



PRPG | Pré-Reitoria de Pós-Graduação
PIBIC/CNPq/UFPG-2009

DETERMINAÇÃO DA TERATOGENICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE SEMENTES DE *Mimosa tenuiflora* EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Tiago César da Cruz Lucena¹, Francielicia Pereira Marques Dantas¹, Anna Priscilla Moreira de Figueiredo², Rosane Maria Trindade de Medeiros³, Mitsue Haraguch & Franklin Riet-Correa³

RESUMO

Várias malformações vêm sendo observadas em caprinos e ovinos na região do semiárido nordestino, destacou-se fenda palatina, microftalmia, escoliose e flexão permanente dos membros torácicos. Tem sido demonstrado que essas malformações são causadas pela ingestão de *Mimosa tenuiflora*. Esse trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos teratogênicos dos extratos etanólico e aquoso das sementes de *Mimosa tenuiflora* em ratos verificando os tipos de malformações provocadas pela ingestão desses extratos durante a gestação. Foram utilizadas 36 ratas Wistar prenhes, distribuídas em três grupos sendo dois experimentais, que receberam por “gavage” 0,03g dos extratos etanólico e aquoso, e o grupo controle que recebeu água por “gavage” do 6º ao 20º dia de gestação. No grupo aquoso observou-se 6 tipos de malformações dentre essas a fenda palatina, escoliose e aplasia de duas esternébras foram estatisticamente significantes quando comparado com o grupo controle, já o grupo no etanólico observou-se 8 tipos de malformações dentre essas a fenda palatina, aplasia de uma vértebra e de duas esternébras, aplasia de uma vértebra caudal e aumento no número de falanges anteriores foram estatisticamente significantes comparados com o grupo controle. Esses resultados sugerem que as sementes da *Mimosa tenuiflora* possuem substâncias teratogênicas e que essas substâncias, ainda desconhecidas, estão presentes nos extratos aquoso e etanólico das sementes dessa planta.

L

Palavras-chave: *Mimosa tenuiflora*, teratogenicidade, ratos

DETERMINATION OF TERATOGENICITY OF *Mimosa tenuiflora* SEEDS ETANOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS IN LABORATORY ANIMALS

ABSTRACT

Several abnormalities were observed in goats and sheep in Northeastern semiarid region in Brazil as palate cleft, microphthalmia, scoliosis and permanent flexure of fore limbs. It has been demonstrated that these abnormalities are caused by *Mimosa tenuiflora* ingestion. The aims of this work were to evaluate the teratogenic effects of *Mimosa tenuiflora* etanolic and aqueous extracts in rats, to study the kinds of abnormalities provoked by *Mimosa tenuiflora* during the pregnancy. For this, 36 pregnant Wistar rats were used, distributed in three groups which two of them were experimental groups, which will receive by “gavage” 0,03g the etanolic and aqueous extracts and the control group will receive water by “gavage” from 6th to 20th pregnancy day. In the experimental group that received aqueous extract was observed 6 kinds of abnormalities as palate cleft, scoliosis and aplasia of two sternebrae which were statistically significant in comparison to control group, but in the experimental group that received etanolic extract was observed 8 kinds of abnormalities as palate cleft, aplasia of one vertebrae and two sternebrae, and aplasia of one caudal vertebrae and the increasing of anterior falanges were statistically significant in comparison to control group. These results suggest that the seeds of *Mimosa tenuiflora* have teratogenic substances, and those substances, yet unknown, are present in ethanolic and aqueous extracts of seeds of this plant.

Key-words: *Mimosa tenuiflora*, teratogenicity, rats

¹ Alunos do Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB, E-mail: yettiago@hotmail.com

² Aluna da Pós Graduação em Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB, E-mail: anna-moreira@hotmail.com

³ Médico Veterinário, Prof. Doutor, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFPG, Patos, PB, E-mail: rmtmed@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O termo teratogênese designa malformações induzidas por um agente durante o período de formação dos órgãos de um animal. As causas das malformações podem ser de origem genética ou por fatores extrínsecos como agentes químicos, infecções, deficiência de nutrientes e plantas tóxicas, que atuam diretamente sobre o feto ou, secundariamente através da ação sobre o organismo materno (RIET-CORREA *et al.*, 2004; ARAÚJO, 1994).

O perigo de causar malformação ocorre no período de embriogênese, quando se observam a proliferação e diferenciação tecidual e a organogênese, a qual consiste na formação de órgãos rudimentares (ARAÚJO, 1994). Cada um dos sistemas em formação apresenta um período crítico particular no qual é mais susceptível ao agente. Quanto maior o período crítico de um sistema, maiores são as chances deste sofrer efeitos de um determinado agente. Por esse motivo nos testes de teratogênese, anomalias ósseas são sempre estudadas, pois o período de organogênese do esqueleto é bastante longo (BERNARDI, 2006).

O efeito teratogênico de algumas plantas já é conhecido e os princípios ativos relacionados com esse efeito são os alcalóides piperidínicos, quinolizidínicos e esteroidais. Em muitos países o nascimento de animais de pastoreio com malformações ósseas e de outros tecidos está associado ao consumo de plantas como *Conium maculatum*, *Lupinus spp.*, *Nicotiana tabacum*, *Veratrum californicum*, *Astragalus spp.* e *Oxytropis spp.* (PANTER *et al.*, 1994, CHEEKE 1998, GARDNER *et al.*, 1998), no Brasil nenhuma planta havia sido descrita como teratogênica antes dos estudos com a *Mimosa tenuiflora*.

Um estudo realizado no semi-árido do Nordeste brasileiro, as malformações foram a segunda causa mais importante de morte perinatal em ovinos (23,34%) (NÓBREGA Jr *et al.*, 2005) e a quarta em caprinos (7,62%) (MEDEIROS *et al.*, 2005). As principais lesões descritas nos casos espontâneos em ovinos foram artrogripose, fenda palatina primária e secundária, micrognatia, hipoplasia ou aplasia uni ou bilateral do osso incisivo, torcicolo e escoliose, hipoplasia da língua (NÓBREGA *et al.*, 2004, 2005). Em caprinos nos casos espontâneos a lesão mais frequente foi a artrogripose, também foram descritos aplasia do osso incisivo, estenose intestinal e micrognatia (MEDEIROS *et al.*, 2005; RIET-CORREA *et al.*, 2004). Em bovinos são descritos artrogripose, cegueira e atresia anal (RIET-CORREA *et al.*, 2006).

Nos casos experimentais com administração de *Mimosa tenuiflora* observou-se em caprinos, fenda palatina primária e secundária, ausência do orifício nasal, dermóide ocular, escoliose, opacidade da córnea, olho aumentado de volume e estenose do cólon (PIMENTEL *et al.*, 2005). Experimentos com o uso de *M. tenuiflora* (folhas e sementes na ração) e *Aspidosperma pyrifolium* (extrato etanólico das folhas) em ratos, observou-se fenda palatina e escoliose nas duas plantas (MEDEIROS *et al.*, 2008 ; FIGUEIREDO *et al.*, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) de linhagem Wistar, machos e fêmeas, com idade de 12 semanas, oriundos de cruzamentos sucessivos no Centro de Criação e Experimentação em Animais de Laboratório (CCEAL) (Biotério) do Curso de Medicina Veterinária do CSTR da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, PB.

Os animais foram alojados em gaiolas de plástico fosco com tampas metálicas, medindo 40x50x20cm, mantidas em salas com temperatura ambiente (22-26°C) controlada por meio de aparelho de ar condicionado e/ou ventilação natural, em ciclo de luz natural.

Foram utilizadas 36 ratas prenhes, sendo 12 do grupo controle, 12 do grupo extrato aquoso e 12 do grupo extrato etanólico.

Procedimentos

Acasalamento

Os machos e as fêmeas utilizados foram colocados para acasalamento (1 macho para 2 fêmeas), por um período de 12h por dia (das 18:00 às 6:00h), até o aparecimento da prenhez. As fêmeas que repetiram o ciclo, duas vezes consecutivas, sem apresentar prenhez foram descartadas.

Confirmação da prenhez e consumo de ração

A confirmação da prenhez foi realizada pela presença de espermatozóides no lavado vaginal (considerado o dia 1° de prenhez), verificada pela observação microscópica diária do esfregaço vaginal (VICKERY e BENNETT, 1970). Os esfregaços foram realizados logo após a retirada dos machos da gaiola, pela introdução vaginal de uma solução de NaCl a 0,9%, utilizando-se uma pipeta automática de 40 µl. Após a confirmação da prenhez, as fêmeas eram mantidas individualmente, até o 21° dia de gestação (cesariana). As fêmeas receberam água e ração “ad libitum” (ração comercial).

A partir do 6° dia de gestação, o consumo de água e de ração e o ganho de peso das fêmeas foram medidos a cada 4 dias.

Obtenção dos extratos aquoso e etanólico e administração

As sementes de *Mimosa tenuiflora* foram coletadas no município de Patos, moídas e enviadas para a Dra. Mitsue Haraguch, no laboratório de Química do Instituto Biológico de São Paulo para a preparação dos extratos aquoso e etanólico.

Do 6° ao 20° dia de gestação os extratos aquoso e etanólico das sementes de *Mimosa tenuiflora* foram administrados diariamente por “gavage” na dose de 0,03 g, diluídos em 1,5 mL de água filtrada. Os animais do grupo controle receberam apenas os 1,5 mL de água filtrada, também por “gavage”.

Anestesia e laparotomia

As ratas prenhes foram anestesiadas por inalação com éter etílico no 21° dia de gestação. Logo após, foi realizada a laparotomia exploratória com exposição dos cornos uterinos, para contagem de pontos de implantações, de reabsorções e de fetos vivos e/ou mortos. Os ovários foram retirados e, com o auxílio de uma lupa (20 x / 1,25) foram contados o número de corpos lúteos para avaliação da quantidade de óvulos eliminados. Logo após os fetos foram contados ainda no útero, e marcadas as suas posições. Depois, foram retirados do útero e examinados quanto à conformação dos olhos, boca, crânio, membros anteriores e posteriores e cauda, implantação das orelhas e presença da perfuração anal, para pesquisa de possíveis malformações e/ou anomalias externas. Em seguida, os fetos e suas respectivas placentas foram secos com papel toalha e pesados individualmente.

Após a pesagem dos fetos, os animais de cada ninhada foram eutanasiados com éter etílico e em seguida colocados em recipientes de vidro, individualmente, iniciando-se então o processo de diafanização e coloração com alizarina, para avaliação da presença de alterações esqueléticas, segundo método proposto por Staple e Schenell (1964). As alterações esqueléticas observadas foram descritas conforme a classificação de Taylor (1986).

O desenvolvimento fetal foi avaliado por meio da contagem dos centros de ossificação e do peso dos filhotes.

Pesagem dos órgãos

Após a realização da necropsia completa, o fígado, os pulmões, o coração e os rins desses animais foram retirados, secos com papel toalha e pesados.

Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o programa software GraphPad InStat v2.01 (GRAPHPAD, 1993). Para avaliar o consumo de ração e de água, o ganho de peso das mães, peso dos órgãos e dados da prole foi utilizado o teste “t” de Student. As anomalias e/ou malformações esqueléticas foram avaliadas pelo teste exato de Fisher e o grau de ossificação foi submetido ao teste U Mann-Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação indireta da toxicidade materna

Não houve diferença significativa em relação ao consumo de ração e de água e o ganho de peso dos animais dos grupos experimentais em relação ao grupo controle (Tabela 1), o que significa ter havido toxicidade materna, o que poderia interferir na avaliação de teratogenicidade.

Tabela 1 – Consumo de ração e de água e ganho de peso (Média \pm DP) de fêmeas que receberam por “gavage” 0,03 g dos extratos aquoso e etanólico de *Mimosa tenuiflora*, do 6º ao 20º dia de gestação, Patos – 2009.

| Parâmetros de Desempenho | Grupo Controle | Grupo Aquoso | Grupo Etanólico |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | X \pm DP | X \pm DP | X \pm DP |
| Consumo de ração (g) | 284,00 \pm 36,95 | 272,25 \pm 23,28 | 269,91 \pm 25,90 |
| Consumo de água (mL) | 487,50 \pm 82,69 | 504,16 \pm 68,65 | 496,66 \pm 74,72 |
| Ganho de peso (g) | 61,00 \pm 23,79 | 46,83 \pm 18,88 | 57,83 \pm 20,82 |

Na avaliação dos pesos dos órgãos maternos (pulmões, coração, fígado e rins) não foram observadas diferenças significantes entre os grupos em estudo (Tabela 2). Esses resultados são similares ao encontrados no trabalho realizado com as folhas da *Mimosa tenuiflora* (FIGUEIREDO *et al.*, 2006), porém no trabalho realizado com as sementes dessa planta (MEDEIROS *et al.*, 2008) foi observado diminuição no peso do fígado e do coração em relação ao grupo controle o que pode ter sido provocado por alguma substância tóxica que não esteja presente nos extratos aquoso e etanólico das sementes dessa planta.

Tabela 2 – Peso dos pulmões, coração, fígado e rins (Média \pm DP) de fêmeas que receberam por “gavage” 0,03 g dos extratos aquoso e etanólico de *Mimosa tenuiflora*, do 6º ao 20º dia de gestação, Patos – 2009.

| Peso dos Órgãos | Grupo Controle | Grupo Aquoso | Grupo Etanólico |
|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | X \pm DP | X \pm DP | X \pm DP |
| Pulmões (g) | 1,69 \pm 0,23 | 1,55 \pm 0,24 | 1,57 \pm 0,30 |
| Coração (g) | 1,03 \pm 0,17 | 1,00 \pm 0,11 | 0,93 \pm 0,15 |
| Fígado (g) | 12,74 \pm 1,14 | 12,24 \pm 1,18 | 11,80 \pm 1,49 |
| Rim Direito (g) | 0,99 \pm 0,10 | 0,96 \pm 0,09 | 0,94 \pm 0,16 |
| Rim Esquerdo (g) | 0,96 \pm 0,09 | 0,93 \pm 0,11 | 0,88 \pm 0,12 |

Performance reprodutiva materna

À Tabela 3 mostra os dados referentes à *performance* reprodutiva materna. Todos os fetos estavam vivos ao realizar-se a cesariana. Os parâmetros reprodutivos não apresentaram diferenças estatísticas significantes quando comparado os dados dos animais dos grupos experimentais (extrato aquoso e etanólico) em relação àqueles do grupo controle. Medeiros *et al.*, 2008 observaram aumento no peso dos

fetos e do útero gravídico de fêmeas que ingeriram 10% de sementes de *Mimosa tenuiflora* do 6 ao 20 dia de gestação.

Tabela 3 – *Performance* reprodutiva (Média ± DP) de fêmeas que receberam por “gavage” 0,03 g dos extratos aquoso e etanólico de *Mimosa tenuiflora*, do 6º ao 20º dia de gestação, Patos – 2009.

| Parâmetros Reprodutivos | Grupo Controle X ± DP | Grupo Aquoso X ± DP | Grupo Etanólico X ± DP |
|-------------------------------|--------------------------|------------------------|---------------------------|
| Peso do útero gravídico (g) | 50,60 ± 20,35 | 42,33 ± 16,90 | 44,86 ± 19,55 |
| Número de fetos | 9,08 ± 3,80 | 7,58 ± 3,37 | 7,83 ± 3,58 |
| Peso dos filhotes (g) | 3,39 ± 0,46 | 3,46 ± 0,43 | 3,68 ± 0,63 |
| Peso da placenta (g) | 0,47 ± 0,12 | 0,46 ± 0,13 | 0,47 ± 0,07 |
| Comprimento dos filhotes (cm) | 4,42 ± 0,26 | 4,80 ± 3,63 | 4,48 ± 0,29 |
| Número de corpos lúteos | 12,66 ± 3,33 | 12,83 ± 2,51 | 11,91 ± 2,15 |
| Número de reabsorções | 1,25 ± 1,35 | 0,83 ± 1,33 | 1,33 ± 1,43 |

A Tabela 4 mostra os resultados referentes às malformações e anomalias.

Não foi observada nenhuma malformação na prole do grupo controle. Na prole das fêmeas do grupo aquoso foram observados 6 tipos de malformações dentre elas a fenda palatina (7,69%), escoliose (4,39%) e aplasia de duas esternébras (4,39%) foram estatisticamente significantes quando comparadas com o grupo controle, pelo teste exato de Fisher. No grupo etanólico foram observados 8 tipos de malformações, dentre elas, a fenda palatina (19,14%), aplasia de uma e de duas esternébra (4,25%) e aplasia de uma vértebra caudal (4,25%) foram estatisticamente significantes. Essas mesmas malformações foram também observadas nos experimentos realizados com as folhas (FIGUEIREDO *et al.*, 2006) e sementes (MEDEIROS *et al.*, 2008) de *Mimosa tenuiflora* o que sugere que a (as) substância(s) teratogênica(s) que estão presentes nas folhas e nas sementes de *Mimosa tenuiflora* estão presente(s) também, nos extratos aquoso e etanólico das sementes.

Tabela 4 – Malformações esqueléticas (Número e percentual) na prole de fêmeas que receberam por “gavage” 0,03 g dos extratos aquoso e etanólico de *Mimosa tenuiflora*, do 6º ao 20º dia de gestação, Patos – 2009.

| Tipos de malformações | Grupo Controle | Grupo Aquoso | Grupo Etanólico |
|------------------------------------|----------------|--------------|-----------------|
| | N = 109 | N = 91 | N = 94 |
| Fenda palatina | 0 | 7 (7,69%)** | 18 (19,14%)*** |
| Escoliose | 0 | 4 (4,39%)* | 0 |
| Aplasia de 1 esternébra | 0 | 3 (3,29%) | 4 (4,25%)* |
| Aplasia de 2 esternébras | 0 | 4 (4,39%)* | 4 (4,25%)* |
| Aplasia de 3 esternébras | 0 | 1 (1,09%) | 3 (3,19%) |
| Aplasia de 4 esternébras | 0 | 1 (1,09%) | 0 |
| Aplasia de 1 vértebra caudal | 0 | 0 | 4 (4,25%)* |
| Aplasia total de vértebras caudais | 0 | 0 | 1 (1,06%) |
| Aplasia de 1 vértebra sacral | 0 | 0 | 1 (1,06%) |
| Aplasia do osso interparietal | 0 | 0 | 1 (1,06%) |

*Significante ($p < 0,05$), ** Muito significativa ($p < 0,05$), *** Extremamente significativa ($p < 0,0001$) pelo teste exato de Fisher em relação ao grupo controle

Avaliação do grau de desenvolvimento fetal é realizada por meio da contagem dos centros de ossificação. A Tabela 5 mostra as médias e os desvios padrões dos centros de ossificação. Dos parâmetros avaliados o teste U Mann-Whitney demonstrou haver aumento significativo no número de falanges anteriores na prole do grupo extrato etanólico, quando comparado com a prole do grupo controle. No desenvolvimento fetal da prole de fêmeas que ingeriram 10% de sementes de *Mimosa tenuiflora* (MEDEIROS *et al.*, 2008) também foi observado aumento no número de falanges anteriores, porém no experimento com as folhas não se verificou essa alteração (FIGUEIREDO *et al.*, 2006). Essa informação leva a sugerir que as folhas têm menor poder teratogênico do que as sementes e que as substâncias teratogênicas podem estar em maior quantidade no extrato etanólico. No entanto, isso somente poderá ser confirmado quando estudado a substância isoladamente.

Tabela 5 – Número de centros de ossificação por ninhada (Média± DP) de fêmeas que receberam por “gavage” 0,03 g dos extratos aquoso e etanólico de *Mimosa tenuiflora*, do 6º ao 20º dia de gestação, Patos – 2009.

| Centros de ossificação | Grupo Controle | Grupo Aquoso | Grupo Etanólico |
|------------------------|----------------|--------------|-----------------|
| | X ± DP | X ± DP | X ± DP |
| Falanges anteriores | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0,10 ± 0,31* |
| Metacarpos | 3 ± 0 | 3 ± 0 | 3 ± 0 |
| Metatarsos | 4 ± 0 | 4 ± 0 | 4 ± 0 |
| Esternébrios | 6 ± 0 | 5,80 ± 0,67 | 5,73 ± 0,70 |
| Vértebras caudais | 3,79 ± 0,40 | 3,90 ± 0,30 | 3,64 ± 0,66 |
| Total | 16,79 ± 0,40 | 16,7 ± 0,97 | 16,47 ± 1,67 |

*Extremamente significante (p<0,0001) em relação ao grupo controle – teste U de Mann Withney

CONCLUSÕES

- Os extratos aquoso e etanólico obtido das sementes de *Mimosa tenuiflora* possuem substâncias teratogênicas.
- Fenda palatina, escoliose e aplasia de uma esternébra foram as malformações mais freqüentes causadas pela *Mimosa tenuiflora* em ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, R.C.; **Estudos toxicológicos das drogas. Efeitos Anatomopatológicos.** In: Penildo Silva (Ed). Farmacologia. 6ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994.

BERNARDI, M.M. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** 4^o Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006. p. 807-810.

CHEEKE P.R. **Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants.** 2nd ed. Danville, Interstate Publishers. 1998. 479p.

FIGUEIREDO, A.P.M.; BENÍCIO, T. M. A.; PESSOA, C. R. M.; MEDEIROS R.M.T.; RIET-CORREA, F. **Efeitos teratogênicos das folhas de *Mimosa tenuiflora* em ratos.** Patos. IV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, 2007.

FIGUEIREDO, A.P.M. **Determinação dos efeitos teratogênicos do extrato etanólico de *Aspidosperma pyrifolium* (pereiro) em ratos.** V Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande, 2008.

GARDNER, D.R.; PANTER, K.E.; STEGELMEIER, B.L.; JAMES, L.F.; RALPHS, M.H.; PFISTER, J.A.; SCHOCH, T.K. Livestock poisoning by teratogenic and hepatotoxic range plants. In: Garland, T. & Barr, A.C. (ed). **Toxic plants and other natural toxicants.** New York, CAB International, 1998. p. 303-306.

GraphPad InStat V2.01. San Diego: GraphPad Software, 1993. (1 computer disk, 3 ½ in, IBM).

MEDEIROS, R.M.T., FIGUEIREDO, A.P.M., Benício, T.M.A., Dantas, F.P.M., RIET-CORREA, F. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. **Toxicol.** V. 51. p.316-319. 2008.

MEDEIROS, J.M.; TABOSA, I.M.; SIMÕES, S.V.D.; NÓBREGA JR. J.E.; VASCONCELOS, J.S.; RIET-CORREA, F. Mortalidade perinatal em cabritos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.25, n.4, p.201-206, 2005.

NÓBREGA JR. J.E.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; MEDEIROS, J.M.; VASCONCELOS, J.S.; SIMÕES, S.V.D.; TABOSA, I.M. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.25, n.3, p.171-178, 2005.

NÓBREGA, R.S.; RIET-CORREA, F.; NÓBREGA, R.S.; CORREIA, A.P.; NÓBREGA, J.S.; ARAGÃO, M.C.; MEDEIROS, R.M.T.; TABOSA, I.M. Malformações ósseas em ovinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.24, supl. p. 45, 2004.

PANTER K.E.; JAMES L.F.; GARDNER D.R.; MOLYNEUX R.J. Effects of poisonous plants on embryonic and fetal development in livestock. In: Colegate S.M. & Dorling P.R. (ed.). **Plant associated toxins.** Wallingford, CAB International, 1994. p.325-332.

PIMENTEL L. A; RODRIGUES M.D.; RIET-CORREA F. **Malformações em caprinos causadas por *Mimosa tenuiflora*** In: II CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, PIBIC/CNPq/UFCG-2005. Campina Grande. **Anais....** Campina Grande. Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da UFCG – PRPG, Brasil, 2005.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; DANTAS, A.F.M. **Plantas tóxicas da Paraíba**, Patos, v.1, n.1, p. 58, 2006.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T.; NETO, S.A.; TABOSA, I.M.; PIMENTEL, L.A. Malformações ósseas em caprinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, supl. p. 49-50, 2004.

STAPLES, R.E.; SCHENELL, V.L. Refinements in rapid clearing technic in the KOH- alizarin red S method for fetal bone. **Stain Technology**, v. 39, p.61-63, 1964.

TAYLOR, P. Skeletal examination. In: **Practical Teratology**, Grã Bretanha, 1986. Cap. 10, p. 77-100.

VICKERY, B.H.; BENNETT, J.P. Rats and mice. In: HAFEZ, E.S.E. **Reproduction and breeding techniques for laboratory animals.** Philadelphia, Lea & Febiger, p. 229-315, 1970.

