

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

**EVERTON FERREIRA LIMA**

**Plantas tóxicas para bovinos e equinos em Roraima**

**PATOS-PB**

**2016**

**EVERTON FERREIRA LIMA**

**Plantas tóxicas para bovinos e equinos em Roraima**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG/CSTR, Campus de Patos-PB, em cumprimento do requisito necessário para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

**Profa. Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros**

**Orientadora**

**Prof. Dr. Franklin Riet-Correa**

**Coorientador**

**PATOS-PB**

**2016**

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Dados de Acordo com a AACR2, CDU E CUTTER**  
**Biblioteca Setorial CSTR/UFCG – Campus de Patos-PB**

L732p    Lima, Everton Ferreira

Plantas tóxicas para ruminantes e equinos em Roraima / Everton Ferreira  
Lima. – Patos, 2016: CSTR/PPGMV, 2016.  
55 f. : il.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosane Maria Trindade de Medeiros.  
Coorientador: Prof. Dr. Franklin Riet-Correa.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de  
Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

1 – Plantas tóxicas. 2 – Roraima. 3 – Bovinos. 4 – Equinos. I – Título. II  
– Medeiros, Rosane Maria Trindade de (orientadora). III – Riet-Correa,  
Franklin (coorientador).

CDU – 615.9: 632.52 (811.4)

## PLANTAS TÓXICAS PARA BOVINOS E EQUINOS EM RORAIMA

Everton Ferreira Lima

Aprovada em 30/03/2016.

### BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG – Patos/PB

(Orientadora)



Prof. Dr. Antônio Mávio Medeiros Dantas  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG – Patos/PB



Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça  
Departamento Morfologia e Fisiologia Animal DMFA/UFRPE – Recife-PE



Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena  
Departamento de Ciências Veterinárias CCA/UFPB – Areia/PB



Prof.ª Dra. Sara Vilar Dantas Simões  
Departamento de Ciências Veterinárias CCA/UFPB – Areia/PB

PATOS

2016

**“Dedico este trabalho a Deus, a  
minha esposa, pais e sogros”.**

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo meu suficiente Salvador e Senhor de minha vida. Obrigado meu Deus.

A minha esposa Josimeire Luiz por dividir comigo todos os momentos, fáceis, difíceis, mas sempre com a esperança de que tudo daria certo. Agradeço aos seus filhos Daniel e Danielly, pelo apoio dado e conforto a mãe quando estava longe.

A minha orientadora Rosane M. T. Medeiros, pela paciência comigo, apoio e incentivo na realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Franklin Riet-Correa, incentivador e suporte na realização deste trabalho. Muito obrigado professor Riet.

Aos meus pais Elias Ferreira e Maria Mercês por tudo que me mostraram e incentivaram a crescer e almejar novos ares.

Aos meus irmãos Édino César e Edna Lúcia, meus manos que amo muito, apesar de estarmos longes sempre me deram apoio.

As minhas sobrinhas Mariana e Maria Emília, alegria do tio.

Aos meus tios, primos e amigos de Serra Grande, PB, em especial Luiz Leite.

Aos meus sogros José Luiz Filho (Zequinha) e Terezinha do Nascimento, pela ajuda durante o ano que fiquei na casa deles, dando trabalho. Muito obrigado pela ajuda, nos momentos mais difíceis.

Aos meus cunhados e cunhadas Romualdo, Josinaldo, Salatiel, Davi e Elisana e sobrinhos pelos momentos que ficamos juntos e ajuda no tempo que fiquei em Patos.

Ao prof. Antônio Flávio M. Dantas pelo ensino e apoio nas atividades no Setor de Patologia Veterinária.

Aos professores Eldinê, Sara, Verônica, Pedro, Sérgio Azevedo, Felício que, direta ou indiretamente, contribuíram nessa conquista.

Aos colegas da patologia, em especial a Lisanka e Talita, pelo apoio durante o tempo que estive no laboratório, como também, quando recebiam material para processamento. Aos

demais colegas Allan, Jackson, Fabrício, Rômulo, Márcia, Eduardo, Talita, Luiza, José Carlos, Priscila, Carlos, Gabriela, Danilo, Jean, Fernando e Clarice.

A dona Joana pelo apoio durante o período que estive em Patos e pela ajuda no preparo das lâminas histológicas deste trabalho.

A Nevinha e Edinho pela ajuda e conversas no setor da Patologia.

A Escola Superior Batista do Amazonas (ESBAM), gestores, professores, alunos e servidores pelo apoio durante a primeira parte deste trabalho.

Aos colegas professores da UFRR, Vanessa, Fabíola, Érika, Ana, Cláudia, Kledir, Isidro e Jerónimo pelo empenho em fazer crescer a Medicina Veterinária no Estado e aos acadêmicos Matheus Alexandre e Rafael Souza pela ajuda nas visitas e coletas das plantas.

Aos médicos veterinários Leonardo Monteiro, Antônio Augusto, Douglas, Ramayana, Sylvio Botelho, Armendes, Daniel Belém e outros que contribuíram com informações sobre a ocorrência de surtos de intoxicação por plantas.

Ao zootecnista prof. Jalison Lopes pela ajuda nas visitas as fazendas e informações prestadas.

Aos proprietários e técnicos em agropecuária que contribuíram grandemente com este trabalho, durante as visitas as fazendas.

Aos amigos da Nova Igreja Batista em Manaus, pelo apoio e orações durante o período que estive distante.

Aos professores que fazem parte da banca desta tese, Antônio Flávio Medeiros Dantas, Sara Vilar Dantas Simões, Ricardo Barbosa de Lucena e Fábio de Souza Mendonça.

Agradeço ao Daniel Cook e equipe do Laboratório de Pesquisa em Plantas tóxicas do USDA/ARS, Logan, UT, Estados Unidos, pela realização de análises das plantas.

Um agradecimento especial para o Prof. Dr. Carlos Hubinger Tokarnia (*in memoriam*) pela dedicação, presteza e zelo pelo ensino pesquisa em plantas tóxicas no Brasil e por iniciar os trabalhos com plantas no estado de Roraima, Brasil.

**Enfim, a todos MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

Informações sobre intoxicações por plantas em ruminantes e equinos no Estado de Roraima são escassas. Portanto, descreve-se surtos de intoxicação por plantas em bovinos e equinos no Estado de Roraima. Este trabalho é composto por três capítulos formatados com base nas normas da revista. No primeiro capítulo, publicado na revista TOXICON (v.60, n.3, p.324-328, 2012), relata-se a intoxicação por *Indigofera lespedezioides*. Os sinais clínicos observados em um cavalo afetado espontaneamente e outro induzido experimentalmente, foram anorexia, sonolência, incoordenação, ataxia severa, fraqueza, tropeços e perda de peso progressiva. As lesões histológicas foram lipofuscinose neuronal no cérebro, cerebelo e medula espinhal e Degeneração Walleriana em alguns tratos do mesencéfalo. Na microscopia eletrônica, observou-se degeneração e lipofuscinose neuronal e axonal. Os compostos tóxicos encontrados foram indospicina e toxinas nitro. O segundo capítulo, publicado na revista TOXICON (v.82, p.93-96, 2014), descreve a intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos no estado de Roraima. Os sinais clínicos foram crises epileptiformes periódicas com perda de equilíbrio, quedas e recuperação. As lesões histológicas foram vacuolização fina do pericário dos neurônios de Purkinje, desaparecimento dessas células e substituição por células da glia de Bergman. O terceiro capítulo, publicado na revista TOXICON (v.115, p.22-27, 2016), relata um estudo a respeito da classificação e suposta toxicidade da *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) no Brasil. O objetivo desta pesquisa foi determinar se *F. japurensis* contém monofluoracetato (MFA) e investigar a causa de morte súbita em locais do Estado de Roraima, onde essa planta foi suspeita de causar morte súbita, avaliando os sinais clínicos e as lesões histológicas em coelhos testados. Amostras de herbário de *Tanaecium bilabiatum* e *F. japurensis* e coletas a campo das áreas onde ocorreram mortes súbitas foram avaliadas para a presença de MFA. *T. bilabiatum* foi positiva para MFA, como já havia sido descrita anteriormente, enquanto que *F. japurensis* foi negativa. Amostras a campo de *T. bilabiatum*, identificadas erroneamente como *F. japurensis*, causaram morte súbita em coelhos e foram positivas para MFA. Após revisão taxonômica de *F. japurensis*, descrita anteriormente como a causa de morte súbita em bovinos em Roraima, verificou-se que esta foi identificada de forma incorreta, sendo que a identificação botânica correta para esta planta é *T. bilabiatum*. Este trabalho corrige a literatura relatada anteriormente.

**Palavras-chave:** Intoxicação por plantas, *Indigofera lespedezioides*, *Solanum subinerme*, *Tanaecium bilabiatum*, bovinos, equinos, Estado de Roraima.

## ABSTRACT

Information on plant poisonings in ruminants and horses in state of Roraima are scarce. Wherefore describes outbreaks of poisoning by plants in cattle and horses in state of Roraima. This work consists of three chapters formatted based on the journal's standards. The first chapter, published in journal TOXICON (v.60, n.3, p.324-328, 2012), it reports the poisoning by *Indigofera lespedezioides* in horses. The clinical signs observed in a horse affected spontaneously and another induced experimentally, were anorexia, sleepiness, incoordination, severe ataxia, weakness, stumbling, and progressive weight loss. Histological lesions were neuronal lipofuscinosis observed in the brain, cerebellum, and spinal cord and Wallerian-type degeneration on some mesencephalic tracts. The toxic compound found was indospicine and nitro toxins. The second chapter, published in journal TOXICON (v.82, p.93-96, 2014), describe the spontaneous poisoning by *Solanum subinerme* Jack as a cause of cerebellar cortical degeneration in cattle in state of Roraima. Clinical signs were periodic epileptiform crises loss of balance, falls and recovery. The histological lesions consisted of slim vacuolation of the perikaryon of the Purkinje neurons, followed by the loss of these cells and their substitution by Bergman glia. The third chapter, published in journal TOXICON (v.115, p.22-27, 2016), reports a study in regard to the classification and putative toxicity of *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) in Brazil. The objective of this research was to determine if *F. japurensis* contains monofluoracetate (MFA) and causes sudden death by investigating several sites in the state of Roraima where this plant was suspected of causing sudden death, evaluating the clinical signs and histologic lesions in rabbits dosed. Herbarium specimens of *F. japurensis* and *Tanaecium bilabiatum* and field collections of the areas where there were sudden deaths were evaluated for the presence of MFA. *T. bilabiatum* was positive for MFA, as already described above, while the *F. japurensis* was negative. Field collections have caused sudden death in rabbits and were positive for MFA. Upon review taxonomic *F. japurensis*, previously described as the cause of sudden death in Roraima, it was found that it was incorrectly identified. The correct botanical name for this plant is *T. bilabiatum*. Thus, this paper corrects the previously reported literature.

**Keywords:** Poisoning plants, *Indigofera lespedezioides*, *Solanum subinerme*, *Tanaecium bilabiatum*, cattle, horses, state of Roraima.

## SUMÁRIO

	<b>Pag.</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
Referências.....	14
<b>CAPÍTULO I: Intoxicação por <i>Indigofera lespedezioides</i> em cavalos</b> .....	15
Intoxicação por <i>Indigofera lespedezioides</i> em cavalos.....	16
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	17
Objetivo.....	18
Material e métodos.....	18
Resultados e discussão.....	19
Referências.....	25
<b>CAPÍTULO II: Intoxicação espontânea por <i>Solanum subinerme</i> Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos</b> .....	28
Intoxicação espontânea por <i>Solanum subinerme</i> Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos.....	29
Resumo.....	29
Abstract.....	29
Introdução.....	30
Objetivo.....	30
Material e métodos.....	31
Resultados e discussão.....	31
Referências.....	35
<b>CAPÍTULO III: Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de <i>Fridericia japurensis</i> (<i>Arrabidaea japurensis</i>) no Brasil</b> .....	37

Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de <i>Fridericia japurensis</i> ( <i>Arrabidaea japurensis</i> ) no Brasil.....	38
Resumo.....	38
Abstract.....	39
1 Introdução.....	39
2 Material e Métodos.....	41
2.1 Planta.....	41
2.2 Extração.....	43
2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência-ionização química em pressão atmosférica-espectrometria de massa (CLAE-IQPA-EM).....	43
2.4 Estudo em animais.....	43
3 Resultados e discussão.....	44
Referências.....	50
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE TABELAS

	Pag.
<b>CAPÍTULO I</b> <b>Intoxicação por <i>Indigofera lespedezioides</i> em cavalos</b>	
<b>Tabela 1</b> Níveis de indospicina e toxinas nitro em amostras de <i>Indigofera lespedezioides</i> .....	24
<b>CAPÍTULO III</b> <b>Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de <i>Fridericia japurensis</i> (<i>Arrabidaea japurensis</i>) no Brasil</b>	
<b>Tabela 1</b> Intoxicação por <i>Tanaecium bilabiatum</i> em bovinos no estado de Roraima. Localização das fazendas, bovinos afetados, plantas que os fazendeiros associaram com a doença e presença de <i>Tanaecium bilabiatum</i> .....	45
<b>Tabela 2</b> Resultados clínicos da administração de <i>Tanaecium bilabiatum</i> de diferentes fazendas para coelhos e concentrações de monofluoracetato.....	48
<b>Tabela 3</b> Lesões histológicas em coelhos intoxicados experimentalmente com <i>Tanaecium bilabiatum</i> .....	49

## LISTA DE FIGURAS

	Pag.
<b>CAPÍTULO I Intoxicação por <i>Indigofera lespedezioides</i> em cavalos</b>	
<b>Figura 1</b> A e B) <i>Indigofera lespedezioides</i> . C e D) Cavalo intoxicado espontaneamente por <i>Indigofera lespedezioides</i> apresentando déficit proprioceptivo.....	19
<b>Figura 2</b> Tronco encefálico. Corte histológico de telencéfalo de cavalo intoxicado por <i>Indigofera lespedezioides</i> , mostrando numerosos esferoides axonais, alguns com resquícios de axônio (seta preta) ou macrófagos (seta branca) no fascículo longitudinal medial. 200x. H&E.....	21
<b>Figura 3</b> Microscopia Eletrônica do sistema nervoso do cavalo intoxicado experimentalmente por <i>Indigofera lespedezioides</i> . A) Córtex frontal. B) Cerebelo. Célula de Purkinje. C) Medula espinhal cervical. D) Tálamo.....	22
<b>CAPÍTULO II Intoxicação espontânea por <i>Solanum subinerme</i> Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos</b>	
<b>Figura 1</b> <i>Solanum subinerme</i> no município de Cantá, Roraima.....	31
<b>Figura 2</b> Bovino intoxicado por <i>Solanum subinerme</i> apresentando sequência da crise epileptiforme, após o head raising test (teste de elevação da cabeça). A) Quedas e membros pélvicos estendidos. B) Início da recuperação – animal em decúbito esternal e opistótono. C) Animal com dificuldade para se levantar e nistagmo. D) Animal em recuperação e posterior posição de estação.....	32
<b>Figura 3</b> Cerebelo bovino. Severa vacuolização fina e marginalização nuclear são observadas nos neurônios de Purkinje. Barra = 100 µm Detalhe: Neurônio de Purkinje com vacuolização fina e núcleo deslocado. 400x. H&E.....	33

**CAPÍTULO III Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) no Brasil**

- Figura 1** Mapa do estado de Roraima com os surtos relatados por Tokarnia e Döbereiner (1982) e os surtos descritos neste trabalho..... 42
- Figura 2** *Tanaecium bilabiatum*. Estado de Roraima, Norte do Brasil..... 46

## INTRODUÇÃO

As intoxicações por plantas causam grandes perdas econômicas a pecuária no Brasil, devido à grande extensão territorial, onde na maioria dos estabelecimentos os animais de produção são criados em pastagens nativas ou cultivadas, em sistema extensivo ou semiextensivo (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001, TOKARNIA et al., 2012, PESSOA et al., 2013). É muito importante destacar o fato de que as intoxicações por plantas devem ser estudadas como um problema regional, já que a ocorrência das intoxicações depende de vários fatores de importância variável para cada região, entre eles, os fatores epidemiológicos, como, difusão da planta, grau de desenvolvimento da agricultura e pecuária, condições climáticas, solo e manejo de pastagens, técnicas de preparação do solo, semeaduras e fertilizações (RIET-CORREA et al., 1993). Na região Norte, o estudo das plantas tóxicas iniciou-se com os trabalhos de Tokarnia e colaboradores, publicados em um livro de 1979 e reeditado posteriormente (TOKARNIA et al., 2007). Especificamente no estado de Roraima, as pesquisas sobre intoxicações por plantas são do início da década de 1980, em bovinos, com a intoxicação espontânea por *Fridericia japurensis* (= *Arrabidaea japurensis*) e experimental por *Coutoubea ramosa* (TOKARNIA e DÖBEREINER, 1981a; TOKARNIA e DOBEREINER, 1981b).

As estimativas dos prejuízos, em consequência de mortes em bovinos por intoxicações por plantas no Brasil, são elevadas. Contudo, no estado de Roraima, essas perdas não são estimadas. Acredita-se que a falta de laboratórios de diagnóstico na região dificultem a identificação das causas de mortes em ruminantes e equinos, em especial as intoxicações por plantas. Além disso, com a expansão da pecuária para a região sul do Estado e a formação de novas pastagens em áreas de floresta, pode haver casos de intoxicações por plantas ainda não conhecidas na região.

Diante da escassez de informações sobre a intoxicação por plantas em ruminantes e equinos no estado de Roraima, surgiu a necessidade de estudar o assunto. Esta tese teve o objetivo de descrever casos de intoxicação espontânea por *Indigofera lespedezioides* em equinos e intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* em bovinos e estudos a respeito da classificação e identificação do princípio tóxico da *Fridericia japurensis*, planta relatada como tóxica por Tokarnia e Döbereiner (1981a). Assim a tese está dividida em três artigos formatados de acordo com o que estabelece a NORMA N° 01/2013 de 09 de julho de 2013 do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFCG, Campus de Patos-PB (anexo 1), sendo que a formatação segue as normas da revista. O primeiro capítulo intitulado **Intoxicação por *Indigofera lespedezioides* em cavalos** foi publicado pela revista *Toxicon* e descreve a

intoxicação espontânea e experimental em equinos. O segundo capítulo, denominado **Intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos** foi publicado pela revista *Toxicon*. O terceiro capítulo foi realizado com a planta *F. japurensis* (= *A. japurensis*), anteriormente relatada como causa de morte súbita no estado de Roraima, por Tokarnia e Döbereiner (1981a) e teve como objetivo determinar o princípio tóxico e realizar experimentos em coelhos com a planta coletada em fazendas onde ocorreram surtos. Assim o trabalho foi intitulado **Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) no Brasil** e foi publicado pela revista *Toxicon*.

### Referências

- PESSOA, C.R.M., MEDEIROS, R.M.T., RIET-CORREA, F. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.6, p.752-758, 2013.
- RIET-CORREA, F., MÉNDEZ, M.C., SCHILD, A.L. **Intoxicação por plantas e micotoxicoses em animais domésticos**. Pelotas: Editorial Hemisfério Sul do Brasil, 1993. 340p.
- RIET-CORREA, F., MEDEIROS, R.M.T. Intoxicação por planta em ruminantes no Brasil e no Uruguai: Importância econômica, controle e riscos para saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.1, p.38-42, 2001.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. Intoxicação por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em bovinos em Roraima. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.1, n.1, p.7-17, 1981a.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Coutoubea ramosa* (Gentianaceae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.1, n.2, p.55-60, 1981b.
- TOKARNIA, C.H., BRITO M.F., BARBOSA, J.D., PEIXOTO, P.V., DÖBEREINER, J. **Plantas tóxicas do Brasil: para animais de produção**. 2.ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. 566p.
- TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J., PEIXOTO, P.V., BARBOSA, J.D., BRITO, M.F., SILVA, M.F. **Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros**. 2.ed. Manaus: INPA, 2007. 97p.

CAPÍTULO I

**Intoxicação por *Indigofera lepedezoides* em cavalos**

Artigo publicado na Revista Toxicon 60:324-328, 2012

## Intoxicação por *Indigofera lespedezioides* em cavalos

Everton F. Lima<sup>a,b,c</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>c,1</sup>, Dale R. Gardner<sup>d</sup>, Severo S. Barros<sup>e</sup>, Rosane M.T. Medeiros<sup>c</sup>, Mauro P. Soares<sup>e</sup>, Gabriela Riet-Correa<sup>f</sup>

<sup>a</sup>Universidade do Estado do Amazonas, Escola Superior de Saúde, Av. Carvalho Leal, 1777, Cachoeirinha, Manaus, AM 69065-001, Brasil

<sup>b</sup>Escola Superior Batista do Amazonas, R. Leonor Teles, 153, Adrianópolis, Manaus, AM 69057-510, Brasil

<sup>c</sup>Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Patos 58700-310, Paraíba, Brasil

<sup>d</sup>USDA, ARS, Poisonous Plant Research Laboratory, 1150 E. 1400 N., Logan, UT 84341, USA

<sup>e</sup>Laboratório Regional de Diagnostico, Universidade Federal de Pelotas, 96100-000 Pelotas, RS, Brasil

<sup>f</sup>Universidade Federal do Pará, Campus de Castanhal, Central de Diagnóstico Veterinário, Maximino Porpino da Silva, 1000, Pirapora, Castanhal 68740-080, Brasil

### Resumo

A intoxicação por *Indigofera lespedezioides* é relatada em cavalos no estado de Roraima, Norte do Brasil. Os principais sinais clínicos foram anorexia, sonolência, andar incoordenado, ataxia severa, fraqueza, tropeços e perda de peso progressiva. Para a reprodução experimental da doença, foi introduzido um cavalo da raça Lavradeiro, de 7 anos de idade, num piquete invadido pela planta. Os primeiros sinais neurológicos foram observados 44 dias após o início do pastejo, com a realização da eutanásia no 59º dia, do início da ingestão da planta. Não foram observadas lesões macroscópicas significativas na necropsia dos cavalos intoxicados de forma espontânea e experimental. Ao exame histológico foi observado lipofuscinosose neuronal no cérebro, cerebelo e medula espinhal. Degeneração Walleriana foi observada em alguns tratos mesencefálicos. Na microscopia eletrônica foram observadas degeneração e lipofuscinosose neuronal e axonal. Indospicina foi detectada em quatro amostras de *I. lespedezioides* com concentrações que variaram de 63-1178 mg/g, enquanto que as toxinas nitro foram encontradas em apenas uma das amostras, a uma concentração de 2,5 mg/g. Em suma, a intoxicação por *I. lespedezioides* é muito semelhante a intoxicação por *Indigofera linnaei* e *Indigofera*

<sup>1</sup>Autor para correspondência: Franklin Riet-Correa. Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110. e-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

*hendecaphylla*. Com base na quantidade de indospicina e nível reduzido de toxinas nitro nas amostras, é proposto que indospicina seja o composto tóxico responsável pela intoxicação.

Palavras-chave: Cavalos, *Indigofera*, Indospicina, lipofuscinose, degeneração neuronal, plantas tóxicas.

### **Abstract**

Poisoning by *Indigofera lespedezioides* is reported in horses in the state of Roraima, northern Brazil. The main clinical signs are anorexia, sleepiness, unsteady gait, severe ataxia, weakness, stumbling, and progressive weight loss. To induce the disease experimentally, a 7-year-old horse was introduced in a small paddock invaded by the plant. The first nervous signs were observed 44 days from the start of grazing. The animal was euthanized on day 59. No significant gross lesions were observed upon necropsies of the experimental horse as well as one spontaneously affected horse. Upon histologic examination neuronal lipofuscinosis was observed in the brain, cerebellum, and spinal cord. Wallerian-type degeneration was observed on some mesencephalic tracts. Neuronal and axonal degeneration and lipofuscinosis were observed on electron microscopy examination. Indospicine was detected in four samples of *I. lespedezioides* with concentrations ranging from 63 to 1178 mg/g whereas nitro toxins could be detected in only one of the samples at a concentration of 2.5 mg/g. In conclusion, poisoning by *I. lespedezioides* is very similar to those poisonings by *Indigofera linnaei* and *Indigofera hendecaphylla*. Based on the preponderance of indospicine and lack of nitro toxins in the samples it is proposed that indospicine is the toxic compound responsible for the poisoning.

Keywords: Horses, *Indigofera*, Indospicine, Lipofuscinosis, Neuronal degeneration, Toxic plants.

O gênero *Indigofera* da família Fabaceae contém cerca de 700 espécies diferentes (Aylward et al., 1987). *Indigofera linnaei* (= *Indigofera dominii*, *Indigofera enneaphylla*) na Austrália (Bell e Hall, 1952; Hooper et al., 1971; Carroll e Swain, 1983) e *Indigofera spicata* na Flórida (Morton, 1989) foram relatadas como causa de sinais neurológicos em cavalos. Na Flórida, *I. spicata*, hoje considerada uma identificação incorreta da planta, que foi recentemente reconhecida como *Indigofera hendecaphylla* (Wilson e Rowe, 2008), contém indospicina (Hegarty e Pound, 1968, 1970). Não há referências sobre a substância indospicina em *I. linnaei*, mas Hooper et al. (1971) citam uma comunicação pessoal de Hegarty e Bolton que eles

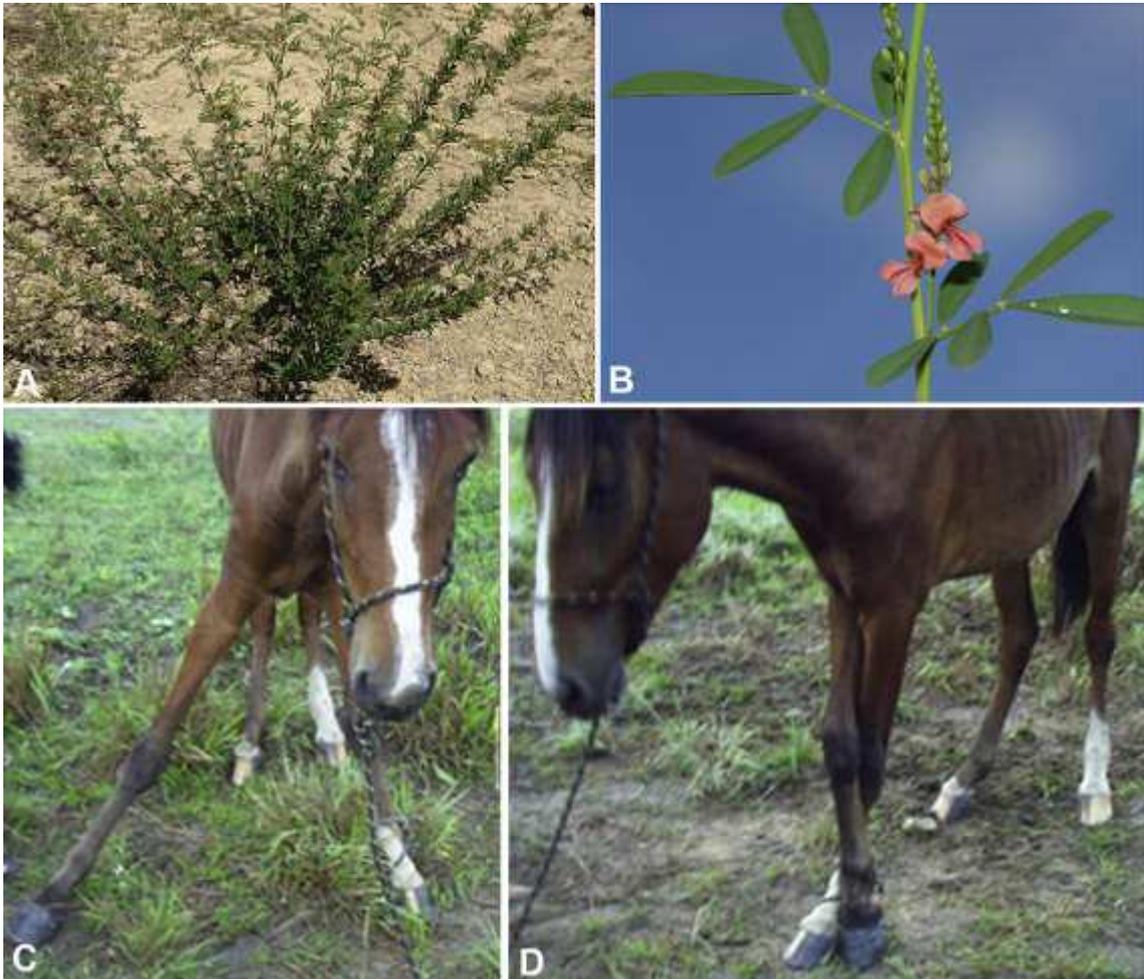
detectaram indospicina nesta planta. Hegarty et al. (1988) relataram que os cavalos alimentados com *I. linnaei* apresentavam indospicina acumulada no seu músculo. Não tem sido plenamente demonstrado que a indospicina seja responsável pelos sinais clínicos em cavalos; acredita-se que uma toxina nitro, seja a causa da doença (Majak et al., 1992). A indospicina é hepatotóxica para cães e causou intoxicação secundária em cães que ingeriram carne de cavalo (Hegarty et al., 1988; Kelly et al., 1992) e camelos intoxicados por *I. linnaei* (FitzGerald et al, 2011).

No Brasil *Indigofera lespedezioides* tem sido associada com uma doença neurológica em cavalos no estado de Roraima (Braga, 1998) e também é encontrada em áreas úmidas do Mato Grosso, onde é suspeita de ser tóxica para bovinos (Pott e Pott, 1994) e peixes (Braga, 1998).

O objetivo deste trabalho é relatar a intoxicação por *I. lespedezioides* (= *Indigofera pascuori*) (Fig. 1A e B) em cavalos no estado de Roraima, Norte do Brasil, e determinar as concentrações dos princípios tóxicos indospicina e toxinas nitro na planta. Os dados sobre a ocorrência da doença foram coletados em fevereiro de 2010, durante visitas às fazendas na região afetada e em entrevistas com médicos veterinários e produtores na cidade de Boa Vista. A doença ocorre na região Norte do Estado de Roraima, em pelo menos cinco municípios (Amajari, Alto Alegre, Normandia, Cantá e Bonfim) e tem sido reconhecida pelos fazendeiros há mais de 20 anos. A planta é encontrada na vegetação nativa (cerrado), conhecida como lavrado, principalmente nas áreas limítrofes da floresta. A quantidade de *I. lespedezioides* foi significativamente reduzida após a introdução de pastagens cultivadas, principalmente a *Brachiaria* spp. e a doença deixou de ocorrer nas áreas de pastejo. Nesta região do estado de Roraima, o clima é tropical, com chuvas anuais de 1100-1400 mm. A estação das chuvas, com precipitações mensais de 150-300 mm ocorre a partir de abril/maio-agosto/setembro. Durante a estação seca, as precipitações mensais são de aproximadamente 50 mm (Barbosa, 1997). A maioria dos casos de intoxicação ocorre no final da estação seca, quando *I. lespedezioides* é quase a única vegetação disponível. Geralmente até 10% dos cavalos podem ser afetados, mas um agricultor relatou a mortalidade de 100% em um rebanho de 30 cavalos. Bovinos e ovinos alimentados com a planta não são afetados.

Os principais sinais clínicos foram redução do apetite, sonolência, andar incoordenado, ataxia severa (Fig. 1C e D), fraqueza, tropeços, e perda de peso progressiva. Alterações da marcha são mais acentuadas nos membros posteriores arrastando as pinças e causando desgaste excessivo dos cascos. Também foram observados lacrimejamento e cegueira. Alguns fazendeiros têm relatado opacidade da córnea em cavalos afetados. Cavalos de todas as idades são afetados. Se os animais são estimulados ou forçados a mover-se, os sinais neurológicos

umentam e os animais podem cair. O aborto é comumente observado em éguas. A morte ocorre entre 2-4 meses após a observação dos primeiros sinais clínicos. Se o consumo da planta é interrompido, alguns animais podem se recuperar.



**Fig. 1.** A) *Indigofera lespedezioides*. B) *I. lespedezioides* em floração. C e D) Cavalos intoxicados espontaneamente por *I. lespedezioides* apresentando déficit proprioceptivo.

Para induzir a doença experimentalmente, um cavalo de 7 anos de idade, da raça Lavradeiro foi introduzido em um piquete invadido pela planta. As primeiras manifestações clínicas foram observadas 44 dias após o início do pastejo. Os sinais clínicos foram perda de peso, fraqueza, ataxia, membros posteriores arrastando as pinças e sonolência. O animal foi eutanasiado no 59º dia do início do experimento.

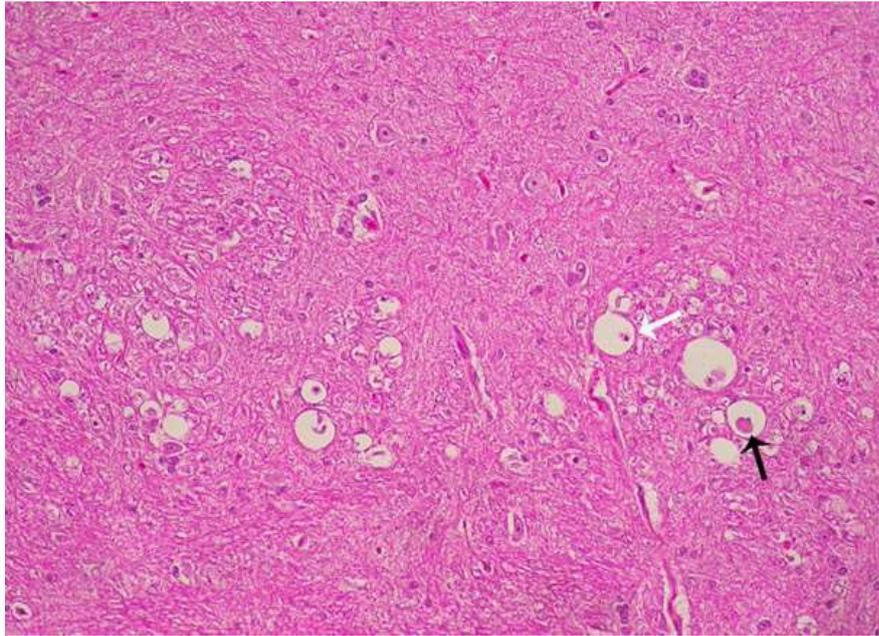
Um cavalo de 10 anos de idade, afetado espontaneamente e o animal intoxicado experimentalmente, foram necropsiados. Não foram observadas lesões macroscópicas significativas. Fragmentos de fígado, rim, baço, coração, linfonodos mesentéricos, pulmão, tireoide, intestino grosso e delgado e todo o encéfalo e medula espinhal foram coletados e

fixados em formalina tamponada a 10%. Após a fixação, cortes seriados de 1 cm de espessura foram feitos a partir do encéfalo e mantidos em formalina para observações de lesões macroscópicas. Foram examinados histologicamente, seções transversais, feitas a partir da medula espinhal cervical, torácica e lombar, medula oblonga, ponte, colículo rostral, tálamo, cápsula interna, córtex, pedúnculos cerebelares e cerebelo. Foram também estudados cortes longitudinais da medula espinhal. Todos os tecidos foram embebidos em parafina, seccionados em 4-6 mm, e corados com hematoxilina e eosina e ácido periódico-Schiff (PAS) para ceróide-lipofuscina. Os cortes selecionados do sistema nervoso central (SNC), também foram coradas com Luxol fast blue para a mielina.

Dentro de 5-10 min após a eutanásia, pequenos fragmentos do cérebro, tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal do animal intoxicado experimentalmente foram fixados em glutaraldeído a 2%, com 2% de paraformaldeído tamponado com cacodilato 0,4 M (pH 7,4). Os blocos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio tamponado a 1% com cacodilato de sódio 0,4 M (pH 7,4), e embebidos em resina Epon 812. Seções semifinas foram coradas com azul de metileno. Cortes ultrafinos foram corados com citrato de chumbo e acetato de uranila e examinados com microscópio eletrônico ME 10 Zeiss a 60 kV.

No exame histopatológico do SNC de ambos os cavalos, foram observados esferoides axonais, ocasionalmente com presença de resíduos axonais e macrófagos (câmaras de digestão), sugestivos de degeneração Walleriana em alguns tratos mesencefálicos (Fig. 2). Os neurônios do cérebro, tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal apresentaram um pigmento PAS positivo com as características de lipofuscina. Não foram observadas lesões em outros órgãos examinados.

No exame ultraestrutural do cérebro, tronco encefálico, cerebelo e medula espinhal, verificaram-se diferentes graus de degeneração axonal, caracterizados por axônios dilatados. Também foram observados degeneração e desaparecimento de organelas, neurotúbulos e neurofilamentos. Em alguns casos, o axoplasma estava preenchido por um material floculento (Fig. 3A). Ao mesmo tempo foi observada uma considerável diminuição e desproporção no número de lamelas de mielina entre o diâmetro do axônio e o número de lamelas da mielina (Fig. 3A). No pericário de vários neurônios, as mitocôndrias estavam dilatadas com desorganização, ruptura e desaparecimento das cristas, além de degranulação do retículo endoplasmático rugoso (Fig. 3B) e grânulos de lipofuscina, com aparência lipóide e variação membranosa e granular (Fig. 3B e C). Também foi observado lipofuscina em astrócitos edemaciados, pericitos e células endoteliais (Fig. 3D).

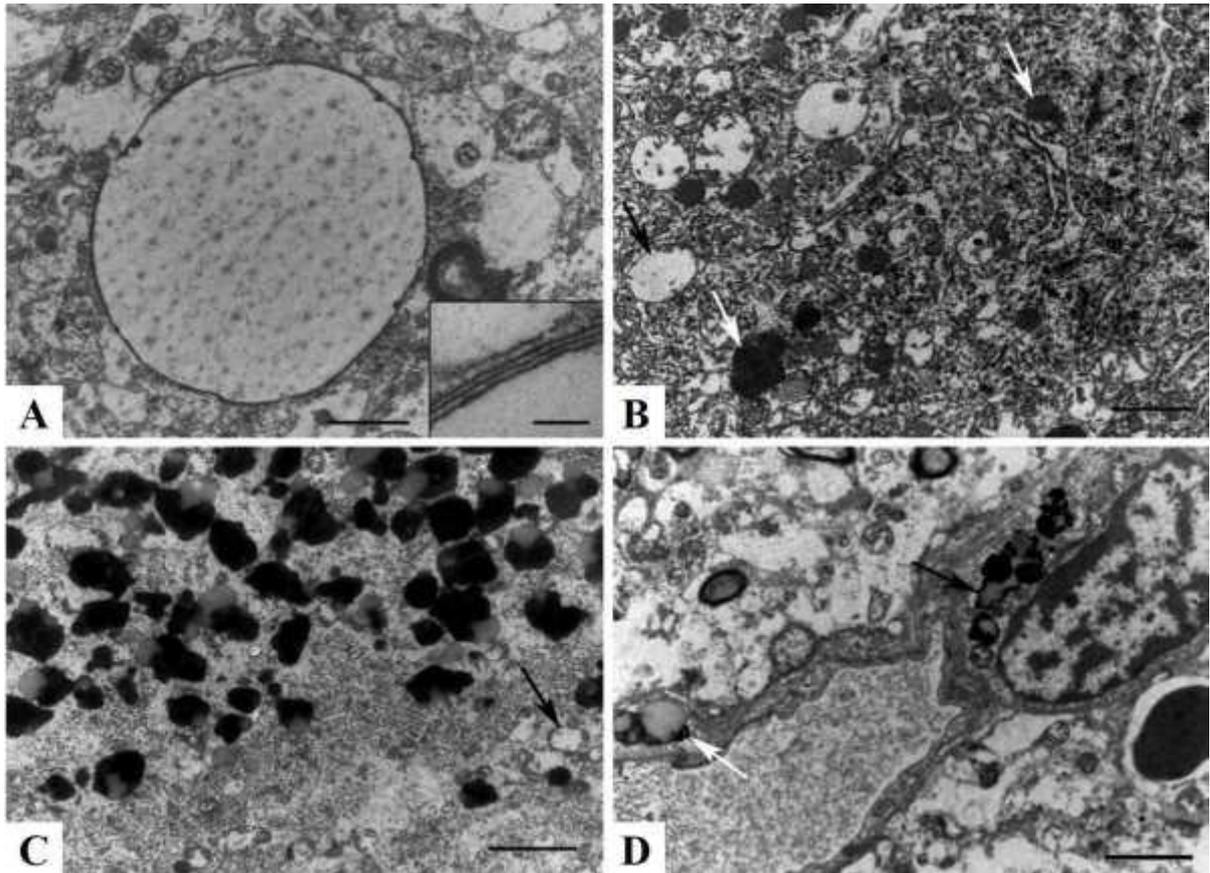


**Fig. 2.** Tronco encefálico. Corte histológico de telencéfalo de cavalo intoxicado por *Indigofera lespedezioides*, mostrando numerosos esferoides axonais, alguns com resquícios de axônios (seta preta) ou macrófagos (câmaras de digestão, seta branca) no fascículo longitudinal medial. 200x. H&E.

Os sinais clínicos, da doença neurológica observados em cavalos em Roraima, Brasil, são semelhantes aos relatados na doença de Birdsville causada por *I. linnaei* na Austrália (Carroll e Swain, 1983) e na intoxicação por *I. hendecaphylla* nos EUA (Morton, 1989). Esta similaridade e a reprodução da doença em um cavalo, introduzido num piquete severamente invadido por *I. lespedezioides* após 44 dias de pastoreio, confirma que esta planta foi a responsável pela intoxicação.

Lesões macroscópicas, histológicas e ultraestruturais não tem sido previamente relatadas em cavalos intoxicados por *I. linnaei* e *I. hendecaphylla*. Na intoxicação por *I. lespedezioides*, a microscopia eletrônica demonstrou degeneração neuronal e axonal. A degeneração do tipo Walleriana, observada em microscópio de luz (Fig. 2), representa a degeneração axonal observada em microscopia eletrônica. Lipofuscina em diferentes regiões do SNC, foi observada em microscopia de luz e microscopia eletrônica. Lipofuscine-ceroide tem sido relatada como uma doença do armazenamento lisossomal hereditária em diferentes espécies animais que se acumula nos lisossomos de neurônios e outras células, com o passar do tempo, sendo normalmente observada em animais velhos saudáveis (Myers et al., 2012). A lipofuscineose foi também encontrada em células de Purkinje de cavalos com a doença de

Gomen (Hartley et al., 1982). Na intoxicação por *I. lespedezioides* a acumulação de lipofuscina no SNC, provavelmente ocorre como consequência de uma lesão celular crônica. A presença de lipofuscina e degeneração axonal em neurônios, astrócitos e pericitos, também foram observadas em ovinos intoxicados com a planta *Halimium brasiliensis* (Riet-Correa et al., 2009).



**Fig. 3.** Microscopia Eletrônica do sistema nervoso do cavalo intoxicado experimentalmente por *Indigofera lespedezioides*. A) Córtex frontal. Observa-se um axônio marcadamente dilatado com axoplasma flocular, ausência de organelas, elementos do citoesqueleto e axolema (Barra = 1  $\mu$ m). Detalhe: Ampliação da folha de mielina mostrando apenas duas lamelas e ausência do axolema (Barra = 100 nm). B) Cerebelo. Célula de Purkinje. São observadas mitocôndrias edemaciadas com desorganização, ruptura e lise das cristas (seta preta). Grânulos eletrodensos de lipofuscina estão presentes no pericário (setas brancas). Degranulação é observada no retículo endoplasmático rugoso (Barra = 2  $\mu$ m). C) Medula espinhal cervical. Observa-se um neurônio apresentando edema mitocondrial e danos nas cristas (seta). Numerosos grânulos de lipofuscina são observados no pericário. D) Tálamo. Grânulos de lipofuscina são observados no citoplasma das células endoteliais dos capilares e pericitos (seta preta na célula endotelial e seta branca em pericitos) (Barra = 2  $\mu$ m).

Uma amostra de *I. lespedezioides* coletada no município de Bonfim, em 2008, duas amostras coletadas em Bonfim e Amajari (Estado de Roraima, Brasil) em 2010 e uma amostra coletada em Manaus (Estado do Amazonas, Brasil) em 2010 foram analisadas para identificação de indospicina e toxinas nitro (tipicamente glicosídeos de 3-nitropropanol e ácido 3-nitropropiónico). A amostra de Manaus foi analisada a partir de plantas coletadas, anteriormente em Roraima e introduzidas um ano antes, em um lugar onde não ocorreu a doença neurológica. As amostras foram analisadas para indospicina por cromatografia líquida com espectrometria de massa em-tandem (LC-MS/MS), como descrito por Gardner e Riet-Correa (2012). Toxinas nitro foram analisadas por ambos os métodos de espectroscopia em infravermelho transformada de Fourier (IV-TF) (Schoch et al, 1998) e métodos espectrofotométricos (Matsumoto et al, 1961; Williams, 1981; Majak et al, 1992).

A análise química mostrou a presença de indospicina em todas as amostras de *I. lespedezioides* analisadas (Tabela 1). A concentração variou de 63 mg/g até 1.178 mg/g. Em uma análise prévia de *I. lespedezioides*, Aylward et al. (1987) relataram uma concentração de indospicina de 0,02% (200 mg/g). Toxinas nitro foram detectadas apenas na amostra coletada em Amajari. O espectro de IV-TF revelou um sinal fraco a  $1.556\text{ cm}^{-1}$  indicativo de ácido 3-nitropropiónico. Verificou-se a presença de toxinas nitro na utilização de um ensaio colorimétrico (Williams, 1981) em que se observou uma solução ligeiramente rosa, mas a concentração era inferior ao nível de quantificação. Para confirmar a presença de toxinas nitro as amostras foram analisadas usando um terceiro método descrito por Matsumoto et al. (1961). Apenas na amostra de Amajari foi encontrado um nível detectável de toxina nitro, contendo uma concentração de 2,5 mg/g, assim como, o equivalente ao ácido 3-nitropropiónico (3-ANP). Majak et al. (1992) relataram uma concentração ligeiramente inferior a 1,5 mg/g de 3-ANN, numa amostra de *I. linnaei*.

*I. linnaei* e *I. hendecaphylla* também contém indospicina, mas não foi demonstrado que essa toxina, seja responsável pela síndrome clínica. Na Austrália, a doença em cavalos foi tratada e prevenida com arginina ou substâncias contendo arginina (Hooper et al., 1971), e tem sido sugerido que a indospicina possa interferir competitivamente com a incorporação de arginina em proteínas, devido à inibição da atividade da arginase e síntese do óxido nítrico (Madsen e Hegarty, 1970; Pass et al., 1996). A presença de indospicina nas três espécies de *Indigofera*, causando sinais neurológicos em cavalos, sugere que este aminoácido é o responsável pelos sinais clínicos da doença, como sugerido anteriormente (Hegarty e Pound, 1968; Hooper et al., 1971). Contudo, a doença não foi reproduzida testando indospicina em experimentos animais. A toxina nitro também foi suspeita, como uma das causas da doença

(Majak et al., 1992), e condições semelhantes foram observadas em outros animais, ingerindo plantas contendo toxinas nitro (Shenk et al., 1976; James et al., 1981), em gambás e ratos dosados com ácido 3-nitropropiónico (Hamilton e Gould, 1987; Gregory et al., 2000), e em seres humanos intoxicados com cana de açúcar mofada, que é considerada uma toxicose de ácido 3-nitropropiónico (Liu et al., 1970; Hu, 1992). No entanto, neste trabalho, encontraram-se toxinas nitro em nível não detectável ou inferior, em comparação com toxinas nitro de plantas tóxicas conhecidas, como algumas espécies de *Astragalus*, onde se questiona se estes níveis seriam tóxicos, como sugerido anteriormente e relatados por Williams (1981).

### Tabela 1

Níveis de indospicina e toxinas nitro em amostras de *Indigofera lespedezioides*.

Amostra	Indospicina ( $\mu\text{g/g}$ )	Toxina nitro ( $\text{mg/g}$ ) <sup>a</sup>
Bonfim (2010)	263	n.d.
Manaus (2010)	63	n.d.
Amajari (2010)	1178	2,5
Bonfim (2008)	488	n.d.

<sup>a</sup>Medidas equivalentes de ácido 3-nitropropiónico.

Em suma, a *I. lespedezioides* causa sinais neurológicos e mortes em cavalos no estado de Roraima, Brasil. O aminoácido tóxico, indospicina, foi detectado em todas as amostras, assim como uma baixa concentração de toxina nitro em uma amostra, sendo que, o composto tóxico responsável pela intoxicação é proposto ser a indospicina. No entanto, a presença de toxinas nitro poderia agravar os problemas toxicológicos encontrados com animais pastando *I. lespedezioides*.

### Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle de Intoxicações de Plantas, CNPq, processo nº 573534/2008-0.

### Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

## Referências

- Aylward, J.H., Court, R.D., Haydock, K.P., Stickland, R.W., Hegarty, M.P., 1987. *Indigofera* species with agronomic potential in the tropics. Rat toxicity studies. *Aust. J. Agric. Res.* 38, 177–186.
- Barbosa, I.B., 1997. Distribuição das chuvas em Roraima. In: Barbosa, R.I., Ferreira, E.J.J., Castellón, E.G. (Eds.), *Homem, ambiente e ecologia no Estado de Roraima*. INPA, Boa Vista, pp. 326–335.
- Bell, A.T., Hall, W.T.K., 1952. Birdsville disease of horses: feeding trials with *Indigofera enneaphylla*. *Aust. Vet. J.* 28, 141–164.
- Braga, R.M., 1998. Mata zombando: planta tóxica para equinos em Roraima, vol. 4 (3). Centro de Pesquisa Agroflorestal de Roraima. Informativo, Embrapa, 6 p.
- Carroll, A.G., Swain, B.J., 1983. Birdsville disease in the Central high-land area of Queensland. *Aust. Vet. J.* 60, 316–317.
- FitzGerald, L.M., Fletcher, M.T., Paul, A.E.H., Mansfield, C.S., O’Hara, A.J., 2011. Hepatotoxicosis in dogs consuming a diet of camel meat contaminated with indospicine. *Aust. Vet. J.* 89, 95–100.
- Gardner, D.R., Riet-Correa, F., 2012. Analysis of the toxic amino acid indospicine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Int. J. Poisonous Plant Res.* 1, 20–27.
- Gregory, N.G., Orbell, G.M.B., Harding, D.R.K., 2000. Poisoning with 3-nitropropionic acid in possums (*Trichosurus vulpecula*). *New Zeal. Vet. J.* 48 (3), 85–87.
- Hamilton, B.F., Gould, D.H., 1987. Nature and distribution of brain lesions in rats intoxicated with 3-nitropropionic acid: a type of hypoxic (energy deficient) brain damage. *Acta Neuropathol.* 72 (3), 286–297.
- Hartley, W.J., Kuberski, G., Legonidec, G., Daynes, P., 1982. The pathology of Gomen disease: a cerebellar disorder of horses in New Caledonia. *Vet. Path.* 19, 399–405.
- Hegarty, M.P., Pound, A.W., 1968. Indospicine, a new hepatotoxic amino acid from *Indigofera spicata*. *Nature* 217, 354–355.
- Hegarty, M.P., Pound, A.W., 1970. Indospicine, a hepatotoxic amino acid from *Indigofera spicata*: isolation, structure, and biological studies. *Aust. J. Biol. Sci.* 23, 831–842.
- Hegarty, M.P., Kelly, W.R., McEwan, D., Williams, O.J., Cameron, R., 1988. Hepatotoxicity to dogs of horse meat contaminated with indospicine. *Aust. Vet. J.* 65, 337–340.
- Hooper, P.T., Hart, B., Smith, G.W., 1971. The prevention and treatment of birdsville disease of horses. *Aust. Vet. J.* 47, 326–329.

- Hu, W., 1992. Studies on the epidemiology and etiology of moldy sugarcane poisoning in China. *Biomed. Environm. Sci.* 5 (2), 161–177.
- James, L.F., Hartley, W.J., Van Kampen, K.R., 1981. Syndromes of *Astragalus* poisoning in livestock. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178, 146–150.
- Kelly, W.R., Young, M.P., Hegarty, M.P., Simpson, G.D., 1992. The hepatotoxicity of indospicine in dogs. In: James, L.F., Keeler, R.F., Bailey, E.M., Cheeke, P.R., Hegarty, M.P. (Eds.), *Poisonous Plants*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 126–130.
- Liu, X., Luo, X., Madsen, N.P., Christie, G.S., Hegarty, M.P., 1970. Effect of indospicine on incorporation of L-arginine-<sup>14</sup>C into protein and transfer ribonucleic acid by cell-free systems from rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 19, 853–857.
- Madsen, N.P., Hegarty, M.P., 1970. Inhibition of rat liver homogenate arginase activity in vitro by the hepatotoxic amino acid indospicine. *Biochem. Pharmacol.* 19, 2391–2393.
- Majak, W., Benn, M., Mcewan, D., Pass, M.A., 1992. Three nitropropanoyl esters of glucose from *Indigofera linnaei*. *Phytochemistry* 31, 2393–2395.
- Matsumoto, H., Unrau, A.M., Hylin, J.W., Temple, B., 1961. Spectrophotometric determination of 3-nitropropanoic acid in biological extracts. *Anal. Chem.* 33 (10), 1442–1444.
- Morton, J.F., 1989. Creeping indigo (*Indigofera spicata* Forsk.) (Fabaceae). A hazard to herbivores in Florida. *Econ. Bot.* 43, 314–327.
- Myers, R.K., Zachary, J.F., McGavin, M.D., 2012. Cellular adaptations, injury, and death: morphologic, biochemical, and genetic bases. In: Zachary, J.F., McGavin, M.D. (Eds.), *Pathologic Basis of Veterinary Diseases*, fifth ed. Elsevier, St Louis, pp. 2–59.
- Pass, M.A., Hossein, A., Pollitt, S., Hegarty, M.P., 1996. Effects of the naturally occurring arginine analogues indospicine and canavanine on nitric oxide mediated functions in aortic endothelium and peritoneal macrophages. *Nat. Toxins* 4, 135–140.
- Pott, A., Pott, V.J., 1994. *Plantas do Pantanal*. EMBRAPA-CPAP/SPI, Brasília, 320 p.
- Riet-Correa, F., Barros, S.S., Méndez, M.C., Fernandes, C.G., Pereira Neto, O.A., Soares, M.P., McGavin, D., 2009. Axonal degeneration in sheep caused by ingestion of *Halimium brasiliensis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 478–486.
- Schoch, T.K., Gardner, D.R., Manners, G.D., Pfister, J.A., Ralphs, M.H., 1998. Fourier transform infrared spectroscopy for rapid analysis of toxic compounds in larkspurs and milkvetches. In: Garland, T., Barr, A.C. (Eds.), *Toxic Plants and Other Natural Toxicants*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 243–254.
- Shenk, J.S., Wagsness, P.J., Leach, R.M., 1976. Relationship between 3-nitropropionic acid content of crown vetch and toxicity in non-ruminant animals. *J. An. Sci.* 42, 616–621.

Williams, M.C., 1981. Nitro compounds in *Indigofera* species. *Agron. J.* 73, 434–436.

Wilson, P.G., Rowe, R., 2008. A revision of the Indigofereae (Fabaceae) in Australia. 2. *Indigofera* species with trifoliolate and alternately pinnate leaves. *Telopea* 12 (2), 293–307.

CAPÍTULO II

**Intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos**

Artigo publicado na Revista Toxicon 82:93-96, 2014

## **Intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos**

Everton Ferreira Lima<sup>a</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>b,II</sup> e Rosane Maria Trindade de Medeiros<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Escola Superior Batista do Amazonas, R. Leonor Teles, 153, Adrianópolis, Manaus, AM 69057-510, Brasil.

<sup>b</sup>Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, CEP 58700-310 Paraíba, Brasil

**- NOTA -**

### **Resumo**

O presente trabalho relata a degeneração cerebelar em bovinos causada pela ingestão de *Solanum subinerme* Jack no norte do Brasil. Os principais sinais clínicos foram crises epileptiformes periódicas, com perda de equilíbrio, quedas, opistótono e nistagmo. As lesões histológicas consistiram de vacuolização fina e difusa do pericário dos neurônios de Purkinje, seguida pela perda dessas células e a sua substituição por células da glia de Bergman. Concluiu-se que *S. subinerme* Jack é outra espécie de *Solanum* que provoca degeneração cerebelar em bovinos.

**Palavras-chave:** doenças de bovinos, sistema nervoso, degeneração neuronal, *Solanum subinerme*, plantas tóxicas.

### **Abstract**

The present work reports cerebellar degeneration in cattle associated with the ingestion of *Solanum subinerme* Jack in northern Brazil. The main clinical signs were periodic crises epileptiform with loss of balance, falls, opisthotonus, and nystagmus. The histological lesions consisted of diffuse and slim vacuolation of the perikaryon of the Purkinje neurons, followed by the loss of these cells and their substitution by Bergman glia. It is concluded that *S. subinerme* Jack is another species of *Solanum* that causes cerebellar degeneration in cattle.

<sup>I</sup>Autor para correspondência: Tel.: +55 83 34239734; fax: +55 83 34239537. e-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br, rmtmed@uol.com.br (F. Riet-Correa).

Keywords: cattle diseases, nervous system, neuronal degeneration, *Solanum subinerme*, toxic plants.

O gênero *Solanum* da família *Solanaceae* contém várias espécies que afetam bovinos causando alterações degenerativas das células de Purkinje, incluindo *Solanum kwebense* na África do Sul (Pienaar et al., 1976, van der Lugt et al., 2010), *Solanum dimidiatum* nos Estados Unidos (Menzies et al., 1979) e *Solanum bonariense* L. (= *Solanum fastigiatum* Willd) no Uruguai (Verdes et al., 2006) e Argentina (Odriozola et al., 2012). A intoxicação também, foi descrita em caprinos por *Solanum cinereum*, na Austrália (Bourke, 1997) e *Solanum viarium* nos Estados Unidos (Porter et al., 2003). No Brasil foi relatada a intoxicação em bovinos por *Solanum fastigiatum* (Riet-Correa et al., 1983, Rech et al., 2006) e *Solanum paniculatum* em Pernambuco (Guaraná et al., 2011).

A doença em bovinos é caracterizada clinicamente por crises epileptiformes periódicas, com quedas, sem perda da consciência, com duração de até um minuto e conseqüente recuperação (Pienaar et al., 1976; Riet-Correa et al., 1983; Verdes et al., 2006; Guaraná et al., 2011). Alguns animais podem apresentar sinais neurológicos permanentes de origem cerebelar (Verdes et al., 2006; Guaraná et al., 2011). As lesões induzidas por *Solanum* spp., são vistas apenas na microscopia, sendo caracterizadas por tumefação e vacuolização fina no pericário e perda dos grânulos de Nissl dos neurônios de Purkinje, com o posterior desaparecimento e substituição por células da glia de Bergman (Pienaar et al., 1976; Riet-Correa et al., 1983; Verdes et al., 2006; Guaraná et al., 2011). Em casos experimentais foram evidenciadas essas mesmas lesões (Zambrano et al., 1985; Medeiros et al., 2004; Guaraná et al., 2009; Rego et al., 2012). Nos casos avançados em que há acentuada redução do número de células de Purkinje, se verifica diminuição da espessura da camada molecular do cerebelo e conseqüente atrofia do órgão (Rech et al., 2006).

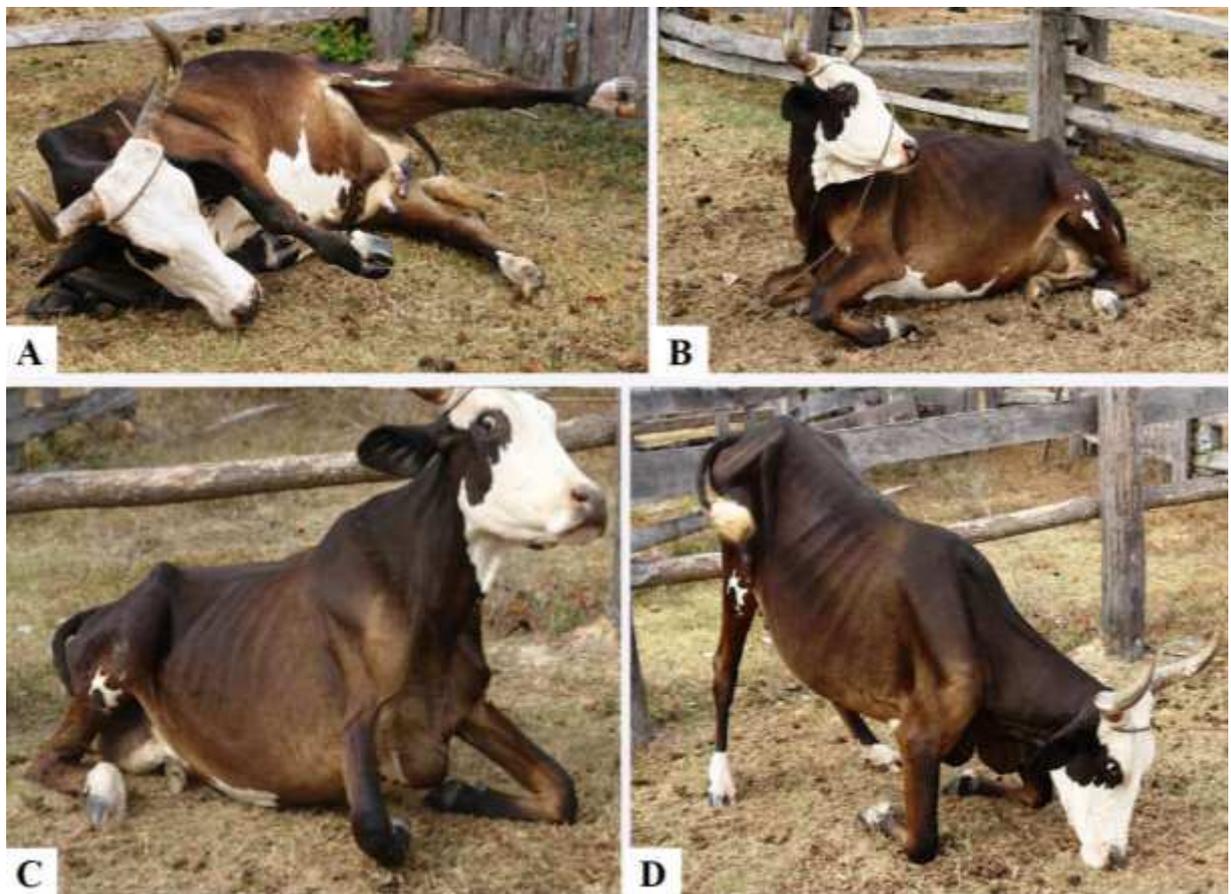
A *Solanum subinerme* (Fig. 1), encontrada no estado de Roraima, é conhecida popularmente como jurubeba na região amazônica (Stehmann et al., 2010). A planta localiza-se em áreas próximas às matas, denominadas ilhas, distribuídas entre a vegetação nativa (savana) conhecida como “lavrados”. Ainda não há relato sobre a intoxicação por essa planta. O objetivo deste trabalho é relatar a intoxicação por *S. subinerme* em bovinos no estado de Roraima, Norte do Brasil.



**Fig.1.** *Solanum subinerme* no município de Cantá, Roraima.

Durante visita a uma propriedade no município de Cantá, Roraima, Brasil, no mês de fevereiro de 2010, quatro vacas, com mais de 2 anos de idade, apresentaram sinais neurológicos cerebelares, com quedas e recuperação em um minuto. Os ataques ocorriam esporadicamente, sempre que as vacas eram excessivamente movimentadas ou quando brigava com outras. Uma vaca, com seis anos de idade, em lactação, foi examinada clinicamente. O animal apresentou perda de equilíbrio e queda com os membros anteriores estendidos, opistótono e nistagmo (Fig. 2), como resultado do head raising test (elevação da cabeça do animal por cerca de 60 s e, de repente, liberá-lo). Na sequência do ataque, o animal retornou para a posição de estação em cerca de um minuto, permanecendo, posteriormente, sem sinais clínicos. De acordo com o proprietário, a vaca vinha demonstrando esses sinais, há aproximadamente um ano. A fazenda tem uma área de aproximadamente 400 ha, e a *S. subinerme* começou a aparecer como uma erva daninha após o início do cultivo de pastagens, principalmente com *Brachiaria humidicola*,

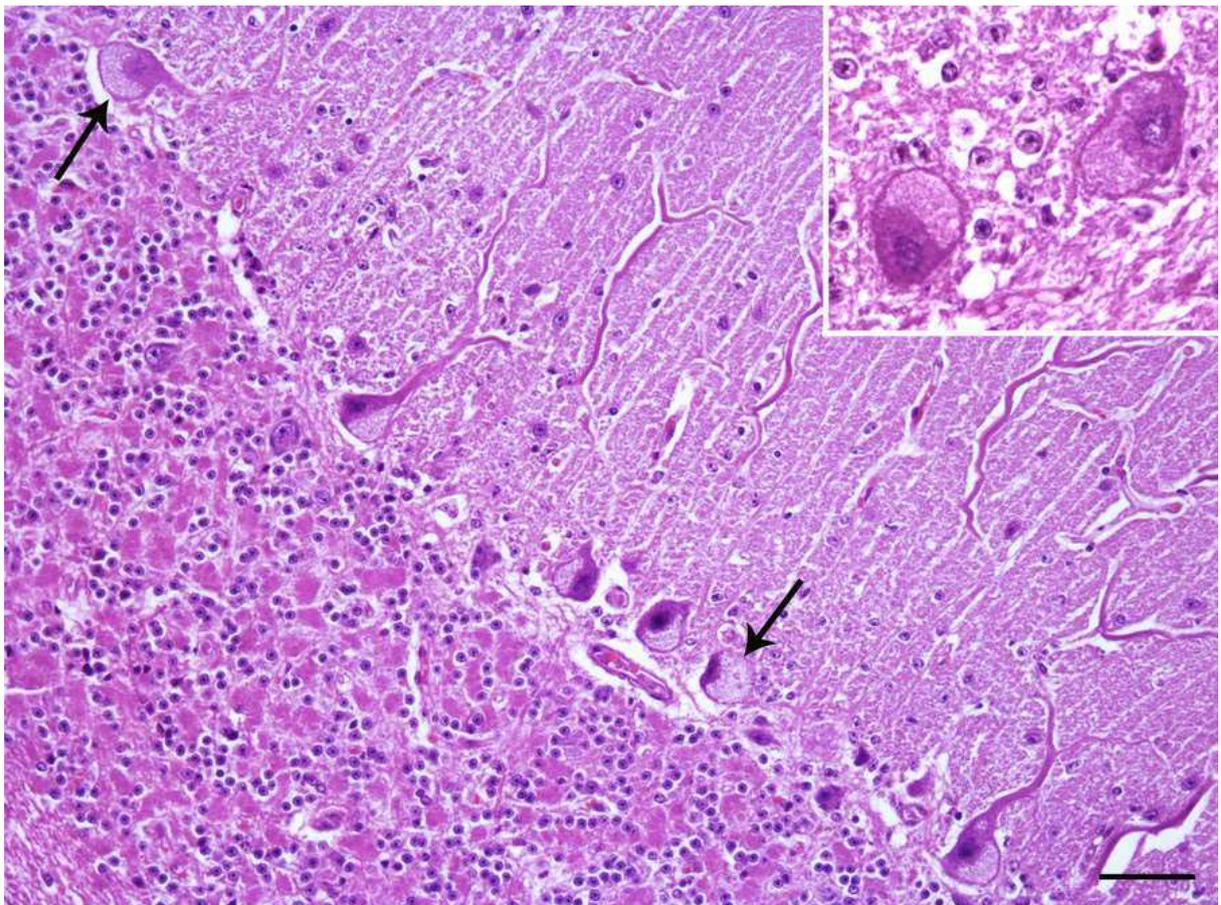
há cerca de 20 anos. A doença vinha ocorrendo na propriedade nos últimos 5-10 anos, tendo acometido 12 animais de um rebanho de aproximadamente 100 bovinos. Quatro, dos animais afetados anteriormente, foram eutanasiados, e, outros quatro morreram espontaneamente. As áreas de pastagens apresentavam intensa invasão por uma planta conhecida como jurubeba, a qual foi identificada pelo professor Odaci F. de Oliveira, da Universidade Federal do Semiárido como *S. subinerme* Jack. Uma amostra da planta autenticada está depositada no herbário do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) sob o número 99433 Det - M-H-NEE. Outros agricultores vizinhos mencionaram a ocorrência da doença e a presença de *S. subinerme* em suas fazendas.



**Fig. 2.** Bovino intoxicado por *Solanum subinerme* apresentando sequência da crise epileptiforme, após o head raising test (teste de elevação da cabeça). A) Quedas e membros pélvicos estendidos. B) Início da recuperação – animal em decúbito esternal e opistótono. C) Animal com dificuldade para se levantar e nistagmo. D) Animal em recuperação e posterior posição de estação.

Nove meses após o exame clínico, a vaca, foi abatida, após um período de manifestação clínica de aproximadamente 21 meses. No momento da eutanásia, o animal apresentou boa condição corporal. Após a eutanásia, o encéfalo foi coletado e fixado em formol tamponado a 10%. Seções do córtex frontal, parietal, temporal e occipital, corpo estriado, tálamo, colículo rostral, pedúnculos cerebelares, cerebello, ponte e óbex foram cortados a 4-5  $\mu\text{m}$  e coradas pela hematoxilina e eosina.

As lesões histológicas consistiam de vacuolização fina acentuada e difusa do pericário de neurônios de Purkinje (Fig. 3), levando ao deslocamento do núcleo para a periferia. Alguns núcleos das células de Purkinje estavam picnóticos. Em algumas folhas, houve uma acentuada perda de células de Purkinje, que foram substituídas por células da glia de Bergman. Em algumas áreas, a camada granular mostrou rarefação neuronal e a presença de raros esferoides axonais.



**Fig. 3.** Cerebello bovino. Severa vacuolização fina e marginalização nuclear são observadas nos neurônios de Purkinje. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . Detalhe: Neurônio de Purkinje com vacuolização fina e núcleo deslocado. 400x. H&E.

A ocorrência de crises epileptiformes periódicas de origem cerebelar, em bovinos maiores de dois anos e as lesões degenerativas dos neurônios de Purkinje são características das intoxicações por diversas espécies de *Solanum* (Pienaar et al., 1976; Menzies et al., 1979; Riet-Correa et al., 1983; Bourke, 1997; Porter et al., 2003; Verdes et al., 2006; van der Lugt et al., 2010; Guaraná et al., 2011; Odriozola et al., 2012). Na doença descrita neste trabalho, além das características clínicas e patológicas mencionadas anteriormente, foi observada grande quantidade de *S. subinerme* no local onde ocorriam os casos, comprovando que esta planta causa, também, degeneração cerebelar. O composto tóxico de *Solanum* spp. responsável pelas alterações do cerebelo é desconhecido, mas tem sido proposto que estas plantas induzam uma doença do armazenamento lisossomal, provavelmente uma gangliosidose adquirida ou uma neurolipidose (Riet-Correa et al., 1983), ou que existe uma interação físico-química entre o princípio ativo da planta e lipídeos normais dentro de neurônios com a formação de complexos que seriam menos susceptíveis à degradação enzimática do que os lipídeos normais (Barros et al., 1987).

São limitadas as informações sobre a ocorrência de doenças do sistema nervoso central em bovinos no estado de Roraima, Brasil. No Brasil, a vacuolização das células de Purkinje tem sido relatada em bovinos intoxicados por plantas contendo suainsonina, como a *Ipomoea carnea* em Mato Grosso (Antoniassi et al., 2007) e *Sida carpinifolia*, no sul do Brasil (Driemeier et al., 2000; Furlan et al., 2009). No entanto, nesta intoxicação, a vacuolização afeta outras células do sistema nervoso central e os sinais clínicos são permanentes. Além disso, essas plantas não estavam presentes na fazenda descrita neste estudo.

*S. subinerme* encontra-se amplamente distribuída em toda a região Norte, nos estados de Roraima, Amapá, Pará, Amazonas, Acre e Rondônia. Na região Nordeste, é encontrada no estado do Maranhão e na região Centro-Oeste, nos estados de Goiás e Mato Grosso (Stehmann et al., 2010). Também há registros de ocorrência da planta em outros países da América Latina, incluindo a Venezuela, Equador, Guiana Francesa, México, Panamá, Peru, Suriname, ilhas do Caribe, Colômbia e Bolívia (Encyclopedia of Life, 2010).

Em suma, a *S. subinerme* é outra espécie de *Solanum* que causa a degeneração dos neurônios de Purkinje com sinais clínicos de comprometimento cerebelar, incluindo crises epileptiformes periódicas com perda de equilíbrio e quedas. A doença ocorre no estado de Roraima, Brasil, mas a ampla distribuição da planta, sugere sua ocorrência em outras regiões.

### **Declaração de ética**

Os autores do trabalho intoxicação espontânea por *Solanum subinerme* Jack como causa de degeneração cerebelar cortical em bovinos afirmam que os requisitos legais e a ética nacional foram implementados no desenvolvimento deste estudo.

### **Agradecimentos**

Ao Instituto Nacional para a Ciência e Tecnologia para o Controle de Plantas Tóxicas, CNPq, processo nº 573534/2008-0.

### **Conflito de interesses**

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

### **Referências**

- Antoniassi, N.A.B., Ferreira, E.V., Santos, C.E.P, Arruda, L.P., Campos, J.L.E., Nakazato, L., Colodel, E.M., 2007. Intoxicação espontânea por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae) em bovinos no Pantanal Mato-Grossense. *Pesq. Vet. Bras.* 27, 415–418.
- Barros, S.S., Riet-Correa, F. Andujar M.B., Barros C.S.L., Méndez M.C, Schild A.L., 1987. *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* and *Solanum* sp. poisoning in cattle: ultrastructural changes in the cerebellum. *Pesq. Vet. Bras.* 7, 1-5.
- Bourke, C.A., 1997. Cerebellar degeneration in goats grazing *Solanum cinereum* (Narrawa burr). *Aust. Vet. J.* 75, 363–365.
- Driemeier, D., Colodel, E.M., Gimeno, E.J., Barros, S.S., 2000. Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. *Vet. Path.* 37, 153–159.
- Encyclopedia of Life: *Solanum subinerme*. 2010. <http://eol.org/pages/5698565/details>.
- Furlan, F.H., Lucioli, J., Veronezi, L.O., Medeiros, A.L., Barros, S.S., Traverso, S.D., Gava, A., 2009. Spontaneous lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in cattle. *Vet. Path.* 46, 343–347.
- Guaraná, E.L.S. Riet-Correa, F., Mendonça, C.L., Medeiros, R.M.T., Costa, N.A., Afonso, J.A.B., 2011. Intoxicação por *Solanum paniculatum* (Solanaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 31, 59–64.
- Medeiros, R.M.T., Guilherme, R.F., Riet-Correa, F., Barbosa, R.C., Lima, E.F., 2004. Intoxicação experimental por *Solanum paniculatum* (jurubeba) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 24(Supl.), 41.

- Menzies, J.S., Bridges, C.H., Bailey, E.M., 1979. A neurological disease of cattle associated with *Solanum dimidiatum*. South-West. Vet. 32, 45–49.
- Odriozola, E., Giannitti, F., Gamieta, I., Gimeno, E., Uzal, F. Woods, L., Weber, N., Canton, G., Verdes, J., 2012. *Solanum bonariense* intoxication in cattle: first report in Argentina. J. Comp. Path. 146 (1), 74.
- Pienaar, J.G., Kellerman, T.S., Basson, P.A., Jenkins, W.L., Vahrmeijer, J., 1976. Maldronksiekte in cattle: a neuronopathy caused by *Solanum kwebense* N. E. Br. Onderstepoort. J. Vet. Res. 43, 67–74.
- Porter, M.B., MacKay, R.J., Uhl, E., Platt, S.R., Lahunta, A., 2003. Neurologic diseases putatively associated with ingestion of *Solanum viarium* in goats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223, 501–504.
- Rech, R.R., Rissi, D.R., Rodrigues, A., Pierezan, F., Piazer, J.V.M., Kommers, G.D., Barros, C.S.L., 2006. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* (Solanaceae) em bovinos: epidemiologia, sinais clínicos e morfometria das lesões cerebelares. Pesq. Vet. Bras. 26, 183–189.
- Rego, R.O., Afonso, J.A.B., Mendonça, C.L., Soares, G.S.L., Torres, M.B.A.M., 2012. Alterações no SNC e morfometria cerebelar de bovinos intoxicados experimentalmente por *Solanum paniculatum*. Pesq. Vet. Bras. 32, 1107–1115.
- Riet-Correa, F., Méndez, M.C., Schild, A.L., Summers, B.A., Oliveira, J.A., 1983. Intoxication by *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum* as a cause of cerebellar degeneration in cattle. Corn. Vet. 73, 240–256.
- Stehmann, J.R.; Mentz, L.A.; Agra, M.F.; Vignoli-Silva, M.; Giacomini, L., 2010. *Solanaceae*. in: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB014716>. (Acesso em 23/12/2012).
- van der Lugt, J.J., Bastianello, S.S., Ederen, A.M., Wilpe, E. 2010. Cerebellar cortical degeneration in cattle caused by *Solanum kwebense*. Vet. J. 185, 225–227.
- Verdes, J.M., Moraña, A., Gutiérrez, F., Battes, D., Fidalgo, L.E., Guerreiro, F., 2006. Cerebellar degeneration in cattle grazing *Solanum bonariense* (naranjillo) in Western Uruguay. J. Vet. Diagn. Invest. 18, 299–303.
- Zambrano, M.S., Riet-Correa, F., Schild, A.L., Méndez, M.C., 1985. Intoxicação por *Solanum fastigiatum* var. *fastigiatum*: evolução e reversibilidade das lesões em bovinos, e susceptibilidade de ovinos, coelhos, cobaias e ratos. Pesq. Vet. Bras. 5, 133–141.

### CAPÍTULO III

#### **Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) no Brasil**

Artigo publicado pela revista Toxicon (v.115, p.22-27, 2016)

**Estudos a respeito da classificação e suposta toxicidade de *Fridericia japurensis*  
(*Arrabidaea japurensis*) no Brasil**

Everton Ferreira Lima<sup>a,b</sup>, Rosane Maria T. de Medeiros<sup>b</sup>, Daniel Cook<sup>c</sup>, Stephen T. Lee<sup>c</sup>,  
Miriam Kaehler<sup>d</sup>, Joyce M. Santos-Barbosa<sup>e</sup>, Franklin Riet-Correa<sup>b,f,III</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima

<sup>b</sup>Hospital Veterinário Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, CEP 58700-000

<sup>c</sup>Poisonous Plant Research Laboratory, Agriculture Research Service, United States Department of  
Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, UT 84341, USA

<sup>d</sup>The New York Botanical Garden, Institute of Systematic Botany, 2900 Southern Blv., Bronx, NY  
10458, USA

<sup>e</sup>Departamento de Química, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato  
Grosso do Sul, 79070-900

<sup>f</sup>National Institute of Agricultural Research (INIA), Colonia del Sacramento, Colonia, Casilla de  
Correo 39173, Colonia, 70000 Colonia Uruguay. CP 70.000

**Resumo**

Numerosas espécies de plantas no mundo, incluindo a *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) e *Tanaecium bilabiatum* (Bignoniaceae) no Brasil, causam falha cardíaca aguda (morte súbita) e são conhecidas por conter monofluoracetato (MFA). Outras espécies de Bignoniaceae, incluindo *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*), relatada por causar morte súbita em bovinos no estado de Roraima, Brasil, são suspeitas de conter MFA devido à similaridade dos sinais clínicos. Neste estudo espécimes de herbário de *F. japurensis* e amostras coletadas a campo suspeitas de serem *F. japurensis* foram analisadas para MFA, e a planta coletada a campo foi testada em coelhos. Não foi detectado MFA nas amostras de herbário primariamente identificadas como *F. japurensis*; contudo, o MFA foi detectado nas coletas a campo, as quais foram identificadas como *T. bilabiatum*. Coelhos testados por via oral com *T. bilabiatum*, morreram de forma aguda. Amostras registradas inicialmente descritas como *F. japurensis* por Tokarnia e Döbereiner foram identificadas incorretamente, sendo que a identificação botânica

<sup>III</sup>Autor para correspondência: Franklin Riet-Correa. Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Avenida Universitária, S/N, Bairro Santa Cecília, Patos-PB, 58708-110. e-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

correta para esta planta é *T. bilabiatum* (*Arrabidaea bilabiata*). Com base neste estudo, conclui-se que não há dados que sustentem a toxicidade de *F. japurensis* e que, a planta previamente registrada sob esse nome, como causa de insuficiência cardíaca aguda em bovinos em Roraima é a *T. bilabiatum*. Esta pesquisa destaca a importância de amostras serem depositadas com a identificação correta, como parte de qualquer investigação de planta tóxica e corrige a literatura sobre estas plantas tóxicas.

**Palavras-chave:** monofluoroacetato, morte súbita, *Fridericia*, plantas tóxicas, Bignoniaceae.

### **Abstract**

Numerous plant species worldwide including *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) and *Tanaecium bilabiatum* (Bignoniaceae) in Brazil cause acute cardiac failure (sudden death) and are known to contain monofluoroacetate (MFA). Other Bignoniaceae species including *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) are reported to cause sudden death in livestock in the Brazilian state of Roraima and are suspected to contain MFA due to the similarity of clinical signs. In this study, herbarium specimens of *F. japurensis* and field collections suspected to be *F. japurensis* were analyzed for MFA, and plant material from the field collections was dosed to rabbits. No MFA was detected in the herbarium specimens authoritatively identified as *F. japurensis*; however, MFA was detected in the field collections, which were identified as *T. bilabiatum*. Rabbits dosed orally with *T. bilabiatum* died acutely. Voucher specimens initially described as *F. japurensis* by Tokarnia and Döbereiner were incorrectly identified, and the correct botanical name for this plant is *T. bilabiatum* (*Arrabidaea bilabiata*). Based on this study we conclude that there are no data to support the toxicity of *F. japurensis* and that the plant previously reported under this name as causing acute cardiac failure in cattle in Roraima is *T. bilabiatum*. This research highlights the importance of voucher specimens as part of any toxic plant investigation and corrects the literature regarding these toxic plants.

**Key words:** monofluoroacetate, sudden death, *Fridericia*, poisonous plants, Bignoniaceae.

## **1 Introdução**

Numerosas espécies de plantas em todo o mundo causam insuficiência cardíaca aguda (síndrome da morte súbita) em bovinos associada ao exercício (Burrows and Tyrl, 2013; Lee et al., 2014). Essas plantas são encontradas principalmente no Sul do Continente Africano,

Austrália e América do Sul e pertencem as famílias Bignoniaceae, Dichapetalaceae, Fabaceae, Malpighiaceae e Rubiaceae. Elas têm afetado negativamente a produção de bovinos nestas regiões, sendo registrada na literatura. Os sinais clínicos associados à síndrome de morte súbita são perda de equilíbrio, incoordenação, dificuldade respiratória, tremores musculares e decúbito, causando à morte (Tokarnia et al., 1990, 2002, 2012; Vasconcelos et al., 2008; Riet-Correa et al., 2009). Várias destas espécies de plantas foram relatadas ou são suspeitas de conter o composto tóxico organofluorado monofluoroacetato (MFA; Twigg et al., 1996). Espécies de *Dichapetalum* (Dichapetalaceae), nativas da África do Sul (Marais, 1944) e várias espécies de *Acacia* e *Gastrolobium* (Fabaceae), nativas da Austrália (Alpin et al., 1993), contêm MFA e causam morte súbita.

Vários táxons brasileiros são relatados por conter MFA e causar morte súbita, incluindo diversas espécies de *Palicourea* (Rubiaceae) (Oliveira, 1963; Moraes-Moreau et al., 1995; Lee et al. 2012; Tokarnia et al., 2012; Cook et al., 2014). A *Palicourea marcgravii* representa a primeira planta tóxica estudada no Brasil, bem como a planta tóxica mais importante no país, devido à sua toxicidade aguda, boa palatabilidade e ampla distribuição geográfica (Tokarnia et al., 2012). Além disso, várias espécies de *Amorimia* (Malpighiaceae) são relatadas por causar morte súbita e conter MFA (Lee et al., 2012; Tokarnia et al., 2012). Por último, três espécies de Bignoniaceae, *Tanaecium bilabiatum* (sinônimo *Arrabidaea bilabiata*), *Fridericia elegans* (*Pseudocalymma elegans*) e *Fridericia japurensis* (*Arrabidaea japurensis*) são registradas como causa de morte súbita (Tokarnia e Döbereiner, 1981a; Helayel et al., 2009, Tokarnia et al., 2012). Dessas três espécies de Bignoniaceae, apenas a *T. bilabiatum* foi relatada por conter MFA (Krebs et al., 1994).

Döbereiner e Tokarnia descreveram a toxicidade de *Arrabidaea japurensis* na década de 1980 (Tokarnia e Döbereiner, 1981a; Döbereiner e Tokarnia, 1983), e, posteriormente, não foram relatadas novas investigações sobre esta planta tóxica. Depois desses relatos, a família Bignoniaceae passou por uma revisão taxonômica (Lohmann e Taylor, 2014), sendo que essa espécie é agora reconhecida como *F. japurensis*. Os relatos de Tokarnia e Döbereiner eram das áreas de cerrado, nas regiões do Centro e Norte do estado de Roraima, Brasil, que representa a região primária de produção de gado na época. Desde então, a produção de bovinos em Roraima estendeu-se a outras regiões do Sul do estado, onde a vegetação predominante é de florestas (IBGE, 2005). Hoje, as perdas de bovinos, devido as intoxicações, continuam a ser relatadas em todas essas regiões. No entanto, os proprietários atribuem as mortes súbitas em bovinos, no Estado de Roraima, a uma planta denominada *Coutoubea ramosa*, conhecida popularmente por “tingui” ou “cafezinho”. Esta planta foi administrada experimentalmente a bovinos por

Tokarnia e Döbereiner (1981b) observando-se um quadro clínico caracterizado por distúrbios digestivos agudos.

*F. japurensis* é suspeita de conter MFA, devido a semelhança dos sinais clínicos observados na intoxicação por outras plantas que causam morte súbita em bovinos. No entanto, a presença de MFA não foi verificada nesta espécie. O objetivo desta pesquisa foi determinar se *F. japurensis* contém MFA e investigar a causa de morte súbita em bovinos em vários locais do estado de Roraima, onde se suspeita que *F. japurensis* cause morte súbita. Especificamente as seguintes questões foram abordadas: (1) os espécimes de herbário e coletas a campo de *F. japurensis* contém MFA, e (2) quais são os sinais clínicos e as lesões histológicas em coelhos que receberam doses de *F. japurensis*?

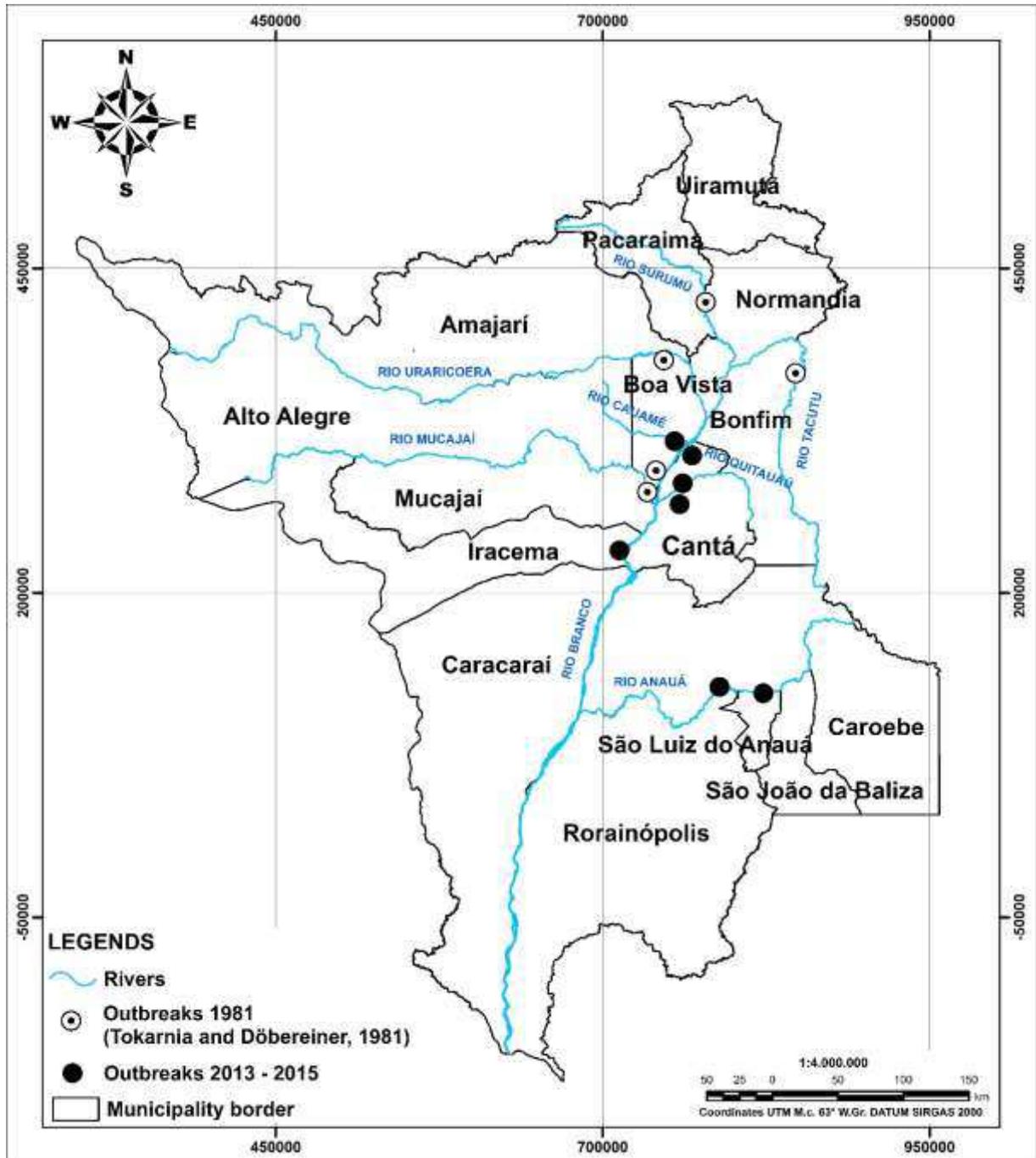
## 2 Material e métodos

### 2.1 Planta

Foram analisados espécimes de herbário de *F. japurensis* e *T. bilabiatum* (n = 37), disponibilizados pelo Jardim Botânico de Missouri (MO). *T. bilabiatum* foi incluída como uma espécie de referência positiva para MFA, por ter sido descrita anteriormente por conter MFA (Krebs et al. 1994). Foram avaliadas amostras da planta seca constituída por folhas e/ou flores de 18 espécimes de *F. japurensis* e 19 espécimes de *T. bilabiatum*. A identificação taxonômica de todos os espécimes depositados foi verificada por membros do Jardim Botânico de Missouri. O material identificado a partir destes espécimes foi examinado para presença de MFA.

Uma planta suspeita de ser *F. japurensis* foi coletada de sete fazendas (A-G) no estado de Roraima, onde foram observados surtos de morte súbita. Durante o período de maio de 2013 a abril 2015, fazendas com casos de morte súbita em bovinos foram visitadas e inspecionadas para a presença de *F. japurensis* ou outras plantas tóxicas conhecidas por causar morte súbita. Além disso, foram levantadas informações junto aos proprietários e tratadores sobre a presença de plantas tóxicas suspeitas de causar morte súbita. Um mapa do estado de Roraima mostrando os surtos notificados por Tokarnia e Döbereiner (1981a) e os surtos notificados neste trabalho é encontrado na Figura 1. Amostras representativas foram fotografadas, coletadas, prensadas e secadas e enviadas ao Laboratório de Pesquisa de Plantas Tóxicas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA)/Serviço de Pesquisa em Agricultura (ARS). Aproximadamente 50 mg de folha da planta foi removida das amostras prensadas para detecção de monofluoroacetato. As amostras prensadas foram posteriormente enviadas para o Jardim Botânico de Missouri para identificação. Amostras comprovadas foram depositadas no Jardim

Botânico de Missouri com os seguintes números de acesso: 6657964 (Farm A), 6.657.968 (Farm B), 6.657.967 (Farm C), 6.659.966 (Farm D) e 6.657.965 (Farm E).



**Fig. 1.** Mapa do estado de Roraima, Brasil com os surtos relatados por Tokarnia e Döbereiner (1981a) e os surtos descritos neste trabalho.

## 2.2 Extração

A extração do material vegetal para análise de monofluoroacetato (MFA) foi realizada por pesagem de 25 mg da amostra moída, em um tubo de micro-centrífuga com tampa de rosca de 2 ml. Foi adicionado água (deionizada, 1,5 ml) a cada tubo de ensaio, colocando-se num agitador mecânico durante 18 horas e depois centrifugou-se para separar o resíduo da planta do extrato aquoso. Uma alíquota de 1 ml do extrato aquoso foi filtrada através de um filtro de seringa de nylon de 17 mm, com diâmetro de poro de 0,2 µm (National Scientific, Rockwood, TN) e transferido para um frasco pequeno com amostrador automático de 1 ml para análise.

## 2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência-ionização química em pressão atmosférica-espectrometria de massa (CLAE-IQPA-EM)

O método de CLAE-IQPA-EM (em inglês = HPLC-APCI-MS) utilizado neste estudo foi baseado num método relatado anteriormente, sendo depois modificado para análise de MFA em material vegetal (Noonan et al., 2007; Lee et al., 2012). Neste estudo, as amostras foram injetadas (20 µL) em um Poroshell 120 CE-C18 de coluna de fase reversa (50 x 3 mm d.i., 2.7 µm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) que foi protegido por uma coluna de guarda Betasil C-18 (50 x 3 mm d.i., 2.7 µm) (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, EUA). O MFA foi eluído da coluna com um fluxo isocrático (0,300 ml/min.) de 85:15 (5 mM de ácido fórmico, 5 mM de tributilamina: MeOH) como fase móvel. O fluxo da coluna foi conectado diretamente a um espectrômetro de massa de captura de íons LCQ Thermo Finnigan (San José, CA EUA), por meio de um produto com origem na ionização química em pressão atmosférica (APCI). Foi utilizada a monitorização iônica selecionada (MIS), em  $m/z$  77 para o  $(MH)^-$  íon de MFA. Uma solução padrão de fluoroacetato de sódio (MFA) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) foi preparada em água a uma concentração de 0,002 µg/ml e corria a cada 20 amostras como um comparativo visual com as amostras testadas. O tempo total de execução da CLAE foi de 7,0 min., com a eluição de MFA em 3,7 min.

## 2.4 Estudos em Animais

Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais com ração comercial para coelhos (Purina®, Ribeirão Preto, São Paulo) e água *ad libitum*. Folhas frescas da planta, coletadas nas fazendas A-D foram secadas e moídas, e subsequentemente administradas a coelhos numa dose única de 5 g/kg de peso corporal. O pó foi misturado com água e administrados para 1 a 2 coelhos, por fazenda, por meio de uma sonda intragástrica (Döbereiner et al., 1976). Folhas verdes coletadas nas fazendas F e G foram fornecidas para 1-2 coelhos por fazenda *ad libitum*,

durante oito horas. Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais e após a administração das plantas foram deixados em observação para verificação dos sinais clínicos e resultado clínico. O experimento foi aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Universidade Federal de Campina Grande (protocolo de número CEP 69-2013). Os coelhos que morreram foram necropsiados e amostras de órgãos das cavidades torácica e abdominal e cérebro foram fixados em formol 10% tamponado, processado em parafina, cortadas em 4-5 mm e corados por Hematoxilina-Eosina para estudos histológicos.

### 3 Resultados e Discussão

O monofluoroacetato foi detectado em dez, das dezenove amostras depositadas de *T. bilabiatum* avaliadas. Estes resultados confirmam trabalhos anteriores, de que *T. bilabiatum* contém MFA. A frequência de detecção de MFA em espécimes de *T. bilabiatum* é semelhante com a análise prévia de plantas de herbário para monofluoroacetato, enquanto que a frequência de detecção entre amostras depositadas de *Amorimia* spp. é menos de 25% (Lee et al., 2012). O MFA foi detectado em amostras depositadas em herbário de espécies de *Palicourea* e *Amorimia* (Lee et al., 2012; Cook et al., 2014). O monofluoroacetato não foi detectado em nenhuma das dezoito amostras depositadas de *F. japurensis*. Estes resultados foram inesperados; contudo, há a hipótese de que estes resultados possam ser devido às concentrações altamente variáveis de MFA dentre plantas individuais e partes de plantas (Lee et al., 2014).

Para investigar essa hipótese, foram realizadas coletas de *F. japurensis* no estado de Roraima, incluindo a região onde a planta foi relatada pela primeira vez como sendo tóxica e causou morte súbita (Tokarnia e Döbereiner, 1981a). As coletas foram feitas em sete fazendas (A-G) onde houve relatos de morte súbita. Os detalhes dos surtos de morte súbita nas sete propriedades visitadas são apresentados na Tabela 1.

Exsiccatas da suposta planta tóxica, *F. japurensis*, coletadas em todas as fazendas, incluindo folhas, flores e frutos, enviadas para o Jardim Botânico de Missouri e depois para o Jardim Botânico de Nova York, foram avaliadas taxonomicamente pela Dra. Miriam Kaehler. Inesperadamente, estes espécimes foram identificados como *T. bilabiatum* e não como *F. japurensis*. Para esclarecer prováveis erros de identificação, também foram avaliados os espécimes registrados e depositados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB 173990 e 173991), do trabalho original (Tokarnia e Döbereiner 1093 e 1098). Esta planta foi originalmente identificada como *A. japurensis*, mas foi reidentificada, posteriormente, em 1978, como *Arrabidaea bilabiata* pelo Dr. Alwyn H. Gentry, um especialista de Bignoniaceae, e, confirmado como esta espécie, agora denominada *T. bilabiatum*, pela Dra. Kaehler, uma

**Tabela 1**

Intoxicação por *Tanaecium bilabiatum*\* em bovinos no estado de Roraima, Brasil. Localização das fazendas, bovinos afetados, plantas que os fazendeiros associaram com a doença e presença de *Tanaecium bilabiatum*.

Fazenda	Mês/ ano	Município	Rio	Bovinos			Planta associada	
				Categoria	Rebanho	Afetados (%)	a doença	<i>T. bilabiatum</i>
A	4/2014	Cantá	Cachorro	Bois e novilhos	150	8 (5.3)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim
B	2/2015	Iracema	Igarapé Arara	Bois, vacas e novilhos	900	14 (1.5)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim
C	2/2015	São Luiz do Anauá	Anauá	Vacas e novilhos	300	11 (3.7)	“Timbó”	Sim
D	1/2015	Caracarái (Vila do Novo Paraíso)	Anauá	Bois, vacas e novilhos	200	6 (3.0)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim
E	5/2013	Cantá	Quitauaú	Vacas e novilhos	35	3 (8.6)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim
F	3/2015	Cantá	Branco	Vacas e bezerros	30	4 (13.3)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim
G	3/2015	Boa Vista	Cauamé	Vacas	100	1 (1.0)	<i>Coutoubea ramosa</i>	Sim

\* Plantas coletadas foram suspeita de ser *Fridericia japurensis*, mas depois foram identificadas como *Tanaecium bilabiatum*.

especialista de *Fridericia*. Parece que a identificação correta dos espécimes, feitas pelo Dr. Gentry, não foi repassada para os colecionadores e o nome *A. japurensis* foi incorretamente aplicada nos estudos de Tokarnia e Döbereiner (1981a) e subsequentes edições do seu livro.

*T. bilabiatum* e *F. japurensis* podem ser definitivamente distinguidas por diferenças na morfologia de suas folhas, flores e frutos. As folhas de *T. bilabiatum* são mais de forma elíptica com veias amareladas quando as folhas estão secas, enquanto as folhas de *F. japurensis* são mais de forma oval com as veias rosadas quando secas. As flores de *T. bilabiatum*, em geral são brancas, exceto com um interior amarelo, enquanto que as flores de *F. japurensis* são rosa-escuro ao vinho tinto com um interior branco. E, os frutos de *T. bilabiatum* são fracamente cheios e faltam glândulas, enquanto que os frutos de *F. japurensis* são achatados e possuem glândulas. Fotos de *T. bilabiatum* são observadas na Figura 2 e fotos de *F. japurensis* podem ser encontradas em:

[http://www.kew.org/science/tropamerica/imagetatabase/large202/cat\\_single202-8.htm](http://www.kew.org/science/tropamerica/imagetatabase/large202/cat_single202-8.htm)

e

<http://www.tropicos.org/Name/3700153?tab=images>.



**Fig. 2.** *Tanaecium bilabiatum*. Estado de Roraima, Norte do Brasil.

Os sinais clínicos associados aos surtos aqui estudados foram perda de equilíbrio, dificuldade respiratória, tremores musculares generalizados e quedas levando à morte. Em ambas as fazendas D e G, um bovino foi necropsiado, mas não foram observadas lesões macroscópicas. Os estudos histológicos mostraram leve vacuolização e necrose de células epiteliais dos túbulos renais, em ambos os casos. Como mencionado anteriormente por Tokarnia e Döbereiner (1981a), os proprietários e seus funcionários não associaram as perdas de animais, devido à morte súbita com *T. bilabiatum*, mas com *C. ramosa*, conhecida como "tingui" ou "cafezinho". Esta confusão se dá, provavelmente porque as duas plantas ocorrem em conjunto nas mesmas áreas de várzeas, com ambas as plantas disponíveis apenas para o gado durante a estação seca. Além disso, a toxicidade da *C. ramosa* em experimentos provoca sinais digestivos agudos (Tokarnia e Döbereiner, 1981b), mas esta planta nunca foi associada a um relato de intoxicação natural. A persistência dessa confusão por mais de 30 anos após o primeiro diagnóstico de intoxicação pela suposta *F. japurensis*, agora corretamente identificada como *T. bilabiatum*, sugere a necessidade de um melhor conhecimento entre os produtores e tratadores sobre a toxicidade e reconhecimento da planta. Essa planta é conhecida popularmente como "chibata" ou "gibata", na região da Bacia Amazônica, onde causa morte súbita em bovinos (Tokarnia et al., 2012).

Todos os coelhos que receberam doses de *T. bilabiatum* morreram, exceto os coelhos 5 e 6, que foram testados a partir de material coletado da Fazenda C (Tabela 2). O tempo decorrido entre a administração da planta e os primeiros sinais e o período de manifestação clínica são apresentados na Tabela 2. Os sinais clínicos foram movimentos incoordenados, taquicardia e dispneia severa, seguida de morte. Os coelhos 5 e 6 apresentaram taquicardia, dispneia e depressão, mas se recuperaram em aproximadamente 4 horas. Nas necropsias, os coelhos 1-4 e 7 apresentaram leve congestão e edema pulmonar e congestão hepática. As lesões histológicas dos coelhos de 1-4 e 7-10 são apresentados na Tabela 3. Os sinais clínicos e lesões aqui relatadas são similares aos observados na intoxicação experimental por outras plantas contendo MFA (Peixoto et al., 1987, Jabour et al., 2006; Medeiros et al., 2002). Não foram observados sinais clínicos ou lesões, no único coelho controle.

Alguns cuidados devem ser tomados para a avaliação dos dados toxicológicos, em respeito às concentrações de MFA, já que as concentrações são obtidas a partir de uma pequena quantidade de folha removida das amostras prensadas. As concentrações de MFA nas sete amostras de *T. bilabiatum* são apresentados na Tabela 2. Essas concentrações variaram de não detectado a 0,041%. As concentrações de MFA aqui relatadas são maiores do que as relatadas para *Amorimia* spp. e menos do que aquelas notificadas para *Palicourea* spp. (Lee et al. 2012).

**Tabela 2**

Resultados clínicos da administração de *Tanaecium bilabiatum* de diferentes fazendas para coelhos e concentrações de monofluoroacetato.

Fazenda	Coelho		Dose (g/kg)*	Tempo até os primeiros sinais clínicos	Período das manifestações clínicas	Resultado	MFA**(%)
	Nº	Peso (kg)					
<b>A</b>	1	1.9	5.0 PS	5h e 46 min	6 min	Morreu	0.0001
	2	2.0	5.0 PS	3h e 33 min	5 min	Morreu	
<b>B</b>	3	1.6	5,0 PS	10h e 32min	6 min	Morreu	0.041
	4	1.7	5.0 PS	2h e 47min	7 min	Morreu	
<b>C</b>	5	1.7	5.0 PS	2h e 35 min	4h	Recuperou	n.d.
	6	1.7	5.0 PS	3h e 54 min	4h	Recuperou	
<b>D</b>	7	1.8	5.0 PS	7h e 27 min	4 min	Morreu	0.039
<b>E</b>	Não testado		-	-	-	Não testado	n.d.
<b>F</b>	8	1.9	PF <i>al</i>	29h e 52 min.	3 min	Morreu	0.025
	9	2.0	PF <i>al</i>	49h e 15 min.	Encontrado morto	Morreu	
<b>G</b>	10	2.4	PF <i>al</i>	10h e 45 min.	Encontrado morto	Morreu	0.021
<b>Controle</b>	11	2.3	-	-	-	Sem alterações	

\*PS = planta seca, PF *al* = planta fresca administrada *ad libitum*; \*\* MFA = monofluoroacetato, n.d. = não detectado

**Tabela 3**Lesões histológicas em coelhos intoxicados experimentalmente com *Tanaecium bilabiatum*.

Coelho Nº	Fígado			Rim		Pulmão		Coração	Baço
	Congestão	Vacuolização de hepatócitos	Necrose de hepatócitos	Congestão	Vacuolização e necrose de células tubulares	Congestão	Edema	Congestão	Congestão
1	-	++	+	-	+	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2	+	++	+	-	-	+	+	n.a.	+
3	++	+	+	+	+	+	-	+	n.a.
4	++	++	+	++	++	++	+	++	+
7	+++	+++	++	+	+	++	-	++	n.a.
8	+++	+++	++	-	+	++	++	++	++
9	++	++	++	-	+	+	+	n.a.	-
10	+++	+++	+++	-	+	++	++	+	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Controle)

Intensidade das lesões: - não lesões; + discreta; ++ moderada; +++ severa. n.a. não-avaliado

As concentrações aqui relatadas fornecem evidências quantitativas em relação à variação considerável na toxicidade observada por Tokarnia e Döbereiner, relatado no caso inicial. Os autores relataram que uma dose de 10 g/kg sempre causou a morte de bovinos, mas doses mais baixas de 1,25 g/kg, causou a morte em alguns casos, e em outros, não. É importante notar que, no trabalho descrito por Tokarnia e Döbereiner, os animais não foram tratados com uma amostra composta homogênea, mas sim foram alimentados com folhas que tinham sido coletadas de várias plantas.

Em resumo, a planta que causou morte súbita, inicialmente descrita como *F. japurensis* (*A. japurensis*) por Tokarnia e Döbereiner (1981a), foi identificada incorretamente. A identificação botânica correta para esta planta é *T. bilabiatum*. Coletas de campo de *T. bilabiatum*, pensando que seria *F. japurensis*, contém MFA. Além disso, descobriu-se que amostras depositadas em herbário, de *T. bilabiatum* contém MFA, enquanto que amostras de herbário, de *F. japurensis* não contém MFA. Esta pesquisa destaca a importância de amostras serem depositadas com a identificação precisa, como parte de qualquer investigação de planta tóxica. Além disso, destaca a importância do uso de amostras depositadas em herbário na investigação dos compostos tóxicos associados às plantas tóxicas.

### **Agradecimentos**

Os autores reconhecem os médicos veterinários Leonardo Gomes Monteiro Barbosa, Antônio Augusto Ferreira Souza e Silvio Botelho Neto Lofêgo e os fazendeiros pelas informações e assistências neste estudo. Esta pesquisa foi apoiada pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle de Intoxicações da planta, CNPq, concessão 573534/2008-0.

### **Referências**

- Alpin, T.H.E., King, D.R., Oliver, A.J., 1983. The distribution and ecology of the toxic species of *Gastrolobium* and *Oxylobium* in South-western Australia in relation to the tolerance of native animals to fluoroacetate. *Toxicon* 21, 21-24.
- Burrows, G.E., Tyrl, R.J., 2013. *Toxic Plants of North America*, second ed. Iowa State University Press, Ames.
- Cook, D., Lee, S.T., Taylor, C.M., Bassüner, B., Riet-Correa, F., Pfister, J.A., Gardner, D. R., 2014. Detection of toxic monofluoroacetate in *Palicourea* species. *Toxicon*, 80, 9-16.
- Döbereiner, J., de Rezende, A.M.L., Tokarnia, C.H., 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 11, 27-35.

- Döbereiner, J., Tokarnia, C.H., 1983. Intoxicação experimental por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 3, 95-97.
- Helayel, M.A., França, T.N., Seixas, J.N., Nogueira, V.A., Caldas, S.A., Peixoto, P.V., 2009. Morte súbita em bovinos causada pela ingestão de *Pseudocalymma elegans* (Bignoniaceae) no município de Rio Bonito, RJ. *Pesq. Vet. Bras.* 29, 498-508.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2005. Disponível em: [ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas\\_tematicos/vegetacao/unidades\\_federacao/rr\\_vegetacao.pdf](ftp://geofp.ibge.gov.br/mapas_tematicos/vegetacao/unidades_federacao/rr_vegetacao.pdf). Acesso em 15 de outubro de 2015.
- Jabour, F.F., Seixas, J.N., Tokarnia, C.H., Brito, M. F., 2006. Variação da toxidez de *Arrabidaea bilabiata* (Bignoniaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 26, 171-176.
- Lee, S.T., Cook, D., Pfister, J.A., Allen, J.G., Colegate, S.M., Riet-Correa, F., Taylor, C. M., 2014. Monofluoroacetate-containing plants that are potentially toxic to livestock. *J. Agr. Food Chem.* 62, 7345-7354.
- Lee, S.T., Cook, D., Riet-Correa, F. Pfister, J.A., Anderson, W.R., Lima, F.G., Gardner, D.R., 2012. Detection of monofluoroacetate in *Palicourea* and *Amorimia* species. *Toxicon* 60, 791-796.
- Krebs, H.C., Kemmerling, W., Habermehl, G., 1994. Qualitative and quantitative determination of fluoroacetic acid in *Arrabidaea bilabiata* and *Palicourea marcgravii* by F-19-NMR spectroscopy. *Toxicon* 32, 909-913.
- Lohmann, L.G., Taylor, C.M., 2014. A new generic classification of tribe Bignonieae (Bignoniaceae) 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 99, 348-489.
- Marais, J.S.C., 1944. Monofluoroacetic acid, the toxic principle of Gifblaar, *Dichapetalum cymosum*. *Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind.* 20, 67-73.
- Medeiros, R.M., Neto, S.A., Barbosa, R.C., Lima, E.F., Riet-Correa, F., 2002. Sudden bovine death from *Mascagnia rigida* in Northeastern Brazil. *Vet. Hum. Toxicol.* 44, 286-288.
- Moraes-Moreau, R.L., Haraguchi, M., Morita, H., Palermo-Neto, J., 1995. Chemical and biological demonstration of the presence of monofluoroacetate in the leaves of *Palicourea marcgravii* St. Hil. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 28, 658-692.
- Noonan, G.O., Begley, T.H., Diachencko, G.W., 2007. Rapid quantitative and qualitative confirmatory method for the determination of monofluoroacetic acid in foods by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. of Chromatogr. A* 1139, 271-278.
- Oliveira, M.M., 1963. Chromatographic isolation of monofluoroacetic acid from *Palicourea marcgravii* St. Hil. *Experientia* 19, 586-587.
- Peixoto, P.V., Tokarnia, C.H., Döbereiner, J., Peixoto, C. S., 1987. Intoxicação experimental

- por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 7, 117-129.
- Riet-Correa, F., Medeiros, R.M.T., Pfister, J., Schild, A.L., Dantas, A.F.M., 2009. Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock. Pages 15-24. Patos, Paraíba, Brazil.
- Tokarnia, C.H., Brito, M. de F., Barbosa, J. D., Döbereiner, J., Peixoto, P.V., 2012. Plantas tóxicas do Brasil. Helianthus, Rio de Janeiro.
- Tokarnia, C.H., Döbereiner, J., (1981a) Intoxicação por *Arrabidaea japurensis* (Bignoniaceae) em bovinos em Roraima. *Pesq. Vet. Bras.* 1, 7-17.
- Tokarnia, C.H., Döbereiner, J., (1981b) Intoxicação experimental por *Coutoubea ramosa* (Gentianaceae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 1, 55-60.
- Tokarnia, C.H., Döbereiner, J., Peixoto, P.V., 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon* 40, 1635-1660.
- Tokarnia, C.H., Peixoto, P.V., Döbereiner, J., 1990. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Brazil. Pesq. Vet. Bras.* 5, 77-91.
- Twigg, L.E., King, D.R., Bowen, L.H., Wright, G.R., Eason, C.T., 1996. Fluoroacetate found in *Nemcia spathulata*. *Aust. J. Bot.* 44, 411-412.
- de Vasconcelos, J.S., Riet-Correa, F., Dantes, A.F.M., Medeiros, R.M.T., Galiza, G.J.N., Oliveira, D.M., Pessoa, A.F.A., 2008. Intoxicação por *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos e caprinos. *Pesq. Vet. Bras.* 28, 521-526.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações apresentadas neste trabalho demonstram a ocorrência de plantas tóxicas para bovinos e equinos no estado de Roraima.

Acredita-se que haja grandes perdas econômicas relacionadas as intoxicações em animais de produção no Estado, sendo necessário realizar trabalhos para estimar estes prejuízos e promover medidas de divulgação entre os profissionais médicos veterinários, técnicos e proprietários.

Recomenda-se aprofundar os estudos sobre as intoxicações por plantas e realizar diagnóstico diferencial para outras enfermidades de ruminantes e equinos, criados de forma extensiva e cavalos lavradeiros. Além disso, deve-se estender pesquisas as criações nas áreas indígenas.

É fundamental a implantação de laboratórios de diagnóstico na região afim de subsidiar as pesquisas para tornar conhecidas enfermidades de animais de produção no Estado de Roraima, enriquecendo a literatura para outras regiões do Brasil e do mundo, além de promover o intercâmbio entre a universidade e o produtor.

As informações apresentadas contribuem para que medidas de controle e profilaxia possam ser adotadas no intuito de diminuir as perdas econômicas relacionadas com as intoxicações por plantas no estado de Roraima.