INTOXICAÇÃO EXPERIMENTAL POR *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) EM COELHOS¹

CARLOS HUBINGER TOKARNIA², PAULO VARGAS PEIXOTO³, ALDO GAVA⁴ e
JÜRGEN DÖBEREINER⁵

ABSTRACT.- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Döbereiner J. 1992. [Experimental poisoning by *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* and var. *weirii* (Compositae) of rabbits.] Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em coelhos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):49-64. Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970, Brazil.

The dried and powdered aerial parts of *Baccharis megapotamica* Sprengel var. *megapotamica* and var. *weirii* (Baker) Barroso, plants which occur mainly in Southern Brazil, were toxic when administered by stomach tube to 68 rabbits; 42 of these died. The two varieties of the plant showed similar toxic properties, but there were a few differences. In both varieties the toxic symptoms were practically the same independently of its growing stage, the sex of the plants or its origin. However there were large differences in the lethal dose of the two varieties. It was between 2 and 4 g/kg for variety *megapotamica* and between 0,34 and 0,68 g/kg for var. *weirii* (dried plant material). Thus var. *weirii* was about 5 times more toxic than var. *megapotamica*. Fatal poisoning was acute with both varieties. In most cases symptoms caused by var. *megapotamica* were seen during 20 hours to 4 days; with var. *weirii* they were seen in most cases during less than 15 hours. Death occurred in most cases between 22 and 73 hours, and between 12 and 56 hours respectively after administration of the plant. The main symptoms shown by the rabbits intoxicated by var. *megapotamica* were anorexia and modified feces, mainly in the form of diarrhea, in most cases with the presence of mucus and blood. Anorexia was observed also in poisoning by var. *weirii*, but there were few cases of diarrhea and the faeces never contained mucus and blood. The main post-mortem findings in the rabbits poisoned by the two varieties were seen in the digestive tract, mainly in the stomach and caecum. The mucosa of the stomach was reddened, especially in the cranial part. The content of the caecum had a liquid-pasty consistency. Dark red slightly elevated and rough areas were seen on the caecal mucosa. The caecal wall was frequently edematous. There were also lesions in the small and large intestine. In the small intestine lesions were seen only in poisoning by var. *weirii* and consisted of a reddened mucosa; in the colon and rectum severe lesions were seen only in poisoning by var. *megapotamica* and consisted of diptheroid necrosis. Both varieties produced livers that were almost always clearer than normal and slightly mottled. The histological lesions were necrosis and hemorrhages in the upper portion of the stomach mucosa, but necrosis of the parietal cells were more severe with var. *megapotamica*, being only slight with var. *weirii*. The mucosa of the small intestine only showed congestion and hemorrhages with var. *weirii*. The most important lesions were seen in the caecum, where there were hemorrhages and necrosis of the mucosa, and edema of the submucosa. Granulocytes were present, in most cases in small amounts, but were generally more numerous with var. *megapotamica*, were some showed karyorrhexis; karyorrhexis was not seen after poisoning by var. *weirii*. In the initial part of the colon there were more hemorrhages and necrosis of the mucosa with var. *weirii*. However in the mucosa of the distal part of the colon and of the rectum, hemorrhages and necrosis with the presence of nuclear detritus (debris) on the surface of the mucosa, and necrosis with cariorrhexia of the epithelial cells of the glands, were more common with var. *megapotamica*. Basically the same lesions were seen in the liver following poisoning by both varieties; there was severe tumefaction of the hepatic cells of the whole lobule, being especially severe in the periportal area. In the lymphatic tissue of the spleen and vermiform appendice of the caecum, necrosis characterized by cariorrhexia of the lymphoid cells in the follicles, was produced by both varieties, but was more frequent and more pronounced with var. *weirii*. The two varieties, dried and milled, lost some of their toxicity, when kept in closed

¹ Aceito para publicação em 12 de novembro de 1991.

² Departamento de Nutrição Animal e Pastagens, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305010/76-VT-07).

³ Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, 97119-900 Santa Maria, RS.

⁴ Universidade para o Desenvolvimento de Santa Catarina, Centro Agroveterinário, Av. Luiz de Camões 2090, Lages, SC 88520-000.

⁵ Projeto Saúde Animal Embrapa/UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851-970; bolsista do CNPq (305294/88-1).

bottles; but when stored unmilled in cotton sacs, the plants kept their toxicity entirely. Rabbits, to which the two varieties were given, various times in sublethal doses with monthly intervals, did not acquire tolerance against the toxic properties of the plant.

INDEX TERMS: Poisonous plants, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, experimental poisoning, rabbit, pathology.

SINOPSE.- As partes aéreas dessecadas e pulverizadas de *Baccharis megapotamica* Sprengel variedades *megapotamica* e *weirii*, plantas brasileiras conhecidas por conterem tricotecnos, foram administradas por via intragástrica a 68 coelhos, dos quais 42 morreram. O quadro clínico-patológico observado na intoxicação por ambas as variedades foi semelhante, porém a dose letal da var. *megapotamica* oscilou entre 2 e 4 g/kg, enquanto que a da var. *weirii* situou-se entre 0,34 e 0,68 g/kg, independentemente da fase de crescimento, do sexo da planta ou da procedência. Da mesma forma, a evolução nos casos fatais da intoxicação pela var. *megapotamica* foi mais longa (na maioria dos casos entre 7 e 32 horas) que a da var. *weirii* (geralmente menos de 15 horas). Na intoxicação pela var. *megapotamica* os principais sintomas foram anorexia e fezes alteradas, sobretudo diarreia, geralmente com presença de muco e sangue, já na intoxicação pela var. *weirii* havia também anorexia, porém a diarreia foi pouco freqüente e sem presença de muco ou sangue. Os achados de necropsia na intoxicação por ambas as variedades consistiram em avermelhamento da mucosa do estômago; ceco com áreas elevadas e rugosas, de coloração vermelho-escura, edema de parede e conteúdo líquido-pastoso; fígado mais claro e levemente mosqueado. Na intoxicação pela var. *megapotamica* havia ainda necrose difteróide no cólon e reto, enquanto que com a var. *weirii* observou-se avermelhamento da mucosa do intestino delgado. Histologicamente, havia, na intoxicação por ambas as variedades, necrose e hemorragias na parte superior da mucosa do estômago, porém necrose das células parietais foi bem mais acentuada na intoxicação pela var. *megapotamica*; no ceco, observaram-se hemorragias e necrose na mucosa, edema na submucosa e presença de polimorfonucleares que, na intoxicação pela var. *megapotamica*, em parte estavam em cariorrexia; no cólon, havia necrose e hemorragias, que na intoxicação pela var. *weirii* eram mais acentuadas na parte proximal, na intoxicação pela var. *megapotamica* eram mais acentuadas na parte distal e também presentes no reto; fígado com acentuada tumefação celular; no tecido linfóide (baço, apêndice vermiforme do ceco), necrose com cariorrexia, mais freqüente e mais intensa na intoxicação pela var. *weirii*. Por 9 a 12 meses a planta dessecada inteira e em sacos de pano conservou integralmente a sua toxidez, porém quando guardada moída e em vidros de tampa plástica, perdeu um pouco de sua toxidez. Coelhos que receberam repetidamente doses subletais da planta, com intervalos mensais, não adquiriram tolerância à ação tóxica da planta.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Plantas tóxicas, *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica*, *Baccharis megapotamica* var. *weirii*, Compositae, intoxicação experimental, coelho, patologia.

INTRODUÇÃO

Através da experimentação foi demonstrada a toxidez de *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* para bovinos. Em ambas as variedades a ação da planta foi praticamente a mesma. A evolução da intoxicação foi aguda. No quadro clínico predominaram sintomas relativos ao aparelho digestivo. À necropsia chamava atenção congestão da mucosa e edema da parede do rú-

men; nos exames histopatológicos havia necrose do epitélio do rúmen, de hepatócitos e de elementos linfóides do tecido linfático. Houve porém uma grande diferença na dose letal entre as 2 variedades. Enquanto que para a var. *megapotamica* a dose letal variou entre 3 e 4 g/kg, para a var. *weirii* foi de 1 g/kg. Portanto, a var. *weirii* foi 3 a 4 vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*. (Tokarnia et al. 1992)

Até o momento, existem apenas históricos e observações sobre a ocorrência da intoxicação espontânea por *B. megapotamica* var. *weirii*; já em relação a var. *megapotamica*, as informações obtidas até agora foram sempre no sentido de que os bovinos não comem esta planta (Tokarnia et al. 1992).

O presente estudo experimental em coelhos foi realizado com a finalidade de verificar se o coelho serve como animal de pequeno porte sensível à intoxicação por *B. megapotamica* para a continuação de estudos, tais como comparações de sua toxidez em diferentes fases de crescimento, de acordo com o sexo e a procedências da planta, preservação de sua toxidez quando armazenada, capacidade de induzir tolerância nos animais após repetidas ingestões da planta, e trabalhos com seu(s) princípio(s) tóxico(s).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas coletas de *Baccharis megapotamica* Sprengel var. *megapotamica* e var. *weirii* (Baker) Barroso em diversos locais (de *B. megapotamica* var. *megapotamica* em Santa Maria e Guaíba, RS, e de *B. megapotamica* var. *weirii* em Chapecó e Lages, SC), em diversas épocas do ano, com a planta em diferentes fases de crescimento (em brotação, planta madura sem inflorescências e planta madura com inflorescências). Quando com inflorescências, as plantas masculinas e femininas eram separadas.

As plantas foram dessecadas à sombra em temperatura ambiente. Em seguida eram dessecadas em estufa a 40-45°C durante alguns minutos, trituradas em moinho Wiley com malha 60 e finalmente conservadas em vidros fechados com tampa plástica, guardados à sombra, em temperatura ambiente. A relação do peso de material dessecado para fresco foi de 1:3,6 na época de floração e de 1:4,25 na época de brotação (determinações feitas com *B. megapotamica* var. *megapotamica* em Santa Maria).

As partes aéreas dessecadas e pulverizadas das 2 variedades de *B. megapotamica* foram administradas aos coelhos, com peso de aproximadamente 3 kg em doses únicas, previamente determinadas. Para se poder fazer comparações com *B. coridifolia*, outra planta tóxica desse gênero, testada em coelhos (Döbereiner et al. 1976), foram usadas também nesse trabalho as doses de 0,68 g/kg ou frações e múltiplos desse valor. A planta pulverizada foi administrada na forma de suspensão aquosa administrada por meio de sonda gástrica, adaptada a um funil de separação (Peixoto et al. 1987). Após a administração da planta, os coelhos, mantidos em gaiolas individuais, ficavam em observação quase

contínua durante a maior parte do dia. Os animais recebiam água *ad libitum* e ração peletizada comercial em quantidades medidas para controlar modificações no apetite. Nos casos de morte, fazia-se a necropsia e coletavam-se fragmentos de fígado, rins, coração, pulmões, baço, sistema nervoso central e sobretudo das diversas partes do tubo digestivo, para exames histopatológicos. Os fragmentos eram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina, cortados em micrótomo na espessura de 5 μ e corados pela Hematoxilina-Eosina (HE).

Os experimentos para verificar se *B. megapotamica* (var. *megapotamica* e var. *weirii*) mantêm sua toxidez quando armazenada, foram realizados 9 a 12 meses após a sua coleta, com as mesmas amostras usadas nos experimentos iniciais, isto é, as plantas moídas e guardadas em vidros fechados com tampa plástica, mantidas na sombra à temperatura ambiente e simultaneamente com amostras das mesmas plantas que, após dessecação, foram guardadas em sacos de pano e somente moídas pouco antes do novo experimento.

Quadro 1a. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. megapotamica em coelhos. Doses e sintomas*

Coelho nº (reg. SAP)	Peso (g)	Planta			Desfecho	Início dos sintomas após adm. planta	Evolução (Recuperação)	Morte após administração da planta	Sintomas						
		Coleta		Adm. inistração					anorexia	diarréia	sangue	muco			
		Local	Data										Ciclo e sexo	Data	Quant. g
Experimentos com a planta procedente de Santa Maria, RS															
1062 (24801-805)	3320	S. Maria LC 289	jan. 1990	M ^a	1,3.90	13,3	4,0	Morreu	22h28min	aprox. 24h	aprox. 64 1/2h	+++ ^b	+++	+++	+
1056	4420	"	"	"	5,3.90	8,9	2,0	Adoeceu +	aprox. 36h	(48h)	-	+	(+)	-	-
1064	3410	"	"	"	9,3.90	9,3	2,72	Adoeceu +++	22h	(16 dias)	-	+++	++	+	+++
1072	3120	S. Maria LC 296	29.3.90	m	26,4.90	8,5	2,72	Adoeceu ++(+)	27h55min	(10 dias)	-	+++	+	++	++
1076 (24850-855)	3110	"	"	"	3,5.90	12,5	4,0	Morreu	24h25min	3 min	24h28min	-	-	-	-
1071	3220	S. Maria LC 295	"	f	26,4.90	8,8	2,72	Adoeceu ++(+)	23h15min	(8 dias)	-	+++	+	-	++ e psm ^c
1075 (24863-869)	3270	"	"	"	3,5.90	13,1	4,0	Morreu	23h20min	18 dias	19 dias	+++	++	+	+++
1074 (24856-861)	3560	"	"	"	9,5.90	19,4	5,44	Morreu	23h55min	32h10min	56h05min	+++	++	++	++
1109 (25149-155)	3440	S. Maria LC 309	10,4.90	f	12,4.91	13,8	4,0	Morreu	23h30min	8h29min	31h59min	+++	-	-	-
1123	3580	"	"	"	9,8.91	9,8	2,72	Adoeceu ++(+)	23h00min	(7 dias)	-	+++	+	-	-
1080	3130	S. Maria LC 297	13,7.90	B	8,8.90	4,3	1,36	Adoeceu +	23h45min	(5 dias)	-	++	(+)	-	+
1082 (24921-927)	3220	"	"	"	"	8,8	2,72	Morreu	23h50min	26h47min	50h37min	-	(+)	+	-
1083 (24942-948)	3170	"	"	"	9,8.90	6,34	2,0	Morreu	23h35min	quase 4 dias	5 dias	+++	+	+	+
1084 (24935-941)	3410	"	"	"	"	10,3	3,0	Morreu	23h40min	11h43min	35h23min	+++	+	-	-
1085 (24928-934)	3630	"	"	"	"	14,6	4,0	Morreu	24h15min	9h24min	33h39min	-	-	-	-
1100	3260	S. Maria LC 300	25,10.90	B	10,12.90	4,5	1,36	Adoeceu +++	33h25min	(7 dias)	-	+++	++	++	++ e psm
1104	2840	"	"	"	13,12.90	2,0	0,68	S.s	-	-	-	-	-	-	-
1088 (25075-082)	3430	"	"	"	17,12.90	6,9	2,0	Morreu	21h20min	14h31min	35h51min	+++	+	+	+
1133 (25409-416)	3260	S. Maria LC 311	24,6.91	B	12,8.91	6,5	2,0	Morreu	21h55min	7h07min	22h02min	+++	-	-	-
1139	3180	"	"	"	15,8.91	4,3	1,36	Adoeceu +	23h55min	(3 dias)	-	+	-	-	-
1134 (25441-448)	3040	S. Maria LC 312	24,6.91	f	12,8.91	6,0	2,0	Morreu	22h30min	aprox. 2 dias e 22h	quase 4 dias	+++	+	+	+
1135	3110	"	"	"	23,8.91	4,2	1,36	Adoeceu +++	24h20min	(26 dias)	-	+++	+	-	+
Experimentos com a planta procedente de Guafba, RS															
1063	3200	Guafba LC 290	jun. 1989	m	1,3.90	4,4	1,36	Adoeceu +	36h	(24h)	-	+	(+)	-	-
1065 (24806-808)	3100	"	"	"	5,3.90	8,5	2,72	Morreu	23h18min	34h45min	58h	+++	++	-	-
1054	3440	"	"	"	9,3.90	6,9	2,0	Adoeceu +	33h20min	(36h)	-	+	-	-	-
1067	3300	Guafba LC 291	"	f	1,3.90	4,5	1,36	Adoeceu ++(+)	22h10min	(4 1/2 dias)	-	+++	++	+	+++
1068 (24809-812)	3100	"	"	"	5,3.90	8,5	2,72	Morreu	23h33min	37h25min	61h	+++	+	+	+++ e psm
1061	3700	"	"	"	9,3.90	7,4	2,0	Adoeceu ++	48h20min	(60h)	-	+++	-	++	++
1111	2860	Guafba LC 304	9,12.90	B	11,1.91	3,9	1,36	Adoeceu +	25h	(2 dias)	-	++	-	-	-
1116 (25163-169)	3820	"	"	"	12,4.91	7,6	2,0	Morreu	17h30min	56h	73h30min	+++	+	-	-

^a M = planta madura; B = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

^c psm = pseudomembranas.

RESULTADOS

Os principais dados sobre os experimentos com *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* constam nos Quadros 1 a 3.

I. Doses tóxicas

B. megapotamica var. *megapotamica*

a) de acordo com as diferentes fases de crescimento.

Verifica-se que a planta na fase de brotação foi um pouco mais tóxica que quando madura ou com inflorescências. A dose letal da planta procedente de Santa Maria foi 2 g/kg para a brotação e 2 a 4 g/kg para a planta madura ou com inflorescências. Para a planta procedente de Guafba, a dose letal da brotação também foi 2 g/kg e da planta com inflorescências 2,72 g/kg.

b) de acordo com o sexo da planta.

Não houve diferenças significativas na toxidez das plantas com inflorescências masculinas e femininas, tanto na planta procedente de Santa Maria, como na de Guafba. Na planta procedente de Santa Maria, a dose letal, para ambos os sexos, foi de 2 a 4 g/kg, na procedente de Guafba, 2,72 g/kg.

c) de acordo com a procedência da planta.

A brotação da planta procedente de Santa Maria e a de Guafba tiveram a mesma toxidez (2 g/kg); a planta com inflorescências procedente de Guafba mostrou aproximadamente a mesma toxidez do que a de Santa Maria (2,72 e 2 a 4 g/kg, respectivamente).

B. megapotamica var. *weirii*

a) de acordo com as diferentes fases de crescimento.

Quadro 1b. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica* var. *weirii* em coelhos. Doses e sintomas

Coelho nº (reg. SAP)	Peso (g)	Planta				Desfecho	Início dos sintomas após adm. planta	Evolução (Recuperação)	Morte após administração da planta	Sintomas					
		Coleta		Administração						Anorexia	Fezes	Muco			
		Local	Data	Ciclo e sexo	Data	Quant. g	Dose g/kg								
<i>Experimentos com a planta procedente de Chapecó, SC</i>															
1073 (24836-841)	3160	Chapecó LC 294	18.2.89	B ^a	26.4.90	7,4	2,0	Morreu	9h25min	55min	10h20min	- ^b	-	-	-
1097 (25034-041)	2790	Chapecó LC 301a	17.10.90	f	10.12.90	1,9	0,68	Morreu	23h30min	2h05min	25h35min	-	-	-	-
1101 (25059-066)	3140	"	"	"	11.12.90	1,1	0,34	Morreu	21h35min	12h10min	33h45min	+	-	-	-
1105	3150	"	"	"	17.12.90	0,54	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1120 (25137-143)	3520	Chapecó LC 301b	"	m	5.3.91	1,2	0,34	Morreu	33h22min	22h54min	56h16min	+	+	-	-
1119	3580	"	"	"	8.3.91	0,61	0,17	Adoeceu +	33h35min	(4 dias)	-	+++	-	-	-
1112 (25120-121)	3040	Chapecó LC 306	20.12.90	B	1.2.91	1,03	0,34	Morreu	23h25min	aprox. 15h	38h25min	+	-	-	-
1115	3840	"	"	"	3.2.91	0,66	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
<i>Experimentos com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>															
1098 (25042-049)	2680	Passo S LC 302	19.9.90	m	10.12.90	1,85	0,68	Morreu	21h45min	18 min	22h03min	-	-	-	-
1102 (25067-074)	2770	"	"	"	12.12.90	0,95	0,34	Morreu	21h45min	14h23min	36h08min	+++	+++	-	-
1106	3250	"	"	"	17.12.90	0,55	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1099 (25050-057)	3000	Passo S LC 303	"	f	10.12.90	2,1	0,68	Morreu	21h35min	aprox. 11h	32h35min	+	-	-	-
1103	3300	"	"	"	12.12.90	1,2	0,34	Adoeceu +	aprox. 24h	(3 dias)	-	+	-	-	-
1107	3260	"	"	"	17.12.90	1,1	0,34	Adoeceu +	aprox. 24h	(2 dias)	-	-	-	-	-
1121 (25392-399)	3360	Passo S LC 305	25.11.90	B	9.8.91	1,2	0,34	Morreu	33h10min	11h30min	44h40min	+	-	-	-
1114	3250	"	"	"	2.2.91	0,56	0,17	Adoeceu ++	21h30min	(7 dias)	-	++	++	-	-
1128 (25384-391)	3460	Passo S LC 313	10.7.91	M	9.8.91	1,2	0,34	Morreu	?	?	aprox. 21h	-	-	-	-
1137 (25449-456)	3360	"	"	"	15.8.91	0,57	0,17	Morreu	24h05min	2h55min	27h00min	+++	-	-	-
1136	3500	"	"	"	23.8.91	0,3	0,085	Adoeceu +	24h10min	(3 dias)	-	+	-	-	-
<i>Experimentos com a planta procedente de Cochilha Rica, Lages, SC</i>															
1079 (24981-987)	3300	Cochilha LC 298	31.7.90	M	13.9.90	9,0	2,72	Morreu	?	?	aprox. 22h	-	-	-	-
1087 (24988-994)	3420	"	"	"	14.9.90	4,7	1,36	Morreu	5h30min	7h	12h30min	-	-	-	-
1070 (24995-002)	3330	"	"	"	17.9.90	2,3	0,68	Morreu	29h40min	35min	30h15min	-	-	-	-
1086	3180	"	"	"	20.9.90	0,54	0,17	S.s.	-	-	-	-	-	-	-
1095	2900	"	"	"	24.9.90	1,0	0,34	Adoeceu +(+)	10h	(48h)	-	+++	-	-	-

^a M = planta madura; B = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

Quadro 2a. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. megapotamica em coelhos. Achados de necropsia*

Coelho nº (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago	Intestino delgado	Ceco					Cólon		Reto	Fígado mais claro (levemente mosqueado)	Baço (espleno- megalia)
					Conteúdo	Edema da parede e/ou dobras	Áreas rugosas		Cristas verme- lhas	Porção próxima	Porção distal			
							Entre as dobras	Nas dobras						
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Santa Maria, RS</i>														
1062 (24801-805) (24843-846)	289 M	4,0	v ^a	1	1	- ^b	-	-	-	10	vr	vr	+	-
1076 (24850-855)	296 m	4,0	-	-	1	-	++	+	+	p	p	p	+	+
1075 (24863-869)	295 f	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	peritonite fibrosa em organização por perfuração		-	-
1074 (24856-861)	295 f	5,44	v	-	1	+	+	-	+++	-	-	vla	+	-
1109 (25149-155)	309 f	4,0	v	-	1	-	+	-	+++	-	-	-	+	-
1082 (24921-927)	297 B	2,72	vf	-	1	++	+	-	++	-	-	larv	+	-
1083 (24942-948)	297 B	2,0	-	-	1	-	+++	++	-	-	r	-	+	-
1084 (24935-941)	297 B	3,0	v	mv	1a	+	++(+)	++	+	-	-	-	+	-
1085 (24928-934)	297 B	4,0	vf	-	1	-	+	-	+	-	vr	vr	+	-
1088 (25075-082)	300 B	2,0	vf	-	-	-	++(+)	++	+	-	-	vr	+	-
1133 (25409-416)	311 B	2,0	v	-	-	+	+	-	-	-	vr	r	+	-
1134 (25441-448)	312 f	2,0	-	-	1	+	+++	+++	-	-	r	r	+	-
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Gualba, RS</i>														
1065 (24806-808)	290 m	2,72	-	dm	1a	+++	+++	+++	-	vr	-	v	+	-
1068 (24809-812)	291 f	2,72	v	-	1	+	++	++	++	-	vr	p	+	-
1116 (25163-169)	304 B	2,0	v	-	1	-	-	-	++	-	-	-	+	-

^a 1 = conteúdo líquido-pastoso; p = conteúdo pastoso; a = conteúdo avermelhado; m = conteúdo mucoso; d = dilatado; f = depósito de fibrina; v = mucosa vermelha; r = mucosa rugosa; aa = mucosa amarelo-acinzentada.

^b ++ + Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão.

Também nesta variedade verificou-se pouca variação da toxidez da planta, sendo a dose letal bastante constante (0,34 g/kg).

A planta procedente de Chapecó sempre teve a mesma toxidez (0,34 g/kg); a planta com inflorescências femininas procedente de Passo de Souza, foi menos tóxica (0,68 g/kg) do que a brotação (0,34 g/kg) e do que a planta com inflorescências masculinas (0,34 g/kg), porém a planta madura sem inflorescências foi mais tóxica (0,17 g/kg).

b) de acordo com o sexo da planta.

Também quanto a esse aspecto não houve muita diferença na toxidez entre as plantas com inflorescências masculinas e femininas. Com a planta procedente de Chapecó a toxidez sempre foi a mesma (0,34 g/kg); a planta com inflorescências femininas procedente de Passo de Souza foi um pouco menos tóxica do que a com inflorescências masculinas (0,68 e 0,34 g/kg respectivamente).

c) de acordo com a procedência.

A brotação da planta procedente de Chapecó e de Passo do Souza mostraram praticamente a mesma toxidez; exceção foi a planta com inflorescências femininas procedente de Passo do Souza, que foi um pouco menos tóxica do que a de Chapecó (0,68 g/kg e 0,34 g/kg, respectivamente). As plantas com inflorescências masculinas tinham a mesma toxidez, independentemente da origem (0,34 g/kg). Por outro lado a planta madura sem inflorescências procedente de Passo do Souza, foi mais tóxica (0,17 g/kg), e a planta madura sem inflorescências procedente de Cochilha Rica, foi menos tóxica (0,68 g/kg).

II. Prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, evolução, e prazo entre a administração da planta e a morte do animal

B. megapotamica var. *megapotamica*

Com a planta procedente de Santa Maria, o prazo entre

Quadro 2b. *Intoxicação experimental por Baccharis megapotamica var. weirii em coelhos. Achados de necropsia*

Coelho nº (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago	Intestino delgado	Ceco					Cólon		Reto	Fígado mais claro (levemente mosqueado)	Baço (esplenomegalia)
					Conteúdo	Edema da parede	Áreas rugosas		Cristas vermelhas	Porção proximal	Porção distal			
							Entre as dobras	Nas dobras						
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Chapecó, SC</i>														
1073 (24836-841)	294	B 2,0	a	db	1	-	-	-	-	-	-	-	+	-
1097 (24034-041)	301a	f 0,68	v	vm	1	+	++	++	+++	-	-	a	+	+
1101 (25059-066)	301a	f 0,34	v	-	1	++	++	++	+++	-	H+	-	+	-
1120 (25137-143)	301b	m 0,34	-	-	1a	+++	+++	+++	+	H+	p	p	(+)	++
1112 (25120-121)	306	B 0,34	-	-	1	-	++	++	-	p	p	-	-	-
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>														
1098 (25042-049)	302	m 0,68	vf	va	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-
1102 (25067-074)	302	m 0,34	v	vm	sc	++	+++	+++	-	1a	1a	1a	-	-
1099 (25050-057)	303	f 0,68	vf	v	1	+	-	++	+	1	1	1	+	-
1121 (25392-399)	305	B 0,34	v	dv	1a	+(+)	+++	+++	-	a	da	-	+	-
1128 (25384-391)	313	M 0,34	v	dvm	1	-	-	-	(+)	-	-	1	+++	-
1137 (25449-456)	" "	0,17	v	v	1	++	++	++	+++	-	-	-	++	+
<i>Experimentos realizados com a planta procedente da Cochilha Rica, Lages, SC</i>														
1079 (24981-987)	298	M 2,72	-	da	1	-	-	-	-	p	p	-	+	+++
1087 (24988-994)	298	M 1,36	v	dam	1	(+)	-	-	-	p	p	p	+	+++
1070 (24995-25002)	298	M 0,68	v	dvam	1	-	+	-	+++	p	p	-	+	+

a+ + + Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão.

b1 = conteúdo líquido-pastoso; p = conteúdo pastoso; a = conteúdo avermelhado; m = conteúdo mucoso; d = dilatado; f = depósito de fibrina; v = mucosa vermelha; r = mucosa rugosa; H = áreas hemorrágicas na mucosa; sc = sangue coagulado.

a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais, variou de 21h20min e 24h25min, a evolução, nos casos fatais, variou, em dois terços dos casos (8/12), entre 7 e 32 horas (nos casos restantes foi de quase 3 dias, 4 dias, 18 dias, em um somente 3 minutos); o prazo entre a administração da planta e a morte do animal variou, na maioria dos casos (8/12) entre 22h02min e 56h05min (nos casos restantes foi de 64 horas, 4 dias, 5 dias e 19 dias).

Com a planta procedente de Guaíba, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos 3 casos fatais (3/3), variou entre 17h30min e 23h33min; a evolução nesses casos, foi de 19h35min a 56h, e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, de 58h a 73h30min.

B. megapotamica var. weirii

Com as amostras procedentes de Chapecó, o prazo en-

tre a administração da planta e o início dos sintomas, variou na maioria dos casos fatais (4/5) entre 21h35min e 33h22min (no 5º caso foi 9h25min), a evolução variou entre 55 min e 22h54min) e o prazo entre a administração da planta e morte do animal variou entre 10h20min e 56h16min.

Nota-se aqui, especialmente através do experimento com o Coelho 1073, que recebeu uma dose muito elevada da planta (2 g/kg), que, quanto maior a dose, mais curtos são os prazos.

Com a planta procedente de Passo do Souza, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas, nos casos fatais variou entre 21h35min e aprox. 33h10min, a evolução, na maioria dos casos fatais (5/6) variou entre 18min e 14h23min e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, variou entre 22h03min e 44h40min.

Com a planta procedente de Cochilha Rica, o prazo entre a administração da planta e o início dos sintomas

Quadro 3b. Principais alterações histológicas encontradas em coelhos intoxicados experimentalmente por *Baccharis megapotamica* var. *weirii*

Coelho n ^o (reg. SAP)	Planta	Dose g/kg	Estômago				Intestino delgado			Ceco					Ap. v. tl cl NCR	Sac. tl cl NCR	Cólon (mucosa)						Reto (mucosa)			Fígado		Baço tl cl NCR		
			Mucosa			Subm. E	C	H	gl cl NCR	Mucosa		Submucosa					Porção proximal			Porção distal			N	H	cl NCR	Tume- fação	Vacu- oliza- ção			
			N ^a	H	NCR cél. par.					N	H	E	H	Pn			N	H	gl cl NCR	N	H	gl cl NCR							N	H
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Chapecó, SC</i>																														
1073 (24836-41)	294 B	2,0	-b	-	(+)	-	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	++
1097 (24034-41)	301a f	0,68	+++	++	+	+	-	-	-	+++	+++	++(+)	++	+	++(+)	++	+	+	-	-	+	+(+)	++	++	+	+++	-	+(+)		
1101 ¹ (25059-66)	301a f	0,34	++	++	++	+	+	-	-	+++	+++	+++	++	+(+)	+	+(+)	++	++	-	-	+	+(+)	-	-	-	++	+	pl	++	
1120 (25137-43)	301b m	0,34	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-		
1112 (25120-21)	306 B	0,34			prejudicado					+++	+++	+++	++	+(+)							prejudicado					-	-	prejudicado		
<i>Experimentos realizados com a planta procedente de Passo do Souza, Lages, SC</i>																														
1098 (25042-49)	302 m	0,68	+++	+++	+	+	+++	+++	-	+++	+++	++	+	+	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	nc	+++	-	+(+)		
1102 (25067-74)	302-m	0,34	+(+)	+(+)	-	+	+	-	-	+++	+++	+++	++	(+)	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-		
1099 (25050-57)	303 f	0,68	+++	+++	+	+(+)	+	-	-	+++	+++	+++	+++	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+(+)		
1121 (25392-99)	305 B	0,34	+++	+++	+	+	-	-	-	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+	++		
1128 (25384)	313 m	0,34	+++	+++	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	nc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	pl	++		
1137 (25449-56)	313 m	0,17	+++	+++	+(+)	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+(+)	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	d	-	
<i>Experimentos realizados com a planta procedente da Cochilha Rica, Lages, SC</i>																														
1079 (24981-87)	298 M	2,72	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	(+)+	(+)	-	-	+(+)	-	-	-	-	-	-	-	+(+)	-	++(+)	
1087 (24988-94)	298 M	1,36	-	-	+	-	++	++	+++	-	(+)	++	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	++	-	+(+)		
1070 (24995-202)	298 M	0,68	++	-	+	-	++	-	-	+++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	+		

aN = necrose; NCR = necrose com imagens de picnose e cariorexia; E = edema; H = hemorragias; Pn = polimorfonucleares; cél. par. = células parietais; Ap. v. = apêndice vermiforme; Sac. = sáculo redondo; tl = tecido linfóide; d = difuso; cl = centrolobular; zi = na zona intermediária; pl = na periferia do lóbulo.
b +++ Lesão acentuada; ++ moderada; + leve; (+) discreta; - ausência de lesão; nc = não coletado.

nos casos fatais, variou entre 5h30min e 29h40min, a evolução nos casos fatais variou entre 35min e 7h (no 3º caso não foi determinada) e o prazo entre a administração da planta e a morte do animal, variou entre 12h30min e 30h15min.

III. Sintomas da intoxicação

B. megapotamica var. *megapotamica*

Os sintomas mostrados pelos coelhos intoxicados por esta variedade consistiram em anorexia e perturbações digestivas manifestadas por fezes alteradas. As fezes inicialmente eram reduzidas de tamanho e quantidade, às vezes com modificações da forma (ficando ovais); depois tornavam-se moles, confluentes, e às vezes simplesmente pastosas. Ocasionalmente havia eliminação de fezes líquidas, às vezes sob forma de gotas. Frequentemente havia muco misturado às fezes e/ou sangue vivo e, por vezes, pseudomembranas. O muco era eliminado com textura comparável à de gelatina, vítreo, turvo, ou ainda líquido, ocasionalmente avermelhado (presença de sangue). Por vezes o animal eliminava gotas de sangue vivo. Todas essas alterações das fezes podiam ocorrer no mesmo animal, como também somente uma ou algumas delas. O animal geralmente ficava quieto, às vezes mantendo a parte anterior do corpo mais alta. No final das intoxicações com êxito letal, os animais ficavam com a cabeça baixa, e, às vezes, pouco antes de morrer, irrequietos, começavam a fazer movimentos desordenados, às vezes pulando na gaiola e morrendo logo a seguir.

B. megapotamica var. *weirii*

Nos coelhos intoxicados por esta variedade, os sintomas consistiram praticamente só de anorexia. Não havia alterações em relação às fezes, com exceção de 3 animais, que tiveram fezes pastosas e de 6 animais que eliminaram esferas de fezes menores que o normal. Os animais também ficavam quietos, com a cabeça baixa e, morriam após alguns movimentos desordenados.

IV. Achados de necropsia

B. megapotamica var. *megapotamica*

Os principais achados de necropsia nos coelhos intoxicados por esta variedade ocorreram no tubo digestivo. Em 10 dos 15 casos letais a mucosa estomacal estava vermelha. No intestino delgado praticamente não havia lesões. O ceco foi a parte mais freqüente e gravemente lesada. O seu conteúdo era líquido-pastoso em 12 casos, e em 2 destes, avermelhado; edema da parede, inclusive nas dobras, foi constatado 7 vezes. Em 12 casos foram observadas na mucosa áreas com alguns centímetros de diâmetro um pouco elevadas e rugosas, principalmente na região próxima à válvula fleo-cecal e na região próxima ao apêndice vermiforme do ceco. Essa lesão, na grande maioria dos casos, tanto era observada na mucosa situada entre as dobras, como na das dobras. Em 10 casos essas áreas eram de cor vermelho-escura, em um (Coelho 1083)

tinham cor acinzentado-amarelada, e em outro (Coelho 1134) parte tinha cor vermelho-escura e parte cor acinzentado-amarelada. Em um 13. animal (Coelho 1116) havia somente numerosas pequenas úlceras de cor acinzentado-amarelada. Em 9 casos um número variável de dobras apresentava cristas sob forma de um filete vermelho. A mucosa da porção proximal do cólon estava vermelha e rugosa em 1 caso; o conteúdo do cólon nessa parte era pastoso também em 1 caso. Já a mucosa da porção distal do cólon estava espessada e com a superfície rugosa em 6 casos e vermelha em 4 casos; o conteúdo do cólon nesta parte estava pastoso em 1 caso. A parede do reto era lesada de maneira semelhante; a mucosa estava rugosa em 6 animais e vermelha também em 6 casos. O conteúdo do reto era líquido avermelhado em 2 casos.

Em um animal (Coelho 1075), as lesões do tubo digestivo eram diferentes das anteriormente mencionadas; nesse caso a evolução foi mais crônica e havia dilatação na parte distal do cólon, com espessamento de parede. Na mucosa da parte distal do cólon e na do reto havia áreas difteroides amareladas e aderências entre as serosas do cólon e do ceco.

Em 14 dos 15 coelhos, o fígado apresentava coloração mais clara que o normal, percebendo-se, ao corte, a lobulação, com leve aspecto de mosqueado.

B. megapotamica var. *weirii*

Também nos experimentos com esta variedade, os principais achados de necropsia relacionavam-se ao tubo digestivo. Em 10 dos 14 casos, a mucosa estomacal estava vermelha. A mucosa do intestino delgado estava vermelha em 8 casos, e o conteúdo, em 4 deles, estava avermelhado e em 5 mucoso. Também na intoxicação por esta variedade o ceco era a parte mais lesada; o conteúdo era líquido-pastoso em 12 casos, sendo avermelhado em 2 deles; em um caso adicional o conteúdo do ceco era constituído por sangue escuro coagulado (Coelho 1102). A parede do ceco, inclusive as dobras, estava edemaciada em 9 casos. Na sua mucosa foram observadas, em 10 dos 12 casos, áreas com alguns centímetros de diâmetro, levemente elevadas e rugosas, principalmente na região próxima à válvula fleo-cecal e próximo ao apêndice vermiforme do ceco. Essa lesão quase sempre afetava tanto a mucosa situada entre as dobras, como a das dobras, sendo em todos os casos de coloração vermelho-escura. Em 8 casos um número variável de dobras apresentava as cristas sob forma de um filete vermelho. A porção proximal do cólon, bem como a parte distal, apresentavam principalmente alterações do conteúdo, que era pastoso ou líquido em 7 casos e, em 1 destes casos, adicionalmente avermelhado; em outro era de consistência normal, mas avermelhado. Em 2 animais havia áreas hemorrágicas na mucosa do cólon. O reto de 2 animais mostrava conteúdo pastoso, em 3 animais o conteúdo era líquido-pastoso, em um destes era avermelhado; estava avermelhado em um sexto.

Em 12 dos 14 coelhos, o fígado tinha coloração mais clara que o normal, percebendo-se, ao corte, a lobulação,

Fig. 1. Hemorragias e necrose extensas na parte superior e necrose das células parietais na parte mais profunda da mucosa do estômago. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 K), HE, obj. 16.

Fig. 2. Maior aumento da parte profunda da mucosa com necrose das células parietais (mesmo animal da figura anterior). HE, obj. 25.

com leve aspecto mosqueado. O baço estava aumentado de volume em 6 casos.

V. Alterações histológicas

B. megapotamica var. *megapotamica*

As principais alterações histológicas na intoxicação por esta variedade em coelhos foram verificadas no tubo digestivo, fígado e tecido linfóide.

Na mucosa do *estômago* foram observados 2 tipos de lesões. Em primeiro lugar extensas áreas ocupadas por sangue, com desaparecimento do tecido normal (deixando poucos detritos nucleares), afetando sobretudo as partes superiores da mucosa, mas freqüentemente se aprofundando até a metade e um pouco mais da mucosa (hemorragias e necrose) (Fig. 1).

Esta lesão ocorreu em pouco mais da metade (9/15) dos casos. Em 4 desses casos (Coelhos 1082, 1085, 1088, 1109) havia na superfície da mucosa moderada a grande quantidade de detritos nucleares. Em um desses casos (Coelho 1088) a mucosa afetada era maciçamente invadida por hifas de fungos. A outra lesão da mucosa era necrose das células parietais na região intermediária da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia e aumento da eosinofilia do citoplasma (Fig. 1, 2); essa lesão foi observada em 10 casos com intensidade moderada a acentuada e em um 11º caso (Coelho 1075) era apenas incipiente. Na *submucosa* foi constatado edema (Fig. 3) em 4 casos, em 3 destes (Coelhos 1074, 1088, 1116) com a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares.

No *intestino delgado* (duodeno e jejuno) não foram observadas lesões, com exceção de um caso (Coelho 1076), em que, na parte profunda da própria do jejuno, foi verificada a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares, em parte com os núcleos em cariorrexia.

Lesões muito acentuadas foram vistas no *ceco*. Em extensas áreas da *mucosa* haviam desaparecido todas as

células epiteliais e boa parte do estroma, com substituição quase total por sangue (necrose hemorrágica) (Figs. 4, 5, 6). Esta lesão foi vista em 10 casos. Em um destes casos (Coelho 1076) havia, no meio do sangue, grande quantidade de detritos nucleares; nesse mesmo caso havia, nas áreas limftrofes às com hemorragia, necrose de algumas glândulas cujas células epiteliais tinham o núcleo em cariorrexia. Em 3 outros desses 10 casos (Coelhos 1088, 1065, 1068) a mucosa sofreu maciça necrose de coagulação em parte das áreas associadas às hemorragias. Em 2 casos adicionais (11º e 12º casos) (Coelhos 1083, 1134), havia necrose de coagulação (sem cariorrexia e sem detritos nucleares) sem a presença de hemorragia. As partes da mucosa não lesadas por hemorragia e necrose freqüentemente apresentavam leve edema (6 casos: Coelhos 1062, 1082, 1084, 1088, 1065, 1068). Havia na mucosa, sobretudo na parte profunda (junto à muscular da mucosa), presença de polimorfonucleares (Fig. 5), parte deles com imagens de cariorrexia; a quantidade desses polimorfonucleares foi pequena em 7 casos (Coelhos 1076, 1109, 1082, 1083, 1085, 1088, 1065), discreta em um (Coelho 1084), regular em outro (Coelho 1074) e grande em ainda outro (Coelho 1068). Na *submucosa* a alteração mais evidente foi edema (Fig. 4, 6), presente em 12 dos 15 casos, quase sempre com intensidade acentuada. Junto ao edema freqüentemente havia hemorragias (Fig. 4) (em 9 casos), de intensidade leve a acentuada, e presença de polimorfonucleares, parte desses com imagens de cariorrexia (9 casos) (Fig. 5, 6), em quantidades bastante variáveis. Em 3 casos (Coelhos 1083, 1068, 1134), verificou-se na submucosa edemaciada, adicionalmente, regular a grande quantidade de fragmentos nucleares, cuja origem não pode ser determinada (provavelmente eram também restos do polimorfonucleares). Na *muscular* havia hemorragias em 3 casos (Coelhos 1088, 1065, 1068) e presença de polimorfonucleares, parte em cariorrexia e ainda fragmentos nucleares, provavelmente restos de polimorfonucleares, em 7 casos (Coelhos 1074, 1109, 1082,

3

4

5

6

Fig. 3. Acentuado edema da submucosa do estômago. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 K). HE, obj. 10.

Fig. 5. Hemorragias e necrose extensas na mucosa do ceco. Na parte profunda da mucosa e na submucosa junto à muscular da mucosa, presença de polimorfonucleares, parte com cariorrexia, e ainda de fragmentos nucleares de origem não determinada. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1068, SAP 24812 A). HE, obj. 16.

Fig. 4. Hemorragias e necrose extensas na mucosa e edema com hemorragias na submucosa do ceco. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24808 B). HE, obj. 10.

Fig. 6. Hemorragias e necrose extensas na mucosa e edema com presença de polimorfonucleares na submucosa do ceco. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24808 A). HE, obj. 25.

1083, 1134, 1065, 1068); necrose de Zenker das fibras musculares foi observada em 2 casos, de intensidade leve (Coelho 1109) e acentuada (Coelho 1134). Na *serosa* havia moderado edema em um caso (Coelho 1088), hemorragias de intensidade regular nesse mesmo caso, e presença de polimorfonucleares, às vezes em cariorrexia, e ainda fragmentos nucleares (restos de polimorfonucleares?) em 4 casos (Coelhos 1074, 1083, 1088, 1068).

Nas porções superiores da mucosa do *apêndice vermiforme do ceco* havia hemorragias com desaparecimento do tecido original (necrose) em 3 casos (Coelhos 1076, 1084, 1133). Havia necrose das células epiteliais de glândulas na parte superior da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia, em 5 casos (Coelhos 1076, 1084, 1065, 1068, 1133). Adicionalmente, em 4 deles (Coelhos 1065, 1068, 1116, 1133) havia, na parte superior da mucosa, presença de polimorfonucleares, parte em cariorrexia. Em um caso adicional (5º caso) (Coelho 1082), havia na parte superior da mucosa áreas

com grande quantidade de pequenos fragmentos nucleares cuja origem não pode ser determinada. Verificou-se necrose caracterizada por cariorrexia dos elementos linfóides (Fig. 10) nos *folículos do apêndice vermiforme do ceco* em 5 casos.

No *sáculo redondo* a única alteração constatada foi necrose caracterizada por cariorrexia dos linfócitos foliculares em 7 casos.

Na *porção proximal do cólon* não havia lesões na maioria dos casos. Porém em um caso (Coelho 1068), a parte superior da mucosa mostrava extensas áreas com hemorragias associadas à necrose (o tecido original desapareceu), com quantidade regular de polimorfonucleares em cariorrexia; havia, ainda neste caso, edema, hemorragias e a presença de polimorfonucleares na submucosa, muscular e serosa, sempre em grau leve. Em 3 outros casos (Coelhos 1076, 1109, 1116), as células epiteliais das glândulas da mucosa apresentaram necrose com imagens de cariorrexia, em grau leve a moderado. Em um destes

7

8

9

10

Fig. 7. Acentuada tumefação dos hepatócitos peri-portais. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1065, SAP 24806 I). HE, obj. 16.

Fig. 8. Lesão da figura anterior com maior aumento. HE, obj. 25.

Fig. 9. Vacuolização dos hepatócitos na zona intermediária do lóbulo. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24856 E). HE, obj. 40.

Fig. 10. Necrose caracterizada por cariorrexia das células linfóides do apêndice vermiforme. Intoxicação experimental por *B. megapotamica* var. *megapotamica* (Coelho 1074, SAP 24859 A). HE, obj. 40.

(Coelho 1116) havia presença de polimorfocitose na mucosa.

Na porção distal do cólon, ao contrário, foram verificadas muitas alterações. Observou-se necrose de coagulação da mucosa (com desaparecimento de sua estrutura e a presença de raros detritos nucleares) associada a hemorragias, nem sempre nas mesmas áreas, em 8 casos, geralmente afetando grandes extensões da mucosa. Em 7 casos a superfície da mucosa apresentava detritos nucleares que, em 2 casos (Coelhos 1088 e 1065), eram oriundos de polimorfocitose e nos outros 5 casos (Coelhos 1062, 1076, 1074, 1068, 1133) de origem não determinada. Em 2 casos adicionais havia só necrose, sem hemorragias (Coelhos 1083, 1134), no primeiro com muitos detritos nucleares de origem não determinada no meio da massa necrótica e na superfície da mucosa. No caso da evolução mais longa (Coelho 1075) havia necrose, fibrose e presença de polimorfocitose na parede do cólon e peritonite fibrinosa. Verificou-se necrose das glândulas da mucosa sob forma de cariorrexia de intensidade leve a moderada em 6 casos. Foi ainda constatada na profundidade

da mucosa, a presença de polimorfocitose, parte em cariorrexia, em 3 casos, sendo em um (Coelho 1076) em quantidade regular, em outro em pequena quantidade (Coelho 1133), e no terceiro (Coelho 1085) em quantidade discreta. Além destas alterações foram ainda observadas, na submucosa, edema, hemorragias e a presença de polimorfocitose em 10 casos (Coelhos 1062, 1074, 1082, 1083, 1085, 1088, 1133, 1134, 1065, 1068) (no Coelho 1068 parte dos polimorfocitose apresentaram cariorrexia e nos Coelhos 1083 e 1134 havia muitos detritos nucleares na submucosa, mas somente parte desses seguramente oriundos da necrose de polimorfocitose). Em um caso (Coelho 1134) a muscular apresentava necrose moderada e havia em seu permeio quantidade regular de detritos nucleares de origem não determinável.

Na mucosa do reto verificou-se necrose de coagulação (com desaparecimento de sua estrutura e a presença de raros detritos nucleares) em 7 casos, associada a hemorragias em 5 desses casos. Em um caso (Coelho 1088) havia na superfície da mucosa presença de muitos polimorfocitose, em 2 outros (Coelhos 1133, 1109) em quan-

tidade pequena. Foi observada necrose caracterizada por picnose e cariorrexia das células epiteliais das glândulas da mucosa em 5 casos, em grau acentuado (Coelhos 1076, 1133), em grau leve (Coelhos 1084, 1085) e em grau leve a moderado (Coelho 1109). Além destas alterações na mucosa foram observados na *submucosa*, edema, hemorragias e a presença de polimorfonucleares em 4 casos (Coelhos 1062, 1074, 1085, 1088).

No *fígado* a alteração mais importante foi tumefação difusa das células hepáticas (Fig. 7, 8), presente em 8 dos 15 casos, porém mais acentuadamente na região periportal (Fig. 7, 8). Nesta região, os hepatócitos, extremamente aumentados, ficaram com seu citoplasma claro, destacando-se esta região das outras nitidamente. Os seus núcleos também ficavam aumentados e vesiculares. Às vezes o processo passava à lise incipiente de hepatócitos. Em 2 casos adicionais (Coelhos 1133, 1134) a tumefação das células hepáticas foi difusa e leve. Frequentemente havia vacuolização dos hepatócitos, especialmente na região intermediária do lóbulo (Fig. 9). Às vezes havia leve congestão difusa ou centrolobular. Notava-se também, nos sinusóides hepáticos, a presença de certa quantidade de polimorfonucleares.

No *baço* havia congestão em 9 casos (Coelhos 1076, 1075, 1109, 1082, 1083, 1084, 1085, 1133, 1134). Necrose dos linfócitos foliculares, com figuras de picnose e cariorrexia, foi verificada em 9 casos, em 2 destes somente com discreta intensidade.

B. megapotamica var. *weirii*

Também na intoxicação por esta variedade as principais alterações histológicas ocorreram no tubo digestivo, fígado e tecido linfóide.

No *estômago* a lesão mais importante foi extensa necrose de coagulação da parte superior da *mucosa*, e grandes áreas de hemorragia nas camadas inferiores à necrose afetando 1/4 até 3/4 da mucosa em profundidade, lesão essa observada em 9 dos 14 casos. Em 7 desses (Coelhos 1097, 1101, 1098, 1099, 1121, 1128, 1137) havia a presença de detritos nucleares na superfície da mucosa. Além dessa extensa necrose na parte superior da mucosa, havia necrose difusa incipiente das células parietais na região intermediária da mucosa, caracterizada por picnose nuclear em 9 casos; em um 10º caso (Coelho 1101) essa necrose era um pouco mais intensa, porém quase restrito às células parietais nas proximidades das áreas que sofreram necrose acompanhada de hemorragia que, neste caso, eram mais focais. Ainda em 2 casos (Coelhos 1073, 1087) havia leve necrose das células epiteliais das glândulas na parte superior e/ou intermediária da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia. Na *submucosa* do estômago foi verificado, em 7 casos, edema, com a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares em 4 destes (Coelhos 1097, 1098, 1102, 1099).

No *duodeno* foram observadas congestão da mucosa em 6 casos (Coelhos 1101, 1098, 1099, 1137, 1087, 1070), em 2 destes (Coelhos 1098, 1137) adicionalmente

hemorragias; em um estes últimos (Coelho 1137) havia concomitantemente necrose de coagulação; necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia, foi verificada em 4 casos (Coelhos 1073, 1079, 1087, 1128). Na profundidade da mucosa foi observada a presença de pequena quantidade de polimorfonucleares, parte em cariorrexia, em 2 casos (Coelhos 1097 e 1101).

No *jejuno* observou-se congestão da mucosa em 3 casos (Coelhos 1102, 1087, 1070); em um destes (Coelho 1087) havia adicionalmente hemorragias; necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por picnose e cariorrexia, foi verificada em 2 casos (Coelhos 1079, 1087); edema da submucosa do íleo foi visto em 2 casos (Coelhos 1079, 1087).

Também na intoxicação por esta variedade da planta lesões muito acentuadas foram vistas no *ceco*. Em extensas áreas da *mucosa* haviam desaparecidos todas as células epiteliais e boa parte do estroma, com substituição quase total por sangue (necrose hemorrágica) (10 dos 14 casos). Em 2 outros casos (Coelhos 1073, 1087) observou-se somente, em pequeno grau, necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa, caracterizada por imagens de picnose e cariorrexia. Nas áreas sem hemorragia/necrose havia edema da mucosa, geralmente de intensidade leve e só em um de intensidade moderada (Coelho 1101). A presença de pequeno número de polimorfonucleares na profundidade da mucosa foi observada em 2 casos (Coelhos 1120, 1097), sem cariorrexia em ambos. A *submucosa* apresentou edema em 11 casos, na maioria deles, acentuado. Em 8 desses casos havia hemácias associadas ao edema e em 6 havia a presença de polimorfonucleares, em quantidade discreta a leve/moderada sem cariorrexia. Na *muscular* havia hemorragias em grau moderado em um caso (Coelho 1101) e na *serosa* leve edema e pequenas hemorragias em outro caso (Coelho 1102).

Na parte superior da mucosa do *apêndice vermiforme do ceco* havia hemorragias e necrose de coagulação em 2 casos (Coelhos 1097, 1101, no último com a presença de muitos polimorfonucleares, parte em cariorrexia). Em um caso (Coelho 1098) havia somente focos de necrose de coagulação sem hemorragias e em outro (Coelho 1102) leves hemorragias sem necrose, na parte superior da mucosa. Verificou-se necrose caracterizada por imagens de cariorrexia dos elementos linfóides nos *fóliculos no apêndice vermiforme do ceco* em 6 casos, de intensidade leve a moderada/acentuada.

No *sáculo redondo*, a única alteração constatada foi necrose caracterizada por cariorrexia dos elementos linfóides dos *fóliculos* em 9 casos, sendo que em 4 deles somente de intensidade discreta.

Na mucosa da *porção proximal do cólon* foram observadas hemorragias com desaparecimento dos elementos normais do tecido (hemorragia e necrose), em 3 casos. Em um desses casos (Coelho 1101) havia ainda leve edema da serosa e presença de pequena quantidade de polimorfonucleares na submucosa, muscular e serosa. Foi

ainda observada necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com imagens de picnose e cariorexia, em grau discreto a leve/moderado, em 2 casos.

Na parte superior da mucosa da *porção distal do cólon* foi observada a ocorrência de leves hemorragias em 2 casos e necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com imagens de picnose e cariorexia, em grau leve/moderado nesses mesmos 2 casos e adicionalmente em outro.

Na parte superior da mucosa do *reto* foram observadas hemorragias e necrose de coagulação de intensidade moderada em um caso (Coelho 1097) e, neste mesmo caso, leve necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa caracterizada por imagens de picnose e cariorexia. Havia ainda na mucosa do reto, em um caso (Coelho 1120), presença de pequena quantidade de polimorfonucleares. Na submucosa do reto foi verificado, em um caso (Coelho 1097), leve edema e presença de polimorfonucleares em quantidade pequena/regular.

No *fígado* a alteração mais importante, só ausente em um caso (Coelho 1112), foi tumefação difusa das células hepáticas, porém mais acentuada na região periportal. Nesta região os hepatócitos, extremamente aumentados, mostravam citoplasma claro, destacando-se esta área das outras nitidamente. Os núcleos também apresentavam-se aumentados de volume e vesiculares. Às vezes o processo

evoluiu para lise em alguns hepatócitos. Em 4 casos havia vacuolização dos hepatócitos e, na maioria dos animais, também congestão leve, geralmente difusa. Nos sinusóides hepáticos notava-se, em 2 casos (Coelhos 1101, 1087), presença de certa quantidade de polimorfonucleares.

No *baço* havia congestão em 9 casos (Coelhos 1073, 1097, 1101, 1121, 1128, 1137, 1079, 1087, 1070). Leve a moderada necrose dos elementos linfóides foliculares, caracterizada por cariorexia, foi verificada em 10 casos.

Toxidez da planta armazenada

Os resultados dos experimentos realizados para verificar se *B. megapotamica* (var. *megapotamica* e var. *weirii*) mantém sua toxidez, quando armazenada, constam no Quadro 4. Verificou-se que quando guardada em saco de pano, a planta manteve a toxidez nas 4 amostras testadas (2 da var. *megapotamica* e 2 da var. *weirii*); quando guardada moída em vidros fechados com tampa plástica, as 2 amostras de var. *weirii* mantiveram sua toxidez, porém as 2 amostras da var. *megapotamica* tinham perdido um pouco do efeito tóxico (menos da metade). Uma amostra adicional da var. *weirii*, que foi submetida à experimentação somente na forma moída, guardada em vidro fechado com tampa plástica, 2 1/2 meses após o 1º experimento, tinha perdido um pouco da toxidez (Coelho

Quadro 4. Experimentos em coelhos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*, armazenada

Planta (Proc.)	Ciclo	Modalidade da planta	Coleta da planta	Dose mínima que causou morte			Dose maior que não causou morte			
				Data do exp.	Dose g/kg	Coelho nº (SAP)	Data adm.	Dose g/kg	Coelho nº (SAP)	Intensidade intoxicação
LC 297 (S. Maria)	B ^a	Moída recentemente	13.7.90	9.8.90	2,0	1083 (24942-48)	8.8.90	1,36	1080	+ ^b
"	"	Moída há tempo	"	23.8.91	3,4	1142 (25460-67)	15.8.91	2,72	1140	+
"	"	Guardada em saco	"	9.8.91	2,0	1124 (25368-75)		-		
LC 300 (S. Maria)	B	Moída recentemente	10.12.90	17.12.90	2,0	1088 (25075-82)	10.12.90	1,36	1100	+++
"	"	Moída há tempo	"	22.8.91	2,72	1141 (25468-75)	9.8.91	2,0	1127	++(+)
"	"	Guardada em saco	"	9.8.91	2,0	1126 (25376-83)		-		
LC 302 (Passo S.)	m	Moída recentemente	19.9.90	12.12.90	0,34	1102 (25067-74)	17.12.90	0,17	1106	S.s.
"	"	Moída há tempo	"	12.8.91	0,34	1130 (25425-32)		-		
"	"	Guardada em saco	"	12.8.91	0,34	1129 (25433-40)		-		
LC 303 (Passo S.)	f	Moída recentemente	19.9.90	10.12.90	0,68	1099 (25050-57)	12.12.90	0,34	1103	+
"	"	Moída há tempo	"	12.8.91	0,68	1132 (25417-24)		-		
"	"	Guardada em saco	"	12.8.91	0,68	1131 (25401-08)		-		
LC 306 (Chapecó)	B	Moída recentemente	20.12.90	1.2.91	0,34	1112 (25120-21)	3.2.91	0,17	1115	S.s.
"	"	Moída há tempo	"	19.9.91	0,68	1138 (25491-98)	12.4.91	0,34	1117	+++
							9.8.91	0,34	1122	S.s.
							16.9.91	0,34	1143	S.s.

^aB = planta em brotação; f = planta feminina em floração; m = planta masculina em floração.

^b + + + Sintomas acentuados; + + moderados (regulares); + leves; (+) discretos; S.s. = sem sintomas.

Quadro 5. Experimentos em coelhos com *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii*, administrações repetidas

Coelho nº	Planta (Proc.)	Ciclo	Data da administração	Dose (g/kg)	Desfecho
1100	LC 300 (S. Maria)	B ^a	10.12.90	1,36	Adoeceu +++ ^b
"	"	"	1.2.91	2,0	Adoeceu +
"	"	"	12.4.91	4,0	Morreu (25156-62)
1114	LC 305 (Passo S.)	B	2.2.91	0,17	Adoeceu ++
"	"	"	5.3.91	0,34	Morreu (25130-36)
1123	LC 309 (S. Maria)	f	9.8.91	2,72	Adoeceu ++(+)
"	"	"	16.9.91	2,72	Adoeceu ++
"	"	"	16.10.91	2,72	Adoeceu ++(+)
"	"	"	25.11.91	2,72	Morreu (25529-36)
1127	LC 300 (S. Maria)	B	9.8.91	2,0	Adoeceu ++(+)
"	"	"	16.9.91	2,0	Adoeceu ++
"	"	"	16.10.91	2,0	Morreu (25506-13)

a B = planta em brotação; f = planta feminina em floração.

b +++ Sintomas acentuados; ++ moderados (regulares); + leves; (+) discretos.

1117), e 7 1/2 meses após o 1º experimento metade ou menos da metade (Coelhos 1138 e 1143) da toxidez.

Tolerância

Os resultados dos experimentos para verificar se coelhos, com repetidas administrações da planta, adquirem tolerância, constam no Quadro 5. Constatou-se que os animais não adquiriram tolerância.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Baccharis megapotamica revelou-se tóxica para o coelho. Apesar das 2 variedades submetidas à experimentação, var. *megapotamica* e var. *weirii*, terem demonstrado a mesma ação, algumas diferenças foram observadas. No que diz respeito à toxidez, a var. *weirii* foi aproximadamente 5 vezes mais tóxica que a var. *megapotamica*, fazendo-se a comparação sempre entre as plantas na mesma fase de crescimento e do mesmo sexo. A evolução na intoxicação pela var. *weirii* tendia a ser um pouco mais curta. Na sintomatologia, uma manifestação importante na intoxicação pela var. *megapotamica* foi a modificação das fezes (diarréia com sangue e muco), manifestação esta praticamente ausente na intoxicação pela var. *weirii*. Entre os achados de necropsia na intoxicação pela var. *weirii* havia lesões no intestino delgado, o que não ocorreu na intoxicação pela variedade *megapotamica*. No ceco, onde foram verificadas as alterações mais importantes na intoxicação pelas 2 variedades, praticamente não havia diferenças. No cólon e reto observaram-se lesões difteróides na intoxicação pela var. *megapotamica*, que não ocorreram na intoxicação pela var. *weirii*. No fígado, as alterações foram idênticas na intoxicação pelas 2 variedades da planta. Esplenomegalia foi observada mais frequentemente na intoxicação pela var. *weirii*. Ao exame histopatológico, necrose e hemorragias na parte superior da mucosa do estômago foram observadas na intoxicação

pelas 2 variedades, porém nas áreas de necrose causadas pela var. *weirii* havia maior incidência de detritos nucleares na superfície da mucosa. Uma diferença de maior importância foi a necrose bem mais acentuada das células parietais da mucosa estomacal na intoxicação pela variedade *megapotamica*; na intoxicação pela var. *weirii* essa lesão foi apenas incipiente. No intestino delgado havia, em alguns casos, congestão e hemorragias na mucosa, alterações não observadas na intoxicação pela var. *megapotamica*. No ceco, onde ocorreram as lesões mais importantes, essas foram essencialmente as mesmas na intoxicação por ambas as variedades. A única diferença foi que os infiltrados polimorfonucleares estavam presentes em maior número de casos e em maior quantidade na intoxicação pela var. *megapotamica*. Além disto, parte deles estava em cariorrexia, ao contrário do que foi observado na intoxicação pela var. *weirii*. Situação semelhante em relação aos polimorfonucleares foi observada também no apêndice vermiforme do ceco e no cólon. Na parte proximal do cólon havia maior incidência de hemorragias e necrose na intoxicação pela var. *weirii*. Já na mucosa do cólon distal e reto ocorreram hemorragias e necrose, com a presença de detritos nucleares na superfície da mucosa e necrose das células epiteliais das glândulas da mucosa com incidência muito mais elevada na intoxicação pela var. *megapotamica*. Em relação ao tecido linfóide, a intensidade da necrose dos elementos linfóides foi mais acentuada na intoxicação pela var. *weirii*. As alterações hepáticas, principalmente a tumefação dos hepatócitos, foram basicamente as mesmas nas intoxicações pelas duas variedades da planta.

É oportuno fazer-se uma comparação da toxidez de *B. megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* com a de *B. coridifolia*, que também causa um quadro clínico-patológico muito semelhante em coelhos (Döbereiner et al. 1976). As 3 plantas possuem ação semelhante, porém há algumas diferenças.

A dose tóxica de *B. coridifolia* foi de 0,68 a 1,36 g/kg com a planta coletada na época da floração (março) e de 1 a 4 g/kg com a planta coletada na época de brotação (novembro), portanto variou de acordo com a fase de crescimento. A dose tóxica das duas variedades de *B. megapotamica* foi constante, independentemente da sua fase de crescimento, do sexo da planta ou de sua procedência, entretanto houve uma grande diferença na dose letal entre as duas variedades. Enquanto que para a var. *megapotamica* a dose letal oscilou entre 2 e 4 g/kg, para a var. *weirii* ela esteve entre 0,34 e 0,68 g/kg.

A evolução na maioria dos casos de intoxicação por *B. coridifolia* foi aguda, variando entre 4h e 22h20min, portanto semelhante à observada na intoxicação pela var. *weirii* e mais curta que a verificada com a var. *megapotamica*. O prazo total desde a administração da planta até a morte dos animais variou, na maioria dos casos de intoxicação por *B. coridifolia*, entre 12h e 36h50min, isto é, foi mais curto que na maioria dos casos de intoxicação pelas 2 variedades de *B. megapotamica*. Por outro lado

houve alguns casos de intoxicação por *B. coridifolia*, em que a evolução e o prazo total desde a administração da planta até a morte dos animais foram bem mais longos, de alguns dias, o que também foi observado em alguns casos de intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, mas não pela var. *weirii*.

O principal sintoma na intoxicação por *B. coridifolia* em coelhos foi a modificação da consistência das fezes, variando de pastosas a líquidas, às vezes com muco, muito semelhante ao que foi observado na intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, na qual, além destas modificações das fezes, freqüentemente havia a presença de sangue; já na intoxicação pela var. *weirii*, a diarreia ocorreu em poucos casos.

Os achados de necropsia da intoxicação por *B. coridifolia* foram semelhantes aos da intoxicação pelas 2 variedades de *B. megapotamica*, e se relacionavam principalmente ao tubo digestivo (estômago, ceco e cólon) e fígado. Na intoxicação por *B. coridifolia* não foi observado o avermelhamento da mucosa do intestino delgado visto na intoxicação por *B. megapotamica* var. *weirii*, nem necrose difteróide do cólon e reto encontrada na intoxicação pela var. *megapotamica*.

Da mesma forma, as alterações histológicas foram semelhantes na intoxicação pelas 3 plantas, com pequenas variações. Como maiores diferenças verificou-se que na intoxicação por *B. coridifolia* não havia necrose das cé-

lulas parietais da mucosa do estômago, vista principalmente na intoxicação por *B. megapotamica* var. *megapotamica*, nem congestão e hemorragias encontradas na mucosa do intestino delgado na intoxicação pela var. *weirii*, e sobretudo não ocorreu necrose do tecido linfóide (baço, apêndice vermiforme e ceco), como na intoxicação por ambas as variedades de *B. megapotamica*.

Uma comparação dos quadros anátomo-patológicos entre bovinos e coelhos intoxicados por *B. megapotamica* mostra que, em ambas as espécies animais, é afetado principalmente o tubo digestivo, com a diferença que no bovino as lesões mais importantes são encontradas nos pró-ventrículos e no coelho ocorrem no ceco. Com exceção desta restrição, pode-se concluir que o coelho serve como animal de pequeno porte, sensível à intoxicação por *B. megapotamica*, para continuação de estudos sobre a sua toxidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Döbereiner J., Rezende A.M.L. & Tokarnia C.H. 1976. Intoxicação experimental por *Baccharis coridifolia* em coelhos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Sér. Vet. 11:27-35.
- Peixoto P.V., Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto C.S. 1987. Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em coelhos. *Pesq. Vet. Bras.* 7(4):117-129.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V., Gava A. & Barros C.S.L. 1992. Intoxicação experimental por *Baccharis megapotamica* var. *megapotamica* e var. *weirii* (Compositae) em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 12(1/2):19-31.