxicação por <i>Palicourea aeneofusca</i> (Rubiaceae) mediante administração sucessiva de doses não tóxicas -----	24
Abstract -----	25
Resumo -----	26
Introdução -----	27
Material e Métodos -----	28
Resultados -----	29
Discussão -----	32
Referências -----	33
<b>Conclusões</b> -----	35
<b>Anexo</b> -----	36

## LISTA DE QUADROS

	Pág
<b>Capítulo II</b> Indução de resistência à intoxicação por <i>Palicourea aeneofusca</i> (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas.	
Quadro 1. Indução de resistência à ingestão de <i>P. aeneofusca</i> administrando planta seca em doses diárias repetidas por períodos variáveis (Grupo 1) e desafio mediante administração continuada da planta (Grupos 1, 2 e 3) -----	31

## RESUMO

*Palicourea aeneofusca* (Müll. Arg.) Standl. contem monofluoracetato de sódio (MFA) e quando administrada na dose de aproximadamente 0,6 g/kg de peso corporal (g/kg) produz morte súbita associada ao exercício. Esta dissertação é formada por dois artigos. No primeiro, intitulado Aversão alimentar condicionada no controle da intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), enviada a Pesquisa Veterinária Brasileira, foi testada a possibilidade de induzir aversão alimentar condicionada à essa planta em caprinos. Para isso 0,35 g/kg de folhas verdes da *P. aeneofusca* foram oferecidos para consumo espontâneo a seis caprinos nos dias 1, 5, 10, 20, 30, 60 e 90 após o início do experimento. No primeiro dia todos os caprinos ingeriram a planta e imediatamente foram tratados com 175 mg/kg de cloreto de lítio (CLi) administrado através de sonda ruminal. No 5º dia somente dois dos seis caprinos retornaram a ingerir a planta e foram tratados novamente com a mesma dose de CLi. Nos dias 10, 20, 30, 60 e 90 nenhum caprino ingeriu a planta. Em outro grupo semelhante de seis caprinos a planta foi oferecida nos dias 1, 10, 20, 30, 60 e 90. Todos os animais ingeriram a planta no primeiro dia e imediatamente após a ingestão lhes foi administrada água através de sonda ruminal na dose de 1 mL/kg de peso corporal. Todos os animais retornaram a ingerir a totalidade da planta oferecida nos dias 10, 20, 30, 60 e 90. Esses resultados demonstram que é possível induzir aversão alimentar condicionada à *P. aeneofusca* por um período de pelo menos 90 dias, mesmo após a ingestão de doses baixas, não tóxicas. No segundo trabalho, intitulado Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas, enviado à pesquisa veterinária Brasileira, foi testada a hipótese que doses não tóxicas repetidas de *Palicourea aeneofusca* criam resistência à intoxicação. Para isso, 12 caprinos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de seis animais cada. No Grupo 1 foi induzida resistência mediante a administração, durante quatro períodos alternados: 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,03 g/kg durante 5 dias e 0,03 g/kg por mais 5 dias. Entre o primeiro e o segundo período de administração e entre o segundo e o terceiro período os animais não receberam planta por 10 dias consecutivos e entre o terceiro e quarto período de administração os animais permaneceram 15 dias sem ingerir a planta. Um caprino morreu subitamente quando estava recebendo 0,03 g/kg, no terceiro período de administração. O Grupo 2 não foi adaptado ao consumo de *P. aeneofusca*. Quinze dias após a adaptação ao consumo de *P.*

*aeneofusca* do Grupo 1, os dois grupos receberam *P. aeneofusca* na dose diária de 0,03g/kg durante 19 dias. A partir do 20º dia de administração continuada a dose diária de *P. aeneofusca* foi aumentada para 0,04 g/kg. Esta dose foi administrada por mais 12 dias. Os animais que mostraram sinais clínicos foram retirados do experimento imediatamente após a observação dos primeiros sinais. Um caprino do Grupo 2 apresentou sinais clínicos de intoxicação e morreu no 12º dia de administração e dois apresentaram sinais clínicos no 24º dia; um se recuperou e outro morreu. Após finalizada esta fase do experimento e para comprovar se os caprinos que não tinham adoecido no Grupo 2 tinham também adquirido resistência foi introduzido outro grupo com três caprinos. Esses três caprinos (Grupo 3), os cinco caprinos do Grupo 1 e os três sobrevivente do Grupo 2 ingeriram uma dose diária de 0,06g/kg. Os três caprinos do Grupo 3 adoeceram no terceiro dia após o início da ingestão, dois morreram de forma hiperaguda e o outro recuperou-se após 10 dias. Todos os caprinos dos Grupos 1 e 2 ingeriram *P. aeneofusca* na dose de 0,06 g/kg/dia durante nove dias sem apresentar nenhum sinal clínico. Os resultados deste trabalho demonstram que a administração de doses não tóxicas repetidas de *P. aeneofusca* aumentam significativamente à resistência à intoxicação e que esta técnica poderia ser utilizada para o controle da intoxicação por *P. aeneofusca* e outras espécies de *Palicourea* com similar toxicidade.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Aversão alimentar condicionada, insuficiência cardíaca aguda, monofluoroacetato de sódio, *Palicourea* spp., resistência às intoxicações.

## ABSTRACT

*Palicourea aeneofusca* (Müll. Arg.) Standl. contains sodium monofluoroacetate (MFA) and when administrated at doses of approximately 0.6 g/kg body weight (g/kg) causes sudden death precipitated by exercise in goats and cattle. This dissertation is formed by two papers. The first entitled Conditioned Food Aversion for the Control of *Palicourea aeneofusca* Poisoning submitted to the Brazilian Journal of Veterinary Research was tested the possibility to induce conditioned food aversion to this plant in goats. For this, 0,35 g/kg of green leaves of *P. aeneofusca* were given to six goats on days 1, 5, 10, 20, 30, 60 and 90 after the start of the experiment. On the first day all goats ingested the full amount of the plant and were treated immediately with 175 mg/kg bw of lithium chloride (LiCl) through a ruminal tube. On day 5<sup>th</sup> only two goats ingested the plant and were treated again with the same dose of LiCl. On days 10, 20, 30, 40, 60 and 90 none of the goats ingested the plant. To another group of six similar goats the plant was given on days 1, 10, 20, 30, 60 and 90. All goats ingested the plant on day 1 and received 1 mL/kg bw of water through a ruminal tube. All goats returned to ingest the plant on days 10, 20, 30, 60 and 90. These results demonstrated that it is possible to induce conditioned food aversion to *P. aeneofusca* for at least 90 days administrating LiCl after the ingestion of low non toxic doses of the plant.

In the second paper, entitled Induction of Resistance to *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) Poisoning by the Continuous Administration of Non-Toxic Doses, submitted to the Brazilian Journal of Veterinary Research, was tested the hypothesis that repeated non-toxic doses of *Palicourea aeneofusca* criam resistência à intoxicação. For this, 12 goats were distributed in two similar groups. In Group 1, resistance was induced by the administration of the dry plant, during four alternate periods: 0.02 g/kg during 5 days, 0.02 g/kg during 5 days, 0.03 g/kg during 5 days, and 0.03 g/kg during 5 days. Between the first and second period of administration and between the second and the third period the goats did not ingest *P. aeneofusca* for 10 days. Between the third and the fourth administration period the goats did not ingest the plant during 15 days. One goat died suddenly during the third administration period when was ingesting 0.03 g/kg. The goats from Group 2 were not adapted to the consumption of *P. aeneofusca*. Fifteen days after the end of the adaptation period in Group 1, both groups ingested dry *P. aeneofusca* in the daily dose of 0.03g/kg during 19 days. From day 20 the daily dose was increased to 0.04 g/kg, which was ingested for 12 days. The goats that showed clinical signs were removed from the experiment immediately after the observation of

first signs. One goat from Group 2 showed clinical signs of poisoning and died on the 12<sup>th</sup> day of ingestion, and two showed clinical signs on day 24<sup>th</sup>; one recovered and the other died. At the end of the 31 days administration period, a new group (Group 3) with three goats was introduced in the experiment to investigate if the goats that did not become poisoned in Group 2 had acquired resistance. The three goats from Group 3, five goats from Group 1, and three from Group 2 started to ingest a daily dose of 0.06 g/kg of dry *P. aeneofusca*. On the third days of ingestion the three goats from Group 3 showed clinical signs. Two died suddenly and another recovered 10 days after the end of ingestion. All goats of Groups 1 and 2 ingested 0.06 g/kg/day during nine days without showing clinical signs. These results demonstrated that non-toxic repeated doses of *P. aeneofusca* increase significantly the resistance to the poisoning, and that this technique can be used to control the poisoning by *P. aeneofusca* or other toxic *Palicourea* species.

INDEX TERMS: Conditioned food aversion, acute cardiac insufficiency, sodium monofluoroacetate, *Palicourea* spp., resistance to plant poisonings.

## INTRODUÇÃO

Entre os anos de 2005 e 2007, dentro do projeto do MILENIO- Tecnologias Aplicadas ao Controle das Intoxicações por Plantas em Herbívoros no Brasil e Estudo das Plantas Tóxicas nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, e entre os anos 2008 e 2012, no projeto do Instituto Nacional Ciência e Tecnologia (INCT) Para o Controle das Intoxicações por Plantas, foram desenvolvidas na Universidade Federal de Campina Grande diversos experimentos para determinar formas de controle das intoxicações por plantas que contêm monofluoroacetato de sódio.

Inicialmente, o objetivo do projeto era obter bactérias com atividade de fluoroacetato dehalogenase para, futuramente, serem utilizadas para produzir inóculos que uma vez introduzidos no rúmen hidrolisassem o monofluoroacetato de sódio (MFA) protegendo os animais da intoxicação. Havia nessa época duas correntes. A primeira, de Greeg et al. (1998), que tinham desenvolvido bactérias modificadas geneticamente inserindo um gene proveniente de uma espécie de *Moraxella*, que codifica fluoroacetato dehalogenase, na bactéria *Butirivibrio fibrisolvins*. Experimentalmente, a inoculação intraruminal desta bactéria modificada foi eficiente na prevenção da intoxicação por MFA em ovinos. A segunda hipótese, do Dr Chris McSweeney (CSIRO, Austrália), pesquisador do INCT, propunha que as bactérias utilizadas deveriam ser bactérias anaeróbicas encontradas no rúmen, que uma vez isoladas poderiam ser multiplicadas para produzir inóculos a serem introduzidos intraruminalmente. Nos trabalhos realizados por nosso grupo de pesquisa foram identificadas diversas bactérias aeróbicas capazes de hidrolisar MFA, provenientes de solo, plantas e rúmen de animais que nunca tinham ingerido plantas que contêm MFA (Camboim et al. 2012ab). Simultaneamente foi determinado que a administração de doses não tóxicas de *Amorimia (Mascagnia) septentrionalis*, que contêm MFA, induz resistência à intoxicação por essa substância (Duarte 2012). Esses resultados sugerem que há normalmente, no rúmen, bactérias que hidrolisam MFA, que ao serem expostas ao substrato se multiplicam produzindo fluoroacetato dehalogenases e protegendo o animal da intoxicação. Essa hipótese foi verificada na tese de Camboim (2012) na qual se observou que a presença dessas enzimas em bactérias é bem mais disseminada do que se previa anteriormente. Outra informação importante para o controle das plantas que causam morte súbita, gerada pelo INCT, foi a de que MFA é o princípio ativo de diversas plantas deste grupo, incluindo *Palicourea aeneofusca*, *Amorimia (Mascagnia) rigida*, *Amorimia septentrionalis*,

*Amorimia (Mascagnia) pubiflora* e *Amorimia amazonica* (Lee et al. 2012). Anteriormente as únicas plantas do grupo que causam morte súbita das quais se sabia que continham MFA eram *Palicourea marcgravii* (Oliveira 1963) e *Tanaecium bilabiatum (Arrabidaea bilabiata)* (Krebs et al. 1994). O conhecimento do princípio ativo das plantas é imprescindível para desenvolver técnicas de controle das intoxicações.

Também dentro dos projetos do Milênio e INCT foi desenvolvida a técnica de aversão alimentar condicionada para o controle das intoxicações por *Amorimia rigida* (Barbosa et al. 2008) e de plantas que contém swainsonina (*Ipomoea carnea* e *Turbina cordata*). Inclusive, nos casos de *I. carnea* e *T. cordata* foi comprovado a eficiência dessa técnica em fazendas comerciais (Pimentel et al. 2012).

Seguindo essa linha de pesquisa esta dissertação é composta por dois trabalhos, ambos submetidos à Pesquisa Veterinária Brasileira, intitulados Aversão Alimentar Condicionada no Controle da Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) e Indução de Resistência à Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) Mediante Administração de Doses Sucessivas não Tóxicas.

## Referências

- Barbosa R.R., Pacifico da Silva I. & Soto-Blanco B. 2008. Development of conditioned taste aversion to *Mascagnia rigida* in goats. *Pesq. Vet. Bras.* 28:571-574.
- Camboim E.C.A. 2012. Bactérias que degradam fluoroacetato. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 81 p.
- Camboim E.K.A., Tadra-Sfeir M.Z., Souza E.M., Pedrosa F.O., Andrade P.P., McSweeney C.S., Riet-Corea F. & Melo M.A. 2012a. Defluorination of sodium fluoroacetate by bacteria from soil and plants in Brazil. *Scientific World Journal*. Article ID 149893, 5 pages, Disponível em: <<http://www.tswj.com/2012/149893/>> Acesso em 20 de Agosto de 2012. doi:10.1100/2012/149893.
- Camboim E.K.A., Almeida A.P., Tadra-Sfeir M.Z. Junior F.G., Andrade P.P., McSweeney C.S., Melo M.A. & Riet-Correa F. 2012b. Isolation of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. *Scientific World Journal*. Article ID 178254, 6 pages, Disponível em:

<<http://www.tswj.com/2012/178254/>> Acesso em: 20 de Agosto de 2012.  
doi:10.1100/2012/178254. 10

- Duarte A.L.L. 2012. Intoxicações por *Amorimia* spp. e *Callaeum psilophyllum* em ruminantes. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 81p.
- Gregg K., Hamdorf B., Henderson K., Kopecny J. & Wong, C. 1998. Genetically modified ruminal bacteria protect sheep from fluoroacetate poisoning. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3496-3498.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32: 909-913.
- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner D. 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.
- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hill. *Experientia* 19(11):586-587
- Pimentel L.A., Maia L.A., Campos E.M., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Pfister J.A., Cook D. & Riet-Correa F. 2012. Aversão alimentar condicionada no controle de surtos de intoxicações por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* e *Turbina cordata* em caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8):707-714.

## **CAPITULO I**

**Aversão alimentar condicionada no controle da intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae)**

Enviado à revista Pesquisa Veterinária Brasileira.



1 planta foi oferecida nos dias 1, 10, 20, 30, 60 e 90. Todos os animais ingeriram a planta  
2 no primeiro dia e imediatamente após a ingestão lhes foi administrada água através de  
3 sonda ruminal na dose de 1 mL/kg de peso corporal. Todos os animais retornaram a  
4 ingerir a totalidade da planta oferecida nos dias 10, 20, 30, 60 e 90. Esses resultados  
5 demonstram que é possível induzir aversão alimentar condicionada à *P. aeneofusca* por  
6 um período de pelo menos 90 dias, mesmo após a ingestão de doses baixas, não tóxicas.  
7 Novos experimentos deverão ser realizados para comprovar a duração da aversão e  
8 utilizar a técnica para induzir aversão condicionada para outras espécies de *Palicourea*,  
9 principalmente *P. marcgravii* que é a planta tóxica mais importante do Brasil.

10  
11 TERMOS DE INDEXAÇÃO: aversão alimentar condicionada, insuficiência cardíaca  
12 aguda, monofluoroacetato de sódio, *Palicourea* spp., ruminantes.

### 13 INTRODUÇÃO

14 *Palicourea aeneofusca* (Müll. Arg.) Standl. (Rubiaceae) causa mortes súbitas  
15 associadas ao exercício no Agreste e Zona da Mata Pernambucana, leste da Bahia  
16 (Tokarnia et al. 2012), Alagoas (Riet-Correa, dados não publicados) e na microrregião  
17 do litoral norte do estado da Paraíba (Vasconcelos et al. 2008). É comumente conhecida  
18 pelos nomes de erva-de-rato (Tokarnia et al. 2012), cafezinho e papaconha (Riet-Correa  
19 et al. 2011)

20  
21 *P. aeneofusca* é experimentalmente tóxica para bovinos, coelhos (Tokarnia &  
22 Dobereiner 1983, Vasconcelos et al. 2008) e caprinos (Passos 1983). Sua toxicidade é  
23 causada pela presença de monofluoroacetato de sódio (MFA) (Lee et al. 2012). Dentre  
24 as plantas tóxicas que contêm MFA, as da família Rubiaceae são as mais importantes  
25 que acometem os animais domésticos no Brasil, causando-lhes a chamada “síndrome da  
26 morte súbita” que se caracteriza por um quadro de insuficiência cardíaca aguda  
27 associada ao exercício (Tokarnia et al. 2012).

28 A dose letal de folhas frescas de *P. aeneofusca* para caprinos (Passos 1983) e  
29 bovinos (Tokarnia & Dobereiner 1983) foi de 0.6 e 0.75 g/kg de peso vivo,  
30 respectivamente. Após o consumo da planta é necessário um período para que o MFA  
31 seja detoxificado pelo organismo que de acordo com Tokarnia et al. (2012) varia entre 8  
32 a 14 dias. Os sinais clínicos apresentados por animais que consomem a planta  
33 experimentalmente caracterizaram-se por taquicardia, jugular ingurgitada com pulso  
34 venoso positivo, taquipneia com respiração irregular ou abdominal, andar cambaleante,  
35 quedas e decúbito esternal evoluindo para decúbito lateral, seguidos de morte. Os sinais  
36 clínicos são observados de 50 minutos a 12 horas após a administração e o curso clínico  
37 é de poucos minutos. (Tokarnia & Dobereiner 1983, Passos 1983). Macroscopicamente  
38 não são descritas lesões significantes. Na histologia, a principal lesão é a degeneração

1 hidrópico vacuolar acentuada e picnose das células epiteliais dos túbulos uriníferos  
2 contornados distais (Tokarnia & Dobereiner 1983, Pasos 1983).

3 A aversão alimentar condicionada é uma técnica utilizada para diversos fins,  
4 incluindo o de evitar a predação nas criações de gado por coiotes e lobos, impedir o  
5 consumo de grãos por roedores (Gustavson & Gustavson 1985) ou a destruição de  
6 diferentes cultivos por herbívoros (Nicodemo 2006) e, também, para o tratamento do  
7 alcoolismo em humanos (Ralphs & Provenza 1999). Em ruminantes e equinos pode ser  
8 utilizada para evitar a ingestão de plantas tóxicas. Para isso utiliza-se o cloreto de lítio  
9 (CILi), que ao ser administrado por fístula ruminal ou mediante sonda ruminal,  
10 imediatamente após o consumo da planta, induz aversão. Esta substância produz mal  
11 estar gastrointestinal sem efeitos secundários importantes (Ralphs et al. 2001) e  
12 acredita-se que o mecanismo de ação está relacionado com a ativação do sistema  
13 emético, provocando náuseas, pois a partir do momento que se aplicam no animal  
14 medicamentos anti eméticos atenua-se a aversão produzida pelo CILi (Launchbaugh &  
15 Provenza 1994)

16 Há diversos fatores que podem interferir na utilização da aversão condicionada  
17 incluindo: idade dos animais, pois animais adultos retêm a aversão melhor que animais  
18 jovens; plantas desconhecidas, pois é mais fácil condicionar aversão a plantas  
19 desconhecidas e de sabor característico do que aquelas usadas rotineiramente na  
20 alimentação animal; e o principal fator, é a facilitação social, mecanismo pelo qual  
21 animais que ingerem a planta ensinam aos que não a ingerem a ingeri-la. Em  
22 consequência animais já advertidos devem pastar separadamente dos animais não  
23 condicionados (Ralphs & Provenza 1999)

24 No Brasil, a aversão alimentar condicionada tem sido utilizada  
25 experimentalmente para evitar a ingestão de *Leucaena leucocephala* (Gorniak et al.  
26 2008), *Amorimia (Mascagnia) rigida* (Barbosa et al. 2008) e *Ipomoea carnea* subsp.  
27 *fistulosa* (Pimentel et al. 2012, Oliveira et al. 2013). Experimentos a campo  
28 demonstraram a utilidade desta técnica, em fazendas comerciais, para evitar a ingestão de  
29 *Turbina cordata* e *I. carnea* (Pimentel et al. 2012, Oliveira et al. 2013). Estas plantas  
30 apresentam baixa toxicidade e para induzir aversão são oferecidas em doses repetidas  
31 diariamente, aplicando-se o CILi cada vez que os animais as ingerem (Pimentel et al.  
32 2012). Não há trabalhos que demonstrem a possibilidade de induzir aversão à plantas  
33 muito tóxicas e que possuem efeito acumulativo, como *Palicourea* spp. Este trabalho  
34 teve como objetivo comprovar se é possível induzir aversão contra *P. aeneofusca*,

1 mesmo utilizado doses muito baixas da planta (aproximadamente 50% da dose tóxica),  
2 administradas em períodos alternados, que permitissem a detoxificação do MFA no  
3 período entre cada administração.

## 4 5 MATERIAL E METÓDOS

6  
7 O experimento foi realizado no Laboratório de Caprinocultura do Centro de Ciência  
8 Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB),  
9 localizado na cidade de Bananeiras, Paraíba. A planta foi coletada no Centro de  
10 Ciências Agrárias (CCA) da UFPB, na cidade de Areia, Paraíba (07°04'02"S,  
11 37°16'51"W e altitude de 567 m acima do nível do mar). As coletas foram feitas um dia  
12 antes do fornecimento da planta e a mesma era acondicionada em saco de Nylon e  
13 armazenada sob-refrigeração até minutos antes do fornecimento. Em amostras de *P.*  
14 *aeneofusca* coletadas no mesmo local do que as utilizadas neste experimento foi  
15 determinado a presença de monofluoracetato de sódio na concentração de 0,09±0,05%  
16 (Lee et al. 2012).

17 Foram utilizados doze caprinos das raças Saanen e Alpina, com 12 a 18 meses  
18 de idade, pesando entre 13 a 31 kg de peso corporal que tinham sido criados em área  
19 onde não ocorre *P. aeneofusca*. Os caprinos foram separados em dois grupos de seis  
20 animais. Os caprinos do Grupo 1 foram avertidos com CILi após a ingestão de *P.*  
21 *aeneofusca* e os caprinos do Grupo 2 receberam água após a primeira ingestão da  
22 planta. Todos os caprinos foram colocados em gaiolas individuais providas de cocho  
23 para alimentação e bebedouros tipo baldes.

24 Durante o experimento os animais receberam volumoso à base de *Pennisetum*  
25 *purpureum ad libitum* e 300 g/dia de concentrado composto de 40% de farelo de milho,  
26 20% de farelo de soja, 20% de farelo de trigo e 20% de farelo de algodão.

27 Antes do procedimento da aversão os animais ficaram em jejum alimentar de 12  
28 horas. Em cada dia que era fornecida a planta os animais eram pesados individualmente  
29 e, em seguida administravam-se folhas verdes de *P. aeneofusca* na dose de 0.35 g/kg de  
30 peso corporal (g/kg). Aos animais do Grupo 1 a planta foi oferecida no coxo, para  
31 consumo espontâneo nos dias 1, 5, 10, 20, 30, 60 e 90. Aos animais do Grupo 1 que  
32 ingeriram a planta, imediatamente após a ingestão lhes era administrado CILi por sonda  
33 ruminal na dose de 175 mg/kg de peso corporal (mg/kg). As folhas a serem  
34 administradas e o CILi eram pesados em balança tipo analítica no Laboratório de

1 Química do CCHSA. Após a pesagem do CLLi o mesmo era diluído em água destilada  
2 de forma que a solução contivesse 175 mg de CILi por mL. Esta solução era  
3 administrada na dose de 1 mL por kg de peso corporal. A alimentação rotineira foi  
4 fornecida 10 minutos após tratamento com CILi.

5 Para os animais do Grupo 2 (controle) foram fornecidas 0.35 g/kg de folhas de  
6 *P. aeneofusca* nos dias 1, 10, 20, 30, 60 e 90. No primeiro dia de administração da  
7 planta, a todos os animais que ingeriram a mesma foi administrado água via sonda  
8 ruminal, na quantidade de 1 mL por kg de peso vivo.

## 10 RESULTADOS

11 Na primeira administração todos os animais do Grupo 1 ingeriram espontaneamente  
12 toda a planta oferecida (0.35 g/kg) e imediatamente após a ingestão foi fornecido CILi  
13 através de sonda ruminal. No 5º dia apenas dois animais ingeriram a planta e foram  
14 tratados com CILi. Nos dias 10, 20, 30, 60 e 90 nenhum dos animais deste grupo ingeriu  
15 a planta. Após o oferecimento da planta os animais iam até o coxo e colocavam algumas  
16 folhas na boca, mas imediatamente a jogavam fora e retornavam para a parte oposta do  
17 cocho.

18 Todos os animais do Grupo 2 ingeriram toda a planta no dia 1 e após a ingestão  
19 receberam 1 mL de água por sonda ruminal. Nos dias 10, 20, 30, 60 e 90 todos os  
20 animais ingeriram toda a planta oferecida.

21 Em nenhum caprino dos dois grupos foram observados sinais clínicos após a  
22 administração da planta.

## 24 DISCUSSÃO

25 Os resultados deste trabalho comprovam que é possível induzir eficientemente aversão  
26 alimentar condicionada à *P. aeneofusca*. Antes da realização deste experimento a  
27 principal limitante à utilização de aversão alimentar condicionada para a profilaxia desta  
28 intoxicação era a alta toxicidade da planta, o que aparentemente limitaria a quantidade  
29 de planta a ser oferecida antes da administração do CILi. Neste experimento, a  
30 administração de 0.35 g/kg, que os animais ingeriram rapidamente em forma  
31 espontânea, seguida da administração de CILi, foi extremamente eficiente em induzir  
32 aversão após uma única administração em quatro dos seis caprinos do Grupo 1 e após  
33 duas administrações nos dois animais restantes. Trabalhos a campo deverão ser  
34 conduzidos para testar a eficiência da utilização da aversão condicionada à *P.*

1 *aeneofusca* e a outras espécies de *Palicourea*, principalmente *P. marcgravii*, planta  
2 extremamente tóxica, que causa perdas econômicas muito importantes (Tokarnia et al.  
3 2012). Considerando que a toxicidade de *P. marcgravii* (0.6 g/kg pc) (Tokarnia et al.  
4 2012) é semelhante a *P. aeneofusca* e que é uma planta palatável, acredita-se que seja  
5 possível induzir aversão administrando CILi após a ingestão voluntária de 0.25-03 g/kg  
6 de folhas frescas de *P. marcgravii*. Evidentemente que antes de iniciar o processo de  
7 indução de aversão em um rebanho é imprescindível constatar a dose tóxica da planta.  
8 Trabalhos anteriores com *Amorimia septentrionalis* (Duarte 2012) demonstraram que  
9 doses pequenas da planta administradas diariamente podem causar sinais clínicos sem  
10 causar a morte do animal. Outra possibilidade a ser testada experimentalmente é a de  
11 tratar de induzir aversão condicionada a espécies não tóxicas de *Palicourea* para  
12 constatar se é possível induzir aversão cruzada à *P. marcgravii*. Possivelmente uma  
13 espécie a ser testada com este fim é *Palicourea crocea*, planta muito semelhante a *P.*  
14 *marcgravii* e que igualmente a esta última se caracteriza pelo forte cheiro de salicilato  
15 de metila ao ser esmagada.

16 Neste experimento a aversão teve uma duração de pelo menos 90 dias. Futuros  
17 experimentos deverão avaliar a duração da aversão. Em trabalhos com outras plantas foi  
18 demonstrado que a aversão pode ser de até 3 anos (Ralphs & Provenza 1999). Em  
19 trabalhos realizados nas Regiões Norte e Nordeste foi comprovado que é possível  
20 induzir aversão a *Turbina cordata* e *Ipomoea carnea*, por períodos de até dois anos  
21 (Pimentel et al. 2012, Oliveira et al. 2013).

22 Em conclusão, é possível utilizar a técnica de aversão condicionada para evitar o  
23 consumo e a intoxicação por *P. aeneofusca* e possivelmente esta técnica possa ser  
24 aplicada, também, para evitar o consumo de *P. marcgravii* por ruminantes.  
25 Experimentos a campo deverão ser realizados para comprovar estas possibilidades.

26

27

## REFERÊNCIAS

- 28 Barbosa R.R., Pacífico da Silva I. & Soto-Blanco B. 2008. Development of conditioned  
29 taste aversion to *Mascania rigida* in goats. *Pesq. Vet. Bras.* 28:571-574.  
30 Duarte A.L.L. 2012. Intoxicações por *Amorimia* spp. e *Callaeum psilophyllum* em  
31 ruminantes. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina  
32 Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 81p.

33

- 1 Gorniak S., Pfister J., Lanzonia E. & Raspantini E. 2008. A note on averting goats to a  
2 toxic but palatable plant, *Leucaena leucocephala*. Applied Animal Behaviour  
3 Science 111:396-401.
- 4 Gustavson C.R. & Gustavson J.C. 1985. Predation control using conditioned food  
5 aversion methodology: theory, practice and implications. Annals of the New York  
6 Academy of Science 443:348-356.
- 7 Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G. & Gardner  
8 D. 2012. Detection of monofluoracetate in *Palicourea* and *Amorimia* species.  
9 Toxicon 60:791-796.
- 10 Nicodemo M.L.F. 2006. Uso de repelentes na proteção de árvores dos danos  
11 provocados por herbívoros vertebrados. Doc. 157, EMBRAPA Gado de Corte,  
12 Campo Grande, MS. 33p.
- 13 Oliveira C.A., Riet-Correa F. & Riet-Correa G. 2013. Intoxicação por plantas que  
14 contêm swainsonina no Brasil. Ciência Rural. No prelo.
- 15 Passos D.A. 1983. Intoxicação Experimental em Caprinos (*Capra hircus*) por  
16 *Palicourea aeneofusca* (M. Arg.) Standl. (Rubiaceae). Tese de Mestrado, Univ.  
17 Fed. Rural de Pernambuco, Recife, PE, 40 p.
- 18 Pimentel L.A., Maia L.A., Campos E.M., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Pfister J.A.,  
19 Cook D. & Riet-Correa F. 2012. Aversão alimentar condicionada no controle de  
20 surtos de intoxicações por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* e *Turbina cordata* em  
21 caprinos. Pesq. Vet. Bras. 32(8):707-714.
- 22 Ralphs M.H. & Provenza F.D. 1999. Conditioned food aversion: principles and  
23 practices, with special reference to social facilitation. Proc. Nutr. Soc. 58:813-820.
- 24 Ralphs M.H., Provenza F.D., Pfister J.A., Grahan D., Duff G.C. & Greathouse G. 2001.  
25 Conditioned food aversion: from theory to practice. Rangelands 23(2):14-18.
- 26 Riet-Correa F., Bezerra C.W.C. & Medeiros R.M.T. 2011. Plantas Tóxicas do  
27 Nordeste. Editora Sociedade Vicente Pallotti, Santa Maria, RS, 79 p.
- 28 Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Dobereiner J. 2012. Plantas  
29 Tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, RJ, 586p.
- 30 Tokarnia C.H., Dobereiner J., Couceiro, J.E.M. & Cordeiro Silva A.C. 1983.  
31 Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae), A causa de mortes súbitas em  
32 bovinos na Zona da Mata Pernambucana. Pesq. Vet. Bras. 3(3):75-79.
- 33 Vasconcelos J.S., Riet-Correa F., Dantas A.F., Medeiros R.M.T. & Dantas A.J.A. 2008.  
34 Mortes súbitas em bovinos causadas por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) e

1        *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) na Zona da Mata Paraibana. Pesq. Vet. Bras.  
2        28, 457-460.  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48

## CAPITULO II

### **Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas**

Enviado à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

1 **Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae)**  
2 **mediante administração de doses sucessivas não tóxicas<sup>1</sup>**

3  
4 Murilo Duarte de Oliveira<sup>a</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>b</sup>, Fabrício K. L. Carvalho<sup>b</sup> Genilson B.  
5 Silva<sup>a</sup>, Walkleber S. Pereira<sup>a</sup> e Rosane M. T. Medeiros<sup>b\*</sup>

6  
7 **ABSTRACT.-** Oliveira M.D., Riet-Correa F., Carvalho F.K., Silva G.B., Pereira W.S.  
8 & Medeiros R.M.T. 2012. [**Induction of resistance to *Palicourea aeneofusca***  
9 **(Rubiaceae) poisoning by the continuous administration of non toxic doses**].  
10 Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante  
11 administração de doses sucessivas não tóxicas. Pesquisa Veterinária Brasileira.....  
12 Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB,  
13 58700-000. \* Autor para correspondência Email: [rmtmed@uol.com.br](mailto:rmtmed@uol.com.br)

14 *Palicourea aeneofusca* (Müll. Arg.) Standl. is a toxic plant containing sodium  
15 monofluoroacetate (MFA). With the objective to investigate if repeated non-toxic doses  
16 of *P. aeneofusca* induce resistance to the intoxication by this plant, 12 goats were  
17 distributed in two similar groups. In Group 1, resistance was induced by the  
18 administration of the dry plant, during four alternate periods: 0.02 g/kg during 5 days,  
19 0.02 g/kg during 5 days, 0.03 g/kg during 5 days, and 0.03 g/kg during 5 days. Between  
20 the first and second period of administration and between the second and the third  
21 period the goats did not ingest *P. aeneofusca* for 10 days. Between the third and the  
22 fourth administration period the goats did not ingest the plant during 15 days. One goat  
23 died suddenly during the third administration period when was ingesting 0.03 g/kg. The  
24 goats from Group 2 were not adapted to the consumption of *P. aeneofusca*. Fifteen days  
25 after the end of the adaptation period in Group 1, both groups ingested dry *P.*  
26 *aeneofusca* in the daily dose of 0.03g/kg during 19 days. From day 20 the daily dose  
27 was increased to 0.04 g/kg, which was ingested for 12 days. The goats that showed  
28 clinical signs were removed from the experiment immediately after the observation of  
29 first signs. One goat from Group 2 showed clinical signs of poisoning and died on the  
30 12<sup>th</sup> day of ingestion, and two showed clinical signs on day 24<sup>th</sup>; one recovered and the  
31 other died. At the end of the 31 days administration period, a new group (Group 3) with  
32 three goats was introduced in the experiment to investigate if the goats that did not  
33 become poisoned in Group 2 had acquired resistance. The three goats from Group 1,  
34 five goats from Group 1, and three from Group 2 started to ingest a daily dose of 0.06  
35 g/kg of dry *P. aeneofusca*. On the third days of ingestion the three goats from Group 3  
36 showed clinical signs. Two died suddenly and another recovered 10 days after the end  
37 of ingestion. All goats of Groups 1 and 2 ingested 0.06 g/kg/day during nine days  
38 without showing clinical signs. These results demonstrated that non-toxic repeated  
39 doses of *P. aeneofusca* increase significantly the resistance to the poisoning, and that  
40 this technique can be used to control the poisoning by *P. aeneofusca* or other toxic

---

<sup>1</sup> Enviado para publicação em .....  
Aceito em.....

<sup>a</sup> Laboratório de Caprinocultura, Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias(CCHSA) da  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Bananeira, PB, CEP 58220-000.

<sup>b</sup>Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 58700-000. \* Autor  
para correspondência Email: [rmtmed@uol.com.br](mailto:rmtmed@uol.com.br)

1 *Palicourea* species. Previous results of our research group suggested that resistance is  
2 due to the proliferation of MFA degrading bacteria in the rúmen.

3  
4 INDEX TERMS: acute cardiac insufficiency, sodium monofluoroacetate, *Palicourea*  
5 spp., resistance to plant poisonings.

6  
7 **RESUMO.-** Com o objetivo de comprovar se doses não tóxicas repetidas de *Palicourea*  
8 *aeneofusca* (Müll. Arg.) Standl. criam resistência à intoxicação, 12 caprinos foram  
9 distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de seis animais cada. No  
10 Grupo 1 foi induzida resistência mediante a administração, durante quatro períodos  
11 alternados: 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,03 g/kg durante 5 dias e  
12 0,03 g/kg por mais 5 dias. Entre o primeiro e o segundo período de administração e  
13 entre o segundo e o terceiro período os animais não receberam planta por 10 dias  
14 consecutivos e entre o terceiro e quarto período de administração os animais  
15 permaneceram 15 dias sem ingerir a planta. Um caprino morreu subitamente quando  
16 estava recebendo 0,03 g/kg, no terceiro período de administração. O Grupo 2 não foi  
17 adaptado ao consumo de *P. aeneofusca*. Quinze dias após a adaptação ao consumo de *P.*  
18 *aeneofusca* do Grupo 1, os dois grupos receberam *P. aeneofusca* na dose diária de  
19 0,03g/kg durante 19 dias. A partir do 20º dia de administração continuada a dose diária  
20 de *P. aeneofusca* foi aumentada para 0,04 g/kg. Esta dose foi administrada por mais 12  
21 dias. Os animais que mostraram sinais clínicos foram retirados do experimento  
22 imediatamente após a observação dos primeiros sinais. Um caprino do Grupo 2  
23 apresentou sinais clínicos de intoxicação e morreu no 12<sup>o</sup> dia de administração e dois  
24 apresentaram sinais clínicos no 24<sup>o</sup> dia; um se recuperou e outro morreu. Após  
25 finalizada esta fase do experimento e para comprovar se os caprinos que não tinham  
26 adoecido no Grupo 2 tinham também adquirido resistência foi introduzido outro grupo  
27 com três caprinos. Esses três caprinos (Grupo 3), os cinco caprinos do Grupo 1 e os três  
28 sobrevivente do Grupo 2 ingeriram uma dose diária de 0.06g/kg. Os três caprinos do  
29 Grupo 3 adoeceram no terceiro dia após o início da ingestão, dois morreram em forma  
30 hiperaguda e o outro recuperou-se após 10 dias. Todos os caprinos dos Grupos 1 e 2  
31 ingeriram *P. aeneofusca* na dose de 0.06 g/kg/dia durante nove dias sem apresentar  
32 nenhum sinal clínico. Os resultados deste trabalho demonstram que a administração de  
33 doses não tóxicas repetidas de *P. aeneofusca* aumentam significativamente á resistência  
34 à intoxicação e que esta técnica poderia ser utilizada para o controle da intoxicação por  
35 *P. aeneofusca* e outras espécies de *Palicourea* com similar toxicidade. Trabalhos  
36 anteriores do nosso grupo de pesquisa sugerem que a resistência à intoxicação por  
37 plantas que contêm MFA é devida a proliferação de bactérias que degradam MFA no  
38 rúmenn.

39  
40 TERMOS DE INDEXAÇÃO: insuficiência cardíaca aguda, monofluoroacetato de  
41 sódio, *Palicourea* spp., resistência às intoxicações.

## INTRODUÇÃO

No Brasil existem pelo menos 13 plantas que causam insuficiência cardíaca aguda em ruminantes. O monofluoroacetato de sódio (MFA) foi determinado como o composto tóxico encontrado em *Palicourea marcgravii* (Oliveira 1963), *Palicourea aeneofusca* (Lee et al. 2012), *Amorimia (Mascagnia) rigida* (Cunha et al. 2012, Lee et al. 2012), *Amorimia septentrionalis*, *Amorimia (Mascagnia) pubiflora* (Lee et al. 2012) e *Tanaecium bilabiatum (Arrabidaea bilabiata)* (Krebs et al. 1994).

Na Paraíba são conhecidas duas plantas que contêm MFA e causam insuficiência cardíaca aguda, *A. septentrionalis*, anteriormente identificada como *Amorimia (Mascagnia) rigida* e *P. aeneofusca* (Vasconcelos et al. 2008).

Experimentalmente *P. aeneofusca* causou morte em caprinos (Passos 1983) e bovinos (Tokarnia & Dobereiner 1983) nas doses de 0.6 e 0.75 g/kg de peso corporal (g/kg), respectivamente. Os sinais clínicos são caracterizados por taquicardia, jugular ingurgitada com pulso venoso positivo, taquipnéia com respiração irregular ou abdominal, andar cambaleante, quedas e decúbito esternal evoluindo para decúbito lateral, seguidos de morte. Na necropsia geralmente não há lesões macroscópicas de significância. Na histologia a lesão mais frequente, observada nos rins em aproximadamente 50% dos animais intoxicados, é a severa vacuolização e picnose das células epiteliais dos túbulos contornados distais (Tokarnia & Dobereiner 1983, Passos 1983).

Em trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa foi observado que animais que recebem diariamente doses não tóxicas de *A. septentrionalis* apresentam sinais clínicos, mas geralmente se recuperam se a administração é suspensa imediatamente após a observação dos primeiros sinais (Duarte 2012). De acordo com Tokarnia et al. (2012) o período de tempo para eliminação do princípio tóxico do organismo animal é de 8 a 14 dias.

Uma forma de controlar as intoxicações por plantas que contem MFA é o isolamento de bactérias que hidrolisam MFA de forma a serem introduzidas no rúmen de animais susceptíveis para lhes conferir resistência. Dentro dessa linha de pesquisa foram isoladas, na Paraíba, bactérias que hidrolisam MFA do solo, de plantas e do rúmen de caprinos que nunca tinham ingerido plantas que contêm MFA (Camboim et al. 2012a,b). Foi demonstrado, também, que bactérias que hidrolisam MFA são muito mais frequentes do que se pensava anteriormente (Camboim 2012) e que muito

1 provavelmente a administração de plantas que contem MFA induz a multiplicação  
2 dessas bactérias que ocorrem normalmente no rúmen, induzindo resistência à  
3 intoxicação. Foi demonstrado que a administração diária e contínua de doses não  
4 tóxicas de *A. septentrionalis* administradas em períodos alternados, que permitem a  
5 detoxificação do MFA, induz resistência contra a intoxicação por esta planta e que essa  
6 resistência pode ser transmitida de um animal resistente para um animal susceptível  
7 mediante a transfaunação de conteúdo ruminal (Duarte 2012).

8 O presente trabalho teve como objetivo determinar se é possível induzir  
9 resistência à intoxicação por *P. aeneofusca* mediante a administração de doses diárias  
10 não tóxicas da mesma por períodos alternados.

## 11 MATERIAL E MÉTODOS

12 Para a realização do experimento, folhas de *P. aeneofusca* foram coletadas no  
13 Município de Areia, Paraíba, Brasil (07<sup>o</sup>04'02''S, 37<sup>o</sup>16'51''W e altitude de 560 metros  
14 acima do nível do mar) e desidratadas em temperatura ambiente por quatro dias. Após  
15 secas foram trituradas em moinho e guardadas em potes fechados. Amostras da planta  
16 foram enviadas Poisonous Plant Research Laboratory, em Logan, Estados Unidos, para  
17 determinação da concentração de MFA, detectando-se que a mesma continha 0,09 ±  
18 0,05% de MFA (Lee et al. 2012).

19 O Experimento foi realizado na cidade de Bananeiras, Paraíba, no Laboratório  
20 de Caprinocultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA) da  
21 Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Inicialmente foram utilizados 12 caprinos,  
22 hígdidos, das raças Alpino e Saanen pesando entre 15 e 25 kg, machos e fêmeas e  
23 distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais de seis animais cada. No  
24 Grupo 1 (Caprinos 1 a 6) foi induzida resistência mediante a administração diária, em  
25 períodos alternados, de 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,02 g/kg durante 5 dias, 0,03 g/kg  
26 durante 5 dias e 0,03 g/kg por mais 5 dias. Entre o primeiro e o segundo período de  
27 administração e entre o segundo e o terceiro período os animais não receberam planta  
28 por 10 dias consecutivos e entre o terceiro e quarto período de administração os animais  
29 permaneceram 15 dias sem ingerir a planta (Quadro 1). Durante cada período de  
30 fornecimento da planta foram realizados exames clínicos que consistiam em verificação  
31 das frequências cardíaca e respiratória, da temperatura retal e do comportamento do  
32 animal.  
33

1 O Grupo 2 (Caprinos 7 a 12) não foi adaptado ao consumo de *P. aeneofusca*.  
2 Quinze dias após o final da adaptação ao consumo de *P. aeneofusca* do Grupo 1, os dois  
3 grupos receberam *P. aeneofusca* na dose diária de 0,03 g/kg durante 19 dias. A partir  
4 do 20º dia de administração continuada a dose diária de *P. aeneofusca* foi aumentada  
5 para 0.04 g/kg. Esta dose foi administrada por mais 12 dias.

6 Considerando que após 31 dias de administração da planta em forma continuada,  
7 em doses crescentes, havia 5 caprinos do Grupo 1 e três do Grupo 2 que não adoeceram,  
8 foi introduzido um novo grupo de três caprinos (Caprinos 13 a 15) para testar se os oito  
9 animais mencionados anteriormente apresentavam resistência superior à do início do  
10 experimento. A partir do dia 32 os cinco caprinos do Grupo 1, os três do Grupo 2 e os  
11 três do Grupo 3 passaram a receber diariamente 0.06g/kg de *P. aeneofusca* seca, até o  
12 40º dia.

13 Durante todo o experimento, nos animais que apresentavam sinais clínicos foi  
14 suspenso o fornecimento da planta no mesmo dia que adoeceram, sendo retirados do  
15 experimento e colocados em gaiolas afastadas em local tranquilo.

16 Os animais que morreram foram necropsiados. Amostras de órgãos das cavidades,  
17 abdominal, torácica e sistema nervoso central foram coletadas, fixadas em formol a 10%,  
18 incluídas em parafina, cortadas a 5-6 µm e coradas pela hematoxilina-eosina para exame  
19 histológico. Para a interpretação das lesões microscópicas cardíacas foram coletadas, no  
20 Abatedouro Municipal de Patos, amostras do coração de 10 caprinos normais, que foram  
21 processadas para estudo histológico em forma semelhante à dos caprinos intoxicados.

## 22 23 RESULTADOS

24 No Grupo 1, um animal (Caprino 1) morreu, sem que fossem observados sinais clínicos,  
25 durante o período de indução de resistência, no dia 34, 4 dias após o início da ingestão  
26 da dose diária de 0,03 g/kg. Em consequência disso o intervalo entre as administrações,  
27 previsto inicialmente para 10 dias, foi aumentado para 15 dias. Após o período de  
28 indução de resistência nenhum animal do Grupo 1 apresentou sinais clínicos durante os  
29 40 dias da fase de desafio mediante fornecimento de *P. aeneofusca* em doses crescentes  
30 (Quadro 1).

31 No Grupo 2, um animal (Caprino 12) apresentou sinais clínicos e morreu no 12<sup>o</sup>  
32 dia de ingestão da planta. No 24<sup>o</sup> dia adoeceram outros dois caprinos (N<sup>os</sup> 8 e 10) deste  
33 grupo. O Caprino 10 se recuperou em 6 dias e o Caprino 8 estava se recuperando 48  
34 horas após o final da ingestão, quando foi solto numa pastagem e no retorno da mesma

1 morreu após apresentar queda e movimentos de pedalagem. Nenhum outro animal do  
2 Grupo 2 adoeceu até o 40<sup>o</sup> dia (Quadro 1).

3 Dos animais do Grupo 3, todos adoeceram três dias após o início da ingestão de  
4 0.06 g/kg, enquanto que os três animais sobreviventes do Grupo 2 e os 5 animais do  
5 Grupo 1 receberam essa dose durante 9 dias sem apresentar sinais. Dos três animais do  
6 Grupo 3 que adoeceram os Caprinos 14 e 15 morreram em forma hiperaguda e o  
7 Caprino 13 recuperou-se após 10 dias. As doses administradas a cada grupo, os períodos  
8 de administração, os períodos nos que a planta não foi administrada e a observação de  
9 animais doentes apresentam-se no Quadro 1.

10 Os Caprinos 8, 12, 14 e 15 que adoeceram e morreram apresentaram  
11 clinicamente apatia, anorexia, taquicardia, ligeira perda de equilíbrio, muitas vezes com  
12 andar cambaleante e aumento progressivo da dificuldade locomotora e elevado grau de  
13 dificuldade quando iam deitar-se. A micção era frequente. Na fase agônica da doença  
14 todos os animais caíam em decúbito lateral, esticavam os membros, faziam movimentos  
15 de pedalagem e apresentavam opistótono, nistagmo e mugidos intensos. A morte ocorria  
16 de 10 a 20 minutos após o início dos sinais clínicos.

17 Nos Caprinos 10 e 13, que se recuperaram, os sinais eram mais brandos  
18 observando-se apatia e anorexia, permanecendo em decúbito esternal por longos  
19 períodos. A recuperação ocorreu em três dias no Caprino 10 e em 10 dias no Caprino  
20 13. Neste último registrou-se uma perda de peso de 6 kg.

21 Não foram observadas lesões macroscópicas nos cinco caprinos que morreram  
22 durante o experimento. No estudo histológico, os rins dos caprinos 1 e 14 apresentaram  
23 vacuolização e picnose de células epiteliais de raros túbulos contornados distais. No  
24 Caprino 8, além de vacuolizados, numerosos túbulos apresentavam necrose e  
25 desprendimento de células epiteliais. No Caprino 1 não foram observadas lesões  
26 cardíacas. No coração do Caprino 12 haviam fibras musculares eosinofílicas e com  
27 picnose nuclear e numerosas fibras de Purkinje apresentavam-se vacuolizadas. Nos  
28 Caprinos 8, 13 e 14 havia discreta vacuolização das fibras de Purkinje, mais marcada  
29 nas fibras localizadas no miocárdio do que das localizadas no endocárdio. Estas lesões  
30 não foram observadas no coração de 10 caprinos coletados no abatedouro de Patos e  
31 utilizadas como controle.

32

33

34

**Quadro 1. Indução de resistência à ingestão de *P. aeneofusca* administrando planta seca em doses diárias repetidas por períodos variáveis (Grupo 1) e desafio mediante administração continuada da planta (Grupos 1, 2 e 3)**

Grupo	Doses e períodos de ingestão, períodos sem ingestão e caprinos que adoeceram sobre o total em cada período											
	Período de indução de resistência						Período de desafio					
G1	0,02 g/kg 5 dias	PSI <sup>a</sup> 10 dias	0,02 g/kg 5 dias	PSI 10 dias	0,03 g/kg 5 dias	PSI 15 dias	0,03 g/kg 5 dias	PSI 15 dias	0,03 g/kg 19 dias	0,04 g/kg 12 dias	0,05 g/kg 9 Dias	
Doentes/total	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
G2	Seis caprinos que não foram adaptados						0,03 g/kg 19 dias	0,04 g/kg 12 dias	0,05 g/kg 9 dias			
Doentes/total							1/6	2/5	0/3			
G3	Três caprinos que não foram adaptados									0,05g/kg 9 dias		
Doentes/total										3/3		

<sup>a</sup> PSI=Sem ingestão

## DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que a administração de doses não tóxicas repetidas de *P. aeneofusca* aumentam significativamente a resistência à intoxicação. Resultados semelhantes foram obtidos por Duarte (2012) com a administração de *A. septentrionalis* a caprinos. O fato de três animais do Grupo 2 não terem apresentados sinais clínicos após ingerir a planta durante 12 dias na dose diária de 0,03 g/kg e outros 20 dias na dose de 0,04 g/kg deveu-se, provavelmente, a que adquiriram resistência durante o período de administração da planta. Essa hipótese foi comprovada na segunda fase do experimento quando foi introduzido outro grupo de três animais no experimento. Enquanto esses três animais introduzidos recentemente no experimento adoeceram após três dias de ingestão da dose de 0,06 g/kg, os animais dos Grupos 1 e 2 não apresentaram nenhum sinal de intoxicação após ingerirem diariamente a mesma dose durante nove dias.

Por outro lado, o fato de que essa resistência pode ser transmitida de animais resistentes para animais susceptíveis mediante a transfaunação de conteúdo ruminal (Duarte 2012) comprova que a resistência deve-se à proliferação de bactérias que hidrolisam o MFA. A degradação microbiológica de MFA é catalisada por fluoroacetato dehalogenases que clivam a forte ligação do carbono-fluor (Fetzner & Lingens 1994). Pelos resultados obtidos neste trabalho e os observados por Duarte (2012) com *A. septentrionalis*, assim como pela comprovação de que há numerosas bactérias que degradam MFA (Camboim 2012), é evidente que o aumento da resistência mediante a administração das plantas que contem MFA fornece um substrato para que essas bactérias, que ocorrem normalmente no rúmen dos animais, se multipliquem.

No seu conjunto, os resultados deste trabalho com *P. aeneofusca* e dos trabalhos de Duarte (2012), Camboim (2012) e Camboim et al. (2011, 2012) sugerem que há três possibilidades a serem exploradas para o controle de plantas que contêm MFA mediante o aumento da resistência dos animais: 1) a administração repetida, por períodos alternados, de doses não tóxicas da planta; 2) a administração de MFA em doses não tóxicas o que permitiria, também, a proliferação de bactérias que tenham atividade de dealogenases; e 3) a administração de outro substrato, não tóxico, que estimule a proliferação de bactérias com atividade de dehalogenases. Dessas três possibilidades, a terceira pareceria a mais adequada, já que resultaria difícil, sem conhecer a

concentração de MFA, administrar a planta com segurança a doses não tóxicas e também é difícil trabalhar com uma substância de alta toxicidade como o MFA.

## REFERÊNCIAS

- Cunha L.C., Pipole F., Carvalho L.R., Lago J.H.G. & Görniak S.L. 2012. Isolation and characterization of sodium 2-fluoroacetate from *Mascagnia rigida* using chromatography and infrared spectroscopy. *Toxicon* 60:329-332.
- Camboim E.C.A. 2012. Bactérias que degradam fluoroacetato. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 81 p.
- Camboim E.K.A., Tadra-Sfeir M.Z., Souza E.M., Pedrosa F.O., Andrade P.P., McSweeney C.S., Riet-Corea F. & Melo M.A. 2012a. Defluorination of sodium fluoroacetate by bacteria from soil and plants in Brazil. *Scientific World Journal*. Article ID 149893, 5 pages, Disponível em: <<http://www.tswj.com/2012/149893/>> Acesso em 20 de Agosto de 2012. doi:10.1100/2012/149893.
- Camboim E.K.A., Almeida A.P., Tadra-Sfeir M.Z. Junior F.G., Andrade P.P., McSweeney C.S., Melo M.A. & Riet-Correa F. 2012b. Isolation of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. *Scientific World Journal*. Article ID 178254, 6 pages. Disponível em: <<http://www.tswj.com/2012/178254/>> Acesso em: 20 de Agosto de 2012. doi:10.1100/2012/178254. 10
- Duarte A.L.L. 2012. Intoxicações por *Amorimia* spp. e *Callaeum psilophyllum* em ruminantes. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 81p.
- Fetzner S. & Lingers F. 1994. Bacterial dehalogenases: biochemistry, genetics, and biotechnological applications. *Microbiol. Rev.* 58(4):641-685.
- Krebs H.C., Kemmerling W. & Habermehl G. 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32: 909-913.
- Lee S.T., Cook D., Riet-Correa F., Pfister J.A., Anderson W.R., Lima F.G., Gardner D. 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60:791-796.

- Oliveira M.M. 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii*, St. Hill. *Experientia* 19(11):586-587.
- Passos D.A. 1983. Intoxicação Experimental em Caprinos (*Capra hircus*) por *Palicourea aeneofusca* (M. Arg.) Standl. (Rubiaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 40 p.
- Tokarnia C.H., Dobereiner J., Couceiro J.E.M. & Cordeiro Silva A.C. 1982. Intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae). A causa de mortes súbitas em bovinos na Zona da Mata Pernambucana. *Pesq. Vet. Bras.* 3(3):75–79.
- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J. D., Peixoto P.V. & Dobereiner J. 2012. Plantas tóxicas do Brasil. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, 586p.
- Vasconcelos J.S., Riet-Correa F., Dantas A.F.M, Medeiros R.M.T. & Dantas A.J.A. 2008. Mortes súbitas em bovinos causadas por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) e *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) na Zona da Mata Paraibana. *Pesq. Vet. Bras.* 28(10):457-460.

## CONCLUSÕES

A realização dos presentes trabalhos permitiu concluir que:

- É possível induzir eficientemente aversão à *Palicourea aeneofusca* administrando no máximo duas doses não tóxicas da planta (0.35 g/kg) com intervalo de cinco dias e seguidas da administração de 175 mg/kg de cloreto de lítio nos animais que ingerem a planta.
- A aversão induzida tem uma duração de no mínimo 90 dias e a técnica pode ser utilizada em fazendas comerciais para o controle da intoxicação por *P. aeneofusca*.
- Doses não tóxicas repetidas de *P. aeneofusca* aumentam significativamente a resistência à intoxicação por essa planta, provavelmente em consequência da proliferação, no rúmen, de bactérias que hidrolisam monofluoroacetato.