

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ACHADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E MÉTODOS DE CONTROLE DA  
INTOXICAÇÃO POR *Pteridium (aquilinum) arachnoideum***

**FABIANA MARQUES BOABAID**

Porto Alegre

Março / 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ACHADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E MÉTODOS DE CONTROLE DA  
INTOXICAÇÃO POR *Pteridium (aquilinum) arachnoideum***

**FABIANA MARQUES BOABAID**

Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutora em Ciências Veterinárias na área de concentração de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**Orientador:** Prof. Dr. David Driemeier

Porto Alegre

Março / 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Boabaid, Fabiana Marques

Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) arachnoideum* / Fabiana Marques Boabaid. -- 2015.

73 f.

Orientador: David Driemeier.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. samambaia. 2. controle de plantas tóxicas. 3. doença de bovinos. I. Driemeier, David, orient. II. Título.

**FABIANA MARQUES BOABAID**

**ACHADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS E MÉTODOS DE CONTROLE DA  
INTOXICAÇÃO POR *Pteridium (aquilinum) arachnoideum***

Aprovado em: 20/03/2015

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. David Driemeier  
Orientador e presidente da comissão

---

Prof. Dr. Aldo Gava  
Membro da comissão

---

Prof. Dr. Cristiano Feltrin  
Membro da comissão

---

Prof. Dr. Cláudio Estêvão Farias da Cruz  
Membro da comissão

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro agradeço a Deus pela vida e pelas pessoas especiais que eu sempre tive por perto.

Aos meus pais, Miguelito e Tania, por todo amor e apoio em tudo que eu faço. A meu irmão, a Giovanna e Elaine, também por todo amor e carinho.

A toda minha família, todos são fundamentais na minha vida. Dessa vez em especial a minha avó Benedita (*in memorian*), da qual não pude estar por perto no ano passado.

As minhas grandes amigas Claudiane, Liana e Michele e suas famílias, por toda amizade, por sempre me receberem como se jamais estivéssemos longe.

Ao Luiz por todo companheirismo e parceria, pelo exemplo de pessoa e por proporcionar ter mais uma família.

A todos os colegas e amigos do SPV-UFRGS, isso inclui os colegas da pós, estagiários e funcionários do setor, foi muito bom poder aprender e viver com todos vocês. Vou levar muitas boas lembranças e grandes amigos. Em especial a todos aqueles que ajudaram na execução desse trabalho e a ida aos EUA.

Aos funcionários e proprietários da Itapuã, em especial ao Deli e André.

A todos aqueles com quem morei durante esses anos em POA, por terem sido minha família em muitos momentos.

A todas as pessoas da UGA por terem nos recebido tão bem e compartilhado os seus conhecimentos sobre a patologia, em especial a Dr. Corrie Brown, Dr. Elizabeth Howerth, Dr. Rita Macmanamon, Daniel Rissi e Dr. Blás. E aos amigos que fizemos lá, em especial a Alma e sua família, Yari, Chris, Putri, Eric, Taline e Mariani.

Ao prof. Edson pelo grande exemplo profissional, por ter incentivado e acreditado em nós.

Aos professores do setor Cláudio Cruz, Lu e Saulo pelos ensinamentos no dia a dia. Ainda ao prof. Cláudio pelas ajudas nesse trabalho e incentivos, e a Lu pela amizade, apoio e inspiração profissional.

Ao meu orientador prof. David Driemeier por todas as oportunidades, pelos incentivos, pelo grande exemplo de profissional e pela amizade nesses anos.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	11
2.1. Aspectos botânicos de <i>Pteridium arachnoideum</i> .....	11
2.2. Princípio tóxico e toxidez .....	14
2.3. Intoxicação por <i>P. arachnoideum</i> em bovinos .....	16
2.3.1. Diátese hemorrágica.....	16
2.3.2. Hematúria enzoótica .....	18
2.3.3. Carcinomas do trato digestório superior .....	20
2.4. Intoxicação por <i>Pteridium arachnoideum</i> em ovinos .....	22
2.5. Intoxicação por <i>Pteridium arachnoideum</i> em monogástricos.....	24
2.6. Importância de <i>Pteridium arachnoideum</i> para seres humanos.....	26
2.7. Formas de controle de plantas tóxicas.....	28
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
3.1. Escolha do local de estudo .....	32
3.2. Identificação botânica.....	32
3.3. Necropsia e análises histológicas .....	32
3.4. Controle de <i>Pteridium arachnoideum</i> por uso de herbicidas .....	33
3.5. Controle de <i>Pteridium arachnoideum</i> por pastejo de ovinos .....	34
<b>4. RESULTADOS</b> .....	37
4.1. Descrição do local do estudo e das perdas de bovinos na propriedade .....	37
4.2. Identificação botânica.....	38
4.3. Quadro clínico-patológico dos bovinos com diátese hemorrágica.....	38
4.4. Quadro clínico-patológico dos bovinos com carcinoma do trato digestório superior .....	48
4.5. Controle de <i>Pteridium arachnoideum</i> através do uso de herbicidas .....	54
4.6. Controle de <i>Pteridium arachnoideum</i> por pastejo de ovinos .....	54

<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	60
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	65
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	66

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Classificação das espécies do gênero *Pteridium* e a sua ocorrência de acordo com Thomson e seus colaboradores (2008). Fonte: HOJO-SOUZA, CARNEIRO e SANTOS, 2010..... **12**

**Tabela 2** - Parâmetros clínicos e quantidade diária de samambaia consumida pelos ovinos do experimento de indução. .... **57**



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Classificação taxonômica de *Pteridium aquilinum*, com suas subespécies e variedades. Fonte: GIL da COSTA et al., 2012..... 11
- Figura 2 Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Aspectos morfológicos. (A) Folha bipinada com superfície adaxial glabra. (B) Folha fértil com soros marginados na superfície abaxial. (C) Broto emergido entre gramíneas. (D) Rizomas subterrâneos (setas)..... 13
- Figura 3 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum* em uma propriedade do Rio Grande do Sul:** Vias de exposição de seres humanos ao ptaquilosídeo (1). Fonte: Adaptado de GIL da COSTA et al., 2012. .... 26
- Figura 4 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Lote de ovinos introduzidos em campo nativo infestado com samambaia..... 34
- Figura 5 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Diferentes padrões de invasão da samambaia nos piquetes da propriedade estudada e aparência do solo. (A) Formação de touceiras isoladas em meio à pastagem de campo nativo. (B) Plantas estabelecidas nas margens das valas de condução de água. (C) Áreas totalmente cobertas pela planta. (D) Solo de turfa encontrado na propriedade. .... 38
- Figura 6 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Bovinos da propriedade com síndrome hemorrágica aguda. (A) Pelos aglutinados por sangue seco na região cervical lateral após aplicação de medicamento. (B) Sangramento gotejante após picada de inseto. (C) Sangramento profuso pela narina. (D) Fezes diarréicas com coágulos de sangue..... 39
- Figura 7 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Intoxicação aguda em um lote de bezerros após introdução em um piquete com grande quantidade de brotos de samambaia após

roçagem. (A) Piquete em que os bezerros foram introduzidos. (B) Bezerros doentes que pertenciam ao lote afetado. (C) Bezerro com apatia e aumento do tempo de sangramento após a punção da veia jugular. (D) Mesmo animal da figura anterior com hemorragia na esclera. .... 40

**Figura 8 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** (A) Mucosa conjuntival pálida e com hemorragias petequiais. (B) Área extensa de hemorragia no tecido subcutâneo na região do tórax. .... 41

**Figura 9 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. (A) Hemorragias petequiais a sufusivas multifocais na serosa do rúmen. (B) Duodeno com o lúmen preenchido por sangue coagulado. (C) Cólon espiral com grande quantidade de sangue no lúmen e serosa do ceco com hemorragias multifocais. (D) Parede do rúmen difusamente espessada, friável e hemorrágica. .... 42

**Figura 10 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. (A) Úlcera (seta) e grande coágulo de sangue na porção pilórica do abomaso. (B) Hemorragias extensas na parede da vesícula biliar. .... 43

**Figura 11 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. (A) Artéria pulmonar com área espessada contendo hemorragia. (B) Infarto hepático focal visível à superfície capsular. (C) Áreas multifocais a coalescente de infarto na superfície de corte do fígado. (D) Ampla área de infarto com hemorragia visível à superfície pulmonar... 44

**Figura 12 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. (A) Edema e ampla hemorragia na região retrofaringea. (B) Edema da região peri-faríngea. (C) Espessamento da parede da laringe por edema. (D) Hemorragias sufusivas na mucosa da laringe e edema com amplas áreas de hemorragia na faringe e tecidos periféricos. .... 45

**Figura 13 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. (A) Medula

óssea sem alterações em bovino normal. HE, obj.10x. **(B)** Medula óssea com depleção acentuada das células precursoras hematopoiéticas em bovino com diátese hemorrágica. HE, obj.10x..... 46

**Figura 14 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. **(A)** Hemorragia focalmente extensa da mucosa do intestino grosso. HE, obj.10x. **(B)** Pulmão com acentuada deposição alveolar difusa de fibrina e edema, além de hemorragia multifocal moderada nos septos alveolares. HE, obj.20x. .... 46

**Figura 15 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. **(A)** Fígado com áreas multifocais a coalescentes de infarto com numerosas bactérias ao centro. HE, obj.10x. **(B)** Pulmão com área extensa de infarto, acentuada deposição alveolar difusa de fibrina e edema, além de hemorragia multifocal moderada nos septos alveolares. HE, obj.10x..... 47

**Figura 16 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. **(A)** Edema difuso acentuado da laringe, com numerosas bactérias, HE, obj.10x. **(B)** Submucosa da laringe com edema difuso acentuado, com trombose e numerosas bactérias. HE, obj.20x..... 47

**Figura 17 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Carcinomas do trato digestório superior. **(A)** Bovino com 12 anos, fêmea: observa-se péssimo estado corporal e o aprofundamento dos globos oculares (desidratação). **(B)** Bovino com seis anos, fêmea: além do péssimo estado corporal e do aprofundamento dos globos oculares, observa-se timpanismo ruminal..... 48

**Figura 18 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Carcinomas do trato digestório superior. **(A)** Massa tumoral invasiva e exofítica na superfície da língua **(B)** Massa tumoral invasiva e exofítica na língua, faringe e epiglote **(C)** Massas tumorais multifocais no esôfago, de natureza invasiva, por vezes exofítica (porção média) e, em outros casos, endofítica

(terço cranial) **(D)** Massa tumoral invasiva e de natureza endofítica com crescimento anelar estenosante..... 49

**Figura 19 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Carcinomas do trato digestório superior. (A)** Massas tumorais invasivas em superfície de corte da língua, de coloração brancacenta e áreas amareladas correspondentes às concreções de queratina. **(B)** Superfície mucosa do esôfago com inúmeros tumores com até 1,0 cm de diâmetro, de crescimento exofítico e aspecto papilomatoso..... 50

**Figura 20 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Locais de metástase dos carcinomas do trato digestório superior. (A)** No linfonodo periesofágico, observa-se obliteração do córtex e medula por massa tumoral de coloração brancacenta com áreas amareladas. **(B)** Fígado, superfície capsular irregular, com massa tumoral ocupando aproximadamente 50% da área original do órgão. **(C)** Fígado, a veia porta hepática está preenchida por uma massa tumoral de coloração brancacenta a amarelada **(D)** Fígado, na superfície de corte, a massa tumoral está dividida por septos de tecido conjuntivo fibroso em múltiplos lóbulos que estão comprimindo o parênquima hepático adjacente. .... 51

**Figura 21 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: (A)** Rúmen, proliferação neoplásica invasiva de células escamosas com formação de pérolas de queratina. HE, obj.4x. **(B)** Visão aproximada de uma pérola de queratina. HE, obj.20x. **(C)** Observa-se infiltrado de linfócitos e plasmócitos na periferia da neoplasia, além de múltiplas células neoplásicas mineralizadas. HE, obj.20x. **(D)** Infiltração neoplásica constatada no fígado. HE, obj.20x..... 53

**Figura 22 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Experimento de indução de consumo por ingestão voluntária de samambaia por ovinos..... 55**

**Figura 23 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Representação gráfica dos valores plaquetários dos dois ovinos ao longo do tempo de experimento de indução ao consumo de**

*Pteridium arachnoideum*. A amostra de sangue do ovino 1, coletada no 22º dia, apresentou agregação plaquetária, o que impossibilitou sua contagem. .... 58

**Figura 24 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) arachnoideum*:** aspecto visual da cobertura vegetal da área experimental. **(A)** Severa infestação por samambaia, em abril de 2012, antes da introdução dos ovinos. **(B)** Vegetação baixa após roçada, em julho de 2012; ovinos introduzidos há aproximadamente dois meses. **(C)** Severa infestação por samambaia e supressão da vegetação restante do campo, em janeiro de 2013; ovinos introduzidos há aproximadamente oito meses. .... 59

## RESUMO

A infestação de pastagens por populações de *Pteridium arachnoideum* é um problema que afeta a pecuária, em diversas partes do mundo. Os efeitos deletérios da infestação pela planta sobre a bovinocultura são manifestados na forma de mortalidades e de redução das áreas de pastagens, assim como de perdas produtivas. Devido à importância dessas perdas na produção de bovinos, foi proposto o acompanhamento de uma propriedade do Rio Grande do Sul com problemas decorrentes da infestação pela planta em sua casuística e métodos de controle empregados. Adicionalmente, realizou-se teste da viabilidade de ovinos como ferramenta de controle biológico. Dos casos de intoxicação naturais acompanhados na propriedade, observou-se a ocorrência de quadro agudo de diátese hemorrágica e de quadro crônico de carcinomas do trato digestório superior. Observou-se que quando expostos a fatores predisponentes, como a introdução em áreas recentemente roçadas, os bovinos podem consumir altas doses da planta e assim desenvolver a enfermidade aguda em forma de surtos. Em diversos bovinos jovens com quadro de diátese hemorrágica, além das hemorragias disseminadas e infartos múltiplos, observou-se acentuado edema laríngeo, que cursava clinicamente com dispneia e estertores respiratórios característicos. Os carcinomas do trato digestório superior, apesar de menos frequentes, causaram expressivas perdas devido a mortalidades anuais de matrizes. A tentativa de controle pelo pastejo por ovinos não foi eficiente, devido ao consumo pouco expressivo na lotação praticada. Mortalidade de ovinos, no entanto, decorrente do consumo da planta não foi registrada. O método de combate à planta aplicado na propriedade combinava ou associava a roçagem em áreas densamente povoadas com o uso de herbicidas, nomeadamente metilsulfuron-metil e picloram, em todos os piquetes. A redução da cobertura da *P. arachnoideum* foi variada em diferentes piquetes; entretanto, possibilitou a recuperação de algumas áreas de pastejo.

**Palavras chaves:** Samambaia, controle de plantas tóxicas, doenças de bovinos.

## ***ABSTRACT***

The infestation of pastured areas by *Pteridium arachnoideum* populations has been a considerable and global problem to the livestock production. The deleterious effects of the plant infestation on cattle are manifested as animal mortality and pasture coverage reduction. Given the importance of *P. arachnoideum* in cattle production, it has been proposed to monitor a beef cattle farm in Rio Grande do Sul, to assess some of the losses associated with the plant consumption apart of the methods employed for controlling the plant. In addition, the viability of sheep's grazing as a biological control tool was tested. Cases of natural poisoning observed in the farm included the acute form, known as hemorrhagic diathesis as well as the chronic form, consisting in digestive carcinomas. When cattle were exposed to any predisposing factor, such as being moved to newly mowed areas, it was noted that the amount of plant consumed can readily lead to an outbreak of acute poisoning. Several cases of hemorrhagic diathesis in young cattle went along with marked laryngeal edema, which was clinically manifested as dyspnea and roaring, in addition to the classic pathological changes of widespread hemorrhages and infarcts. Even though less frequent, carcinomas of the upper digestive tract caused significant losses, due to annual mortality of mature cows. The attempt through grazing by sheep wasn't efficient to control *P. aquilinum*, due to the low consumption of the plant seen in the actual stocking. However, sheep mortality, by *P. arachnoideum* consumption was not recorded. The plant control method applied at the farm combined mowing of densely populated areas with herbicide applications, namely metilsulfuron-methyl and picloram, in all paddocks. The reduction of *P. arachnoideum* coverage was varied in different paddocks; however, allowed the recovery of some grazing areas.

**Keywords:** Bracken fern, poisonous plants control, diseases of cattle.

## 1. INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Pteridium*, pertencente ao filo Pteridophyta e à família Dennstaedtiaceae, estão distribuídas em todo mundo, exceto na Antártida. As plantas são popularmente conhecidas no Brasil como samambaias e incluem diversas outras denominações: samambaia-do-campo, samambaia-das-taperas, samambaia-das-queimadas, pluma, palma-de-Santa-Luzia e feto. Recentemente, a planta foi reclassificada conforme caracteres genéticos e morfométricos e recebeu nova denominação específica *Pteridium arachnoideum*, a qual consta no título desse trabalho, juntamente com o antigo epíteto da espécie *aquilinum*, entre parênteses (THOMSON, MICKEL, MEHLTRETER, 2008; TOKARNIA et al., 2012).

A planta contém dois tipos de princípios tóxicos, um ptaquilosídeo de ação radiomimética e a tiaminase tipo I, enzima que inativa a tiamina (vitamina B1). Enquanto o ptaquilosídeo é responsável pelo efeito anti-hematopoético e carcinogênico em ruminantes, a tiaminase tipo I ocasiona quadro clínico neurológico, neuromuscular, além de arritmias cardíacas, principalmente, em equinos (HIRONO et al., 1984; MATOS et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

A intoxicação por essa planta tem sido responsável por grandes perdas econômicas para criadores de bovinos, em todo mundo, já que nesta espécie ela é responsável por três importantes doenças clínicas: uma aguda, a diátese hemorrágica, e duas crônicas, a hematúria enzoótica e os carcinomas de trato digestório superior (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002). Tem também ocasionado preocupações em saúde pública, devido ao risco do princípio ativo ser encontrado em produtos de origem animal, além dos prejuízos ecológicos ocasionados pelo seu comportamento invasivo, em matas e florestas (HOJO-SOUZA, CARNEIRO, SANTOS 2010; GIL da COSTA et al., 2012).

No Brasil, as intoxicações por plantas têm estado entre as maiores causas de perdas econômicas para a bovinocultura, equiparando-se a enfermidades como botulismo e raiva (TOKARNIA et al., 2012). Levantamentos realizados, em arquivos de laboratórios de diagnóstico localizados no sul do Brasil, demonstram que a intoxicação por plantas é uma das principais causas de mortes em bovinos nessa região (RISSI et al., 2007; PEDROSO et al., 2007; CASAGRANDE et al., 2008; LUCENA et al., 2010; LUCENA et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012). Dentre as



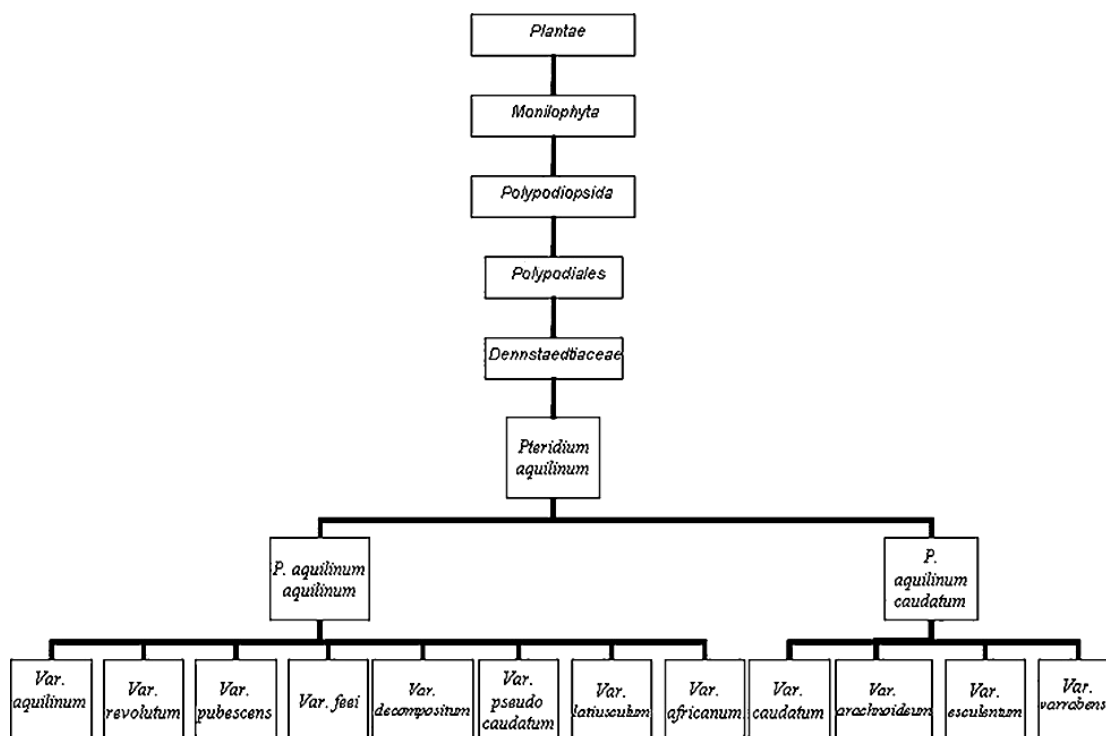
intoxicações observadas no Rio Grande do Sul, a determinada por samambaia (*P. arachnoideum*) tem sido indicada como a segunda mais importante para bovinos, perdendo apenas para intoxicação por plantas do gênero *Senecio* (RISSI et al., 2007; LUCENA et al., 2010).

Como a doença tem caráter irreversível, diversos estudos desenvolvidos, principalmente, na Europa têm investigado técnicas para o controle de *Pteridium*, através de práticas mecânicas, agentes químicos, ou biológicos. Tratamentos com herbicidas são, atualmente, os métodos considerados mais efetivos de controle, porém requerem aplicação intensiva por longos períodos e apresentam resultados variáveis. Dessa forma, justifica-se o estudo continuado de métodos alternativos de controle da planta (ROBINSON, 1999; PAPAVALASOPOULOS, 2003).

Este trabalho tem como objetivos descrever os achados clínico-patológicos da intoxicação por *P. arachnoideum* em uma propriedade dedicada à bovinocultura de corte no estado do Rio Grande do Sul, bem como os métodos de controle de populações de *P. arachnoideum* empregados nesta propriedade.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA Aspectos botânicos de *Pteridium arachnoideum*

O gênero *Pteridium* está classificado na família Dennstaedtiaceae (McKENZIE, 2012) e, até recentemente, possuía uma única espécie, denominada *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (= *Pteris aquilina* L.). Essa espécie possuía duas subespécies, *Pteridium aquilinum* ssp. *aquilinum*, com oito variedades e *Pteridium aquilinum* ssp. *caudatum*, com quatro variedades (GIL da COSTA et al., 2012) (Figura 1).



**Figura 1 – Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Classificação taxonômica de *Pteridium aquilinum*, com suas subespécies e variedades. Fonte: GIL da COSTA et al., 2012.

Estudos recentes, baseados em análises genéticas relacionadas aos aspectos morfométricos, têm proposto que as diversas variedades seriam de fato espécies distintas e a espécie presente no sul do Brasil se trataria de *Pteridium arachnoideum* (THOMSON, ALONSO-AMELOT, 2002; THOMSON, MICKEL, MEHLTRETER, 2008; DER et al., 2009). A classificação proposta por Thomson e seus colaboradores está resumida na Tabela 1.

**Tabela 1** - Classificação das espécies do gênero *Pteridium* e a sua ocorrência de acordo com Thomson e seus colaboradores (2008). Fonte: HOJO-SOUZA, CARNEIRO e SANTOS, 2010.

ESPÉCIE	SUBESPÉCIE	OCORRÊNCIA
<b><i>P. aquilinum</i> (L.) Kuhn</b> Linhagem diploide (2n=104)	<i>latiusculum</i>	América do Norte
	<i>pinetorum</i>	Europa
	<i>japonicum</i>	Ásia
	<i>capense</i>	África subsaariana
	<i>aquilinum</i>	Europa
	<i>wightianum</i>	Índia, Sudeste da Ásia e Norte da Austrália
	<i>decompositum</i>	Ilhas do Hawai
	<i>centrali-africanum</i>	África subsaariana
	<i>pseudocaudatum</i>	Leste da América do Norte
	<i>pubescens</i>	América do Norte
<i>feeii</i>	América Central	
<b><i>P. esculentum</i> (G. Frost.) Cockayne</b> Linhagem diploide (2n=104)		Hemisfério Sul (Austrália)
<b><i>P. arachnoideum</i> (Kaulf.) Maxon</b> Linhagem diploide (2n=104)		Hemisfério Sul (América do Sul)
<b><i>P. caudatum</i> (L.) Maxon</b> Linhagem alotetraploide (4n=208)		Norte da América do Sul e América Central
<b><i>P. semihastatum</i> (Wall. Ex J. Agardh) S.B.Andrews</b> Linhagem alotetraploide (4n=208)		Sudoeste da Ásia e Norte da Austrália

*P. arachnoideum* é uma espécie perene, rizomatosa (com caule subterrâneo), com folhas grandes, eretas, bipinadas, com pinas profundamente lobadas, glabras ou com pelos lanuginosos com cor de ferrugem na face dorsal. Suas folhas se estendem ao longo dos rizomas formando touceiras densas que medem de 50 a 180 cm de altura (MATOS et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012). Os rizomas podem ter de 2,0 a 2,5 cm de diâmetro e podem atingir até 50 cm de profundidade, no solo. Essas estruturas conferem resistência a queimadas e são responsáveis por armazenamento de carboidratos (ULIAN et al., 2010).

A samambaia é resistente em diversos tipos de ambientes e apresenta alta capacidade invasora por se propagar de forma vegetativa e assexuada. A propagação vegetativa se dá por meio de rizomas, enquanto que a assexuada ocorre através de esporos que, nas épocas secas, são lançados na atmosfera e permitem à planta se espalhar por centenas de quilômetros e colonizar outros locais (Figura 2) (ULIAN et al., 2010; MATOS et al., 2011).



**Figura 2** Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) arachnoideum*: Aspectos morfológicos. (A) Folha bipinada com superfície adaxial glabra. (B) Folha fértil com soros marginados na superfície abaxial. (C) Broto emergido entre gramíneas. (D) Rizomas subterrâneos (setas).

Sendo uma das cinco plantas de maior abundância na Terra, a samambaia ocorre em regiões de clima tropical e temperado, possui comportamento invasivo em campos, matas ciliares, capoeiras e nas bordas de estradas e florestas. Devido ao seu comportamento invasivo, pode se tornar uma erva daninha difícil de controlar e determinar prejuízos econômicos decorrentes da sua toxicidade para bovinos, assim como danos ecológicos, associados com a invasão de matas e florestas (GIL da COSTA et al., 2012). É encontrada com frequência em regiões frias, de boa pluviosidade, com solos ácidos, bem drenados e de baixa fertilidade (LORENZI, 2000; TOKARNIA et al., 2012).

## **2.2. Princípio tóxico e toxidez**

A intoxicação por *P. arachnoideum* é ocasionada por dois tipos de princípios tóxicos, um princípio radiomimético, que produz quadros patológicos, principalmente, em ruminantes e a tiaminase tipo I, enzima que inativa a tiamina (vitamina B1). Essa enzima é responsável por um quadro clínico neurológico, neuromuscular e arritmias cardíacas, principalmente, em equinos, já que a microbiota de ruminantes produz grande quantidade de tiamina (TOKARNIA et al., 2012). O princípio radiomimético, como o próprio nome diz, age de maneira semelhante à radiação ionizante em células vivas, ou seja, tem potencial carcinogênico e efeito anti-hematopoético (HIRONO et al., 1984).

*P. arachnoideum* possui uma grande variedade de compostos químicos, com atividades biológicas ainda desconhecidas. Diversas substâncias, como ácido chiquímico, quercitina e taninos já foram isolados de *P. arachnoideum* e indicados como responsáveis por esses efeitos mutagênicos e carcinogênicos (HIRONO, FUSHIMI, MATSUBARA, 1977; FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; GIL da COSTA et al., 2012). Entretanto, somente o composto denominado ptaquilosídeo, um glicosídeo norsesquiterpênico intermediário da biossíntese de pterosídeos, parece realmente induzir quadros de intoxicação aguda e crônica em animais. O ptaquilosídeo foi descoberto em 1984 simultaneamente, por dois grupos de pesquisa, um do Japão e outro da Holanda (GIL da COSTA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012).

Depois disso, diversos trabalhos comprovaram o potencial carcinogênico e o efeito radiomimético do ptaquilosídeo, ou da planta integral, pois reproduziram, experimentalmente, processos neoplásicos e quadros de diátese hemorrágica, em diversas espécies animais. A diátese hemorrágica ocorre devido ao princípio ativo que leva à aplasia de medula e lesões na parede de vasos com aumento da permeabilidade vascular (GIL da COSTA et al., 2012; TOKARNIA et al., 2012).

Os quadros de neoplasias parecem estar relacionados ao potencial carcinogênico dos compostos químicos presentes na samambaia. Também tem sido sugerido que carcinomas do trato digestório superior ocorram por que as substâncias carcinogênicas multipliquem a quantidade de papilomas determinados pelo papilomavírus bovino e diminuam o seu mecanismo de regressão espontânea. Sendo assim, o vírus promoveria um alvo celular amplificado para ação dos cocarcinógenos químicos da samambaia e a conseqüente transformação de papilomas em carcinomas. Ou seja, o princípio ativo de *P. arachnoideum* teria um efeito imunodepressor que limitaria a eficiência da resposta imunológica dos animais frente a um vírus capaz de induzir lesões tumorais (RIET-CORREA, MÉNDEZ, 2007; TOKARNIA et al., 2012).

Todas as partes da planta são tóxicas, sobretudo os rizomas. As folhas e os brotos, os quais são preferidos por animais em pastejo, acumulam maior quantidade de princípio tóxico, ou seja, com a maturação da planta, seu efeito tóxico reduz. Os animais, normalmente, ingerem a planta quando estão com fome, na época de escassez de forragem, quando há maiores taxas de lotação nos campos, ou ainda após queimadas ou roçadas, quando ocorre a rebrota da samambaia, antes das demais plantas forrageiras (BARROS et al., 1987; TOKARNIA et al., 2012).

A samambaia mantém sua toxicidade mesmo após a fenação e há indícios de que os animais possam desenvolver vício após as primeiras ingestões. Há ainda trabalhos que demonstram variação da toxidez da planta em relação à distribuição geográfica, subespécies e variedades. Os estudos sugerem diferença de efeito carcinogênico entre espécimes coletadas em locais distintos, o que influenciaria na ocorrência de uma ou outra forma crônica (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; TOKARNIA et al., 2012).

O efeito carcinogênico de *P. arachnoideum* pode variar em função da espécie animal, já que a ingestão prolongada da planta por bovinos leva à formação de

tumores na bexiga ou no trato digestório superior, enquanto que ovinos e ratos intoxicados experimentalmente, desenvolvem, normalmente, adenocarcinomas intestinais. O quadro clínico pode variar ainda em função da quantidade de planta ingerida e do tempo de ingestão, assim bovinos que ingerem grande quantidade da planta em um curto espaço de tempo tendem a desenvolver diátese hemorrágica; enquanto, aqueles que a ingerem, cronicamente e em pequenas quantidades, podem desenvolver processos neoplásicos (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; GIL da COSTA et al., 2012).

### **2.3. Intoxicação por *P. arachnoideum* em bovinos**

#### **2.3.1. Diátese hemorrágica**

A diátese hemorrágica é uma síndrome hemorrágica aguda que acomete bovinos de todas as faixas etárias, mas, principalmente, até dois anos de idade. Normalmente, a doença tem ocorrência esporádica, com baixa morbidade e alta mortalidade. Quando ocorrem surtos, estes estão associados a fatores agravantes, como escassez de pastagem, alta lotação, transporte prolongado, carência de fibra na dieta, entre outros (TOKARNIA et al., 2012). Geadas recentes e tentativas de controle da planta (roçadas e queimadas) causam o aparecimento de grande quantidade de brotos, forma mais tóxica da planta (GAVA et al., 2002; FURLAN et al., 2014b).

A ingestão de doses diárias acima de 10g/kg, durante semanas ou meses, provoca quadro clínico de diátese hemorrágica que se inicia de três a oito semanas após o início da ingestão da planta (TOKARNIA et al., 2007). Em quatro bovinos, a intoxicação aguda foi reproduzida com doses de 8 a 10,6g/kg, durante 53 a 58 dias, em que a quantidade de planta necessária para causar a doença correspondeu, em média, a 54% do peso vivo dos bovinos (ANJOS et al., 2008).

Os sinais clínicos, geralmente, têm evolução aguda, podem variar de seis horas até quinze dias e consistem em hipertermia (40-42°C), perda de condição corporal, hemorragias em mucosas, secreção nasal muco-sanguinolenta e sangramento prolongado após ferimentos, injeções, ou picadas de insetos. Pode se constatar ainda, mucosas pálidas, fezes com sangue coagulado, diarreia fétida, anorexia, hematúria (porém sem lesões neoplásicas ou não neoplásicas), salivação e dificuldade

respiratória com edema de glote (ANJOS et al., 2008; SONNE et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

Exames hematológicos revelam trombocitopenia, aumento no tempo de coagulação, leucopenia por neutropenia, altos valores relativos de linfócitos que causam a falsa impressão de linfocitose. Na fase final, pode haver anemia e aumento da permeabilidade vascular (HIRONO et al., 1984; TOKARNIA et al., 2007; ANJOS et al., 2008; SONNE et al., 2011; ANJOS et al., 2009).

Os achados de necropsia dos bovinos com diátese hemorrágica se caracterizam, principalmente, por palidez de mucosas e órgãos internos, hemorragias de diversas formas e distribuições nas serosas e mucosas dos órgãos das cavidades torácica e abdominal como intestinos, pré-estômagos e abomaso e no parênquima de órgãos como baço, rins, pulmão e fígado. Pode haver ainda úlceras na mucosa do abomaso, coágulos de sangue e fibrina na luz intestinal, infarto renal e hepático, edema e hemorragias laringotraqueais e pulmonares (ANJOS et al., 2008; ANJOS et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012).

Na histologia, as lesões são hemorragias, úlceras e áreas de infartos condizentes com as alterações observadas no exame macroscópico. No entanto, o achado histológico mais importante consiste em acentuada aplasia do tecido hematopoiético associada com, redução acentuada no número de células das linhagens granulocítica, eritrocítica e megacariocítica, além de distensão de sinusoides e evidenciação de adipócitos da medula óssea (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; ANJOS et al., 2009; SONNE et al., 2011)

O diagnóstico de quadros agudos é realizado com base nas alterações hematológicas, macroscópicas e histológicas associadas com o histórico da ingestão da planta pelos animais. Deve-se fazer diagnóstico diferencial com outras enfermidades que cursam com diátese hemorrágica, ou septicemia. Infecção por *Mannheimia haemolytica* (febre do embarque), ou por *Bacillus anthracis* (carbúnculo hemático), anaplasmose, leptospirose, envenenamento por cumarínico e acidentes ofídicos com *Bothrops* spp. são enfermidades que devem ser diferenciadas, clinicamente, da diátese hemorrágica pelo consumo de *P. arachnoideum* (SIPPEL, 1952; BARROS et al., 1987; TOKARNIA et al., 2012).

O tratamento de bovinos com quadro de intoxicação aguda por *P. arachnoideum* é apenas sintomático e raramente, o animal se recupera. Entre as medidas de



tratamento, relata-se o uso de transfusões de sangue, antibioticoterapia para combater infecções secundárias, uso de anti-inflamatórios corticosteroides visando a estabilização de membranas celulares e aplicação endovenosa de sulfato de protamina, um inibidor da ação anticoagulante da heparina (RADOSTITIS et al., 2002, TOKARNIA et al., 2012).

### **2.3.2. Hematúria enzoótica**

A hematúria enzoótica é uma apresentação crônica da intoxicação por *P. arachnoideum* caracterizada pela ocorrência de hiperplasia, ou processos neoplásicos na mucosa da bexiga. Também é denominada hematúria vesical bovina, cistite crônica hemorrágica e hematúria vesical crônica (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002). Ocorre quando os bovinos ingerem uma quantidade inferior a 10g/kg/dia da planta, durante seis meses a anos. Por esse motivo, os animais afetados, normalmente, têm idade superior a quatro anos e a doença é observada, principalmente, em vacas leiteiras e bovinos utilizados para tração, pois são categorias animais, usualmente, mantidas por tempo prolongado nos rebanhos. A enfermidade tem sido descrita, principalmente, em locais com altitude de 200 a 1000 metros e não é observada em todas as regiões em que se encontra *P. arachnoideum*. Tal fato pode ser devido à variabilidade da atividade carcinogênica, da variedade da planta, ou da concentração do princípio ativo estarem associadas com determinadas regiões (GAVA, 1993; TOKARNIA et al., 2012).

O quadro clínico da hematúria enzoótica se caracteriza, principalmente, pela ocorrência de hematúria intermitente, ou contínua, palidez acentuada de mucosas e emagrecimento progressivo (SOUTO et al., 2006b). Pode haver incontinência urinária, micção frequente, obstruções e infecções secundárias no sistema urinário. O tempo de sobrevivência é variável, mas pode se prolongar por até mais de dois anos (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; TOKARNIA et al., 2012; GALVÃO et al., 2012). Os sinais clínicos podem cessar durante um período e reaparecer, subsequentemente, com ou sem ingestão adicional de *P. arachnoideum* (GALVÃO et al., 2012).

No exame hematológico, os animais apresentarão quadro de anemia progressiva, redução do hematócrito, aumento da fragilidade de eritrócitos, bem como

neutropenia e alteração de linfócitos (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; GABRIEL et al., 2009).

Bovinos com quadro clínico de hematúria enzoótica podem apresentar urina misturada com sangue, ou coágulos na bexiga. Na mucosa da bexiga pode haver congestão, ectasia vascular, hemorragias multifocais, ou formações nodulares. Esses nódulos vesicais podem apresentar diversos tamanhos, de milímetros a centímetros de diâmetro, com superfície lisa (polipoides), ulcerada, papiliformes (aspecto de couve-flor), pedunculada, cística, multilobulada, ou em placas. Apresentam coloração esbranquiçada, amarelada, ou avermelhada e distribuição focal, ou em toda a superfície da mucosa. Pode ocorrer espessamento, ou infiltração neoplásica na parede da bexiga (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; OLIVEIRA et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

Secundariamente, em casos mais graves, pode haver hidronefrose com hidroureter, pielonefrite, infartos renais, ruptura da parede da bexiga e do ureter, obstrução parcial do óstio uretral e mais, raramente, metástases de tumores da bexiga em linfonodos regionais, peritônio, ureteres e rins (GABRIEL et al., 2009; NUNES et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Bovinos com hematúria enzoótica podem apresentar, de forma concomitante, carcinomas no trato digestório superior (GABRIEL et al., 2009; GALVÃO et al., 2012).

Na histologia, as lesões vesicais são classificadas em não-neoplásicas e neoplásicas. Aquelas podem ser acompanhadas, ou não de processos neoplásicos e incluem ectasia, congestão e proliferação de capilares, hemorragias, ectasia de vasos linfáticos, displasia urotelial, microcistos uroteliais, hiperplasia urotelial, ninhos de Brunn, cistite cística, alterações metaplásicas e infiltrado inflamatório, principalmente, linfoplasmocitário (PEIXOTO et al., 2003; GABRIEL et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

Em relação às lesões neoplásicas, há grande diversidade de tumores que já foram descritos na bexiga de bovinos com hematúria enzoótica e o comportamento das lesões pode ser maligno, ou benigno (PEIXOTO et al., 2003). Os tumores podem ser de origem epitelial como, por exemplo, carcinoma *in situ*, carcinoma urotelial, adenocarcinoma urotelial, carcinoma de células escamosas, papilomas uroteliais, ou de origem mesenquimal como, por exemplo, hemangiomas, hemangiossarcomas, leiomiomas e mixomas (PEIXOTO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2011).

Não é incomum, encontrar-se na bexiga de um mesmo bovino, diversos tipos de neoplasias, inclusive de origem epitelial e mesenquimal concomitantes, o que dificulta a classificação das neoplasias vesicais. As neoplasias vesicais observadas nos bovinos com hematúria enzoótica, semelhantemente, ao que é descrito em tumores na bexiga de humanos expostos à radiação ionizante, podem apresentar anaplasia acentuada, caráter infiltrativo e diferenciações raras, porém, raramente, produzem metástases (PEIXOTO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2011; TOKARNIA et al., 2012).

O diagnóstico de hematúria enzoótica pode ser realizado com base no histórico de ingestão de *P. arachnoideum*, nas lesões macroscópicas e nos achados histopatológicos. O diagnóstico diferencial deve incluir outras enfermidades que cursam com hematúria, ou hemoglobínúria, como lesões traumáticas no trato urogenital, ou babesiose (TOKARNIA et al., 2012).

Não há tratamento descrito para bovinos com hematúria enzoótica. Mesmo após a retirada dos animais de locais invadidos por *Pteridium* sp. ocorre morte, em aproximadamente dois anos e os sobreviventes apresentarão baixa produtividade. Portanto, a transferência dos bovinos afetados para regiões livres da planta pode ser uma medida ineficaz e, economicamente, inviável (TOKARNIA et al., 2012; GALVÃO et al., 2012).

### **2.3.3. Carcinomas do trato digestório superior**

A ocorrência de papilomatose alimentar e de carcinomas de células escamosas no trato digestório superior tem sido frequente em bovinos mantidos em locais infestados por *P. arachnoideum*. Diversos trabalhos, no Brasil e em outros países, têm estudado a correlação entre a alta incidência dos carcinomas e a persistência dos papilomas alimentares causados por papilomavírus bovino tipo 4 (BPV-4) com os carcinógenos presentes na samambaia (CAMPO, 1997; CAMPO, 2002; MASUDA et al., 2011).

A papilomatose alimentar pode acometer bovinos saudáveis, porém, em indivíduos imunocompetentes, a regressão ocorre, naturalmente, em até um ano. Por outro lado, caso haja um agente imunossupressor, pode ocorrer reativação da latência viral e produção de novas lesões. Uma teoria para patogênese dos carcinomas do

trato digestório superior, denominada “síndrome papiloma-carcinoma”, refere que o ptaquilosídeo presente na samambaia causaria a imunossupressão e predisporia os animais a desenvolver papilomas persistentes, os quais serviriam como sítios de desenvolvimentos dos carcinomas, através da interação das oncoproteínas do vírus da papilomatose e os carcinógenos da samambaia. No entanto, outros estudos sugerem que a ingestão de samambaia é suficiente para que carcinomas de células escamosas surgissem, diretamente, do epitélio normal, por ação direta dos carcinógenos da samambaia no trato digestório superior (SOUTO et al., 2006a).

A evolução do quadro dos tumores no trato digestório superior é crônica, de meses a anos, por isso, normalmente, acomete animais com idade em torno de cinco a oito anos. Os tumores ocasionarão, principalmente, perturbações mecânicas na ingestão e ruminação dos alimentos. Sendo assim, o quadro clínico reflete os efeitos mecânicos associados aos sítios de ocorrência dos tumores neoplásicos (SOUTO et al., 2006a; TOKARNIA et al., 2012).

Os principais sinais clínicos são tosse (que se acentua com a evolução das lesões), deglutição difícil (com o pescoço esticado), dificuldades de mastigação e de ruminação. Pode haver regurgitação, por vezes expelida pelas narinas, timpanismo crônico, “ronqueira”, dificuldade respiratória, emagrecimento progressivo, além de queda na produção, halitose, edema de glote e ulcerações na região da faringe. Adicionalmente, pode haver mucosas pálidas, dor abdominal, fezes com alimentos pouco digeridos e aumento de linfonodos mandibulares ou pré-escapulares. Com a evolução do quadro clínico, os animais ficam caquéticos e morrem (GABRIEL et al., 2009; TOKARNIA et al., 2012).

No exame macroscópico, há massas neoplásicas na base da língua, no palato, esôfago, cárdia e rúmen. Esses tumores infiltram-se nos tecidos adjacentes, são de coloração amarelada ou acinzentada, frequentemente, ulcerados e contêm material necrótico com odor fétido. Normalmente, as lesões não são extensas, mas com frequência são múltiplas e associadas com papilomas na mucosa das vias digestivas superiores (SOUTO et al., 2006a; GAVA et al., 2002; TOKARNIA et al., 2012). Metástases são observadas, principalmente, em linfonodos regionais, mas também podem ocorrer em outros órgãos como fígado, pulmão, intestino, omento, baço e bexiga (SOUTO et al., 2006a). Alguns animais podem apresentar, simultaneamente,

hematúria enzoótica e carcinoma no trato digestório superior (GABRIEL et al., 2009).

Histologicamente, os tumores do trato digestório superior correspondem a carcinomas de células escamosas caracterizados por queratinócitos com núcleos vesiculares, redondos, ovoides ou pleomórficos, com nucléolos evidentes, citoplasma eosinofílico e abundante, podendo ocorrer queratinização individual de queratinócitos (pérolas de queratina). Variavelmente, são diferenciados, mas normalmente, apresentam comportamento invasivo nos tecidos adjacentes e podem apresentar áreas ocasionais de calcificação, necrose, edema ou hemorragias associadas com lesão tumoral. Infiltrados inflamatórios de linfócitos, plasmócitos, macrófagos e eosinófilos são observados com frequência. Os papilomas se localizam próximos ou não aos carcinomas de células escamosas e, na histologia, apresentam projeções digitiformes recobertas por epitélio escamoso estratificado hiperplásico e com hiperqueratose (SOUTO et al., 2006a).

O diagnóstico é, relativamente, fácil quando se considera o quadro clínico-patológico associado com o histórico de ingestão da samambaia, porém se deve diferenciar de outras neoplasias, tuberculose, actinobacilose, actinomicose e processos inflamatórios ocasionados por corpos estranhos (GAVA et al., 1993).

Não há tratamento para essas neoplasias e a retirada dos animais doentes dos locais com samambaia não é efetivo, já que todos os animais acometidos morrerão em consequência das lesões neoplásicas (TOKARNIA et al., 2012).

#### **2.4. Intoxicação por *Pteridium arachnoideum* em ovinos**

Casos de ovinos intoxicados, naturalmente, por *Pteridium* spp. têm sido descritos no Reino Unido, Nova Zelândia e Austrália (SUNDERMAN 1987). Semelhantemente, ao que se observa em bovinos, ovinos também manifestam diferentes quadros clínicos, os quais também parecem estar relacionados com a quantidade e o tempo de ingestão da planta. Os quadros clínicos descritos em ovinos incluem a diátese hemorrágica, hematúria enzoótica, tumores intestinais e degeneração progressiva da retina, denominada “Brigth blindness” (cegueira brilhante) (HARBUTT, LEAVER, 1969; McCREA, HEAD, 1978; SUNDERMAN, 1987; HIRONO et al., 1993; FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002).

O quadro de diátese hemorrágica em ovinos é semelhante ao descrito em bovinos, com perda de peso, letargia, depressão, anemia e diarreia com sangue. No exame *post mortem*, esses animais também apresentam hemorragias em diversos locais, como superfície peritoneal dos pré-estômagos, abomaso, intestinos, superfície pleural, parênquima pulmonar, pericárdio, entre outros. No exame histológico, além de hemorragias e congestão, pode se observar hemossiderose no baço e fígado, além de ausência do tecido hematopoiético na medula óssea (PARKER, MCCREA; 1965; SUNDERMAN, 1987).

O quadro hemorrágico em ovinos foi diagnosticado, pela primeira vez, na Inglaterra por Parker e McCrea (1965). Na ocasião, morreram, em poucas semanas, treze ovinos de um lote de 43 borregas, em uma pequena propriedade infestada por *P. aquilinum* que havia sofrido período de severa estiagem e, conseqüentemente, apresentava escassez de pastagens, sobretudo durante os meses de agosto e setembro. Na Austrália, a ocorrência da intoxicação em ovinos é devida à ingestão de brotos de *Pteridium esculentum*, como foi constatado pela morte de 120 ovinos mantidos em uma pastagem infestada (SUNDERMAN, 1987).

A intoxicação em ovinos parece ser menos frequente, possivelmente, em decorrência de uma resistência maior à síndrome hemorrágica aguda, ou ainda, devido ao seu hábito de pastejo mais seletivo, por serem relutantes em consumir e ingerir quantidades suficientes de samambaia para deliberar a apresentação clínica (PARKER, MCCREA, 1965; SUNDERMAN, 1987). O quadro de diátese hemorrágica já foi reproduzido, experimentalmente, em ovinos através da administração da planta fresca, após 64 e 66 dias (doses de 174 e 504 g/dia, respectivamente) e da administração da planta dessecada, após 16, 33 e 70 dias (doses de 1068, 1175 e 612 g/dia, respectivamente) (MOON, RAAFAT, 1951). Em outro estudo, a síndrome hemorrágica foi reproduzida em um ovino que recebeu samambaia misturada na alimentação, em um total 4,77 kg, em 24 dias (SUNDERMAN, 1987).

## 2.5. Intoxicação por *Pteridium arachnoideum* em monogástricos

Em animais monogástricos, o principal quadro clínico-patológico observado é ocasionado pela tiaminase tipo I, uma enzima presente em *P. arachnoideum*, que leva à inativação da tiamina (vitamina B1) (RIET-CORREA, MÉNDEZ, 2007). Os equinos apresentam sinais clínicos neurológicos, neuromuscular e alterações cardíacas, enquanto suínos desenvolvem sinais de apatia, anorexia e retardo no crescimento. Os ruminantes, em geral não são sensíveis a esse tipo de intoxicação, pois a microbiota ruminal é capaz de produzir tiamina. Porém, em ovinos já se reproduziu, experimentalmente, o quadro de intoxicação associado à deficiência de tiamina, com sinais clínicos neurológicos e lesão de necrose cérebro-cortical (polioencefalomalácia), através da ingestão de dietas com 30 e 35% de pó de rizomas dessecados de *P. arachnoideum*, após 25 a 40 dias de consumo (TOKARNIA et al., 2012).

A tiamina difosfato é a forma ativa da tiamina e atua como um cofator no metabolismo de carboidratos. O declínio nas enzimas dependentes da tiamina, a consequente privação de energia e estresse oxidativo, com metabolismo anormal de radicais livres em neurônios são mecanismos que podem estar associados aos danos cerebrais que ocorrem nos quadros de deficiência de tiamina (ZACHARY, 2009).

Todas as partes da planta são tóxicas, sendo que os rizomas apresentam maior concentração de tiaminase, assim como os brotos têm maior quantidade da enzima que as folhas maduras (TOKARNIA et al., 2012). A samambaia não é palatável e a intoxicação em equinos ocorre quando a planta é, acidentalmente, misturada em fenos de gramíneas, ou ainda, quando há escassez de pastagem (DINIZ, BASILE, CAMARGO, 1984).

Os equídeos intoxicados apresentam anorexia, apatia, letargia, membros afastados ou cruzados à estação, há relutância ao movimento, incoordenação, andar cambaleante, mioclonias, decúbito, movimentos de pedalagem, opistótono, sudorese, arritmia cardíaca, dispneia e morte, aproximadamente, 48 horas após o início dos sinais clínicos (DINIZ, BASILE, CAMARGO, 1984; MARTINI-SANTOS, 2010; TOKARNIA et al., 2012). No hemograma, pode-se observar anemia arregenerativa, porém as alterações não são significativas, já que os animais morrem devido à doença nervosa antes que a pancitopenia se desenvolva. A dosagem de tiamina sérica

se apresenta baixa, à medida que há um aumento nos níveis de ácido pirúvico, já que a transformação de piruvato em acetil-CoA é dependente de tiamina (DINIZ, BASILE, CAMARGO, 1984; VALLI, 2007; MARTINI-SANTOS, 2010). No exame de necropsia e histologia também não há alterações significativas, exceto congestão em diversos órgãos e efusões cavitárias ocasionadas pela insuficiência cardíaca congestiva (MARTINI-SANTOS, 2010).

No Brasil, há apenas um relato de intoxicação por *P. arachnoideum* com quadro de deficiência de tiaminase em asininos. Na ocasião 27 asininos foram transferidos para duas áreas com samambaias que haviam sido roçadas. Oito animais morreram e outros apresentaram melhora após receberem injeções diárias de 100 mg de vitamina B1 e serem transferidos para um pasto sem samambaia (DINIZ, BASILE, CAMARGO, 1984). Enquanto, experimentalmente, a enfermidade foi reproduzida em dois equinos por Fernandes et al. (1990 apud TOKARNIA et al., 2012), através de doses diárias de 10g/kg da planta verde, durante 108 e 126 dias e, em três equinos por Martini-Santos (2010), através da administração da planta verde misturada com capim elefante, na proporção de 50 a 75%, por um período de 15 a 57 dias.

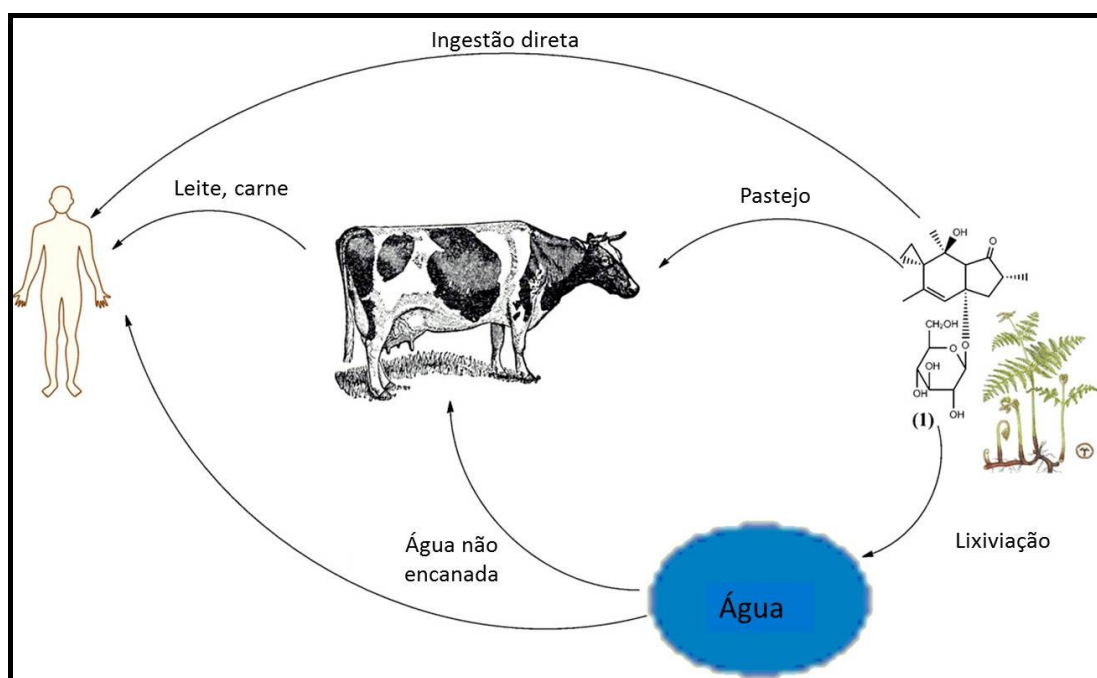
Em suínos, o quadro clínico-patológico de deficiência de tiamina foi reproduzido através da administração de ração com 25 a 33% de pó de rizoma dessecado, consumidos durante 55 a 109 dias (TOKANIA et al., 2012). Nos suínos, notaram-se apenas sinais clínicos de apatia, anorexia e crescimento retardado, sem observação de sinais neurológicos, porém, quando tratados com tiamina, houve resposta positiva. À necropsia, o coração se apresentava mosqueado e dilatado, além das alterações sistêmicas compatíveis com insuficiência cardíaca, como edema pulmonar. Na histologia havia áreas de degeneração e necrose do miocárdio (EVANS et al., 1963; TOKANIA et al., 2012).

Para diagnóstico do quadro de deficiência de tiamina devido à ingestão de samambaia, considerar-se-ão histórico de ingestão da planta, apresentação do quadro clínico característico e recuperação do animal após tratamento com aplicação de tiamina (TOKARNIA et al., 2012). Como diagnóstico diferencial em equinos, há enfermidades com alterações clínicas neurológicas como raiva, leucoencefalomalácia e encefalomielite (DINIZ, BASILE, CAMARGO, 1984; TOKARNIA et al., 2012).



## 2.6. Importância de *Pteridium arachnoideum* para seres humanos

Apesar do potencial cancerígeno da samambaia ser bem conhecido em animais, os potenciais riscos para saúde pública têm sido estudados mais, recentemente e, principalmente, após a descoberta do ptaquilosídeo (HOJO-SOUZA, CARNEIRO, SANTOS, 2010; GIL da COSTA et al., 2012). A exposição humana aos princípios tóxicos da samambaia pode ocorrer de forma direta, ou indireta. Os potenciais riscos à saúde humana incluem o consumo de brotos, a ingestão de leite/carne de bovinos que consomem *P. arachnoideum*, a água ou solo de locais com grande quantidade de samambaia (processo de lixiviação) (Figura 3) e até mesmo, especulativamente, a inalação de esporos, ou o contato direto da planta com a pele, ou, indiretamente, por meio de insetos que vivem nas touceiras de samambaia (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; ULIAN et al., 2010, GIL da COSTA et al., 2012).



**Figura 3 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum* em uma propriedade do Rio Grande do Sul: Vias de exposição de seres humanos ao ptaquilosídeo (1). Fonte: Adaptado de GIL da COSTA et al., 2012.**

Há relatos de consumo de brotos de samambaia na Rússia, China, Canadá, Estados Unidos e, principalmente, no Japão. No Brasil, no município de Ouro Preto,

Minas Gerais, por razões culturais ainda desconhecidas, a população local também tem o hábito de consumir brotos de samambaia. O broto é colhido nas zonas rurais e vendido em feiras livres e o preparo é semelhante ao descrito em outros locais com cozimento em água com bicarbonato de sódio (HOJO-SOUZA, CARNEIRO, SANTOS, 2010; FREITAS, 2001).

Em estudos realizados no Japão, por Hirono e colaboradores em 1970 e 1972, ratos desenvolveram neoplasias intestinais após serem submetidos a dietas com brotos de *Pteridium*, preparados à maneira habitual para o consumo humano. Concluiu-se que o cozimento com água e condimentos por 5 a 10 minutos reduz, mas não elimina os princípios carcinogênicos da planta (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002; GIL da COSTA et al., 2012). Em estudos epidemiológicos, em Minas Gerais, realizados em populações com hábito de consumir broto de samambaia, constatou-se risco significativo para desenvolvimento de câncer no trato digestório superior, quando considerados sexo, idade, tabagismo e consumo de álcool (HOJO-SOUZA, CARNEIRO, SANTOS, 2010). Também se observou, em indivíduos da mesma região que consumiam brotos de samambaia, a ocorrência de linfócitos periféricos com aberrações cromossômicas (RECOUSO et al., 2003). Assim, pessoas que consomem esse alimento têm maior chance de desenvolver câncer de esôfago, ou estômago, quando comparadas àquelas que não possuem esse hábito (ULIAN et al., 2010).

Exposição indireta de seres humanos também tem sido considerada, devido ao risco de passagem dos compostos cancerígenos para carne e leite de bovinos mantidos em áreas infestadas pela planta. Diversos trabalhos têm comprovado que há quantidades consideráveis de ptaquilosídeo no leite de vacas alimentadas com samambaia, o que é considerado um risco à saúde pública. Estudos comprovam que até 8,6% do ptaquilosídeo consumido pela vaca podem ser excretados no leite (ULIAN et al., 2010, GIL da COSTA et al., 2012). A indução de tumores no intestino e na bexiga em ratos também foi obtida, através do fornecimento de leite de vacas que se alimentavam com samambaia (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002). Embora o ptaquilosídeo possa ser destruído pelo suco gástrico humano, a ingestão de grandes quantidades permite que parte do princípio seja absorvida (ULIAN et al., 2010). A ingestão de leite contaminado parece ser um risco maior

para populações rurais, já que o processo de pasteurização e fervura reduz em 50 a 75% a concentração de ptaquilosídeo no leite (GIL da COSTA et al., 2012).

Trabalhos recentes têm investigado o potencial carcinogênico de glicosídeos residuais presentes na carne de bovinos alimentados com *Pteridium* (GIL da COSTA et al., 2012). Um estudo realizado na Austrália detectou glicosídeos norsesquiterpênicos no plasma e nos tecidos de bovinos alimentados com *P. esculentum*, inclusive no músculo esquelético, o que gerou preocupações com a saúde de consumidores (FLETCHER et al., 2011).

A contaminação de seres humanos com o princípio carcinogênico da samambaia, através do solo e da água também está sendo investigado, já que o ptaquilosídeo, encontrado no solo e nas folhas de samambaia, pode, através do processo de lixiviação, contaminar ambientes aquáticos (FRANÇA, TOKARNIA, PEIXOTO, 2002).

A inalação, ou a contaminação dos alimentos por esporos também tem sido cogitada como possível via de exposição aos carcinógenos presentes na samambaia. Apesar dos esporos terem sido apontados como causadores de mutações, o ptaquilosídeo ainda não foi demonstrado nessas estruturas (GIL da COSTA et al., 2012).

Apesar dos recentes estudos epidemiológicos e experimentais que demonstram o risco potencial direto ou indireto à saúde humana, novos estudos devem ser realizados para comprovar se há, realmente, relação entre a exposição aos princípios tóxicos de *Pteridium* e a ocorrência de câncer em determinadas populações, já que seres humanos estão expostos a grande número de carcinógenos potenciais (FREITAS, 2001).

## **2.7. Formas de controle de plantas tóxicas**

No Brasil, o controle de intoxicações por plantas tem sido baseado nos conhecimentos de fatores relacionados às plantas. Assim, algumas das medidas empregadas são (a) o manejo dos animais e das pastagens contaminadas por plantas tóxicas para evitar a ingestão excessiva, (b) uso de espécies animais resistentes, ou em idades não sensíveis a determinados princípios ativos, (c) evitar colocar animais recém-transportados em áreas infestadas, (d) ou isolamento de áreas infestadas por

plantas tóxicas. Há ainda práticas de eliminação das espécies tóxicas através de métodos mecânicos (roçada, lavra, capina, queima), químicos (herbicidas), ou biológicos (de animais não susceptíveis). O controle de pureza de sementes de forrageiras, para evitar a difusão de uma espécie indesejada e cuidados para evitar a contaminação de ração, feno e silagens por plantas tóxicas. Entre as técnicas inovadoras para o controle de plantas tóxicas temos: a utilização de vacinas contra o princípio tóxico, o controle biológico através de insetos ou outros fitopatógenos; a detoxificação microbiana no rúmen, a elaboração de substâncias que neutralizam princípios tóxicos, a aversão alimentar condicionada e a realização de seleção para obter forragens e grãos menos tóxicos ou atóxicos (RIET, MEDEIROS, 2001).

Os ovinos têm se mostrado mais resistentes a intoxicações por plantas, inclusive a samambaia, o que pode ser devido a mecanismos particulares de detoxificação hepática ou adaptação de flora ruminal (SUNDERMAN, 1987; KELLERMAN et al., 2005). Partindo dessa premissa, os ovinos têm sido cogitados para atuar no controle de plantas tóxicas para bovinos. Um exemplo bem sucedido desta técnica é o controle efetivo de *Senecio* spp. por ovinos que, adicionalmente, apresentaram bons índices produtivos (BANDARRA et al., 2012).

Estudos realizados principalmente na Europa têm tentado encontrar métodos de controle para espécies de *Pteridium* que sejam eficazes (KIRK, 1977, GABEL, STUDDT, METZ, 1996; ROBINSON, 1999; GAMA, DUMAS, 1999; PAPAVALASOPOULOS, 2003; ROOS, RÖDEL, BECK, 2010; ALDAY, 2012). Portanto, locais como as terras altas da Inglaterra justificam o investimento, pois nesses locais a samambaia é causa de grandes perdas econômicas, devido à ampla invasão de pastagens e intoxicação de animais (PAPAVALASOPOULOS, 2003).

Essencialmente, os métodos de controle da samambaia têm incluído mecânico, químico e biológico. Além disso, a eliminação de samambaia deve ser considerada como uma medida de longo prazo, frequentemente, com duração mínima de cinco anos. Em estados maiores, com extensas áreas cobertas por samambaia e recursos limitados, esquemas de até cinquenta anos de duração podem ser necessários (ROBINSON, 1999; GAMA, DUMAS, 1999; PAPAVALASOPOULOS, 2003).

Entre os métodos de controle mecânicos, os mais utilizados são corte, arranque, aragem e queimada. Há muitas ressalvas em relação a esses métodos, pois a sua utilização pode estimular o rebrote. O corte, normalmente, bianual, pode reduzir a

densidade foliar e permitir a emergência de outras espécies forrageiras. Essa é, no entanto, uma técnica que não deve ser utilizada, isoladamente (PAPAVLASOPOULOS, 2003). Em um estudo, o corte anual da samambaia, por um período de dezoito anos, não foi capaz de eliminar a planta de uma área, cuidadosamente, monitorada (MARS et al., 1998 apud ROBINSON, 1999).

Relata-se que a aragem somente é bem sucedida se todos os rizomas são arrancados ou partidos, sendo um método de difícil aplicação, principalmente, em áreas pedregosas. A extração manual só é possível em áreas esparsamente, povoadas por *Pteridium* sp. A queimada, em geral estimula o rebrote e está associada com ocorrência de surtos, mas se aplicada em consórcio com tratamento químico, pode se quebrar a dormência de gemas presentes nos rizomas, sendo recomendada, com ressalvas, antes do tratamento químico (FURLAN et al., 2014a; PAPAVLASOPOULOS, 2003).

Atualmente, o controle com herbicidas se constitui no método mais utilizado para o controle de samambaia. O glifosato e o asulam são os dois princípios mais empregados. O glifosato é um herbicida de amplo espectro e de baixa toxicidade. Seu princípio é carregado até os rizomas e ocasiona maior mortalidade de samambaia que o asulam. O glifosato; no entanto, não alcança todos os rizomas mais profundos, o que impede o controle definitivo. Vale lembrar que, quando a samambaia lança novos brotos, ela utiliza suas reservas de carboidratos, deixando a planta mais susceptível a herbicidas (PAPAVLASOPOULOS, 2003).

Asulam é um herbicida do grupo das sulfonilamidas que apresenta baixa toxicidade e boa especificidade para samambaia. O princípio extermina os brotos dos rizomas e determina baixo brotamento nos anos subsequentes à pulverização, além de pouca fotossíntese. Assim como para o glifosato, a aplicação aérea possibilita o controle de áreas com baixa acessibilidade terrestre. Há trabalhos com uso do asulam que revelam efetividade de 98% em uma aplicação; no entanto, para que os resultados sejam definitivos, são necessárias aplicações sistemáticas e por longos períodos de tempo. Além disso, os herbicidas podem atingir espécies vegetais que não são alvo da aplicação e, se mal aplicados, podem causar a poluição de cursos de água e, até o momento, pouco se sabe sobre o impacto desses agentes no ambiente, em longo prazo (ROBINSON, 1999; PAPAVLASOPOULOS, 2003).

O controle biológico permaneceu sem ser testado até o final da década de 1980 e, no início da de 1990, começou-se a explorar seu potencial no controle de *Pteridium* sp. Os benefícios mais, amplamente, alegados ao uso de biocontrole são concernentes ao meio ambiente. Espécies introduzidas com intuito de controlar pragas, no entanto, podem acabar por atacar espécies nativas que não são alvo, representando o principal risco do biocontrole. Os programas atuais exigem seleção e triagem rigorosas na escolha de espécies fúngicas, ou entomológicas para o intuito de garantir a especificidade de ação na espécie alvo (PAPAVLASOPOULOS, 2003).

Atualmente, conhece-se 27 espécies de insetos nativos da Inglaterra que exploram, regularmente, as partes aéreas da samambaia como fonte alimentar, porém não são considerados controles biológicos efetivos. As mariposas da família Hepialidae, por exemplo, embora sejam pragas da samambaia, não são capazes de exercer seu controle, já que esses herbívoros são raros diante da biomassa disponível de samambaia. Apenas muito, ocasionalmente, populações nativas de herbívoros tornam-se abundantes o suficiente para causar desfolhamento severo. Uma explosão populacional de herbívoros que se alimentam de samambaia é possível, se os limitantes de crescimento forem removidos, como predadores, parasitos, ou enfermidades (KIRK, 1977; PAPAVLASOPOULOS, 2003).

É necessário mencionar que os grandes rizomas subterrâneos que a planta possui constituem um dos principais motivos da sua dificuldade de controle. Assim, a procura por agentes de biocontrole não deve se limitar às partes aéreas da planta. As linhas de pesquisa seguem no sentido de descobrir um fungo que destrua os rizomas, após penetração através dos estômatos (micro-herbicidas). A doença da ponta enrolada (*Curl-tip disease*), ocasionada pelos fungos *Ascochyta pteridis* e *Phoma aquilina*, é considerada a mais patogênica para samambaia, mas tem produzido resultados inadequados a campo. Há ainda experimentos realizados com duas mariposas da África do Sul (*Conservula conisigna* e *Panotima* sp. aff *angularis*), ambas com alimentação baseada em samambaia (GABEL, STUDDT, METZ, 1996; PAPAVLASOPOULOS, 2003).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Escolha do local de estudo**

Uma fazenda com surtos de intoxicação por *P. arachnoideum*, identificada através da solicitação de diagnóstico *post mortem* ao Setor de Patologia Veterinária (SPV-UFRGS), foi convidada, em janeiro de 2012, a fazer parte deste estudo. Após acordado, obtiveram-se dados da propriedade relativos às necropsias, invasão de pastagens pela planta, tentativas e métodos utilizados para controle da planta, práticas agrícolas utilizadas e avaliações da cobertura vegetal.

#### **3.2. Identificação botânica**

Encaminhou-se uma amostra da samambaia encontrada na propriedade para classificação taxonômica. A amostra encaminhada era composta por folhas com esporos, denominadas folhas férteis, folhas sem esporos e caule. A planta foi prensada entre folhas de jornal e, após secagem, encaminhada para a classificação no Instituto de Biociências da UFRGS. Depois de classificada, realizou-se a confecção da exsicata para armazenamento permanente no Herbário do Instituto de Biociências da UFRGS.

#### **3.3. Necropsia e análises histológicas**

Os bovinos naturalmente intoxicados na propriedade morreram de forma espontânea ou sofreram eutanásia devido ao prognóstico desfavorável. Para eutanásia, administrou-se xilazina e, em seguida, tiopental. Após alcançado estado de inconsciência, injetou-se solução supersaturada de sulfato de magnésio, todos pela via intravenosa. Durante a necropsia, os achados macroscópicos foram identificados e avaliados. Para os exames histológicos, coletaram-se fragmentos de diversos órgãos, os quais foram fixados em formalina a 10%. Essas amostras foram processadas por técnicas histológicas de rotina para confecção de lâminas coradas por hematoxilina e eosina e posterior avaliação em microscopia óptica.

### 3.4. Controle de *Pteridium arachnoideum* por uso de herbicidas

O controle químico empregado pelos funcionários e técnicos da propriedade foi realizado sob a orientação de engenheiros agrônomos, a partir do ano de 2012. No decorrer do período de estudo, as técnicas foram acompanhadas e registradas. O controle químico da samambaia, na propriedade, incluiu dois herbicidas comerciais consorciados, o picloram (Padron<sup>®</sup>), do grupo químico do ácido piridinocarboxílico, com ação sistêmica e classificação toxicológica III (medianamente tóxico), além de metsulfurom-metílico (Ally<sup>®</sup>), do grupo químico das sulfoniluréias, também de ação sistêmica e de classificação toxicológica I (extremamente tóxico). Esses produtos químicos foram escolhidos para o combate a planta por estarem sendo utilizados na propriedade, no cultivo de arroz.

Para aplicação, foram utilizados 500 mL de Padron<sup>®</sup> e 10g de Ally<sup>®</sup> por hectare, através de pulverizador hidráulico de 600L com bico de calibre 1,5 em leque, acoplado a trator, com pressão e velocidade de passagem ajustadas ao grau de infestação e altura das plantas. As aplicações foram realizadas principalmente entre os meses de novembro e março. Nas áreas onde a invasão pela planta era baixa, foi realizada uma aplicação por ano, através de jato dirigido, enquanto que as áreas intensamente invadidas eram roçadas em setembro e após dois ou três meses, realizava-se o controle químico em toda a área. A roçagem foi realizada com o intuito de homogeneizar a altura das plantas e permitir que a brotação de novas folhas, emitidas no espaço de tempo entre a roçagem e a aplicação dos herbicidas, estivessem amplamente expostas. Reaplicações no mesmo ano foram feitas, esporadicamente, em algumas áreas que apresentaram altos níveis de rebrotas, ou quando eram observadas falhas na primeira aplicação.



### 3.5. Controle de *Pteridium arachnoideum* por pastejo de ovinos

Para o estudo da utilização de ovinos no controle de samambaia, foi identificada uma área com aproximadamente 75% de cobertura pela planta, com gramíneas nativas disponíveis e árvores de distribuição esparsa para sombreamento. Esta área, com sete hectares (ha), foi delimitada por uma cerca de sete fios de arame liso, própria para ovinocultura. Também foram construídos no local um curral e um brete simplificados para manejo dos ovinos e uma pequena represa para fornecimento de água. Ovinos, mestiços e da raça Texel, com idade entre 1-6 anos (Figura 4), foram adquiridos em um criatório no Rio Grande do Sul em que não havia samambaia.



**Figura 4 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Lote de ovinos introduzidos em campo nativo infestado com samambaia.**

Antes da entrada dos animais, o piquete foi roçado a, aproximadamente 20 cm de altura do solo, com uma roçadeira acoplada a um trator, em maio de 2011. No mesmo mês, foi introduzido o lote de 28 ovinos na área, o que contabilizou uma lotação de quatro ovinos/ha. Os ovinos recebiam suplemento mineral (bloco de sal mineral próprio para ovinos) e manejo sanitário semanal. Além disso, era realizada

uma observação diária dos animais pelos funcionários da fazenda. Antes da realização das práticas sanitárias semanais, os animais eram observados por cerca de vinte minutos quanto ao seu comportamento de pastejo. A prenhez das ovelhas foi identificada e monitorada, até o nascimento dos cordeiros (meses de setembro, outubro e início de novembro de 2012). Em julho e novembro de 2012, foram realizadas roçadas adicionais no pasto, para manter as alturas ideais para pastejo ovino em ambas, pastagem e samambaia.

As práticas de manejo sanitário realizadas nos ovinos incluíam acompanhamento dos níveis de infestação por *Haemonchus contortus* através do método Famacha, realização de tosquia (novembro de 2012), apara mensal de cascos, inspeção e tratamento de miíases com ivermectina a 1% combinado a cicatrizantes tópicos, aplicação de penicilina associada com estreptomicina injetáveis em animais com lesões contaminadas, aplicação mensal de formaldeído spray nos dígitos, aplicação de fipronil *pour on* (maio e outubro de 2012), disofenol injetável (maio e outubro de 2012 e fevereiro de 2013) e doramecitina injetável (novembro de 2012).

A determinação do nível de infestação por *P. arachnoideum* e da eficácia de controle foi realizada através da observação semanal e de fotografias em áreas determinadas do piquete em estudo.

No mês de novembro, dois ovinos foram levados para as instalações do SPV-UFRGS, para tentativa de indução ao consumo de samambaia. Essa medida teve o objetivo de induzir dois ovinos (Ovino 1 e Ovino 2) ao consumo da planta para que, por meio do princípio de facilitação social (WILSON, 2000), estimulassem o consumo da planta pelos demais ovinos mantidos na área em estudo. Ambos os ovinos selecionados eram machos, não castrados, com cerca de dois anos de idade, em bom estado corporal e condição sanitária adequada (todos os manejos para a categoria). Para a indução ao consumo, coletaram-se, semanalmente, folhas e caules de samambaia no piquete da fazenda em que se mantinham os ovinos. Subsequentemente, as amostras de plantas coletadas eram secas à sombra por um período aproximado de sete dias. Em seguida, o feno de samambaia era mantido em sacos, em ambiente seco e limpo.

Os dois ovinos foram mantidos em uma baía de alvenaria com cerca de madeira, onde recebiam água à vontade, alfafa e ração comercial para ovinos, em quantidades adequadas ao peso corporal dos animais, no período da manhã. Ao final do dia, os

dois ovinos eram examinados e avaliados quanto à temperatura corporal, frequências cardíaca e respiratória, movimentos ruminais e coloração das mucosas. Avaliava-se ainda o aspecto das fezes e urina e o comportamento dos ovinos. Em seguida, os ovinos recebiam 800g do feno de samambaia, sendo que no outro dia, pela manhã, as sobras eram recolhidas e pesadas, para se dimensionar o consumo. Uma vez por semana, coletava-se amostra de sangue dos ovinos, através de punção da veia jugular, em tubos *vacutainer*<sup>®</sup> de 5 mL com EDTA. A amostra era encaminhada, imediatamente, ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da UFRGS para exame de contagem de plaquetas. Os ovinos foram pesados no início e no final do experimento. O experimento de indução ao consumo foi conduzido entre os dias 26 de novembro a 17 de dezembro de 2012.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Descrição do local do estudo e das perdas de bovinos na propriedade

A fazenda localizada no distrito de Itapuã, município de Viamão, Rio Grande do Sul (S 30° 16.177' e W050° 54.355'), dedicada ao plantio de arroz e à criação de bovinos de corte da raça Angus, apresenta problemas frequentes decorrentes da intoxicação por *Pteridium arachnoideum*. A propriedade possui uma área total de 1.900 hectares, dos quais 1.250 hectares são destinados à pecuária de corte, com um rebanho total de 1.536 bovinos. Desde o ano de 2007, realizam-se necropsias de bovinos da propriedade com quadros clínico-patológicos de diátese hemorrágica e carcinomas do trato digestório superior.

Ilustrando a situação em que se encontra o rebanho frente à problemática representada pela infestação por *P. arachnoideum*, somente em 2012, quando se iniciou o combate sistemático à planta, do total de 96 mortes registradas, 29 tiveram sinais clínicos sugestivos de diátese hemorrágica e seis de carcinoma de trato digestório superior.

A maioria dos piquetes destinados à criação de bovinos apresentava infestação por samambaia, em quantidades variáveis de touceiras isoladas até extensos aglomerados. Em alguns locais, a planta se encontrava, escassamente dispersa nos piquetes, ou em pequenas quantidades marginando as valas de condução de água (construídas para a lavoura de arroz). Por outro lado, havia extensas áreas na propriedade, onde a samambaia formava cobertura regular monoespecífica. Essas áreas, as quais são inutilizáveis para a produção de gado de corte. O solo da propriedade é composto por turfa e possui pH médio em torno de 4,8 (Figura 5).



**Figura 5 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Diferentes padrões de invasão da samambaia nos piquetes da propriedade estudada e aparência do solo. **(A)** Formação de touceiras isoladas em meio à pastagem de campo nativo. **(B)** Plantas estabelecidas nas margens das valas de condução de água. **(C)** Áreas totalmente cobertas pela planta. **(D)** Solo de turfa encontrado na propriedade.

#### 4.2. Identificação botânica

A amostra de samambaia obtida no campo da fazenda foi classificada na família Dennstaedtiaceae, gênero *Pteridium* e espécie *Pteridium archnoideum* (Kaulf.) Maxon e está armazenada no Herbário da UFRGS.

#### 4.3. Quadro clínico-patológico dos bovinos com diátese hemorrágica

Durante o período de janeiro de 2007 a janeiro de 2015, foram realizadas 22 necropsias de bovinos da propriedade com diagnóstico de diátese hemorrágica por consumo de samambaia. Dos bovinos necropsiados, 11 eram fêmeas e 11 eram machos que pertenciam a diferentes categorias: até 12 meses (12/21); entre 13 e 24 meses (6/21); entre 25 e 36 meses (1/21); com mais de 36 meses (2/21). Em um caso,

a idade não constava nos dados. Entre os bovinos acometidos, a idade mínima foi de quatro meses e a máxima de seis anos.

As mortes de bovinos da propriedade por intoxicação aguda por *P. archnoideum* ocorreram de forma esporádica, ou em pequenos surtos, em diferentes períodos do ano, mas a maioria dos casos (19/22) foi registrada entre os meses de abril e setembro, época de maior escassez de forragens na propriedade. Seis bovinos necropsiados apresentaram histórico de morte sem sinais clínicos prévios. Os demais apresentaram curso clínico agudo ou subagudo, caracterizado por hipertermia (40-41°C), apatia, sangramento nasal, fezes fétidas e enegrecidas, ou com coágulos de sangue, mucosas genitais e oculares pálidas e/ou com hemorragias petequiais, além de aumento do tempo de coagulação, constatado após a aplicação de medicamentos, picada de insetos, ou punção venosa (Figura 6).



**Figura 6 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Bovinos da propriedade com síndrome hemorrágica aguda. (A) Pelos aglutinados por sangue seco na região cervical lateral após aplicação de medicamento. (B) Sangramento gotejante após picada de inseto. (C) Sangramento profuso pela narina. (D) Fezes diarréicas com coágulos de sangue.**

Durante o ano de 2012, entre os bovinos necropsiados com quadro de diátese hemorrágica, seis pertenciam a um lote de 114 bezerros, recém-desmamados, de 5-6 meses de idade, no qual houve uma mortalidade de 17 bezerros. Esses bezerros haviam sido alocados em um piquete recém-roçado, no qual havia acentuada quantidade de samambaia em brotação, em toda a área. Após 30 dias de permanência nesse local, os bezerros começaram a apresentar sinais clínicos semelhantes aos observados nos outros bovinos (Figura 7), porém, em quatro bezerros foi observado, ainda, edema discreto a moderado da região submandibular e cervical ventral, além de dispneia e estertor respiratório (“ronqueira”). Posteriormente, em janeiro de 2015, em outro lote de 216 bovinos com um ano de idade, dois bovinos morreram com sinais clínicos semelhantes aos observados nos bezerros, um dos quais foi encaminhado para a necropsia.



**Figura 7 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Intoxicação aguda em um lote de bezerros após a introdução em um piquete com grande quantidade de brotos de samambaia após roçagem. (A) Piquete em que os bezerros foram introduzidos. (B) Bezerros doentes que pertenciam ao lote afetado. (C) Bezerro com apatia e aumento do tempo de sangramento após a punção da veia jugular. (D) Mesmo animal da figura anterior com hemorragia na esclera.**

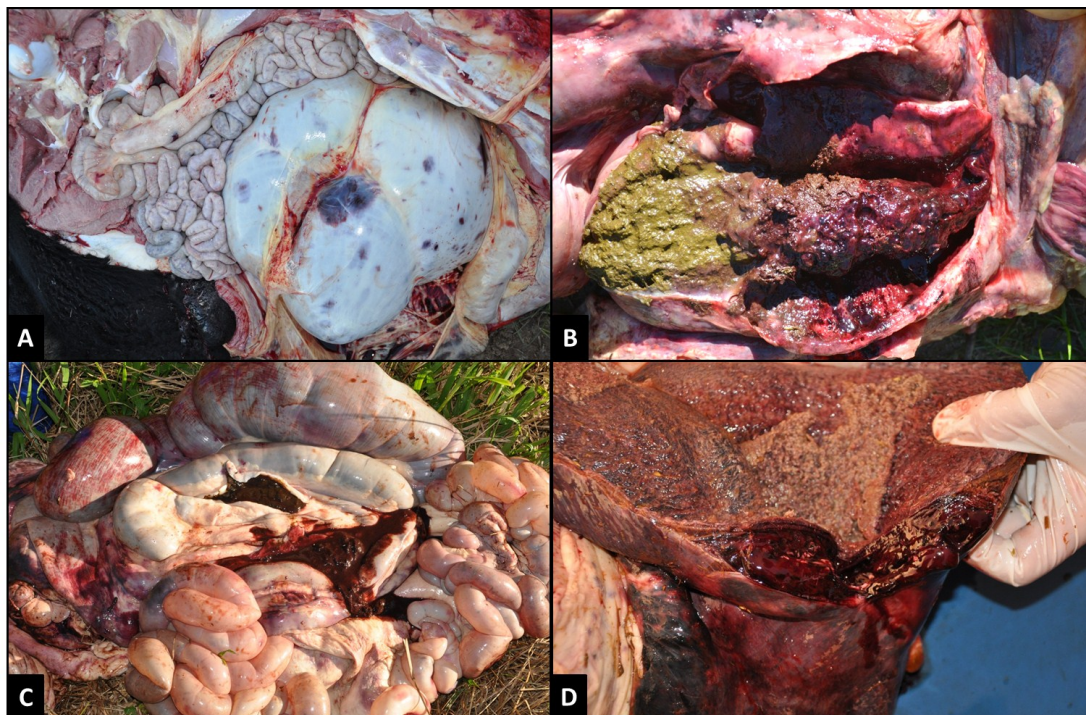
Durante a necropsia dos bovinos com quadro de diátese hemorrágica, foram observadas mucosas pálidas e/ou com hemorragias petequiais, sangue com aspecto aquoso, hemorragias petequiais a sufusivas e hematomas no tecido subcutâneo, evidentes principalmente nas áreas de aplicação de medicamentos ou de coleta de sangue (Figura 8). Ocasionalmente, havia quantidades variáveis de sangue e coágulos no interior da cavidade abdominal, torácica e do saco pericárdico.



**Figura 8 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: (A) Mucosa conjuntival pálida e com hemorragias petequiais. (B) Área extensa de hemorragia no tecido subcutâneo na região do tórax.**

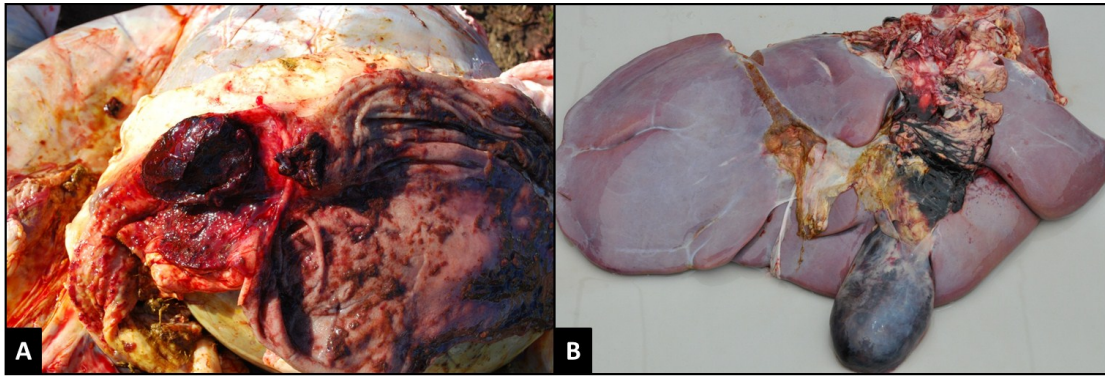
Foram observadas ainda hemorragias em distribuição e intensidade variadas na pleura, peritônio parietal e infiltradas nos tecidos de diversos órgãos das cavidades abdominal e torácica. Os órgãos que apresentavam hemorragias incluíram intestinos, mesentério, omento, pró-ventrículos, abomaso, vesícula biliar, baço, coração, diafragma, musculo esquelético e pulmões. No intestino delgado e grosso, eram frequentes as hemorragias na serosa e mucosa, ou ocasionalmente transmurais, associados à ocorrência de conteúdo enegrecido, ou com grandes coágulos de sangue (Figura 9).





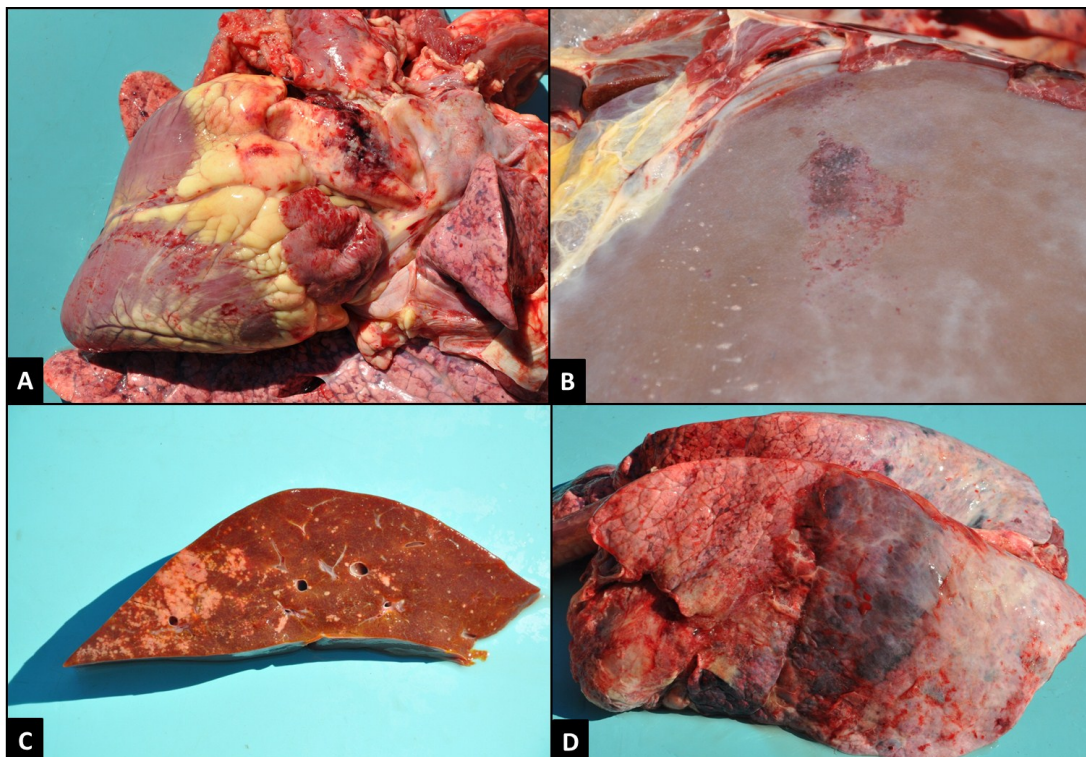
**Figura 9 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A) Hemorragias petequiais a sufusivas multifocais na serosa do rúmen. (B) Duodeno com o lúmen preenchido por sangue coagulado. (C) Cólon espiral com grande quantidade de sangue no lúmen e serosa do ceco com hemorragias multifocais. (D) Parede do rúmen difusamente espessada, friável e hemorrágica.**

Ocasionalmente, o abomaso apresentava hemorragias e úlceras da mucosa também com conteúdo enegrecido e/ou com coágulos de sangue. Em um caso, havia, na porção pilórica do abomaso, uma úlcera hemorrágica extensa, com formação de um coágulo que ocluía totalmente o lúmen adjacente. Hemorragias extensas da serosa e mucosa também eram frequentes na vesícula biliar (Figura 10).



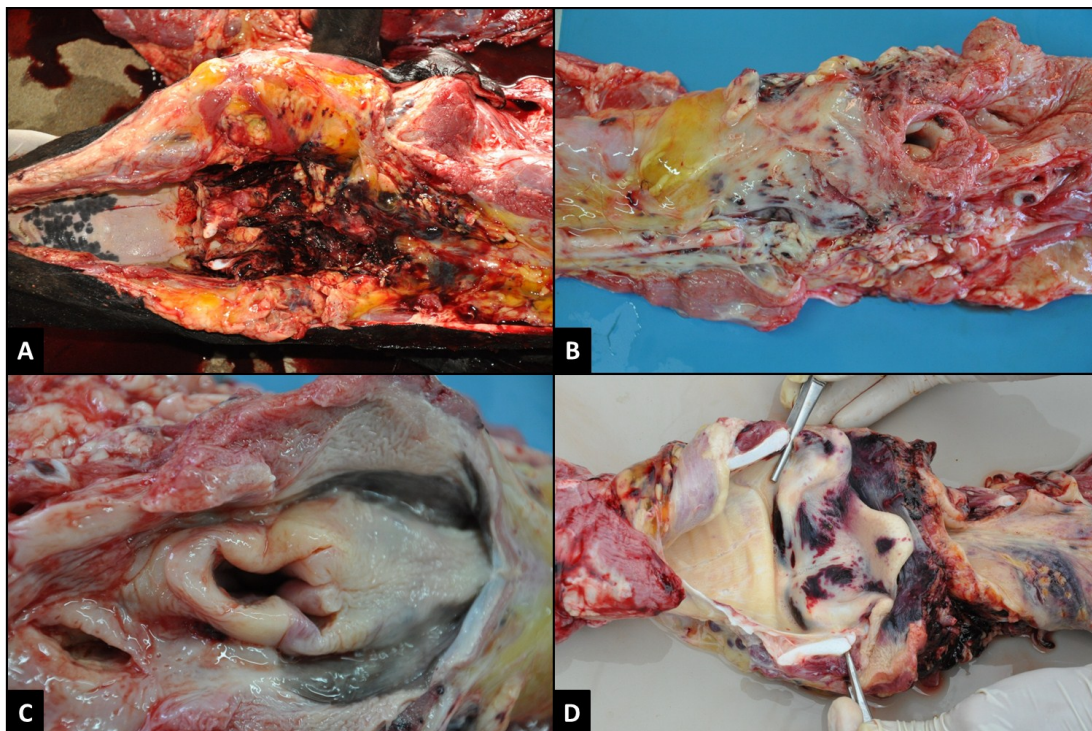
**Figura 10 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A) Úlcera (seta) e grande coágulo de sangue na porção pilórica do abomaso. (B) Hemorragias extensas na parede da vesícula biliar.**

No coração, havia hemorragias em diversos graus, principalmente no epicárdio e endocárdio, as quais, ocasionalmente, se aprofundavam no miocárdio, além de atingirem os grandes vasos da base do coração. No fígado, observaram-se focos de hemorragias discretas e áreas multifocais esbranquiçadas, com extensão variáveis de puntiforme a massiva, formando ocasionalmente estruturas com formato geométrico e com os bordos hemorrágicos (infartos), na superfície e no parênquima hepático. Foram observadas lesões hemorrágicas no tecido perirrenal e ocasionais infartos no parênquima. A bexiga, por vezes, apresentava hemorragias petequiais a equimóticas na mucosa, entretanto não foram registrados casos de hematúria. Nos bovinos necropsiados, registrou-se ainda, casos com grande quantidade de espuma na traqueia e nos brônquios principais, edema de septos lobulares, áreas multifocais de hemorragias no parênquima e áreas bem delimitadas, de coloração vermelha e de consistência firme (infartos), as quais ocasionalmente estavam recobertas por uma membrana de fibrina sobre a superfície pleural (Figura 11).



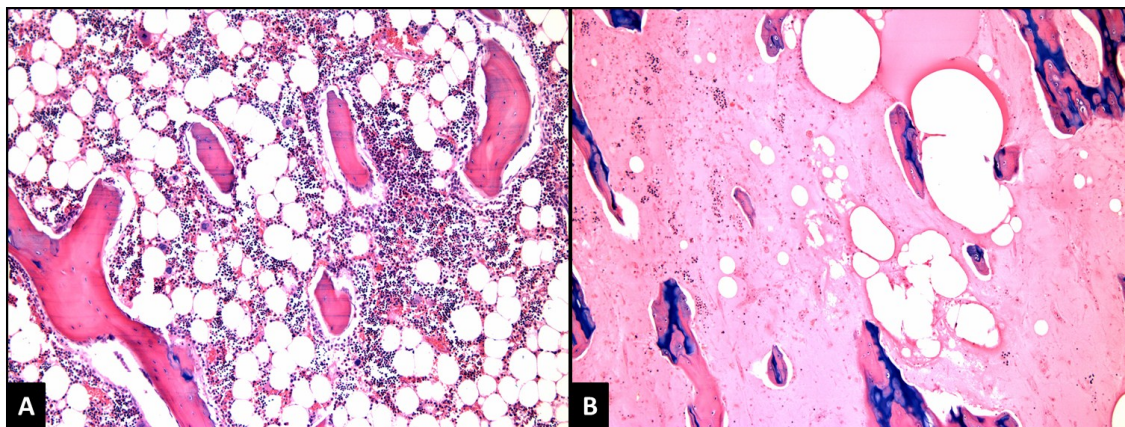
**Figura 11 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A)** Artéria pulmonar com área espessada contendo hemorragia. **(B)** Infarto hepático focal visível à superfície capsular. **(C)** Áreas multifocais a coalescente de infarto na superfície de corte do fígado. **(D)** Ampla área de infarto com hemorragia visível à superfície pulmonar.

Em cinco bovinos, foram observados edema difuso moderado a acentuado e áreas multifocais de hemorragias acentuada da laringe, faringe e/ou tecidos moles adjacentes, os quais causavam estreitamento da rima da glote (Figura 12). Os linfonodos retrofaríngeos e mandibulares desses bovinos se apresentavam, por vezes, aumentados, hemorrágicos e suculentos ao corte. Um bovino apresentou inúmeros papilomas, com menos de 1,0 cm de diâmetro, na mucosa do esôfago e entrada do rúmen. Outros órgãos que apresentaram lesões hemorrágicas foram traqueia, timo, adrenal, útero, testículo, meninge e encéfalo.

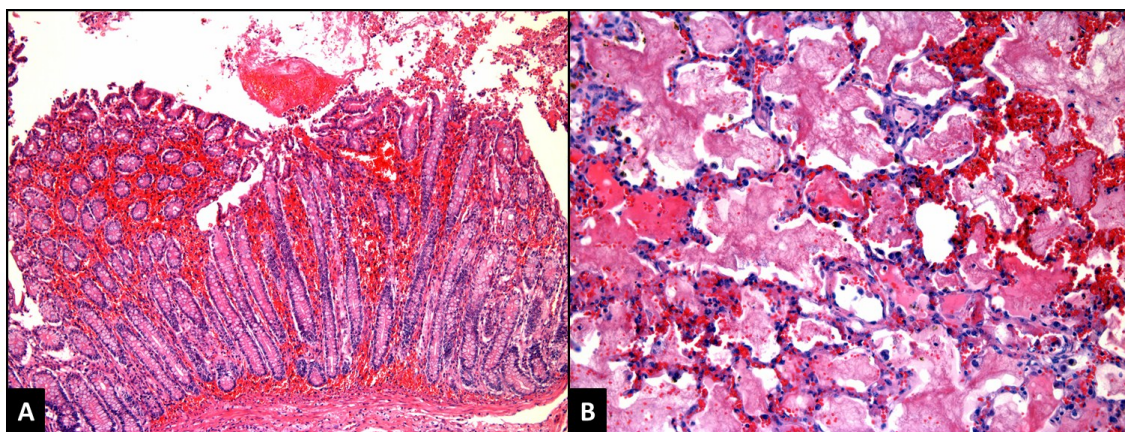


**Figura 12 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A)** Edema e ampla hemorragia na região retrofaríngea. **(B)** Edema da região perifaríngea. **(C)** Espessamento da parede da laringe por edema. **(D)** Hemorragias sufusivas na mucosa da laringe e edema com amplas áreas de hemorragia na faringe e tecidos periféricos.

Na histologia, o principal achado foi observado na medula óssea de todos os bovinos necropsiados e era caracterizado por marcada redução, ou ausência de todas as linhagens de células precursoras hematopoiéticas (Figura 13). Os focos de hemorragia e ulcerações vistos durante a necropsia foram confirmados na análise microscópica. Associados as áreas de hemorragia eram vistos, frequentemente, edema e deposição de fibrina (Figura 14).

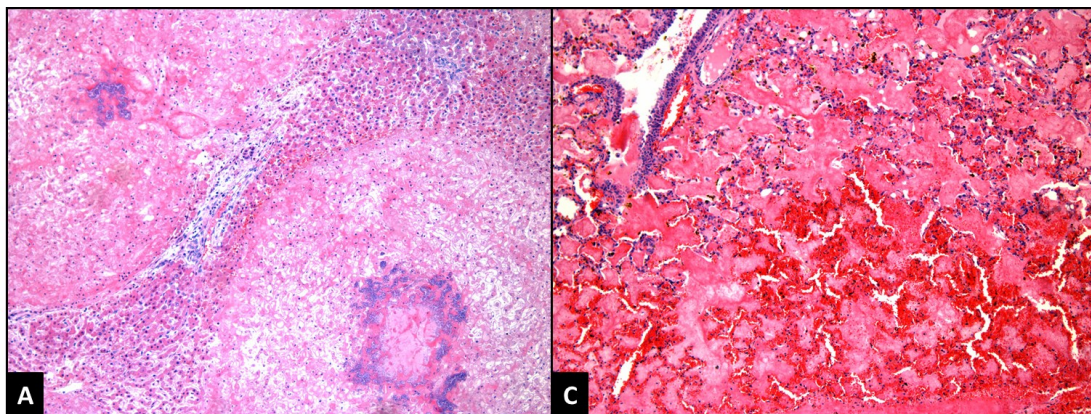


**Figura 13 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A) Medula óssea sem alterações em bovino normal. HE, obj.10x. (B) Medula óssea com depleção acentuada das células precursoras hematopoiéticas em bovino com diátese hemorrágica. HE, obj.10x.**



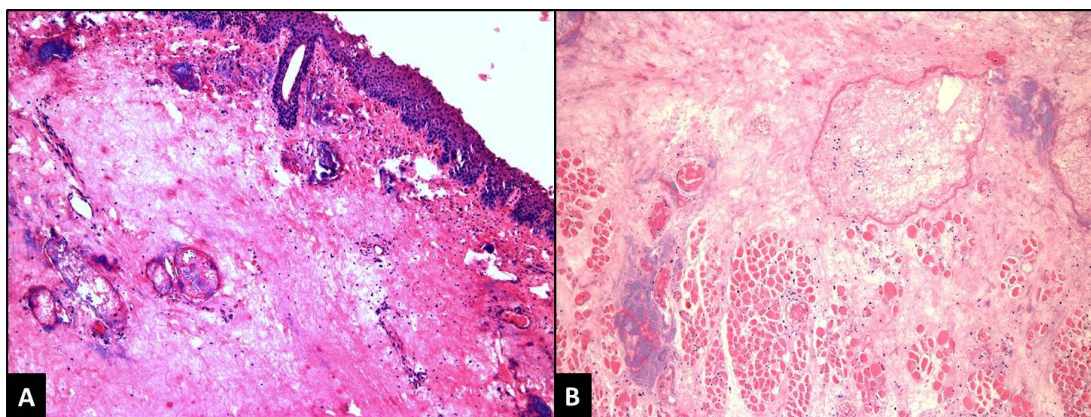
**Figura 14 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Quadro de diátese hemorrágica. (A) Hemorragia focalmente extensa da mucosa do intestino grosso. HE, obj.10x. (B) Pulmão com acentuada deposição alveolar difusa de fibrina e edema, além de hemorragia multifocal moderada nos septos alveolares. HE, obj.20x.**

As áreas de infarto visualizadas no fígado correspondiam a focos de necrose de coagulação, frequentemente associados com trombose e êmbolos sépticos, formados por miríades de bactérias, no interior de vasos sanguíneos. Os infartos renais, esplênicos e pulmonares, apesar de serem vistos em menor frequência, também correspondiam a áreas de necrose de coagulação associada à trombose e êmbolos sépticos (Figura 15). No parênquima pulmonar, observou-se ainda, com frequência, edema, deposição de fibrina e infiltrado inflamatório variável de neutrófilos macrófagos, linfócitos e/ou plasmócitos.



**Figura 15 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. **(A)** Fígado com áreas multifocais a coalescentes de infarto com numerosas bactérias ao centro. HE, obj.10x. **(B)** Pulmão com área extensa de infarto, acentuada deposição alveolar difusa de fibrina e edema, além de hemorragia multifocal moderada nos septos alveolares. HE, obj.10x..

Na parede da laringe e nos tecidos adjacentes, havia edema difuso acentuado com grande quantidade de fibrina, trombose, áreas extensas de necrose ocasionalmente associadas a infiltrado inflamatório discreto a moderado, principalmente composto por neutrófilos e macrófagos. Miríades de bactérias se distribuíam no interior de vasos e em meio ao tecido (Figura 16).



**Figura 16 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Quadro de diátese hemorrágica. **(A)** Edema difuso acentuado da laringe, com numerosas bactérias, HE, obj.10x. **(B)** Submucosa da laringe com edema difuso acentuado, com trombose e numerosas bactérias. HE, obj.20x.

#### 4.4. Quadro clínico-patológico dos bovinos com carcinoma do trato digestório superior

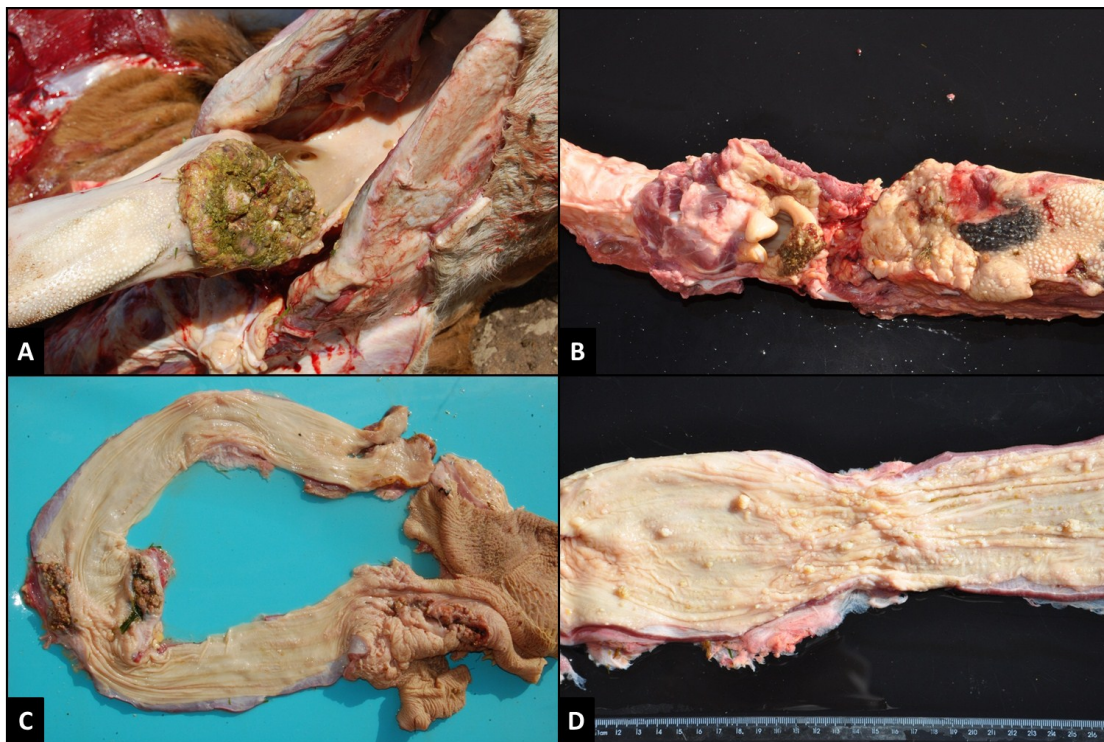
De janeiro de 2007 até janeiro de 2015, seis bovinos necropsiados na propriedade tiveram diagnóstico de quadro crônico da intoxicação por *Pteridium arachnoideum* associado ao desenvolvimento de carcinoma de células escamosas no trato digestório superior. Os bovinos necropsiados eram fêmeas adultas, com idade entre três e 12 anos, exceto por um caso que não teve idade informada. Os sinais clínicos observados incluíam queda no consumo de alimentos, emagrecimento progressivo, dificuldade de deglutição, tosse, respiração ruidosa, halitose e timpanismo ruminal crônico recorrente.



**Figura 17 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Carcinomas do trato digestório superior. (A) Bovino com 12 anos, fêmea: observa-se péssimo estado corporal e o aprofundamento dos globos oculares (desidratação). (B) Bovino com seis anos, fêmea: além do péssimo estado corporal e do aprofundamento dos globos oculares, observa-se timpanismo ruminal.**

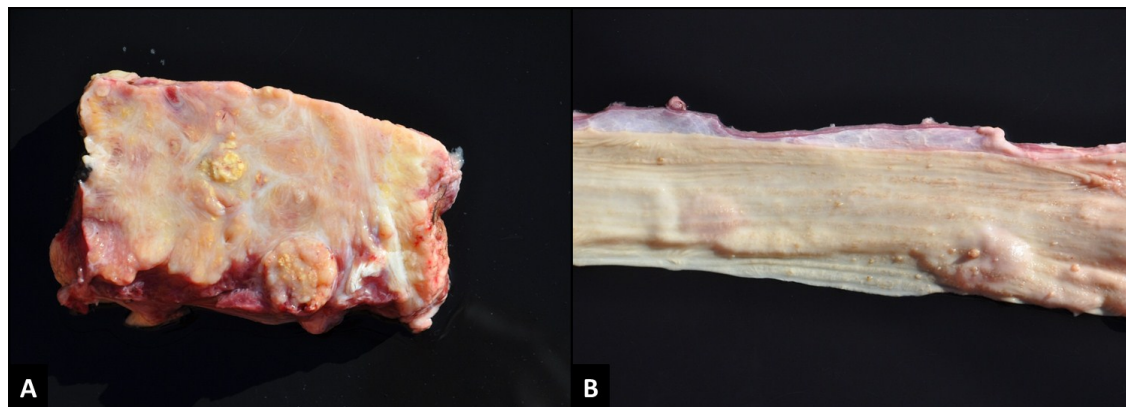
À necropsia, comumente os bovinos apresentavam desidratação, caracterizada por retração dos globos oculares e perda de elasticidade da pele, condição corporal ruim e, ocasionalmente distensão abdominal. À abertura das cavidades, o principal achado macroscópico foi a observação de massas tumorais infiltrativas, localizadas no trato digestório superior, que por vezes determinavam obstruções em diferentes locais entre a orofaringe e a entrada do rúmen. Essas massas tumorais apresentavam superfície irregular, frequentemente ulcerada, algumas com crescimento exofítico, formando massas exuberantes e outras com crescimento endofítico levando ao

espessamento do tecido afetado (Figura 18). Ao corte, frequentemente, as massas apresentavam consistência firme e coloração branca com áreas amareladas (Figura 19A). Os locais de ocorrência de massas tumorais foram base da língua, orofaringe, epiglote, esôfago (cranial, médio e distal), esfíncter cárdico e rúmen.



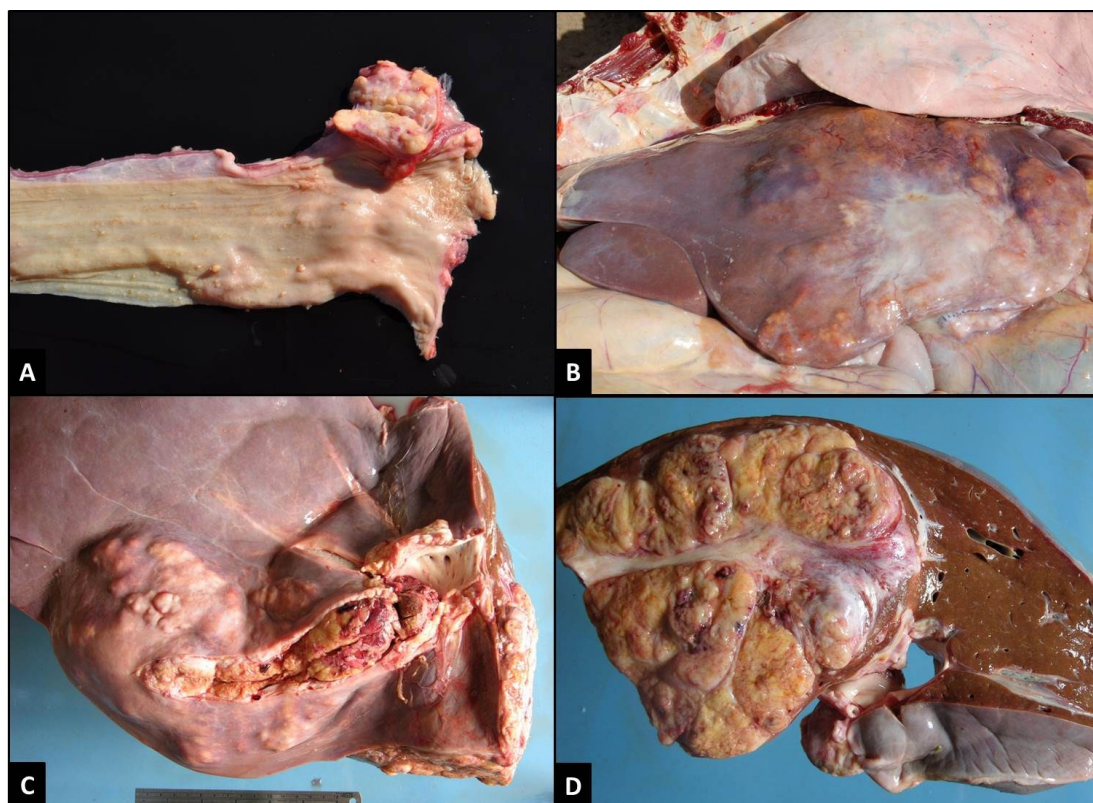
**Figura 18 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Carcinomas do trato digestório superior. (A) Massa tumoral invasiva e exofítica na superfície da língua (B) Massa tumoral invasiva e exofítica na língua, faringe e epiglote (C) Massas tumorais multifocais no esôfago, de natureza invasiva, por vezes exofítica (porção média) e, em outros casos, endofítica (terço cranial) (D) Massa tumoral invasiva e de natureza endofítica com crescimento anelar estenosante.**





**Figura 19 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Carcinomas do trato digestório superior. (A) Massas tumorais invasivas em superfície de corte da língua, de coloração brancacenta e áreas amareladas correspondentes às concreções de queratina. (B) Superfície mucosa do esôfago com inúmeros tumores com até 1,0 cm de diâmetro, de crescimento exofítico e aspecto papilomatoso.**

Em quatro casos, foram vistas, ainda, metástases em linfonodos regionais e, em um caso, no fígado. Os linfonodos, nesses casos, apresentavam-se aumentados e com massas variáveis de pontuais a extensas, com perda da distinção entre cortical e medular, coloração esbranquiçada e consistência firme. No caso com metástase hepática, as massas tumorais substituíam aproximadamente a metade do fígado, comprimiam o parênquima adjacente e ocluía a veia porta e suas tributárias. Na superfície de corte, a massa tumoral hepática apresentava distribuição multifocal a coalescente, era marginada por tecido conjuntivo fibroso, tinha consistência firme e coloração amarelada a esbranquiçada (Figura 20).

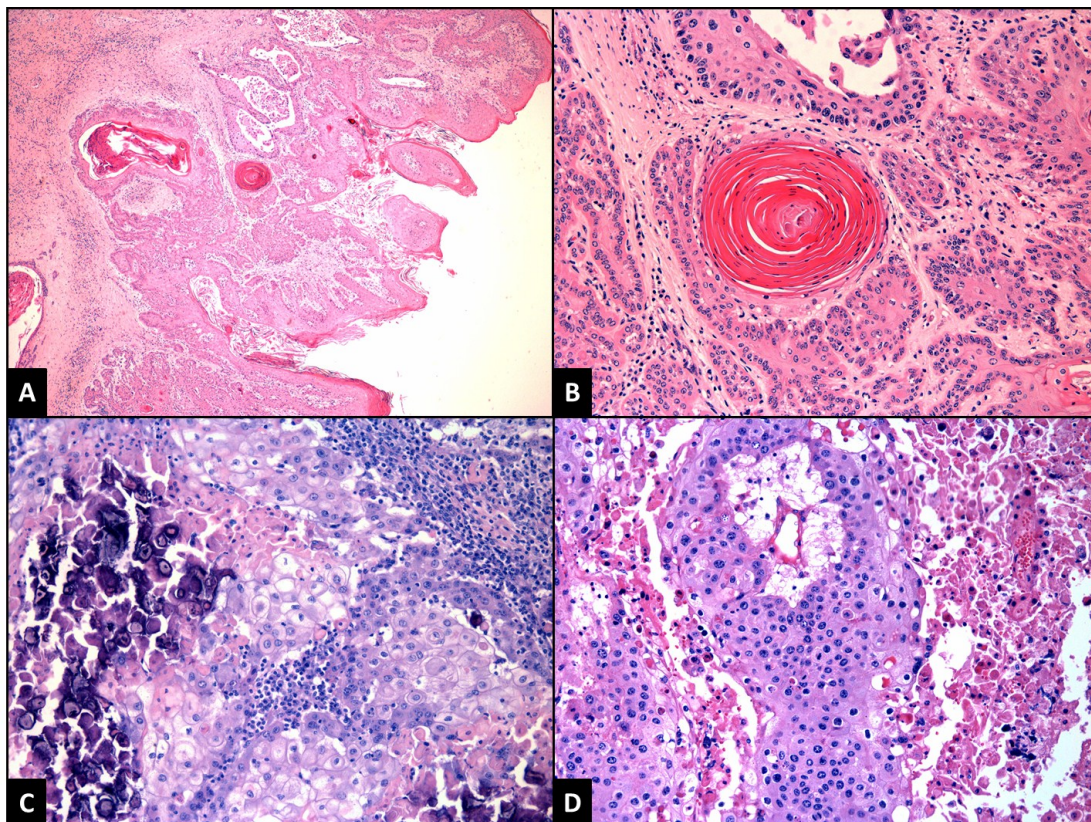


**Figura 20 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Locais de metástase dos carcinomas do trato digestório superior. **(A)** No linfonodo periesofágico, observa-se obliteração do córtex e medula por massa tumoral de coloração brancacenta com áreas amareladas. **(B)** Fígado, superfície capsular irregular, com massa tumoral ocupando aproximadamente 50% da área original do órgão. **(C)** Fígado, a veia porta hepática está preenchida por uma massa tumoral de coloração brancacenta a amarelada **(D)** Fígado, na superfície de corte, a massa tumoral está dividida por septos de tecido conjuntivo fibroso em múltiplos lóbulos que estão comprimindo o parênquima hepático adjacente.

Em um dos casos necropsiados, havia perfuração da parede do rúmen devido à invasão e necrose tumoral transmural, resultando em peritonite fibrinosa secundária ao extravasamento de conteúdo ruminal. Em todos os bovinos, foram notados inúmeros papilomas na mucosa da faringe, esôfago e/ou rúmen, os quais estavam associados às áreas de proliferação tumoral e eram caracterizados morfológicamente como pequenos nódulos exofíticos, com aproximadamente 0,1 a 1,0 cm de diâmetro, sésseis, ou pedunculadas e com projeções papilares (Figura 19B).

Na histologia, as massas tumorais correspondiam a carcinomas de células escamosas (CCE), os quais eram caracterizados pela proliferação de queratinócitos, bem, ou moderadamente diferenciados, não encapsulados e com comportamento

extremamente invasivo. As células neoplásicas se arranjavam em ilhas, ou trabéculas separadas por moderado a abundante estroma fibrovascular. Os queratinócitos neoplásicos normalmente se apresentavam como células poligonais, com o citoplasma eosinofílico e abundante, núcleo vesicular, redondo a oval, com cromatina pontilhada e um ou mais nucléolos evidentes. Ao centro das trabéculas e ilhas de células, havia deposição de queratina arranjada em lamelas concêntricas (pérolas de queratina). Algumas áreas do tumor apresentavam, ainda, mineralização de células individuais ou das pérolas de queratina (Figura 21). Outros achados adicionais relacionados a algumas áreas do CCE foram desmoplasia acentuada, áreas necrose e hemorragia e displasia do epitélio adjacente ao sítio tumoral. Em meio ao tecido sustentação tumoral, observou-se infiltrado inflamatório multifocal de linfócitos, plasmócitos, macrófagos e ocasionalmente eosinófilos, sendo que em algumas áreas com grande quantidade de queratina mineralizada, havia ainda células gigantes multinucleadas.



**Figura 21 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: (A) Rúmen, proliferação neoplásica invasiva de células escamosas com formação de pérolas de queratina. HE, obj.4x. (B) Visão aproximada de uma pérola de queratina. HE, obj.20x. (C) Observa-se infiltrado de linfócitos e plasmócitos na periferia da neoplasia, além de múltiplas células neoplásicas mineralizadas. HE, obj.20x. (D) Infiltração neoplásica constatada no fígado. HE, obj.20x.**

Em apenas um caso, o papiloma foi coletado para exame histológico e foi caracterizado por uma proliferação exofítica papilomatosa de queratinócitos bem diferenciados, suportados por discreto tecido fibrovascular, com inúmeras células contendo halo citoplasmático perinuclear claro e núcleo condensado (coilócitos), ocasionais queratinócitos contendo grânulos querato-hialinos e com hiperqueratose ortoqueratótica difusa moderada na superfície.

Nos linfonodos com metástase, observou-se o preenchimento dos seios medulares ou subcapsulares por células tumorais, assim como a obliteração das estruturas do órgão por focos da neoplasia. Essas células se apresentavam, ocasionalmente, queratinizadas, ou com deposição de mineral e incitavam resposta inflamatória formada por macrófagos, eosinófilos e células gigantes multinucleadas.

No caso do bovino com tumor hepático, havia proliferação de queratinócitos neoplásicos, semelhante à descrita no trato digestório e envolveu o parênquima hepático e o interior dos grandes vasos do órgão além da cápsula e parênquima do linfonodo hepático. À análise histológica do bovino com ruptura da parede do rúmen, o diagnóstico foi confirmado, pela observação de uma área focalmente extensa de necrose transmural do rúmen, com hemorragia e intensa deposição de fibrina, associada ao carcinoma de células escamosas (local de ruptura). Nesse caso, no exame histológico se visualizou ainda peritonite fibrinosupurativa acentuada, com miríades de bactérias cocoides na serosa de diversos órgãos da cavidade abdominal.

#### **4.5. Controle de *Pteridium arachnoideum* através do uso de herbicidas**

Devido à perda de área de pastejo para as populações de samambaia e às mortes recorrentes de bovinos, surgiu a necessidade de que se controlasse a planta na propriedade. Tentativas de controle, baseadas no uso de agentes químicos haviam sido realizadas, em anos anteriores, porém a interrupção precoce dos tratamentos e a aplicação localizada dos produtos comprometeram o sucesso dessas tentativas.

Recentemente, empregou-se o controle químico de maneira sistemática em toda a área da propriedade destinada à bovinocultura, consorciando picloram e metsulfurom-metílico. Os resultados obtidos nos piquetes tratados foram variados, com redução ao redor de 50% a 90% de cobertura da planta, dependendo da área analisada, ao longo desses três anos. Alguns bolsões da planta persistem em algumas áreas de difícil acesso para o maquinário, como no interior e no entorno das valas de condução da água anteriormente utilizadas no cultivo de arroz.

#### **4.6. Controle de *Pteridium arachnoideum* por pastejo de ovinos**

O piquete dos ovinos também apresentava solo de turfa, com vegetação de campo, composta, principalmente, de gramíneas, ciperáceas, árvores de distribuição esparsa e abundantes samambaias por toda a área cercada. Os 28 ovinos foram encerrados no piquete, no mês de maio de 2012, uma semana após a área ter sido roçada. Durante as visitas semanais à propriedade, antes do manejo sanitário,

observava-se que os ovinos davam predileção às gramíneas nativas e excluíam a samambaia da dieta. Apenas, raramente, constataram-se ovinos ingerindo pequenas porções de samambaia. Durante a inspeção da planta no piquete, também era raríssima a observação de plantas com vestígios de consumo.

Durante o período de maio de 2012 a março de 2013, os ovinos não apresentaram sinais clínicos associáveis com intoxicação por samambaia, assim como não houve animais com escore corporal baixo ou mesmo com perda fetal. Oito cordeiros nasceram no período de outubro e novembro de 2012. Dos 36 ovinos, que constituíam o lote após o nascimento dos cordeiros, três morreram (um com hemonose e dois com miíase severa). Além disso, dois ovinos foram perdidos por furto. Outros três ovinos apresentaram miíase e um caso de doença digital (*foot rot*), mas se recuperaram ao serem tratados com ivermectina 1% e penicilina injetável, respectivamente.

Os dois ovinos (1 e 2), transferidos ao SPV-UFRGS para a realização da indução ao consumo de samambaia, apresentaram consumo voluntário da planta, durante todo o período da indução (Figura 22).



**Figura 22 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: Experimento de indução de consumo por ingestão voluntária de samambaia por ovinos.**

Não foram observadas alterações clínicas, mas durante o período de adaptação, o ovino 2 perdeu 6,1 kg de peso corporal, enquanto o ovino 1 manteve seu peso. A quantidade de samambaia consumida, diariamente, pelos dois ovinos, simultaneamente, e os parâmetros clínicos diários dos ovinos estão expostos na Tabela 2.

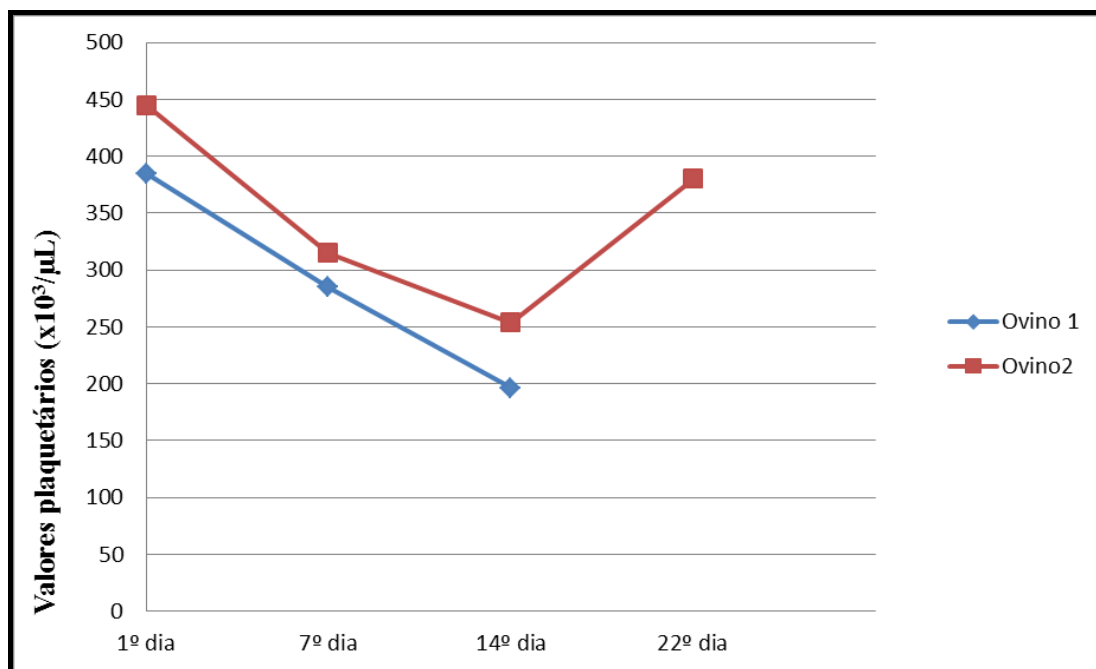
**Tabela 2** - Parâmetros clínicos e quantidade diária de samambaia consumida pelos ovinos do experimento de indução.

<b>Dia</b>	<b>1°</b>	<b>2°</b>	<b>3°</b>	<b>4°</b>	<b>5°</b>	<b>6°</b>	<b>7°</b>	<b>8°</b>	<b>9°</b>	<b>10°</b>	<b>11°</b>	<b>12°</b>	<b>13°</b>	<b>14°</b>	<b>15°</b>	<b>16°</b>	<b>17°</b>	<b>18°</b>	<b>19°</b>	<b>20°</b>	<b>21°</b>	<b>22°</b>
<b>Ovino 1</b>																						
<i>Frequência cardíaca (bpm)</i>	80	60	64	72	58	44	50	56	59	68	60	50	48	50	92	60	52	56	68	56	57	76
<i>Frequência respiratória (mpm)</i>	40	88	48	28	26	32	18	36	24	50	100	20	24	16	124	48	44	44	42	24	50	54
<i>Temperatura corporal (°C)</i>	38,7	39,0	38,9	38,9	39,2	38,6	39,2	39,2	39,0	39,3	39,4	38,8	38,6	38,7	40,0	38,9	39,0	38,5	39,0	38,5	39,1	39,8
<i>Movimentos ruminais.</i>	1/3'	1/2'	1/3'	1/3'	1/2'	1/2'	1/4'	1/1'	2/1'	5/2'	1/1'	2/1'	1/1'	1/1'	1/2'	1/2'	1/2'	1/1'	3/2'	2/1'	2/1'	3/2'
<i>Mucosas</i>	S/A <sup>a</sup>	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A
<i>Fezes/urina</i>	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A
<i>Peso (kg)</i>	42,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,0
<b>Ovino 2</b>																						
<i>Frequência cardíaca (bpm)</i>	80	96	68	68	72	68	56	64	64	74	64	72	66	54	96	84	64	60	66	56	66	72
<i>Frequência respiratória (mpm)</i>	32	64	48	32	27	32	32	36	34	40	100	30	20	20	36	32	40	32	44	20	65	50
<i>Temperatura corporal (°C)</i>	39,5	39,7	38,9	38,9	38,8	38,8	38,9	38,9	38,9	39,3	39,2	38,1	38,0	38,6	39,9	39,6	38,7	38,4	39,2	37,3	38,9	39,3
<i>Movimentos ruminais.</i>	1/3'	1/3'	1/3'	1/3'	1/3'	1/3'	1/3'	1/2'	2/1'	1/1'	1/1'	1/1'	1/1'	1/1'	1/1'	1/1'	1/2'	1/3'	2/1'	1/1'	3/2'	2/1'
<i>Mucosas</i>	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A
<i>Fezes/urina</i>	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A
<i>Peso (kg)</i>	48,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	42,8
<b>Consumo (g)<sup>b</sup></b>	700	460	566	530	536	800	800	594	440	650	550	550	720	670	640	644	677	643	800	500	800	640

<sup>a</sup> Sem alteração. <sup>b</sup> Quantidade de samambaia consumida pelos dois ovinos simultaneamente, ao fim do experimento os dois animais ingeriram 13,952 kg da planta.

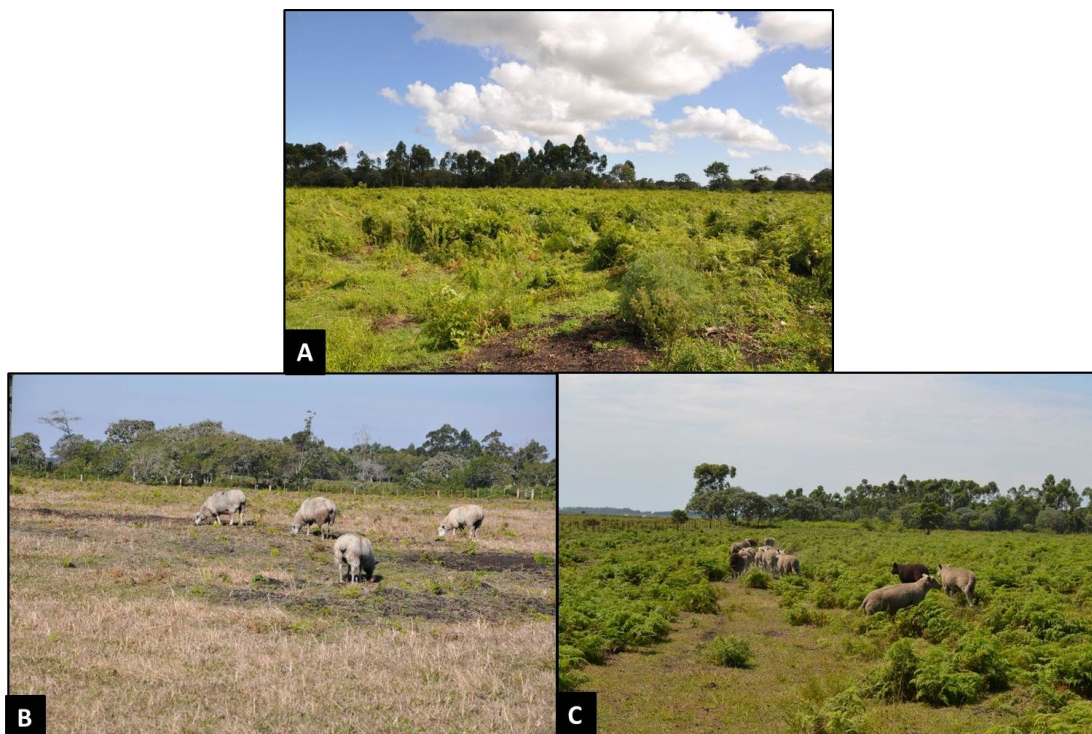


A contagem de plaquetas apresentou queda nos valores ao longo do experimento. Os valores da contagem de plaquetas estão apresentados na Figura 23.



**Figura 23 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*:** Representação gráfica dos valores plaquetários dos dois ovinos ao longo do tempo de experimento de indução ao consumo de *Pteridium archnoideum*. A amostra de sangue do ovino 1, coletada no 22º dia, apresentou agregação plaquetária, o que impossibilitou sua contagem.

No 22º dia de experimento, encerrou-se o fornecimento de samambaia e no 24º (dia 19/12/2012), os ovinos foram devolvidos ao campo. Mesmo após a introdução destes não se observou qualquer diferença no consumo de *P. archnoideum* pelo lote, nem tampouco pelos ovino 1 e 2 (Figura 24). Na metade de março de 2013, encerrou-se a tentativa de controle com ovinos.



**Figura 24 - Achados clínico-patológicos e métodos de controle da intoxicação por *Pteridium (aquilinum) archnoideum*: aspecto visual da cobertura vegetal da área experimental. (A) Severa infestação por samambaia, em abril de 2012, antes da introdução dos ovinos. (B) Vegetação baixa após roçada, em julho de 2012; ovinos introduzidos há aproximadamente dois meses. (C) Severa infestação por samambaia e supressão da vegetação restante do campo, em janeiro de 2013; ovinos introduzidos há aproximadamente oito meses.**

## 5. DISCUSSÃO

Os diagnósticos dos quadros de diátese hemorrágica e de carcinomas do trato digestório superior por consumo de *P. arachnoideum*, observados na propriedade, foram baseados nos achados clínicos e patológicos semelhantes aos descritos por diversos autores em bovinos intoxicados natural e experimentalmente (TOKARNIA, DÖBEREINER, CANELLA, 1967; HIRONO et al., 1984; BARROS et al., 1987; GAVA et al., 2002; SOUTO, et al., 2006a; ANJOS et al., 2008; ANJOS et al., 2009; FURLAN et al., 2014a).

Na propriedade estudada, a intoxicação por *Pteridium arachnoideum* tem sido um problema constante na produção de bovinos. Além das mortalidades, a infestação pela planta gera custos relacionados ao tratamento dos animais intoxicados e o ao controle químico e mecânico das populações de samambaia. Levantamentos realizados em laboratórios de diagnóstico no Rio Grande do Sul têm demonstrando que a intoxicação por *Pteridium arachnoideum* está entre as principais causas de morte em bovinos por plantas tóxicas nesse estado (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001; RISSI et al., 2007; ANTONIASSI et al., 2011; LUCENA et. al., 2011). Dessa forma, conclui-se que as perdas registradas nessa propriedade não são um fenômeno isolado, mas ocorrem em inúmeras outras propriedades no Rio Grande do Sul, assim como constatado por outros autores, em outras partes do Brasil e do mundo (ROOS, RÖDEL, BECK, 2010; TOKARNIA et al., 2012; FURLAN et al., 2014a e b).

Neste trabalho, não foi possível contabilizar o total de mortes decorrentes da intoxicação por *P. arachnoideum* na propriedade, devido à inespecificidade dos sinais clínicos relatados em casos em que não se realizou a necropsia. Os sinais clínicos da intoxicação pela planta podem ser atribuíveis a outras entidades nosológicas, sobretudo na sua forma aguda, que cursa com febre e eventuais alterações respiratórias que podem ser associados com diversas enfermidades infecciosas, como a tristeza parasitária bovina e a pasteurelose pulmonar (SIPPEL et al., 1952; TOKARNIA et al., 1967).

As causas conhecidas que estimulam o consumo de *P. arachnoideum* por bovinos incluem a baixa disponibilidade de pastagens, a contaminação do feno, a carência de fibras na alimentação, a roçada ou queimada dos campos infestados com subsequente rebrota, além da introdução de animais provindos de áreas livres da

planta (BARROS et al., 1987; TOKARNIA et al., 2012). No nosso estudo, a maior parte dos casos agudos ocorreu entre os meses de abril e agosto, período em que o pasto nativo se torna mais escasso. Além disso, a roçagem de campos infestados por *P. arachnoideum*, aparentemente predispõe à ocorrência de casos de intoxicação aguda pela planta, como no surto de mortalidade de bezerros, no ano de 2012. O que se deve provavelmente ao consumo de grandes quantidades de brotos, dotados de altas doses do princípio ativo. É válido lembrar ainda que, após experimentar a planta, o bovino pode adquirir o vício em consumi-la (TOKARNIA et al., 2007).

Os sinais clínicos e achados patológicos característicos da forma aguda são de febre com alta hipertermia, hemorragias em diversos órgãos e rarefação acentuada das células da medula óssea (HIRONO et al., 1984; ANJOS et al., 2008), os quais foram constantemente observados nos casos registrados na propriedade. Neste estudo foram constatados, adicionalmente, quadros de dispneia e estertores respiratórios, que estavam associados com edema e hemorragias na laringe, faringe e tecidos moles adjacentes. Semelhante ao que foi descrito por outros autores, esses quadros ocorreram principalmente em bovinos jovens (SIPPEL, 1952; RADOSTITIS et al., 2002). Especula-se que essa manifestação esteja relacionada a danos infligidos aos mastócitos teciduais, com liberação de histamina e consequentes aumento do diâmetro e da permeabilidade vascular, culminando em edema (RADOSTITIS et al., 2002). Embora a diminuição das proteínas plasmáticas, observada na intoxicação aguda, também tenha sido cogitada (SIPPEL, 1952). Quadros semelhante a esses foram escassamente descritos no Brasil (AMORIM et al., 2009; ANJOS et al., 2009).

Alguns autores subdividem o quadro clínico-patológico da intoxicação aguda por *Pteridium* sp. em bovinos em dois tipos: o primeiro, chamado “entérico”, é caracterizado por apatia, inapetência, hipertermia, pulso fraco, palidez e sangramento nas mucosas, além de enterite com coágulos de sangue nas fezes. Enquanto que o segundo tipo, chamado “laríngeo”, cursa com hipertermia, estertor, dificuldade respiratória e hemorragias e edema de laringe (FLETCHER, 1944; SIPPEL, 1952). No entanto, diante dos diversos casos naturais acompanhados na propriedade, em que se observou edema laríngeo juntamente com achados característicos da forma entérica, podemos concluir, considerado o que foi proposto por Anjos et al. (2009), que essas apresentações podem se sobrepor.

O ptaquilosídeo, princípio ativo presente na planta, possui ação radiomimética e é responsável pela redução progressiva das células hematopoiéticas da medula óssea, observada nos quadros de intoxicação aguda (HIRONO et al., 1984). A perda acentuada dessas populações celulares culmina em trombocitopenia hemorrágica, por afetar a formação do tampão plaquetário (hemostasia primária), que é agravada pela septicemia, decorrente da neutropenia (VALLI, 2007). Adicionalmente, a bacteremia pode acarretar em trombose e, portanto, dar origem a infartos (RADOSTITIS et al., 2002), como aqueles vistos no fígado, baço, pulmões e rins de alguns dos casos acompanhados.

Neste estudo, os carcinomas do trato digestório superior foram registrados com menor frequência do que a forma aguda da intoxicação, possivelmente devido à ocorrência de surtos de mortalidade na forma aguda. Para o desenvolvimento da forma crônica, os bovinos precisam consumir pequenas quantidades da planta ao longo de vários meses ou anos (TOKARNIA et al., 2012), conseqüentemente essas mortes ocorrerão de forma esporádica na propriedade. A forma crônica da intoxicação com desenvolvimento de carcinomas não era, no entanto, sem relevância, devido a perdas, sobretudo, de matrizes em idade reprodutiva.

O caráter irreversível da intoxicação pelo *Pteridium archnoideum*, a considerável prevalência no Brasil, a alta letalidade e os conseqüentes prejuízos econômicos (TOKARNIA et al., 2012; RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001; SOUTO et al., 2006a; RIET-CORREA e MÉNDEZ, 2007; ANJOS et al., 2008) qualificam a intoxicação por *P. archnoideum* como doença de controle prioritário para a pecuária nacional. Devido ao caráter irrecuperável da doença, os métodos de controle devem ser direcionados à prevenção da ingestão da planta. Neste sentido, o uso de ovinos como controle biológico de populações de *P. archnoideum* surgiu como alternativa a ser testada, visto o potencial da espécie como método de controle de diferentes plantas daninhas e tóxicas (HOLLOWAY, 1968; BANDARRA et al. 2012).

Segundo alguns autores, os ovinos parecem ser menos suscetíveis à intoxicação pela planta, o que pode ser devido a mecanismos particulares de detoxificação hepática, ou adaptação de flora ruminal, ou talvez, devido ao seu hábito de pastejo, por serem relutantes em consumir a planta em quantidades suficientes para ocasionar a apresentação clínica (PARKER, McCREA, 1965; SUNDERMAN, 1987;

KELLERMAN et al., 2005). Além disso, observamos que, apesar das consideráveis perdas de bovinos intoxicados por *Pteridium* sp. em nossa região e a constatação de infestações por samambaia em propriedades de criação de ovinos, a intoxicação nessa espécie não tem sido relatada. A carência de informações referentes à metodologia aplicável para tanto (lotação, período, uso de espécies herbívoras associadas, época de introdução, etc.) e ao desempenho produtivo de rebanhos ovinos mantidos em pastejo de áreas invadidas pela planta motivou a realização desse trabalho.

Foi proposta a investigação da possibilidade de aplicação de metodologia semelhante a que tem sido desenvolvida no controle de *Senecio* sp. (BANDARRA et al., 2012) para o controle de populações de *P. arachnoideum*, além de monitorar o desempenho produtivo de ovinos que consomem e controlam a planta. Os resultados, no entanto, apontam que os ovinos não atuam de forma eficaz na redução das populações da planta, possivelmente devido ao hábito alimentar seletivo característico da espécie, somado, a um menor potencial de pisoteio da vegetação quando comparado a bovinos. Porém, optou-se por não exceder a lotação do piquete, para que não se prejudicasse o desempenho produtivo e reprodutivo do lote, já que esses são fatores essenciais na criação de qualquer espécie de valor zootécnico. Finalmente, pôde-se observar que, apesar do reduzido potencial da espécie como controle biológico da planta, não se observou nenhum sinal clínico ou patológico compatível com intoxicação por *P. arachnoideum* em qualquer dos ovinos introduzidos, ou nascidos na área experimental, mesmo com os altos níveis de infestação detectados nesse campo.

O controle químico da samambaia tem se mostrado um método relativamente efetivo no controle da samambaia (LE DUC et al., 2000). Em experimentos realizados no Equador, esses mesmos herbicidas empregados na propriedade, picloram combinado com metsulfurom-metílico demonstraram resultados semelhantes, porém não erradicaram a planta, depois de seis intervalos de aplicações, em um período de 23 meses (ROOS, RÖDEL, BECK, 2010). Apesar de possibilitar a redução das populações de *Pteridium* sp., esse método ainda tem sido questionado, por apresentar elementos negativos relacionados com a contínua necessidade de aplicação. Vale lembrar que, quando herbicidas com o mesmo modo de ação são aplicados repetidamente, por vários anos, para controlar a mesma espécie de planta

invasora, biótipos resistentes da planta podem sobreviver ao tratamento, propagar-se e passar a dominar a área (RODRIGUES, ALMEIDA, 2005).

Além disso, outro fator negativo da utilização de controle químico, principalmente se aplicado sem orientação profissional, são os efeitos ambientais decorrentes da baixa especificidade de ação sobre o organismo alvo. Dessa forma, é preciso levar em conta quais as outras espécies vegetais, ou animais que serão afetadas com seu uso sistemático. Dentro dessa perspectiva, há produtos com efeito em um amplo grupo de organismos, desde vegetais até animais vertebrados, inclusive os animais de interesse pecuário e o próprio ser humano. Outros podem afetar vegetais cultivados, como as forrageiras, ou ainda, o campo nativo e sua intrincada rede de interações ecológicas, o que poderia resultar em declínio de produtividade de forma indireta (FREEMARK, BOUTIN, 1995).

A solução da questão reside, dessa forma, na escolha do agente químico com melhor ação sobre o organismo alvo, neste caso *Pteridium arachnoideum*, e com o menor impacto sobre os outros elementos do ambiente. Tais qualidades são, no entanto, dificilmente encontradas associadas em um mesmo princípio ativo e, logo, depender-se-á de aplicação racional, de forma que os produtos não causem efeitos prejudiciais sobre os demais organismos do ambiente, ou que não contaminem os produtos de origem animal e as águas consumidas pela população humana.

## 6. CONCLUSÕES

- A intoxicação por *Pteridium arachnoideum* foi uma causa importante de perdas na propriedade estudada.
- Bovinos naturalmente infectados na propriedade apresentaram síndrome hemorrágica aguda e quadro crônico caracterizado pelo desenvolvimento de tumores de células escamosas no trato digestório superior.
- Bovinos com quadro de diátese hemorrágica podem apresentar edema e hemorragia acentuados da laringe, faringe e/ou tecidos moles adjacentes, ocasionando estreitamento da rima da glote e quadro clínico de dispneia e respiração ruidosa.
- A utilização de ovinos como controle biológico de *Pteridium arachnoideum* se mostrou ineficiente na lotação de quatro animais por hectare, entretanto nenhum ovino desenvolveu quadro clínico-patológico da intoxicação pela planta.
- A utilização consorciada de picloram (Padron<sup>®</sup>) e metsulfurom metílico (Ally<sup>®</sup>) associado à roçagem prévia de campos altamente infestados por *Pteridium arachnoideum* reduziu de maneira variável as populações da planta.



- **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. ALDAY, J.G.; et al. Overcoming resistance and resilience of an invaded community is necessary for effective restoration: a multi-site bracken control study. **Journal of Applied Ecology**. p. 1-12. 2012.
2. AMORIM, R.M.; et al. Intoxicação aguda por *Pteridium aquilinum* em dois bovinos. **Ciência Animal Brasileira- Suplemento 1- VIII Congresso Brasileiro de Buiatria – Anais**. Belo Horizonte-MG, p. 302-307. 2009.
3. ANJOS, B.L. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos na Região Central do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 10, p. 501-507. 2008.
4. ANJOS, B.L.; et al. Intoxicação experimental aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 9, p. 753-766. 2009.
5. ANTONIASSI, N. A. B.; et al. Poisonous plants affecting ruminants in Southern Brazil. In: RIET-CORREA, F.; et al. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 1ª ed. Oxfordshire: CABI International. p. 87-90. 2011.
6. BANDARRA, P.M.; et al. Sheep production as a *Senecio* spp. control tool. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 10, p. 1017-1022. 2012.
7. BARROS, C.S.L.; et al. Intoxicação aguda por samambaia (*Pteridium aquilinum*) em bovinos no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**. n. 37. p. 33-38. 1987.
8. CAMPO, M.S. Bovine papillomavirus and cancer. **The Veterinary Journal**. v. 154, p. 175-188. 1997.
9. CAMPO, M.S. Animal models of papillomavirus pathogenesis. **Virus Research**. v. 89, p. 249-261. 2002.
10. CASAGRANDE, R.A.; et al. Doenças de bovinos diagnosticadas pelo laboratório de Patologia Animal CAV/UEDESC de janeiro de 2000 a abril de

2008. **Anais do 3º Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário**, Campo Grande-MS. p. 55-56. 2008.
11. DER, J.P.; et al. Global chloroplast phylogeny and biogeography of bracken (*Pteridium*; Dennstaedtiaceae). **American Journal of Botany**. v. 96, n. 5, p. 1041-1049. 2009.
  12. DINIZ, J.M.F.; BASILE, J.R. e CAMARGO, N.J. Intoxicação natural de asininos por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn no Brasil. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 36, n. 5, p. 515-522. 1984.
  13. EVANS, I.A.; et al. Effects of Bracken Rhizomes on the pig. **Journal Comparative Pathology**. v. 73, p. 229-243. 1963.
  14. FLETCHER, J.M. Bracken poisoning in cattle. **The Veterinary Record**. v. 56, n. 49, p. 478. 1944.
  15. FLETCHER, M.T.; et al. Residue potential of norsesquiterpene glycosides in tissue of cattle fed austral bracken (*Pteridium esculentum*). **Journal of Agricultural and food chemistry**. v. 59, p. 8518-8523. 2011.
  16. FRANÇA, T.N.; TOKARNIA, C.H. e PEIXOTO, P.V. Enfermidades determinadas pelo princípio radiomimético de *Pteridium aquilinum* (Polypodiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 22, n. 3, p. 85-96. 2002.
  17. FREITAS, R.N. Estudos moleculares de tecidos normais e tumores malignos de roedores tratados com samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Tese de doutorado**. Departamento de Bioquímica e Imunologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 134 p. 2001.
  18. FREEMARK, K.; BOUTIN, C. Impacts of agricultural herbicide use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: a review with special reference to North America. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v. 52, p. 67-91. 1995.
  19. FURLAN, F.H.; et al. Intoxicação aguda por *Pteridium arachnoideum* e *Pteridium caudatum* em bovinos e distribuição das plantas em Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n. 4, p. 343-348. 2014a.

20. FURLAN, F.H.; et al. Perfil de propriedades rurais com pastos invadidos por *Pteridium arachnoideum* na região norte de Mato Grosso e prevalência de hematúria enzoótica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 34, n. 8, p. 753-759. 2014b.
21. GABEL, A.; STUDDT, R. e METZ, S. Effect of *Cryptomyces pteridis* on *Pteridium aquilinum*. **Mycologia**. v. 88, n. 4, p. 635-641. 1996.
22. GABRIEL, A.L; et al. Aspectos clínico-hematológicos e lesões vesicais na intoxicação crônica espontânea por *Pteridium aquilinum* em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 7, p. 515-525. 2009.
23. GALVÃO, A.; et al. Sobrevivência/viabilidade de bovinos com hematúria enzoótica após transferência para região livre de *Pteridium arachnoideum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 9, p. 887-902. 2012.
24. GAMA, A. e DUMAS, Y. Vegetation cover changes after chemical control: an example. In: SMITH, R.T. e TAYLOR, J.A. **Bracken Fern: toxicity, biology and control**. Manchester: International Bracken Group Conference. p. 180-182. 1999.
25. GAVA, A. Intoxicações por *Pteridium aquilinum*. In: RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M. D.C. e SCHILD, A. **Intoxicações por plantas e micotoxinas em animais domésticos**. 1ª. ed, Buenos Aires: Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. p. 247-258, 1993.
26. GAVA, A.; et. al. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in Southern Brazil. **Veterinary and Human Toxicology**. v. 44, n. 6, p. 362-365. 2002.
27. GIL da COSTA, R.M.; et al. Bracken-associated human and animal health hazards: Chemical, biological and pathological evidence. **Journal of Hazardous Materials**. v. 203-204, p. 1-12. 2012.
28. HARBUTT, P.R. e LEAVER, D.D. Cacinoma of the bladder of sheep. **Australian Veterinary Journal**. v. 45, p. 473-475. 1969.

29. HIRONO, I.; FUSHIMI, K. e MATSUBARA, M. Carcinogenicity test of shikimic acid in rats. **Toxicology Letters**. v. 1, p. 9-10. 1977.
30. HIRONO, I.; et al. Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. **The Veterinary Record**. v. 115, p. 375-378. 1984.
31. HIRONO, I.; et al. Reproduction off progressive retinal degeneration (Bright Blindness) in sheep by administration of ptaquiloside contained in bracken. **Journal of Veterinary Medical Science**. v. 55, n. 6, p. 979-983. 1993.
32. HOJO-SOUZA, N.S.; CARNEIRO, C.M. e SANTOS, R.C. *Pteridium aquilinum*: O que sabemos e o que ainda falta saber. **Journal Bioscience**. v. 26, n. 5, p. 798-808. 2010.
33. HOLLOWAY, J.K. Proyectos en el control biologico de las malas hierbas. In: DeBACH, P. **Control biologico de las plagas de insectos y malas hierbas**. 1ªed. Buenos Aires: Compañia Editorial Continental. 1968.
34. KELLERMAN, T.S.; et al. Plant poisonings and mycotoxicoses of livestock in Southern Africa. 2ªed. Oxford : Oxford University Press. 310 p. 2005.
35. KIRK, A.A. The insect fauna of the weed *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Polypodiaceae) in Papua New Guinea: a pontential source of biological control angents. **Journal of the Entomological Society**. v. 16. p. 403-409. 1977.
36. LE DUC, M.G. The variable responses of bracken fronds to control treatments in Great Britain. **Annals of Botany**. v. 85, p. 17-29. 2000.
37. LORENZI, H. Plantas Daninha do Brasil. 3ª ed. São Paulo: Instituto Plantarum. 608 p. 2000.
38. LUCENA, R.B.; et al. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n. 5, p. 428-434. 2010.
39. LUCENA, R.B. et al. A retrospective study of 586 tumours in brazilian cattle. **Journal Comparative Pathology**. v. 145, p. 20-24. 2011.

40. MCKENZIE, R. **Australia's Poisonous Plants, Fungi and Cyanobacteria**. 1<sup>a</sup> ed. Collingwood: CSIRO Publishing. 950 p. 2012.
41. McCREA, C.T. e HEAD, K.W. Sheep tumours in North East Yorkshire. I. Prevalence on seven moorland farms. **British Veterinary Journal**. v. 134, p. 454-461. 1978.
42. MARTINI-SANTOS, B.J. Aspectos clínicos e patológicos da intoxicação experimental por *Pteridium arachnoideum* (Dennstatiaceae) em equinos. **Dissertação de mestrado**. Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 56 p. 2010.
43. MASUDA, E.K. et al. Morphological factors as indicators of malignancy of squamous cell carcinomas in cattle exposed naturally to bracken fern (*Pteridium aquilinum*). **Journal Comparative Pathology**. v. 44, p. 48-54. 2011.
44. MATOS, F.J.A.; et al. **Plantas tóxicas: estudo de fitotoxicologia química de plantas brasileiras**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Instituto Plantarum. 247 p. 2011.
45. MOON, F.E. e RAAFAT M.A. The experimental production of bracken "poisoning" in sheep. **Journal Comparative Pathology**. v. 61, p. 88-100. 1951.
46. NUNES, L.C.; et al. Upper urinary tract lesions associated with enzootic bovine hematuria. In: RIET-CORREA, F.; et al. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 1<sup>a</sup> ed. Oxfordshire: CABI International. p. 384-387. 2011.
47. OLIVEIRA, L.G.; et al. Similarities between non-neoplastic urinary bladder lesions in bovine enzootic hematuria and those induced by radiotherapy in humans. In: RIET-CORREA, F.; et al. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 1<sup>a</sup> ed. Oxfordshire: CABI International. p. 388-395. 2011.
48. PAPAVALASOPOULOS, A.K. Biological control of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn as a realistic prospect. **AgroThesis**. v. 1, n. 1, p. 13-18. 2003.
49. PARKER, W.H. e McCREA, C.T. Bracken (*Pteris aquilina*) poisoning of sheep in the North York Moors. **The Veterinary Record**. v. 77, n. 30, p. 861-865. 1965.

50. PEDROSO, P.M.O., et al.. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n.2 ; p. 213-218. 2007.
51. PEIXOTO, P.V.; et al. Histopathological aspects of bovine enzootic hematuria in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 23, n. 2, p. 65-81. 2003.
52. RADOSTITS, O. M. *et al.* Principais fitotoxinas causadoras de doenças: Intoxicação por ptaquilosídeo. In: **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2002, p. 1498-1501.
53. RECOUSO, R.C.; et al. Clastogenic effect of bracken fern (*Pteridium aquilinum* v. *arachnoideum*) diet in peripheral lymphocytes of human consumers: preliminar data. **Veterinary and Comparative Oncology**. v. 1, n. 1, p. 22-29. 2003.
54. RIET-CORREA, F. e MEDEIROS, R.M.T. Intoxicações por plantas 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.
55. RIET-CORREA, F. e MÉNDEZ, M.D.C. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F.; et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3ª ed. Santa Maria: Pallotti. v. 2, p. 99-221. 2007.
56. RISSI, D.R.; et al. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, n. 7, p. 261-268. 2007.
57. ROBINSON, R.C. The means to large-scale, effective bracken clearance in the UK. In: SMITH, R.T. e TAYLOR, J.A. **Bracken Fern: toxicity, biology and control**. Manchester: International Bracken Group Conference. p. 156-162. 1999.
58. RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de Herbicidas**. 5ª ed. Londrina: Grafmarke. 592 p. 2005.

59. ROOS, K.; RÖDEL, H.G. e BECK, E. Short- and long-term effects of weed control on pastures infested with *Pteridium arachnoideum* and an attempt to regenerate abandoned pastures in South Ecuador. **Weed Research**. v. 51, p. 165-176. 2010.
60. SIPPEL, W.L. Bracken fern poisoning. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. n. 121, p. 9-13. 1952.
61. SONNE, L.; et al. Outbreak of acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattle. In: RIET-CORREA, F.; et al. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. 1ª ed. Oxfordshire: CABI International. p. 402-405. 2011.
62. SOUTO, M.A.M.; et al. Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 26, n. 2, p. 112-122. 2006a.
63. SOUTO, M.A.M.; et al. Neoplasmas da bexiga associados à hematuria enzoótica bovina. **Ciência Rural**. v. 36, n. 5, p. 1647-1650. 2006b.
64. SUNDERMAN, F.M. Bracken poisoning in sheep. **Australian Veterinary Journal**. v. 64, p. 25-26. 1987.
65. THOMSON, J.A. e ALONSO-AMELOT, M.E. Clarification of the taxonomic status and relationships of *Pteridium caudatum* (Dennstaedtiaceae) in Central and South America. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 140, p. 237-248. 2002.
66. THOMSON, J.A.; MICKEL, J.T. e MEHLTRETER, K. Taxonomic status and relationships of bracken ferns (*Pteridium*: Dennstaedtiaceae) of Laurasian affinity in Central and North America. **Botanical Journal of the Linnean Society**. n. 157. p. 1-17. 2008.
67. TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C.F. Ocorrência da intoxicação aguda pela “samambaia” (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) em bovinos no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Seção Veterinária. n. 2. p. 329-336. 1967.

68. TOKARNIA, C.H.; et al. **Plantas Tóxicas da Amazônia a Bovinos e outros Herbívoros**. 2ª ed. Amazônia: INPA. 97 p. 2007.
69. TOKARNIA, C.H. et al. **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2ª. ed., Rio de Janeiro: Helianthus Ltda-ME. 566 p., 2012.
70. ULIAN, C.M.V.; et al. *Pteridium aquilinum* na alimentação humana: uma revisão. **Acta Veterinária Brasilica**. v. 4, n. 2, p. 64-69. 2010.
71. VALLI, V.E.O. Hematopoietic system. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds). **Pathology of domestic animals**. 5<sup>th</sup> ed., Endinburgh: Saunders Elsevier. v. 3, p. 107-324, 2007.
72. WILSON, E. O. **Sociobiology: the new synthesis**. Cambridge: Belknap, 697 p. 2000.
73. ZACHARY, J.F. **Sistema Nervoso**. In: McGAVIN, M.D. e ZACHARY, J.F. Bases da Patologia em Veterinária. 4ª ed. São Paulo: Elsevier. p. 833-971. 2009.