UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Simarouba versicolor* EM OVINOS

Ariany Carvalho dos Santos

CAMPO GRANDE. MS
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Simarouba versicolor* EM OVINOS

Experimental poisoning by *S*imarouba *versicolor* in sheep

Ariany Carvalho dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS
2012

Certificado de aprovação

Aos meus pais, Pedro e Virtude e,
Ao meu irmão Pedro Henrique que sempre apoiaram minhas lutas e conquistas.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos pela orientação e paciência em todas as etapas desse trabalho.

Aos professores Dr. Eurípedes Batista Guimarães, Dr. Carlos Eurico Fernandes, Dra. Karine Bonucielli Brum e Dr. Marcos Barbosa Ferreirapelos valiosos ensinamentos.

Ao meu namorado Roosevelt, em especial, pela paciência, compreensão e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos e colegas Antônio, Juan, Tatiane, Rubiane, Rafael, Nickolly, Jonilson, Dyego, Éllen, Beatriz, Renata, Nilton, Flávia, Neylisa, Amanda pela amizade e companheirismo.

As estagiárias e amigas Paula, Rayane, Stephanie, e Ivy pela colaboração.

Aos funcionários da FAMEZ, Dona Carmen, Gerson, Saturnina, Celso, Sebastião, Elias, Miguel, Paulinho, Arnaldo, Ramiro e Roque.

“Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar nos sonhos que se tem
ou que seus planos nunca vão dar certo ou que você nunca vai ser alguém...
Quem acredita sempre alcança!”(Legião Urbana)

Resumo

SANTOS, A. C. Intoxicação por *Simarouba versicolor* em ovinos. 2012. 27f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2012.

Simarouba versicolor é uma planta semidecídua pertencente à família Simaroubaceae. No Brasil, é encontrada desde o Nordeste até o estado de São Paulo e em alguns pontos do estado do Pará e Mato Grosso do Sul. Apenas um surto de intoxicação por *S. versicolor* em bovinos e sua reprodução experimental foram descritos em Mato Grosso do Sul. Até o momento, não há relatos da intoxicação espontânea ou experimental em ovinos pela planta.Este trabalho teve por objetivos verificar experimentalmente se os ovinos podem ser utilizados como modelo clínico-patológico no estudo da intoxicação por *S. versicolor*, determinar se há indução de resistência pela ingestão de pequenas e repetidas doses e, se a planta mantém sua toxicidade quando dessecada. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro com folhas verdes (ovino 1) e folhas dessecadas e trituradas (ovinos 2 e 3) de *S. versicolor* em doses únicas de 5g/kg, 5g/kg e 3g/kg, respectivamente.O experimento 2, foi realizado com folhas dessecadas e trituradas de *S. versicolor* em um ovino controle positivo (ovino 4) que recebeu 3g/kg e, com quatro ovinos (ovinos 5, 6, 7 e 8) que receberam doses diárias de 1,5g/kg, 0,75g/kg, 0,6g/kg e 0,3g/kg, respectivamente. A administração foi suspensa quando os ovinos apresentaram sinais clínicos da intoxicação e, após 12 dias os animais sobreviventes receberam a mesma dose diária da planta para avaliar o desenvolvimento de resistência. Os sinais clínicos observados nos dois experimentos caracterizaram-se por anorexia, mucosas oculares congestas, polidipsia, sialorreia, fezes pastosas que evoluíram para diarreia líquida fétida esverdeada, decúbito lateral e morte para os ovinos 1 a 7. As principais lesões histológicas observadas foram necrose do tecido linfoide (linfonodos, baço, placas de Peyer) e enterite necrosante. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental clínico-patológico na intoxicação pela planta.Com o método utilizado, não houve indução de resistência ao consumo diário de *S. versicolor* pelos ovinos e, a planta manteve sua toxicidade quando dessecada.

Palavras-chave: Simaroubaceae; pau-paraíba; necrose linfoide; enterite necrosante; ovinos.

Abstract

SANTOS, A. C. Experimental poisoning by *Simarouba versicolor* in sheep. 2012. 27f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2012.

Simarouba versicolor is a plant semideciduous belonging to the family Simaroubaceae. In Brazil, it is found from the Northeast to the state of São Paulo and in some parts of the state of Pará and Mato Grosso do Sul. Only one outbreak of poisoning by *S. versicolor* in cattle and its experimental reproduction were described in Mato Grosso do Sul. To date, no reports of poisoning or experimental sheep by plant. This study aimed to verify experimentally whether sheep can be used as a clinical-pathological model, in the study of poisoning caused by *S. versicolor*. Determine if there is resistance induced by ingestion of small and repeated doses, and if the plant keeps its toxicity when dried. Two experiments were conducted, the first with green leaves (sheep 1) and with dried and powdered leaves (sheep 2 and 3) of *S. versicolor* at dosages of 5g/kg, 5g/kg and 3g/kg respectively.Experiment 2 was conducted with dried and powdered leaves of *S. versicolor* in a positive control sheep (sheep 4) received 3g/kg and with four sheep (ovine 5, 6, 7 and 8) that received daily doses of 1,5g/kg 0,75g/kg, 0,6g/kg and 0,3g/kg, respectively. The administration was suspended when the sheep showed clinical signs of intoxication. After twelve days of recovery, the surviving animals were challenged with the same daily dose intake previously to assess the development of resistance. Clinical signs observed in both experiments were characterized by anorexia, ocular mucosa congested, polydipsia, drooling, loose stools that evolved into fetid greenish watery diarrhea, lateral decumbency and death of the sheep 1 to7. The main histological lesions observed were necrosis of lymphoid tissue (lymph nodes, spleen, Peyer's patches) and necrotizing enteritis. With the results it can be concluded that sheep can be used as model experimental clinical-pathological in poisoning by the plant. The method used have not induce resistance to the daily consumption of *S. versicolor* by the sheep and the plant kept its toxicity when dried.

Keywords: Simaroubaceae; lymphoid necrosis; necrotizing enteritis; sheep.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....10
REFERÊNCIAS.....12

2 ARTIGO – Intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos: caracterização clínica, patológica e indução de resistência ao consumo da planta.....15
2.1 RESUMO.....16
2.2 INTRODUÇÃO.....17
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....17
2.5 RESULTADOS.....18
2.5.1 Achados clínicos.....18
2.5.2 Achados de necropsia.....18
2.5.3 Achados histológicos.....18
2.6 DISCUSSÃO.....19
2.7 REFERÊNCIAS.....20
2.8 LEGENDAS DAS FIGURAS.....21
2.9 QUADRO 1.....22
2.10 QUADRO 2.....23
2.11 FIGURAS.....24

ANEXO – Instruções aos autores: Pesquisa Veterinária Brasileira.....27

INTRODUÇÃO

A *Simarouba versicolor* é uma planta semidecídua, heliófita, xerófita, característica de cerrados, cerradões e caatinga. No Brasil, é amplamente distribuída, sendo encontrada desde o Nordeste até o estado de São Paulo e em algumas áreas dos estados de Mato Grosso do Sul e Pará (MESQUITA, 1997; LORENZI, 1998). Por ser raramente pastejada, acredita-se que a planta seja tóxica no Pantanal (POTT; POTT, 1994).

De acordo com a região onde é encontrada, a *S. versicolor* é conhecida popularmente como caraíba, mata-cachorro, mata-menino, paparauba, paraíba, pau-caixeta, pau-paraíba, pé-de-perdiz, perdiz, pitombeira-de-marajo, simaruba-do-brasil (MESQUITA, 1997). Seus frutos e a casca são utilizados na medicina popular como anti-helmíntico e a infusão da casca usada como antipeçonhento (FERNANDES et al., 2004). A madeira desta Simaroubaceae é considerada leve, com densidade de 0,48g/cm^3, porosa e possui baixa resistência mecânica, porém é resistente ao ataque de cupins de madeira seca (LORENZI, 1998).

Em estudos realizados com raízes, talos, folhas, frutos, caule e galhos de *S. versicolor* foram isoladas diversas substâncias como quassinóides, alcalóides, triterpenóides, esteróis, cumarinas e flavonóides (GHOSH et al., 1977; ARRIAGA et al., 2002; SIMOTE, 2006). Destas substâncias, sabe-se que as atividades biológicas estão relacionadas a ação antileucêmica (POLONSKY, 1985), amebicida (ALMEIDA et al., 2007), inseticida (ARRIGA et al., 2002), antimalárica (O'NEILL et al., 1988), antifúngica (THOUVENEL et al., 2003), anti-inflamatória (RAJIC et al., 2000), atividade citostática (KASINADHUNI et al., 1999) e imunossupressora (HOULT; PAYÁ, 1996).

Outros estudos já foram realizados com *S. versicolor*, dos quais se destacam a atividade larvicida sobre carrapatos *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (PIRES et al., 2006), atividade inseticida (COELHO et al., 2006; SIMOTE, 2006; PENÃFLOR et al., 2009; COELHO et al., 2009), inibição da enzima acetilcolinesterase (CARVALHO, 2008) e atividade antitumoral (GHOSH et al., 1977; MESQUITA, 2009).

Recentemente, foi descrito um surto de intoxicação por *S. versicolor* em bovinos no município de Água Clara, Mato Grosso do Sul, no qual as principais

lesões foram caracterizadas por necrose do tecido linfoide (linfonodos, baço, placas de Peyer) e enterite necrosante. Experimentalmente, lesões semelhantes foram observadas e a planta não demonstrou efeito acumulativo em bovinos (CARVALHO et al., 2012). Até o momento, não há relatos da intoxicação espontânea ou experimental em ovinos.

Os objetivos deste trabalho são verificar se os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental da intoxicação por *S. versicolor*, determinar se o consumo diário de pequenas doses induz a resistência e avaliar se a planta mantém sua toxicidade quando dessecada.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. M. B.; ARRIAGA, A. M. C.; SANTOS, A. K. L.; LEMOS, T. L. G.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. C. Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da ultima década. **Química Nova**, v.30, p.935-951, 2007.

ARRIAGA, A. M. C.; MESQUITA, A. C.; POULIQUEN, Y. B. M.; LIMA, R. A.; CAVALCANTE, S. J.; CARVALHO, M. G.; SIQUEIRA, J. A.; ALEGRIO, L. V.; BRAZ-FILHO, R. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.74, n. 3, p. 415-424, 2002.

CARVALHO, J. I. X. **Estudo fitoquímico e avaliação do potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase de *Simarouba versicolor* (SIMAROUBACEAE).** 2008. 142 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2008.

CARVALHO, N.M.; SANTOS, A.C.; FACCIN, T.C.; BACHA, F.B.; CARVALHO, A.Q.; POTT, A.; LEMOS, R.A.A. Intoxicação espontânea e experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em bovinos. **VII Endivet**, Porto Alegre, RS, p.129, 2012.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi C*arcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 133-138, 2006.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Efeito de extratos de plantas do Cerrado em *Dipetalogaster máxima* (Uhler) (Hemiptera, Reduviidae). **RevistaBrasileira de Entomologia**, v.53, n. 3, p. 444-451, 2009.

FERNANDES, M. Z. L. C. M.; FERNANDES, R. M.; LOPES, J. B.; VIANA, G. E. N. Determinação da toxicidade aguda da *Simarouba versicolor* em camundongos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 06, n. 2, p. 44-47, 2004.

GHOSH, P. C.; LARRAHONDO, J. E.; LE QUESNE, P. W.; RAFFAUF, R. F. Antitumor Plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. **Journal of Natural Products**, v. 40, p. 364-369, 1977.

HOULT, J.R.S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v. 27, p. 713-722, 1996.

KASINADHUNI, V.R.R.; RAJASHEKHAR, G.; RAJGOPALAN, R.; SHARMA, V.M.; VAMSI KRISHNA, C.; SAIRAM, P.; SAI PRASAD, G.; SADHUKHAN, S.; GANGADHAR RAO, G. Anti-ulcer potential of *Halinta coridifolia*. **Fitoterapia**, 70p., 93-95, 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum, 2ª. ed., p. 324, 1998.

MESQUITA, A. G. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae).** 1997. 119 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 1997.

MESQUITA, M. L. **Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica.** 2009. 223 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2009.

O'NEILL, M.J.; BRAY, D.H.; BOARDMAN, P.; WRIGHT, C.W.; PHILLIPISON, J.D.; WARHURST, D.C.; GUPTA, M.P.; CORREYA, M.; SOLIS, P. Plants as sources of antimalarial drugs, part 6: activities of *Simarouba amara* fruts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p. 183-190, 1988.

PEÑAFLOR, M. F. G. V.; ALMEIDA, R. N. A.; SIMOTE, S. Y.; YAMANE, E.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C. Toxicity of Substances Isolated from Simarouba *versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the Leaf-cutting Ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. **BioAssay**, v. 4, n.1, 2009.

PIRES, J. E. P. **Efeito dos extratos aquoso e etanólico de planta *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre larvas e teleóginas de carrapatos *Boophilus microplus*, Canestrini, 1887 e *Rhipicephalus sanguineus*, Latreille, 1806.** 2006. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2006.

POLONSKY, J. Quassinoids Bitter Principles II.**Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe**, v. 47, p. 221-264, 1985.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal – Corumbá, MS: EMBRAPA-SPI, 320p., 1994.

RAJIC, A.; KWERFIO-OKAI, G.; MACRIDES, T.; SANDEMAN, R.; CHANDLER, D.; POLYA, G. Inhibition of Serine Proteases by Anti-inflammatory Triterpenoids. **Planta Medica** v. 66, p. 206-210, 2000.

SIMOTE, S. Y. **Estudo Fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e Busca de um Processo de Microencapsulação de Compostos Ativos, Visando o Controle de Formigas Cortadeiras.** 2006. 200 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2006.

THOUVENEL, C.; GANTIER, J.C.; DURET, P.; FOURNEAU, C.; HOCQUEMILLER, R.; FERREIRA, M.E.; DE ARIAS, A.R.; FOURNET, A. Antifungal compounds from *Zanthoxylum chiloperone*var. *angustifolium*. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 678-680, 2003.

2 ARTIGO

Intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em ovinos e indução de resistência ao consumo da planta

Ariany C. Santos, Tatiane C. Faccin, Nilton M. Carvalho, Paula V. Leal, Arnildo Pott e Ricardo A. A. Lemos

(Artigo aceito para publicação na revistaPesquisa Veterinária Brasileira)

Intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em ovinos e indução de resistência ao consumo da planta[1]

Ariany C. Santos[2], Tatiane C. Faccin[2], Nilton M. Carvalho[2], Paula V. Leal[3], Arnildo Pott[4] e Ricardo A. A. Lemos[5]*

ABSTRACT.- Santos A.C., Faccin T.C., Carvalho N.M., Leal P.V., Pott A. & Lemos R.A.A. 2012. [Experimental poisoning by *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) in sheep and induced resistance to consumption of the plant].Intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em ovinos e indução de resistência ao consumo da planta. *Pesquisa Veterinária Brasileira 32(0):000-000*. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brazil. E-mail: ricardo.lemos@ufms.br

Simarouba versicolor St. Hil. is a semideciduous tree belonging to the Simaroubaceae family. An outbreak of poisoning in cattle by shoots of *S. versicolor* present in the pasture in Mato Grosso do Sul and experimental reproduction of the poisoning was described. This study aimed to verify experimentally whether sheep could be used as a clinical-pathological model in the study of the poisoning caused by *S. versicolor*, to determine if there develops resistance induced by ingestion of small and repeated doses of the leaves, and if the plant keeps its toxicity when dried. Two experiments were conducted: Experiment 1 with green leaves or dried and powdered leave of *S. versicolor,* given in single doses of 5g/kg, 5g/kg and 3g/kg to three sheep (Sheep 1, 2 and 3 respectively). Experiment 2 was made with different daily doses of dried and powdered leaves of *S. versicolor;* to four sheep was given 1.5g/kg, 0.75g/kg, 0.6g/kg and 0.3g/kg, and the positive control (Sheep 4) received 3g/kg. The administration was suspended when the animals showed clinical signs of poisoning. After twelve days of recovery, the surviving sheep were challenged with the same daily dose given previously, to assess the development of resistance. Clinical signs observed in both experiments were characterized by anorexia, congested ocular mucosa, polydipsia, drooling, loose stools which evolved into fetid greenish watery diarrhea, lateral decumbency and death of Sheep 1 to 7. The main histological lesions observed were necrosis of lymphoid tissue (lymph nodes, spleen, Peyer's patches) and necrotizing enteritis. With the results it can be concluded that sheep can be used as experimental model for the clinic-pathological aspects of poisoning by *S. versicolor*. The method used has not shown resistance to the daily consumption of the plant by the sheep, and the leaves kept their toxicity when dried.

INDEX TERMS.- Poisonous plants, *Simarouba versicolor,* Simaroubaceae, lymphoid necrosis, necrotizing enteritis, plant poisoning, sheep.

RESUMO.- *Simarouba versicolor* é uma árvore semidecídua pertencente à família Simaroubaceae. Um surto de intoxicação por *S. versicolor* em bovinos por brotos da planta presente no pasto em Mato Grosso do Sul e sua reprodução experimental foram descritos. Esse estudo teve por objetivos verificar experimentalmente se os ovinos podem ser utilizados como modelo clínico-patológico no estudo da intoxicação por *Simarouba versicolor* St. Hil. (fam. Simaroubaceae), determinar se há indução de resistência pela ingestão de pequenas e repetidas doses e, se a planta mantém sua toxicidade quando dessecada. Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro com folhas verdes ou folhas dessecadas e trituradas de S. versicolor em doses únicas de 5g/kg, 5g/kg e 3g/kg a três ovinos (Ovino 1,2 e 3 respectivamente). O experimento 2, foi realizado com diferentes doses diárias de folhas dessecadas e trituradas de *S. versicolor* em quatro ovinos que receberam 1,5g/kg, 0,75g/kg, 0,6g/kg e 0,3g/kg e, com

---

[1] Recebido em 10 de outubro de 2012.
Aceito para publicação em 5 de dezembro de 2012.
[2] Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Av. Senador Filinto Müller 2443, Campo Grande, MS 79074-460, Brasil.
[3] Bolsista de Iniciação Científica PIBIC-CNPq, FAMEZ/UFMS, Campo Grande, MS.
[4] Laboratório de Botânica, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), UFMS, Cidade Universitária s/n, Campo Grande, MS 79070-900.
[5] FAMEZ /UFMS, Campo Grande, MS. *Autor para correspondência: ricardo.lemos@ufms.br

um ovino que recebeu 3g/kg como controle positivo (Ovino 4). A administração foi suspensa quando os ovinos apresentaram sinais clínicos da intoxicação. A administração foi suspensa quando os ovinos apresentaram sinais clínicos da intoxicação. Após doze dias de recuperação, os animais sobreviventes foram desafiados com a mesma dose diária da planta ingerida anteriormente para avaliar o desenvolvimento de resistência. Os sinais clínicos observados nos dois experimentos caracterizaram-se por anorexia, mucosas oculares congestas, polidipsia, sialorreia, fezes pastosas que evoluíram para diarreia líquida fétida esverdeada, decúbito lateral e morte para os Ovinos 1 a 7. As principais lesões histológicas observadas foram necrose do tecido linfoide (linfonodos, baço, placas de Peyer) e enterite necrosante. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental clínico-patológico na intoxicação por *S. versicolor*. Com o método utilizado, não houve resistência ao consumo diário de folhas da planta pelos ovinos e, as folhas mantiveram sua toxicidade quando dessecadas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO.- Plantas tóxicas, *Simarouba versicolor,* Simaroubaceae, necrose linfoide, enterite necrosante, intoxicação por plantas, ovinos.

INTRODUÇÃO

Simarouba versicolor, conhecida popularmente como perdiz, pé-de-perdiz ou pau-paraíba, é uma árvore semidecídua pertencente à família Simaroubaceae (Mesquita 1997). No Brasil, é encontrada desde o Nordeste até o Estado de São Paulo e em alguns pontos dos Estados do Pará e Mato Grosso do Sul (Lorenzi1998). No Pantanal, por ser raramente pastejada, os produtores da região acreditam que a planta seja tóxica (Pott & Pott 1994).

Apesar de sua ampla distribuição, até o momento apenas um surto de intoxicação por *S. versicolor* em bovinos foi descrito no município de Água Clara, Mato Grosso do Sul, no qual as principais lesões foram caracterizadas por necrose do tecido linfoide (linfonodos, baço, placas de Peyer) e enterite necrosante. Na propriedade em que ocorreu este surto a pastagem havia sido roçada, o que propiciou a brotação de exemplares da planta. Estes se encontravam com cerca de um metro de altura e pastejados pelos bovinos. A intoxicação foi reproduzida experimentalmente em bovinos com lesões semelhantes às observadas no surto e nesta espécie a planta não demonstrou efeito acumulativo (Carvalho ET al. 2012).

Até o momento, não há relatos da intoxicação espontânea ou experimental em ovinos por *S. versicolor* e, um modelo experimental para avaliar o desenvolvimento da resistência ao consumo da planta, definida como ao aumento progressivo da capacidade do organismo em eliminar a substância tóxica sem causar danos (Tokarnia et al. 2012).

Este trabalho tem como objetivos verificar se os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental da intoxicação por *S. versicolor*, determinar se há indução de resistência pela ingestão de pequenas e repetidas doses e, se a planta mantém sua toxicidade quando dessecada.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de folhas de *Simarouba versicolor* St. Hil. (fam. Simaroubaceae) (Fig.1) foram colhidas em uma propriedade no município de Água Clara em Mato Grosso do Sul, Brasil, onde ocorreram casos de intoxicação pela planta em bovinos (Carvalho et al. 2012). Os exemplares da planta encontravam-se em fase de brotação, com cerca de um metro de altura, e pastejados pelos bovinos. Foram utilizadas folhas verdes, conservadas em sacos plásticos a -5ºC, e folhas dessecadas à sombra. Para a estimativa do peso da planta seca correspondente ao peso da planta fresca foram separadas 1000 gramas de folhas verdes para dessecação, obtendo-se a diferença entre folhas verdes/dessecadas de 58,87%.

Foram realizados dois experimentos, conforme delineamento no Quadro 1, sendo a administração da planta por via oral forçada. No início dos experimentos, os ovinos foram previamente pesados, mantidos em baias individuais, com água, feno de alfafa e ração. Os ovinos foram submetidos ao exame clínico antes da administração da planta e diariamente durante toda a experimentação.

O Experimento 1 foi realizado com três ovinos, machos, de seis meses de idade, sem raça definida e identificados como Ovinos 1 a 3. Ovino 1 recebeu uma dose de 5g/kg de folhas verdes inteiras e os Ovinos 2 e 3 receberam doses únicas de 5g/kg e 3g/kg de folhas dessecadas trituradas, respectivamente, para verificar se a espécie pode ser utilizada como modelo experimental do quadro-clínico patológico no estudo da intoxicação por *S. versicolor* em bovinos e, se a planta mantém sua toxicidade quando dessecada.

Para estabelecer um modelo experimental de indução de resistência ao consumo diário da planta, o Experimento 2 foi realizado com folhas dessecadas administradas a cinco ovinos, machos, de seis meses de idade, sem raça definida e identificados de 4 a 8. Ovino 4 foi utilizado como controle positivo

recebendo dose única de 3g/kg, os ovinos de 5 a 8 receberam doses diárias não letais de 1,5g/kg, 0,75g/kg, 0,6g/kg e 0,3g/kg respectivamente, das folhas dessecadas (Quadro 1), calculadas com base nas doses utilizadas no experimento 1. A administração foi suspensa quando os ovinos apresentaram sinais clínicos da intoxicação, semelhantes aos descritos por Carvalho et al. (2012) em bovinos. Após a recuperação clínica, que ocorreu com 12 dias após a última administração da planta, os animais sobreviventes foram desafiados com a mesma dose diária anteriormente ingerida.

Foram realizadas necropsias nos ovinos que morreram ou que foram eutanasiados *in extremos*. Fragmentos de órgãos foram colhidos, fixados em formol a 10%, processados rotineiramente e corados por hematoxilina e eosina (HE) para exame histológico. Amostras dos linfonodos axilar, poplíteo, mediastínicos, mesentéricos e hepático foram colhidas dos Ovinos 4, 5, 6 e 7.

Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMS e protocolados sob nº 400/2012.

RESULTADOS

Achados clínicos

Nos ovinos do Experimento 1 (Ovinos 1 a 3), os sinais clínicos foram semelhantes e caracterizaram-se por apatia, anorexia, mucosas oculares congestas, polidipsia, bruxismo, fezes pastosas que evoluíram para diarreia líquida fétida esverdeada, decúbito lateral e morte. A evolução clínica em horas, do início dos sinais clínicos até a morte variou de 15 a 22 horas (Quadro 1). No Ovino 2, não foi possível observar o início dos sinais clínicos, pois o animal foi encontrado morto 15 horas após a administração da planta.

Ovino 4 (controle positivo) e Ovino 5 do Experimento 2, desenvolveram sinais clínicos similares aos observados nos ovinos do Experimento 1, exceto diarreia. Após a ingestão total de 1,8g/kg das folhas de *Simarouba versicolor* em três administrações, o ovino 7 apresentou apatia, anorexia, fezes pastosas a diarreia líquida fétida esverdeada a sanguinolenta, decúbito lateral e respiração abdominal, sendo eutanasiado *in extremis*.

Ovinos 6 e 8, que apresentaram sinais clínicos da intoxicação com dois e cinco dias, respectivamente, recuperaram-se após a suspensão da administração da planta. Doze dias após a recuperação, os animais receberam 0,75g/kg e 0,3g/kg de *S. versicolor*, respectivamente, desenvolvendo apatia, anorexia, fezes pastosas que evoluíram para diarreia líquida fétida esverdeada e queda total de lã, com a ingestão de apenas duas doses. O ovino 8 apresentou melhora do quadro clínico quatro dias depois de cessada a administração da planta e o ovino 6 morreu 10 dias após a última dose administrada.

Achados de necropsia

Todos os ovinos necropsiados (Ovinos 1 a 7) apresentaram lesões semelhantes no abomaso, intestinos e linfonodos, porém em diferentes intensidades. Na mucosa do abomaso havia extensas áreas avermelhadas e edematosas, sendo mais acentuadas nos Ovinos 2, 3 e 5. Nos intestinos delgado e grosso, a mucosa e serosa apresentavam-se difusamente avermelhadas e edematosas, com maior intensidade nos Ovinos 1, 2, 5 e 7. Apenas o ovino 6 apresentou conteúdo intestinal sanguinolento.

Os linfonodos estavam aumentados de tamanho, com a superfície de corte avermelhada, acentuadamente hemorrágicos e edematosos nos Ovinos 2, 3 e 5. No ovino 1, observaram-se hemorragias no pericárdio e nos Ovinos 2, 3 e 5 havia hemorragias multifocais no endocárdio.

Achados histológicos

Os achados histológicos foram semelhantes nos Ovinos 1 a 7 (Quadro 2), mas com intensidades diferentes, caracterizando-se por necrose do tecido linfoide e enterite necrosante. As alterações histológicas incluíram depleção e necrose do tecido linfoide à ausência de centros germinativos em linfonodos (Fig.2), baço (Fig.3) e placas de Peyer (Fig.4). Nos Ovinos 1 e 3 observou-se necrose fibrinóide moderada difusa da parede dos vasos dos linfonodos e eritrofagocitose nos linfonodos dos Ovinos 1, 4, 6 e 7. Também foram observadas necrose discreta a moderada do tecido linfoide peribronquial nos Ovinos 3 e 4.

Necrose difusa da superfície do epitélio do abomaso que se estendia as criptas e submucosa foram mais acentuadas nos Ovinos 5 e 7, com discreta a moderada hemorragia. Enterite necrosante foi um achado comum em todos os ovinos do experimento, variando de intensidade moderada a acentuada, e com intensa necrose das placas de Peyer nos ovinos 4 e 5.

Nos Ovinos 6 e 7 observaram-se ainda acentuada tumefação e vacuolização do citoplasma dos hepatócitos, associada a áreas focalmente extensivas de necrose. Outras alterações histológicas, como discretos e múltiplos focos de degeneração e necrose da mucosa, associada a detritos celulares

eneutrófilos degenerados, foram observadas nos pré-estômagos dos Ovinos 2, 4, 5, 6 e 7. Evidenciou-se hemorragia focalmente extensiva acentuada no endocárdio, que se estendia ao miocárdio no Ovino 2.

DISCUSSÃO

O quadro clínico, achados de necropsia e alterações histológicas observados na intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos foram semelhantes aos descritos na intoxicação espontânea e experimental em bovinos (Carvalho et al. 2012), indicando que os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental para estudo do quadro clínico-patológico na intoxicação pela planta. Outro dado relevante refere-se a toxicidade da planta, que mesmo dessecada causou intoxicação nos ovinos.

No Experimento 2, os Ovinos 6 e 8 desenvolveram sinais clínicos logo após receberem as doses desafio, doze dias após recuperação clínica, totalizando 3g/kg e 2,1g/kg, respectivamente. Caso semelhante ocorreu com os Ovinos 5 e 7, que apresentaram sinais clínicos e morreram com duas e três doses da planta, recebendo ao final 3,g/kg e 1,8g/kg, respectivamente. Esses resultados sugerem a possibilidade de *S. versicolor* possuir efeito acumulativo em ovinos, o qual não foi observado na intoxicação experimental em bovinos (Carvalho et al. 2012).

Com as doses e métodos utilizados, não foi observada a indução de resistência ao consumo diário de *S. versicolor*. Anjos et al. (2010), em experimentos com delineamento semelhante, com sementes de *Crotalaria retusa* em ovinos, demonstraram que com a ingestão diária de doses não letais há indução de resistência ao princípio tóxico (monocrotalina) da planta, provavelmente associada à capacidade das enzimas hepáticas para desintoxicar alcalóides pirrolizidínicos ou pela aquisição de resistência pela rápida adaptação da microbiota ruminal em metabolizar a monocrotalina.

A queda total de lã observada nos Ovinos 6 e 8 do Experimento 2 foram semelhante ao efeito depilatório descrito na intoxicação por *Leucaena leucocephala* em ovinos (Almeida et al. 2006). A queda de pelos na intoxicação aguda por esta planta se deve a ação da mimosina, incompletamente degradada no rúmen (Tokarnia et al. 2012). Considerando que os animais do presente estudo apresentaram quadro clínico severo afetando outros sistemas, é provável que a queda de lã seja secundária as lesões em outros tecidos e não um efeito primário como ocorre na intoxicação por *L. leucocephala*. Entretanto, estudos complementares com doses não letais de *S. versicolor* poderão indicar se a planta possui um princípio tóxico capaz de causar o efeito depilatório.

As lesões histológicas no tecido linfoide observadas nos ovinos intoxicados experimentalmente por *S. versicolor*, são muito semelhantes às descritas em intoxicações em ruminantes por outras plantas como *Riedeliella graciliflora* (Nobre, Cappellaro & Souza 1989, Riet-Correa et al. 2001), *Polygala klotzschii* (Camargo et al. 1968, Tokarnia et al. 1976), *Baccharis coridifolia* (Rozza et al. 2006) e *Baccharis megapotamica* (Armién, Peixoto &Tokarnia 1993, Driemeier, Cruz & Loretti 2000). Tricotecenos macrocíclicos foram identificados em *B. coridifolia* e *B. megapotamica* (Kupchanet al. 1977, Busam 1985), e em *P. klotzschii* foi isolada a 5-metoxi-podofilotoxina (Busam 1985), estas substâncias são consideradas como princípios tóxicos destas plantas. Emestudos realizados com caules de *S. versicolor* foram isoladas cumarinas (Simote 2006). Embora as cumarinas sejam capazes de provocar quadros hemorrágicos em diferentes espécies (McGavin & Zachary 2009) e em alguns trabalhos serem descritas por possuírem efeito citostático (Kasinadhuni et al. 1999) e imunossupressor (Houl & Payá 1996), nas intoxicações espontâneas e experimentais não há relatos de lesões gastrointestinais e em tecido linfoide. Isto sugere que *S. versicolor* pode ter mais de um princípio tóxico ou que há um princípio responsável pelas lesões ainda não isolado.

Em outros estudos com folhas de *Simarouba versicolor*, já foram isoladas substâncias como quassinóides (Ghosh et al. 1977), triterpenóides e flavonóides (Simote 2006), entretanto, não há modelos experimentais que descrevam estas substâncias como responsáveis pelas lesões observadas na intoxicação de ruminantes. Este fato ressalta a importância de estudos para elucidação da patogenia utilizando substâncias isoladas das folhas de *S. versicolor*, usando o ovino como modelo experimental. A escolha desta espécie para experimentação é atribuída ao menor custo na aquisição dos animais e por serem mais dóceis no manejo que bovinos (Stigger et al. 2001), além de ser uma espécie sensível a planta e por apresentar quadro clínico-patológico da intoxicação semelhante ao bovino.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que os ovinos podem ser utilizados como modelo experimental clínico-patológico na intoxicação por *S. versicolor*, apresentando necrose do tecido linfoide (linfonodos, baço, placas de Peyer) e enterite necrosante. Verificou-se que as folhas da planta mantiveram

sua toxicidade quando dessecadas e, com o método utilizado, não foi observada resistência ao consumo diário de folhas da planta pelos ovinos.

Agradecimentos.- À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect, Proc. nº 14/2009-Universal) pelo apoio financeiro e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 14/2011 - Projeto Universal Proc. 483211/2012-5). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

Almeida A.P.M.G., Kommers G.D., Nogueira A.P.A., Júnior L.G.B., Prado Marques B.M.F. & Lemos R.A.A. 2006. Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 26:190-194.

Armién A.G., Peixoto P.V. &Tokarnia C.H. 1993. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 13:5-20.

Anjos B.L., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Oliveira Neto T.S., Molyneux R.J. &Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses.Toxicon 55:28-32.

Busam L. 1985. Über die Gifteaus *Baccharis coridifolia* und *Polygala klotzschii*. Dissertation, Hannover, 275 S.

Camargo W.V.A., Mengato W.,Platzech F. & Morita T. 1968. Intoxicação de bovinos pela *Polygala klotzschii* Chodat, na região do Pontal (estado de São Paulo). Biológico 34:221-223.

Carvalho N.M., Santos A.C., Faccin T.C., Bacha F.B., Carvalho A.Q., Pott A. & Lemos R.A.A. 2012. Intoxicação espontânea e experimental por *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) em bovinos. VII Endivet, Porto Alegre, RS. (Resumo)

Driemeier D., Cruz C. &Loretti A. 2000. *Baccharis megapotamica* var. *weirii* poisoning in Brazilian cattle. Vet. Human.Toxicol. 42:220-221.

Ghosh P.C., Larrahondo J.E., Le Quesne P.W. &Raffauf R.F. 1977.Antitumor Plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. J. Nat. Prod. 40:364-369.

Grecco F.B, Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P., Raffi M.B., Sallis E.S.V. & Schild A.L. 2012. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência à intoxicação. Pesq. Vet. Bras. 32:912-916.

Hoult J.R.S. &Payá M. 1996. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. Gen. Pharmacol. 27:713-722.

Kasinadhuni V.R.R., Rajashekhar G., Rajgopalan R., Sharma V.M., Vamsi Krishna C., Sairam P., Sai Prasad G., Sadhukhan S. &GangadharRao G. 1999. Anti-ulcer potential of *Halintacoridifolia*. Fitoterapia 70:93-95.

Kupchan S.M, Streelman D.R., Jarvis B.B., Dailey R.G. & Sneden A.T. 1977.Isolation of potent new antileukemic trichothecenes from *Baccharis megapotamica*. J. Org. Chem. 42:4221-4225.

Lorenzi H. 1998. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Vol.2. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa, SP. 324p.

McGavin M.D. &Zachary J.F. 2009. Bases da Patologia em Veterinária. 4ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro. 877p.

Mesquita A.G. 1997. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae). Dissertação de Mestrado em Química Orgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 119p.

Nobre D., Cappellaro C.E.M.P.D.M. & Souza A.C. 1989. *Riedeliella graciliflora*: estudo toxicológico em cobaias e ruminantes. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 56:39-42.

Pott A. &Pott V.J. 1994. Plantas do Pantanal. Embrapa Pantanal, Corumbá, MS. 320p.

Riet-Correa F., Górniak S.L., Haraguchi M. &Dagli M.L.Z. 2001. Histological changes caused by experimental *Riedeliella graciliflora* (Leg. Papilionoideae) poisoning in cattle and laboratory animals. Pesq. Vet. Bras. 21:5-7.

Rozza D.B., Paymundo D.L., Corrêa A.M.R., Leal J., Seitz A.I., Driemeier D. &Colodel E.M. 2006. Intoxicação espontânea por *Baccharis coridifolia* (Compositae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 26:21-25.

Simote S.Y. 2006. Estudo fitoquímico de *Helietta puberula* (Rutaceae), *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e busca de um processo de microencapsulação de compostos ativos, visando o controle de formigas cortadeiras. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. 200p.

Stigger A.L., Barros C.S.L., Langohr I.M. & Barros S.S. 2001. Intoxicação experimental por *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 21:98-108.

Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Canella C.F.C. 1976. Intoxicação experimental por *Polygalaklotzschii* em bovinos. Pesq. Agropec. Bras. 11:73-86.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. &Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro. 586p.

Legenda das Figuras

Fig.1. *Simarouba versicolor*: (**A**) a árvore, (**B**) as folhas, (**C**) a inflorescência.

Fig.2. Linfonodo com acentuada depleção e necrose de células linfoides e ausência de centros germinativos com perda da arquitetura do órgão, na intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos (Ovino 7). HE, obj.10x.

Fig.3. Baço com discreta depleção e necrose das células linfoides, na intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos. (Ovino 5). HE, obj.40x.

Fig.4. As placas de Peyer com acentuada depleção e necrose do folículo linfoides, na intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos (Ovino 4). HE, obj.40x.

Quadro 1 – Intoxicação por *Simarouba versicolor* em ovinos (Experimento I e Experimento II). Dose administrada, dose total (g/kg), resultado da intoxicação e desafio.

Experimento I

Ovino	*Simarouba versicolor*	Dose (g/kg) administrada	Tempo de administração (dias)	Dose total (g/kg)	Resultado da intoxicação	
					Início dos sinais clínicos (horas)	Morte (horas após os primeiros sinais clínicos)
1	Folhas verdes	5,0	1	5,0	17	22
2	Folhas secas	5,0	1	5,0	-	15
3	Folhas secas	3,0	1	3,0	7	18

Experimento II

Ovino	*Simarouba versicolor*	Dose (g/kg) administrada	Tempo de administração (dias)	Desafio (Tempo de administração em dias)	Dose total (g/kg)	Resultado da intoxicação		Resultado do desafio	
						Início dos sinais clínicos (horas)	Morte (horas após os primeiros sinais clínicos)	Início dos sinais clínicos (horas)	Morte (horas após os primeiros sinais clínicos)
4	Folhas secas	3,0	1	-	3,0	23	30	-	-
5	Folhas secas	1,5	2	-	3,0	31	37	-	-
6	Folhas secas	0,75	2	2	3,0	50	-	50	240
7	Folhas secas	0,6	3	-	1,8	50	80	-	-
8	Folhas secas	0,3	5	2	2,1	120	-	50	-

Quadro 2 – Principais alterações histológicas e intensidade de acordo com a localização na intoxicação experimental por *Simarouba versicolor* em ovinos

Órgão afetado	Alterações histológicas	Ovino Nº						
		1	2	3	4	5	6	7
Linfonodos	Rarefação do tecido linfoide	+	+++	++	++	++	+++	++
	Rarefação de centro germinativo	+	+++	+++	++	++	+++	+
	Necrose do tecido linfoide	+	+++	++	+++	++	+	++
	Necrose fibrinoide da parede de vasos	++	-	++	-	-	-	-
	Hemorragia e edema	+	++	+	+	+	-	+
	Macrófagos com eritrofagocitose	++	-	-	++	-	++	+++
Baço	Rarefação do tecido linfoide	+	-	+	-	+	-	++
	Necrose do tecido linfoide	++	+	++	++	+	-	+
	Congestão e hemorragia	++	+++	+++	+	++	+	+++
Abomaso	Necrose da camada mucosa	-	+	+	+	++	+	+++
	Congestão e hemorragia	+	+	+	+	+	+	++
	Infiltrado inflamatório/detritos celulares na mucosa	+	-	-	-	-	+	-
	Infiltrado inflamatório/detritos celulares na submucosa	+++	-	-	-	-	-	+
Intestinos	Necrose da camada mucosa	++	+++	+++	+++	+++	++	+++
	Necrose das placas de Peyer	+	+	++	+++	+++	-	++
	Congestão e hemorragia	+	+	++	++	+	+	++
	Infiltrado inflamatório mononuclear na mucosa	++	++	+++	-	+	-	-
	Infiltrado inflamatório/detritos celulares na submucosa	-	-	-	-	-	-	++
Fígado	Tumefação e vacuolização de hepatócitos	+	+	+	+	-	+++	+++
	Áreas de necrose de hepatócitos	-	++	+	+	+	+++	++

a (+) discreta;
b (++) moderada;
c (+++) acentuada;
d (-) ausente;

Figura 1

Figura 2

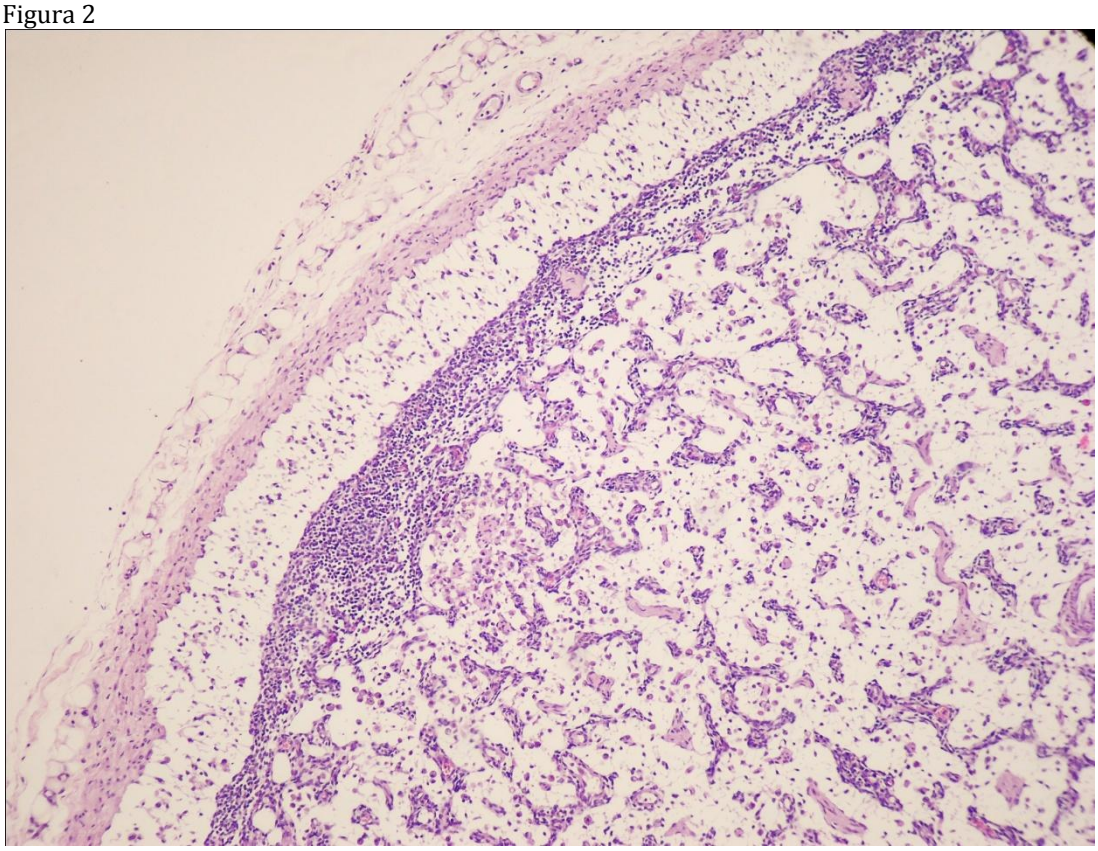


Figura 3

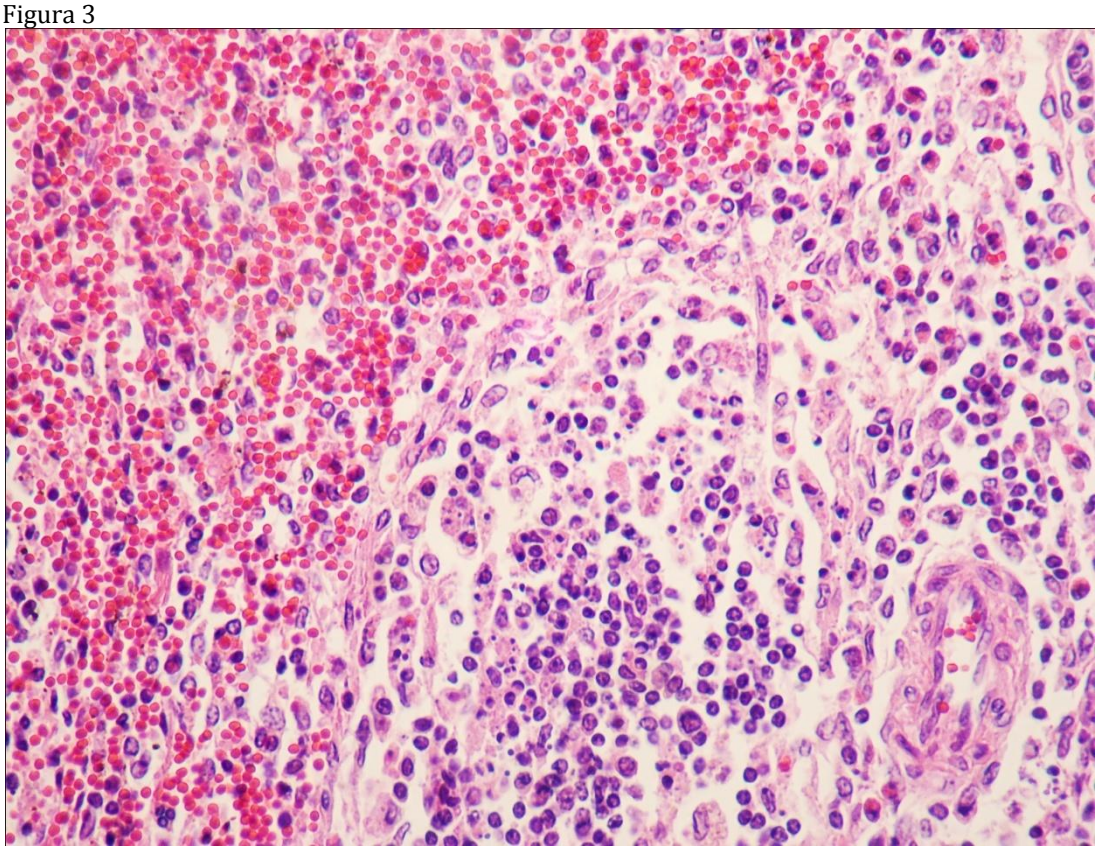
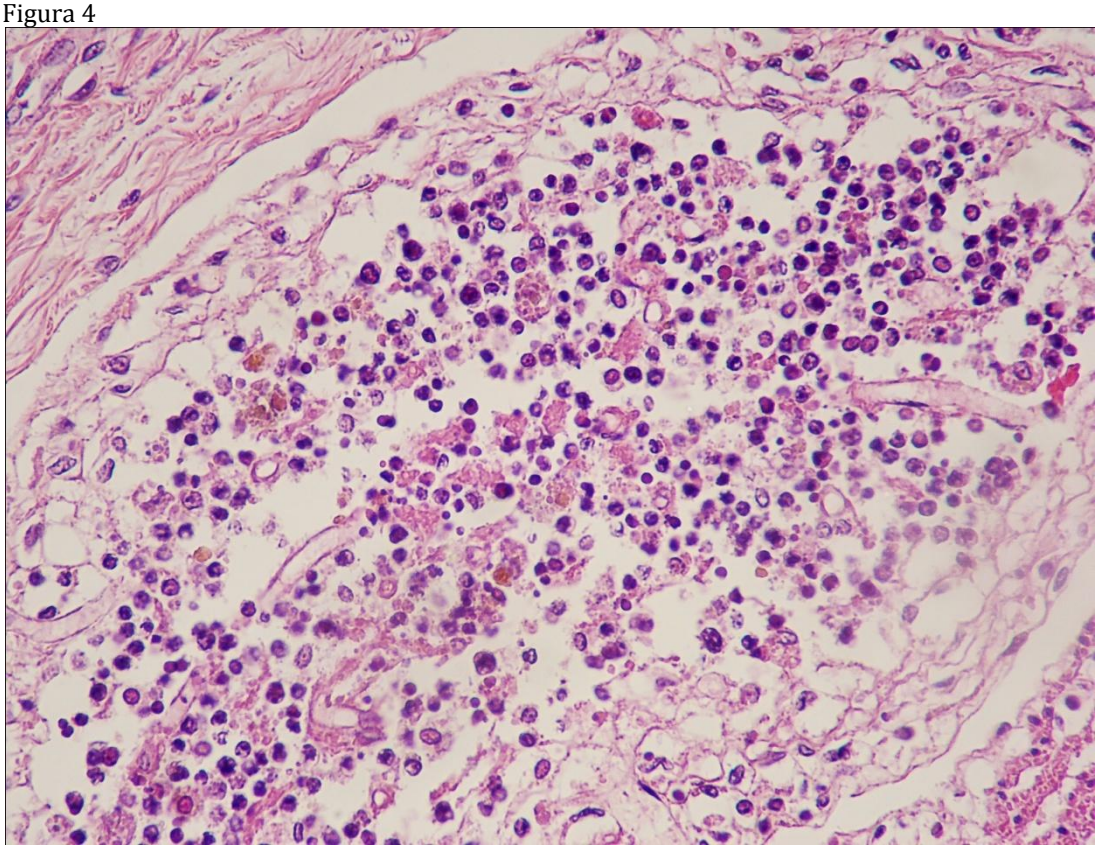


Figura 4



ANEXO

INSTRUÇOES AOS AUTORES

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), **Agradecimentos e REFERÊNCIAS:**

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos **seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br).** A digitalização deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);**

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez.** A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica.** Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão "jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As **legendas explicativas das Figuras** conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicatívas , com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho.**

5. Os **Quadros deverão ser** explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto.** Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com "a" em cada Quadro**; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.