

André Tadeu Gotardo

Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal: estudos de neuroteratologia

Pirassununga
2009

André Tadeu Gotardo

Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal: estudos de neuroteratologia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Silvana Lima Górnjak

Pirassununga

2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2146
FMVZ

Gotardo, André Tadeu

Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal: estudos de neuroteratologia / André Tadeu Gotardo. – Pirassununga : A. T. Gotardo, 2009.
122 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Silvana Lima Górnaiak.

1. *Ipomoea carnea*. 2. Toxicologia da reprodução. 3. Neuroteratologia.
4. Avaliação comportamental. 5. Caprino. I. Título.

PARECER DA COMISSÃO DE BIOÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



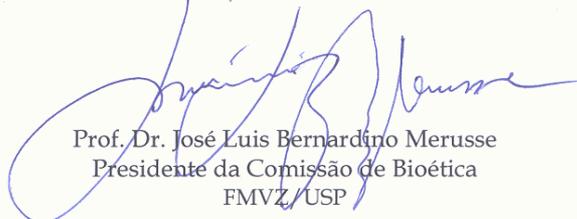
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal. 1. Avaliação dos possíveis efeitos lesivos no tecido placentário. II. Estudos de neuroteratologia", protocolado sob o nº1402/2008, utilizando 35 (trinta e cinco) cabras, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Silvana Lima Górnaiak, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Study of *Ipomoea carnea* toxicity during perinatal period in goats. 1. Evaluate of effects in the placental tissue. II. Behavior study", protocol number 1402/2008, utilizing 35 (thirty five) goats, under the responsibility Profa. Dra. Silvana Lima Górnaiak, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum" meeting).

São Paulo, 27 de maio de 2008



Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GOTARDO, André Tadeu

Título: Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal: estudos de neuroteratologia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: __ / __ / __

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICO

Aos meus pais Jair e Vera, que são para mim um exemplo de vida, de amor, de perseverança e acima de tudo de moralidade.

Tenho por vocês imensa gratidão por tudo que me proporcionaram com tanto amor e carinho. É com muita alegria que divido com vocês mais uma conquista.

Amo vocês

À minha avó Joana, que sempre esta me dando força e vibrando com minhas conquistas. Obrigado por ser tão especial comigo, "vó". Pensamento positivo e fé em Deus que tudo dará certo.

Amo você.

À minha noiva Mary, que está sempre ao meu lado nos momentos de tristezas, alegrias e conquistas, sempre com gestos e palavras de conforto. Obrigado por toda ajuda e força fundamentais para a realização deste trabalho. Tenho certeza que nossos objetivos e metas serão pouco à pouco alcançados.

Te Amo.

À minha Orientadora, Prof^a Dr^a Silvana Lima Górnjak, que além de me oferecer uma oportunidade e me acompanhar em cada passo, me corrigindo e me estimulando, se mostrou um exemplo de profissionalismo. Obrigado pela atenção, paciência e toda dedicação essenciais, não só para a realização deste trabalho, mas também para minha formação.

AGRADECIMENTOS

- ✓ Aos meus grandes amigos do CEPTOX: Adilson (Bala), Elaine, Ester, Estevão, Marco (Marquim), Paulo César (PC) e Solange que sempre estiveram ao meu lado durante esta caminhada, me ajudando no que fosse preciso. Meus sinceros agradecimentos por tudo que vocês fizeram e fazem por mim. Prometo que agora sai o churrasco!!!
- ✓ À minha segunda família (Sogra, Cavalo, Leitão, Burro e Bagua), por terem me acolhido durante estes dois anos com tanto carinho, me ajudando com o que fosse preciso. Muito obrigado a todos vocês;
- ✓ À Helena e ao Faga pelo apoio e amizade. (A segurança do campus em nossas mãos);
- ✓ Ao Vânius (marcha lenta). Ai caboclo, conseguimos, vamos para a próxima fase;
- ✓ À Isis, pelo apoio científico e por inúmeras ajudas. Obrigado;
- ✓ Ao pessoal dos laboratórios: Priscila, Ricardo Jibóia, Marguiti e Magali;
- ✓ Aos meus “irmãos científicos” que ajudaram de diferentes formas. Obrigado;
- ✓ Às garotas da secretaria de pós-graduação. Obrigado pela ajuda;
- ✓ Às garotas das secretarias do departamento: Cris, Cláudia e Sílvia. Muito obrigado;
- ✓ Ao pessoal da segurança de Pirassununga. Obrigado pelo apoio;
- ✓ À FAPESP, pelo apoio financeiro oferecido;
- ✓ Todos os funcionários da Biblioteca pelo auxílio na conclusão desta dissertação;
- ✓ A todos que direta ou indiretamente fizeram parte deste trabalho e estiveram ao meu lado. Muito obrigado.

RESUMO

GOTARDO, A. T. **Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal**: estudos de neuroteratologia. [Evaluation of the toxicity of *Ipomoea carnea* in goats during postnatal period. Neuroteratological studies]. 2009. 122 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

A *Ipomoea carnea* é uma planta tóxica encontrada por todo Brasil e em outros países tropicais. Esta se conserva verde durante a seca, podendo servir como fonte de matéria verde para bovinos, ovinos e, particularmente, caprinos. Os animais intoxicados por esta planta desenvolvem sintomatologia de origem nervosa, imputada ao principal princípio ativo desta planta, a suainsonina. A suainsonina é um alcalóide indolizidinico, potente inibidor da α -manosidase lisossomal, sendo que a inibição desta enzima produz o acúmulo lisossômico de oligossacarídeos não processados completamente, perda de função celular e morte celular. Além desta alteração, a suainsonina também inibe a manosidase II do complexo de Golgi, levando a alterações na síntese, no processamento e no transporte de glicoproteínas. Os principais achados histológicos nesta intoxicação são células com vacúolos lisossomais no sistema nervoso central, tireóide, fígado, pâncreas e rins. Pesquisas anteriores mostraram que a ingestão de *I. carnea* por cabras gestantes produz malformações. O presente estudo propôs-se a estudar os efeitos teratogênicos da *I. carnea* em caprinos. Para tanto, acrescentou-se ao protocolo de avaliação de teratogenicidade em caprinos, desenvolvido neste laboratório, a avaliação neurocomportamental dos neonatos. Assim, foram utilizadas 27 cabras gestantes, divididas em 4 grupos: 3 experimentais e 1 controle. As cabras dos grupos experimentais a partir do 35º dia de gestação até o final da prenhez receberam 1, 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea*. Realizou-se o exame clínico periódico nas fêmeas gestantes, coletando-se sangue para o estudo bioquímico. Procedeu-se também exames fetais ultrassonográficos. As fêmeas foram assistidas no momento do parto, realizando-se, pelas duas horas subseqüentes, anotações de alguns comportamentos apresentados pela mãe e neonato. Além disto, nos dias posteriores os filhotes passaram por uma série de avaliações neurocomportamentais até a 6ª semana de vida. Os resultados obtidos mostram que nenhuma das fêmeas que ingeriram a planta apresentaram

sintomatologia nervosa. Foi observado abortamento nas fêmeas dos grupos que receberam 3g/kg/dia e 5g/kg/dia de *I. carnea*. Também foram observadas duas mortes fetais naquelas gestantes do grupo que recebeu a maior dose da planta. Com relação à bioquímica sanguínea foram verificadas alterações na atividade das enzimas AST e FA nas fêmeas que ingeriram a *I. carnea* durante a gestação. As mães dos grupos que receberam a planta apresentaram significativamente menor atenção aos seus filhotes. Não foram detectadas alterações nos parâmetros ultrassonográficos, nem malformações físicas nos neonatos, em nenhum dos grupos avaliados, no entanto, aqueles filhotes de cabras que ingeriram a maior dose apresentaram redução do peso ao nascimento. As avaliações comportamentais mostraram que os filhotes dos grupos experimentais apresentaram dificuldade de manter-se em estação imediatamente após o parto, bem como de realizar a primeira mamada e de distinguir sua mãe. Além disso, estes filhotes apresentavam maior latência de tempo para chegar às suas mães, nos diferentes testes de labirinto realizados. Este estudo reforça pesquisas anteriores, apontando o efeito teratogênico promovido pela *I. carnea* e recomenda a inclusão das avaliações de neuroteratogenicidade no protocolo de avaliação de teratologia proposta para ruminantes.

Palavras-chave: *Ipomoea carnea*. Toxicologia da reprodução. Neuroteratologia. Avaliação comportamental. Caprino.

ABSTRACT

GOTARDO, A. T. **Evaluation of the toxicity of *Ipomoea carnea* in goats during postnatal period.** Neuroteratological studies. [Avaliação da toxicidade da *Ipomoea carnea* em caprinos durante o período perinatal: estudos de neuroteratologia]. 2009. 122 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

Ipomoea carnea, a shrub plant, is a toxic plant largely distributed throughout Brazil and others topical countries. This plant possess swainsonine, an indolizidinic alkaloid as the most important active toxic principle, which promotes cellular accumulation of not metabolized oligossacarides, due to inhibition of acid or lisossomal α -manosidasis enzyme, causing cellular vacuolization. This alkaloid also inhibits manosidase II of the golgi complex, modifying the glycoprotein synthesis, processing and carrier. It is well known that the ingestion of the plant promotes toxic effects in the central nervous system, liver, kidney, thyroid and pancreas, particularly in goats the most susceptible species. Previous researches conducted in this laboratory had proposed a protocol to evaluate teratogenic effects of xenobiotics in ruminants, using goats as animal model. In relation to *I. carnea*, an earlier study using this protocol revealed the teratologic effect. The aim of this research is to add to this protocol the evaluation of the neonate's behavior. Twenty seven female goats were divided into 4 groups: 3 experimental and 1 control. The experimental goats received from gestation day 35 to parturition day the following doses of *I. carnea* fresh leaves: 1, 3 and 5 g/kg/day. During the pregnancy females were clinically accompanied, evaluating behavior and general body status, and serum biochemistry were performed. Fetuses were evaluated during pregnancy using ultrasonographic measurements. The parturition of all dams was assisted and mother-offspring behaviour was examined during the two consecutive hours post partum. Kid's development was examined using various neurobehavioral tests up to 6 weeks of age. The data obtained showed abortion (n=1) in the females treated with 3 and 5g/kg/day *I. carnea*. Fetal dead (n=2) were observed in the females that eating highest dose of *I. carnea*. None of the treated dam presented neurologic effects during all gestational period. Aspartate-amine transferase and alkaline phosphatase were increased in experimental females.

Offspring body weights were affected by exposure to *I. carnea*. Behavioral study revealed that treated dams were less likely to stand for nursing. Kids from *I. carnea*-treated females were unable to stand, nurse and recognize their mothers. These kids were also slower than controls to arrive at the mother in the maze tests. The present study complements previous research, confirming that *I. carnea* promotes reproductive alteration effects. In addition, the neurobehavioral tests employed here showed to be an important tool to monitorize the toxic effects promoted by toxicants during postnatal period. This research also suggests the inclusion of neurobehavioral evaluations in the ruminant's teratology protocols.

Key words: *Ipomoea carnea*. Reproductive toxicology. Neuroteratology. Behavioral evaluation. Goat.

LISTA DE QUADRO

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Comportamentos observados nas imagens gravadas até duas horas após o parto. | 48 |
|---|----|

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – <i>Ipomea carnea</i> | 27 |
| Figura 2 - Sonograma para confirmação de gestação no 27º dia pós cobertura. Vesícula embrionária (contorno vermelho); embrião (seta amarela); bexiga urinaria (contorno amarelo). | 42 |
| Figura 3 – Sonograma no 49º dia de gestação mostrando o CCC..... | 45 |
| Figura 4 - Sonograma no 49º dia de gestação mostrando o DBP..... | 46 |
| Figura 5 - Sonograma no 63º dia de gestação mostrando o DT..... | 46 |
| Figura 6 - Sonograma no 63º dia de gestação mostrando o DA | 46 |
| Figura 7 - Teste de discriminação. Desenho esquemático da área de teste, mostrando a posição de partida do filhote e a posição de chegada, onde estão a mãe e uma segunda cabra | 50 |
| Figura 8 - Labirinto progressivo. Desenho esquemático da área de teste, mostrando a posição da mãe, a posição do filhote e os obstáculos acrescentados nos diferentes dias de teste..... | 51 |
| Figura 9 - Desenho esquemático dos quatro labirintos de “Hebb-Williams” (“Hebb-Williams A, B, C e D) utilizados, sendo o labirinto A o mais fácil e o D o mais difícil. As áreas acinzentadas representam os locais considerados errados uma vez que não levaria o filhote até a sua mãe.. | 53 |
| Figura 10 - Peso médio (kg) inicial, final e ganho de peso total, do período gestacional (quadro) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão..... | 63 |
| Figura 11 - Níveis séricos de uréia (mg/dl), creatinina (U/l) e albumina (g/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão..... | 65 |
| Figura 12 - Níveis séricos de proteína total (g/l), glicose (mg/dl) e colesterol (mg/dl) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão | 67 |
| Figura 13 - Níveis séricos de FA (U/l), AST (U/l) e GGT (U/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)..... | 69 |
| Figura 14 – ultrassonográficos (FC, MF, CCC, DA, DT e DBP) dos fetos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I.</i> | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | <i>carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 71 |
| Figura 15 – | Peso ao nascimento de filhotes de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett). | 72 |
| Figura 16 - | Comportamento de cheirar e lambar os filhotes (em quantidade de movimentos realizados), apresentados por cabras que consumiram, ou não, diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, observada nas duas primeiras horas após o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)..... | 79 |
| Figura 17 - | Período de tempo (em min) de atenção aos filhotes, nas duas primeiras horas de vida, despendido pelas mães, tratadas ou não com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)..... | 80 |
| Figura 18 - | Comportamentos de pedalar, levantar a cabeça, tentativa de se levantar e de se manter em estação (em número de movimentos realizados), apresentados por filhotes, nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)..... | 82 |
| Figura 19 – | Número de tentativas de mamar na porção anterior, porção posterior e numero de mamadas com sucesso, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett). | 84 |
| Figura 20 - | Número de tentativas de aproximar-se e afastar-se das mães, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett). | 85 |
| Figura 21 - | Latência de tempo para a tentativa de levantar pela primeira vez e latência da primeira vez em estação, nas duas primeiras horas de vida, de cabritos, cujas mães consumiram diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | apresentadas as médias e os respectivos erros padrão do tempo (seg) decorrido do nascimento do filhote até a realização da variável observada. * $P < 0,05$ em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett). | 86 |
| Figura 22 - | Período de tempo (em min) em estação na primeira hora de vida de filhotes de mães, tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão.* $P < 0,05$ em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett). | 87 |
| Figura 23 – | Latência de tempo (em seg) para a partida do anteparo e para a chegada à mãe (em seg), apresentadas por filhotes (com 12 e 36h de vida) de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, observado durante as duas sessões do teste de discriminação. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)..... | 89 |
| Figura 24 – | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto progressivo, no 2º, 4º e 6º dia de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF) | 91 |
| Figura 25 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams A”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)..... | 92 |
| Figura 26 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams B”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF). | 93 |
| Figura 27 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams C”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF). | 94 |
| Figura 28 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams D”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * $P < 0,05$ em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF). | 95 |

Figura 29 - Número de erros no percurso, dos labirintos “Hebb-Williams A, B, C e D”, cometidos pelos cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão.....96

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------|--|----|
| Tabela 1 – | Parâmetros reprodutivos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto..... | 61 |
| Tabela 2 - | Peso médio (kg) inicial, final e ganho de peso total do período gestacional, de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão | 62 |
| Tabela 3 - | Níveis séricos de uréia (mg/dl), creatinina (U/l) e albumina (g/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão..... | 64 |
| Tabela 4 - | Níveis séricos de proteína total (g/l), glicose (mg/dl) e colesterol (mg/dl) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão | 66 |
| Tabela 5 – | Níveis séricos de FA (U/l), AST (U/l) e GGT (U/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão | 68 |
| Tabela 6 – | Parâmetros ultrassonográficos (FC, MF, CCC, DA, DT e DBP) dos fetos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão | 70 |
| Tabela 7 - | Peso ao nascimento de filhotes de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 72 |
| Tabela 8 - | Comportamento de cheirar e lambe os filhotes (em quantidade de movimentos realizados), apresentados por cabras que consumiram, ou não, diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, observada nas duas primeiras horas após o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões | 79 |
| Tabela 9 – | Período de tempo (em min) de atenção aos filhotes, nas duas primeiras horas de vida, despendido pelas mães, tratadas ou não com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 80 |
| Tabela 10 - | Comportamentos de pedalar, levantar a cabeça, tentativa de se levantar e de se manter em estação (em número de movimentos realizados), apresentados por filhotes, nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as | |

| | | |
|-------------|---|----|
| | médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período..... | 81 |
| Tabela 11 - | Número de tentativas de mamar na porção anterior, porção posterior e numero de mamadas com sucesso, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período..... | 83 |
| Tabela 12 - | Número de tentativas de aproximar-se e afastar-se das mães, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período..... | 85 |
| Tabela 13 – | Latência de tempo para a tentativa de levantar pela primeira vez e latência da primeira vez em estação, nas duas primeiras horas de vida, de cabritos, cujas mães consumiram diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão do tempo (seg) decorrido do nascimento do filhote até a realização da variável observada | 86 |
| Tabela 14 – | Período de tempo (em min) em estação na primeira hora de vida de filhotes de mães, tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 87 |
| Tabela 15 – | Latência de tempo (em seg) para a partida do anteparo e para a chegada à mãe (seg) e número de escolhas incorretas, apresentadas por filhotes (com 12 e 36h de vida) de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto, observado durante as duas sessões do teste de discriminação. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 88 |
| Tabela 16 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto progressivo, no 2º, 4º e 6º dia de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 90 |
| Tabela 17 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams A”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão..... | 92 |
| Tabela 18 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams B”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do | |

| | | |
|-------------|--|----|
| | 35° dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. | 93 |
| Tabela 19 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams C”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. | 94 |
| Tabela 20 - | Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams D”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. | 95 |
| Tabela 21 - | Número de erros no percurso dos labirintos “Hebb-Williams A, B, C e D”, cometidos pelos cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de <i>I. carnea</i> do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. | 96 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 26 |
| 1.1 | SOBRE A <i>Ipomoea carnea</i> | 26 |
| 1.2 | SOBRE A TERATOGENICIDADE E PROTOCOLOS PARA SUA AVALIAÇÃO | 29 |
| 2 | OBJETIVO | 34 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL | 34 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 34 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODO | 36 |
| 3.1 | ANIMAIS | 36 |
| 3.2 | MATÉRIA VEGETAL | 36 |
| 3.3 | MATERIAL PARA EXAME CLÍNICO | 37 |
| 3.4 | MATERIAL PARA COLETA DE SANGUE | 37 |
| 3.5 | KITS PARA BIOQUÍMICA SÉRICA E EQUIPAMENTO | 37 |
| 3.6 | MATERIAL PARA A INDUÇÃO DO ESTRO | 38 |
| 3.7 | MATERIAL PARA DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E PARA MENSURAÇÃO FETAL | 38 |
| 3.8 | MATERIAL PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO NO PERÍODO PÓS-NATAL | 38 |
| 3.9 | PROCEDIMENTOS | 39 |
| 3.9.1 | Exames laboratoriais | 39 |
| 3.9.2 | Avaliação clínica e do ganho de peso | 40 |
| 3.9.3 | Indução do estro e acasalamento | 40 |
| 3.9.4 | Avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de gestação | 41 |
| 3.9.5 | Coleta de Sangue para dosagem de enzimas e componentes sanguíneos | 42 |
| 3.9.6 | Administração de <i>I. carnea</i> | 43 |

| | | |
|---------------|--|------------|
| 3.9.7 | Avaliação ultrassonográfica para mensuração fetal | 43 |
| 3.9.8 | Avaliação de anomalias e/ou malformações..... | 47 |
| 3.9.9 | Avaliação comportamental | 47 |
| 3.9.9.1 | Avaliação das duas primeiras horas após o nascimento | 47 |
| 3.9.9.2 | Teste de discriminação..... | 48 |
| 3.9.9.3 | Labirinto progressivo | 50 |
| 3.9.9.4 | Testes com labirintos de “Hebb-Williams” | 51 |
| 3.10 | DELINEAMENTO EXPERIMENTAL..... | 54 |
| 3.10.1 | Estudo dos efeitos tóxicos produzidos pela <i>I. carnea</i> em cabras durante o período gestacional: avaliação física | 54 |
| 3.10.2 | Efeitos da administração da <i>I. carnea</i> em cabras gestantes: avaliação comportamental | 55 |
| 3.11 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 55 |
| 4 | RESULTADOS | 58 |
| 4.1 | ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS PRODUZIDOS PELA <i>I. carnea</i> EM CABRAS DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL: AVALIAÇÃO FÍSICA | 58 |
| 4.2 | EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DA <i>I. carnea</i> EM CABRAS GESTANTES: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL | 73 |
| 5 | DISCUSSÃO | 98 |
| 6 | CONCLUSÃO..... | 112 |
| | REFEÊNCIAS..... | 114 |

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 SOBRE A *Ipomoea carnea*

A *Ipomoea carnea* Jacq. spp. *fistulosa* (Choisy) D.F. Austin (Convolvulaceae) é uma planta perene, arbustiva, leitosa, com caules ocos e glabros, pouco ramificada, porte ereto, medindo de 1 a 3 m de altura (Figura 1). Suas folhas são alternadas, glabras, longo-pecioladas, medindo de 10 a 30 cm de comprimento por 5-15 cm de largura. Suas inflorescências são axilares, em cimeiras, com muitas flores de 5-8 cm de comprimento, sustentadas por longo pedúnculo. Possui sementes ovóides-cuneiformes, com 8-10 mm de comprimento, superfície pouco áspera, escura, intensamente recoberta por pêlos ferrugíneos. É de fácil multiplicação, podendo ser cultivada através do plantio da semente ou com o emprego da técnica de estaqueamento, na qual o caule da planta é enterrado (HOEHNE, 1939; LORENZI, 1991).

A *I. carnea* pode ser encontrada por todo o Brasil e em outros países tropicais (AUSTIN; HUAMAN, 1996). No nosso país, esta planta é encontrada de forma particular na região nordeste, principalmente no vale do São Francisco e no sul do Piauí, onde é uma das poucas plantas que se conserva verde durante o período da seca. Esta planta pode receber diferentes nomes populares dependendo da região onde se encontra; assim, no Pará é conhecida como “algodão-bravo”, no Ceará como “canudo-de-lagoa”, no Mato Grosso do Sul como “algodão-do-pantanal” ou “algodão-do-brejo”, na Paraíba como “capa-bode” e, na região Amazônica, “manjorana”. Pode ter ainda outras denominações como “mata-pinto”, “salsa-branca” e “campainha-de-canudo” (TOKARNIA et al., 1960; TOKARNIA et al., 2000).



Figura 1 - *Ipomea carnea*

Esta planta possui uma característica muito importante do ponto de vista toxicológico, que é a de se manter verde durante todo o ano, sendo resistente a longos períodos de seca (HOEHNE, 1939). Portanto, devido a esta particularidade, a *I. carnea* passa a ser fonte de matéria verde aos animais de produção, principalmente na época da seca, período em que há escassez de pastagens (TOKARNIA et al., 2000).

A intoxicação natural ocorre quando diferentes espécies animais, como bovinos, ovinos e, particularmente, caprinos, ingerem a planta de forma crônica (TOKARNIA et al., 2000). Os sinais e sintomas apresentados por animais intoxicados com a planta são caracterizados, de maneira geral, por perda de peso, apatia e alterações nervosas de origem cerebelar, como parestesia dos membros posteriores, tremores de cabeça, dismetria, decúbito esternal e, eventualmente, pode levar a morte por inanição (TARTOUR et al., 1974; DAMIR et al., 1987; TOKARNIA et al., 2000; SCHUMAHER-HENRIQUE, 2002). Em particular, os caprinos intoxicados pela planta manifestam alterações nervosas bastante acentuadas (BRANDÃO et al., 1989; DE BALOGH et al., 1999; SCHUMAHER-HENRIQUE et al., 2003).

Histopatologicamente, diversos estudos mostram que as principais alterações produzidas pela *I. carnea*, na espécie caprina, ocorrem ao nível do sistema nervoso central (SNC), onde são verificadas vacuolização de neurônios e das células da glia em associação com esferóide axonal e, ainda, a perda das células de Purkinje (TOKARNIA et al., 1960; DAMIR et al., 1987; TIRKEY et al., 1987; SRILATHA et al., 1997; DE BALOGH et al., 1999). Esta degeneração vacuolar pode ser vista em outros órgãos como tireóide, fígado, pâncreas e rins (VAN KAMPEN; JAMES, 1970; SCHUMAHER-HENRIQUE, 2005).

Os princípios ativos tóxicos da *I. carnea* foram identificados por De Balogh et al. (1999), sendo o principal a suainsonina, um alcalóide indolizidínico, também encontrado em outras plantas do gênero *Astragalus*, *Oxytropis* e *Swainsona*, as quais vêm causando grandes perdas na criação animal nos Estados Unidos (JAMES; NIELSON, 1988). A suainsonina é um potente inibidor da α -manosidase lisossomal (TULSIANI; TOUSTER, 1983), sendo que a diminuição da atividade desta enzima produz o acúmulo lisossômico de oligossacarídeos (manose) não processados completamente, perda de função celular e no último estágio, morte celular (ELBEIN, 1989). Além desta alteração, a suainsonina também inibe a manosidase II do Complexo de Golgi, levando a alterações na síntese, no processamento e no transporte de glicoproteínas, resultando em disfunção na adesão celular às moléculas, hormônios e vários receptores de membrana (STEGELMEIER et al., 1995). Os efeitos tóxicos da suainsonina, além de alterações no SNC, também podem comprometer funções endócrinas (STEGELMEIER et al.,

1994; TAYLOR; STRICKAND, 1998), reprodutivas (PANTER et al., 1989), imunes (KARASUNO et al., 1992), embriogênicas (NELSON et al., 1980), função gastrointestinal (PAN et al., 1993) e comprometimento renal (HUXTABLE; DORLING, 1983).

Além da suainsonina, foi identificada a presença dos alcalóides nortropânicos: a calistegina B2 e a calistegina C1, nas folhas da *I. carnea*. Estas são responsáveis pela inibição da β -glicosidase (ASANO et al., 1995). Sugere-se que a presença destes alcalóides pode produzir a exacerbação do efeito tóxico da suainsonina. Posteriormente, Haraguchi et al. (2003) isolaram, ainda nesta planta, as calisteginas B1, B2 e B3; no entanto, pouco se sabe sobre os possíveis efeitos biológicos destes alcalóides nortropânicos.

1.2 SOBRE A TERATOGENICIDADE E PROTOCOLOS PARA SUA AVALIAÇÃO

O interesse pelas malformações congênitas ou “teras”, data da antiguidade da civilização. Naquele tempo, a explicação para tal fato seria que estas alterações morfológicas verificadas no neonato estariam relacionadas a um evento mitológico ou, principalmente, à punição dos pecados (GILDEN; BODEWITZ, 1991). No entanto, as malformações nunca despertaram interesse pela comunidade científica até o começo do século passado, quando os cientistas se atinham, praticamente, à incidência de malformações em condições de laboratório e, só esporadicamente, estas alterações eram associadas às situações cotidianas (por exemplo, com a exposição ao vírus da rubéola e à radiação). Foi o desastre com a talidomida, na década de 1960, que alterou o curso destas pesquisas e, desde então, são muitos os laboratórios e pesquisadores mobilizados na investigação da ação de xenobióticos e a teratogênese.

Atualmente, a teratologia está bem desenvolvida, sendo este estudo também denominado de toxicologia do desenvolvimento, que é parte da toxicologia reprodutiva e é, ainda, subdividida em toxicologia pré e pós-natal (PETERS, 1998). A toxicologia do desenvolvimento abrange o estudo da cinética, mecanismo de ação

tóxico, patogênese e as conseqüências da exposição a agentes tóxicos ou condições que levam ao desenvolvimento anormal do animal (ROGERS; KAVLOCK, 2001).

Antigamente, os protocolos utilizados para avaliação do potencial teratogênico de xenobióticos, entre elas as toxinas de plantas, buscavam alterações ósseas e viscerais, de uma forma geral, alterações físicas mais grosseiras como, por exemplo, a ciclopia, uma malformação fetal em que o indivíduo apresenta apenas um olho. No entanto, atualmente está bem estabelecido que as alterações no concepto podem ser tanto estruturais como funcionais e estas podem ser iniciadas em qualquer período, entre a fertilização e a maturação pós-natal (WILSON, 1977). Desta forma, para que se possa melhor avaliar o potencial teratogênico dos diferentes xenobióticos, os protocolos para estudos de toxicologia do desenvolvimento, estabelecidos por agências internacionais, vêm sendo revistos, procurando-se, desta forma, detectar alterações mais sutis, que na maioria das vezes passam despercebidas quando se utilizam apenas as avaliações ósseas e viscerais fetais. Assim, tem-se objetivado detectar, por exemplo, os efeitos tóxicos no sistema imune (HUEZA, 2006) ou ao nível do SNC (SCHUMAHER-HENRIQUE, 2005) do filhote, os quais não são percebidos no momento do nascimento, mas que se presentes poderão ser responsáveis por grandes perdas econômicas na criação animal, uma vez que, certamente, irão comprometer o desempenho do animal e, conseqüentemente, a sua *performance* zootécnica.

Outro ponto que tem sido objeto de preocupação das agências de regulamentação de avaliação de risco em relação aos diferentes agentes teratogênicos, refere-se aos possíveis equívocos cometidos ao se extrapolar resultados obtidos com animais de laboratório para seres humanos. Assim, essa extrapolação permanece incerta, principalmente devido às diferenças encontradas entre espécies (NAU, 1986). Esse fato pode ser observado quando nos referimos à talidomida, que é um agente, teratogênico para o ser humano, porém não oferece risco algum para ratos. É sabido também, que entre espécies de laboratório são encontradas diferentes respostas frente a uma mesma substância. Por exemplo, a cortisona provoca fenda palatina em camundongos e coelhos, mas nenhuma malformação em ratos (KALTER, 1965). Neste sentido, para Scharadein et al.

(1985), a resposta a um dado agente químico para um particular modelo animal é quase tão variável quanto o número de substâncias testadas.

Baseado nisso, e com extrema relevância, é possível assumir que a extrapolação dos dados obtidos em espécies monogástricas, como ratos, para as poligástricas (ruminantes) deveria ser realizada com muito cuidado, uma vez que o rúmen tem um importante papel na farmacocinética e metabolismo de agentes químicos. De fato, pode-se exemplificar esta discrepância de efeitos entre espécies com o anti-helmíntico albendazole, que causa embriotoxicidade somente em ruminantes, pois o composto teratogênico é o seu metabólito, um derivado sulfóxido, o qual é gerado exclusivamente por poligástricos (DELATOUR et al., 1981). Outro exemplo é a suainsonina, um dos princípios ativos da *I. carnea*, que causa alteração de origem nervosa em ruminantes (SCHUMAHHER-HENRIQUE, 2005) e não em ratos (HUEZA et al., 2003).

Uma explicação para essas diversas respostas está nas diferenças embriológicas de cada espécie e nas variações cinéticas e dinâmicas dos diferentes agentes teratogênicos (BROWN; FABRO, 1983).

Considerando-se tais características, este laboratório, o Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária – CEPTOX, vem procurando desenvolver e propor um novo modelo para a avaliação da toxicidade do desenvolvimento em ruminantes, utilizando-se a espécie caprina para tal, uma vez que nenhum trabalho anterior foi encontrado na literatura, utilizando qualquer espécie ruminante como modelo animal, seguindo os protocolos gerais para estudos de toxicologia do desenvolvimento, estabelecidos por agências internacionais, tais como a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) e a européia Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD). Este protocolo básico seria útil para o estudo dos potenciais efeitos teratogênicos/embriofetotóxicos de muitas substâncias químicas, tais como, toxinas de plantas, micotoxinas, medicamentos e aditivos de alimentos, entre outros, aos quais os ruminantes domésticos possam ser freqüentemente expostos.

Neste sentido, o primeiro estudo foi realizado por Soto-Blanco e Górnjak (2004), o qual propôs um modelo experimental para estudos toxicológicos avaliando-se os possíveis efeitos teratogênicos do cianeto, em caprinos. Assim, naquela

pesquisa pioneira, determinou-se que, da mesma maneira que os protocolos de toxicologia reprodutiva empregados pelas principais agências internacionais que normatizam, seriam utilizadas três doses distintas; ainda, propôs-se o período para administração da substância a ser testada e as diferentes avaliações maternas (hemograma, bioquímica e histopatologia) e fetais (avaliações de anomalias ou malformações e histopatologia) a serem realizadas. A seguir, um estudo conduzido por Schumacher-Henrique (2005), avaliando o efeito da administração da *I. carnea* durante a gestação, acrescentou a este protocolo as avaliações ultrassonográficas durante diferentes períodos fetais. Ainda, recentemente, concluiu-se a pesquisa, conduzida por Barbosa-Ferreira (2008), na qual objetivou-se estudar os possíveis efeitos teratogênicos da planta *Senna occidentalis* em caprinos, utilizando este protocolo de avaliação de toxicologia do desenvolvimento, somando-se a este o acompanhamento pós-natal dos filhotes, realizando-se a morfometria corporal desde o nascimento até o 4º mês de vida. Neste estudo, iniciou-se também a avaliação neurocomportamental destes animais.

Portanto, a presente Dissertação visa melhor caracterizar estas alterações neurocomportamentais e propor um protocolo efetivo para o estudo das mesmas em ruminantes.

2 OBJETIVO

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os possíveis efeitos tóxicos produzidos pela *I. carnea*, em diferentes concentrações, na cabra e em suas proles, durante o período perinatal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar os possíveis efeitos tóxicos promovidos pela *I. carnea* em cabras expostas durante o período gestacional;
- Estudar, por meio de análise ultrassonográfica uterina, os possíveis efeitos fetotóxicos promovidos pela *I. carnea* administrada a cabras no período gestacional;
- Desenvolver um protocolo de neuroteratologia em caprinos e avaliar possíveis alterações comportamentais em filhotes cujas mães tenham ingerido a *I. carnea* durante o período gestacional.

3 Material e Método

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas cabras nulíparas da raça Pardo Alpina, com idade aproximada de 12 meses e ao redor de 30 Kg de peso corporal no início do experimento. Foi utilizado apenas um único reprodutor, também de mesma raça com, aproximadamente, três anos e peso ao redor de 55 Kg.

As fêmeas foram alojadas em baias coletivas, enquanto que o macho foi mantido em baia individual, nas instalações do Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX) do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), Campus Administrativo de Pirassununga.

Os animais receberam água *ad libitum* e, como alimento, cana-de-açúcar (*Sacharum officinarum* L.), suplementação mineral *ad libitum*, além de ração comercial, a qual foi produzida no próprio Campus Administrativo de Pirassununga. A quantidade diária de ração administrada foi de 1,5% de peso vivo.

3.2 MATÉRIA VEGETAL

Foi realizado o plantio da *I. carnea* com a técnica de estaqueamento em cerca de 1.500 m² de terreno nas instalações do Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX) do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), Campus Administrativo de Pirassununga.

Após estes procedimentos, procedeu-se, por aspersão, à irrigação desta área, duas vezes por semana.

3.3 MATERIAL PARA EXAME CLÍNICO

- Balança digital Mart[®] LC 200;
- Estetoscópio;
- Termômetro clínico.

3.4 MATERIAL PARA COLETA E PROCESSAMENTO DO SANGUE

- Agulha 25x0,80mm (BD[®]);
- Centrífuga (Eppendorf[®] 5810R);
- Microtubo;
- Seringa 5ml descartável (BD[®]);
- Tubo de ensaio.

3.5 KITS PARA BIOQUÍMICA SÉRICA E EQUIPAMENTO

- Para dosagem enzimática de fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase - GGT (Merck[®]);
- Para dosagem de glicose, colesterol, creatinina, uréia, albumina, proteína total (Celm[®]);
- Sistema Bioquímico Automático (Celm[®]- SAB-200).

3.6 MATERIAL PARA A INDUÇÃO DO ESTRO

- Clorprostenol sódico – análogo sintético da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$); Ciosin[®] (Coopers Brasil Ltda);
- Esponja de acetato com 60mg de medroxiprogesterona (MAP-Syntex S.A.);
- Preparação altamente purificada de gonadotrofina coriônica de égua gestante (PMSG) + gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) - Norvormon[®] (Syntex S.A).

3.7 MATERIAL PARA DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO E PARA MENSURAÇÃO FETAL

- Aparelho de ultra-som Scanner 100 Vet- Pie Medical (Nutricell[®]- Nutrientes Celulares, Campinas, SP, Brasil), com transdutores linear e convexo de 6,0-8,0MHz e 6.25MHz, respectivamente;
- Gel para ultra-som (BioGel[®]);
- Luvas de látex para procedimento (Sempremed[®]);
- Máquina de tosquia (Golden A-5 Clipper - Oster[®]) provida de lâmina tamanho 40.

3.8 MATERIAL PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO NO PERÍODO PÓS-NATAL

- Câmera filmadora (Sony[®] modelo DCR-HC21);
- Cronômetro (TITAN[®]);
- Madeira tipo compensado.

3.9 PROCEDIMENTOS

3.9.1 Exames laboratoriais

Todas as cabras foram submetidas a exames laboratoriais para a confirmação da sanidade das mesmas, para tanto se realizou exames sorológicos 45 dias antes do início do experimento, para determinar a possível titulação para *Mycoplasma* spp., *Brucella* spp., *Toxoplasma* spp. e *Leptospira* spp., certificando-se que todos estes animais estavam livres destes agentes infecciosos.

As amostras de sangue foram colhidas dos animais e enviadas para os seguintes laboratórios:

- Instituto Biológico de São Paulo, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, para diagnóstico de *Brucella* spp.;
- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Laboratório de Zoonoses Bacterianas para diagnóstico de *Leptospira* spp.;
- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Laboratório de Doenças Parasitárias, para diagnóstico de *Toxoplasma* spp.;
- Instituto de Ciências Biológicas – USP, Laboratório de Mycoplasma, para diagnóstico de *Mycoplasma* spp.

Também foi realizado o exame coproparasitológico das cabras por meio da técnica de Mc Master (OPG), para detecção de ovos de helmintos. Este exame foi realizado 45 dias antes do início do experimento, no laboratório do CEPTOX.

3.9.2 Avaliação clínica e do ganho de peso

As cabras foram, semanalmente, submetidas à avaliação clínica no período matutino, sempre entre 8:00 e 9:00h, sendo aferidas a temperatura corpórea, as freqüências cardíaca e respiratória, peso corpóreo e observado os movimentos ruminais e coloração das mucosas.

3.9.3 Indução do estro e acasalamento

Para facilitar o manejo as cabras receberam tratamento hormonal para a indução do estro. Para tanto, foi empregado o procedimento proposto por Traldi (1994), que propõe a utilização de uma esponja impregnada com 60mg de acetato de medroxiprogesterona, a qual é introduzida na vagina da fêmea, com auxílio de um tubo guia que permaneceu no seu interior por 10 dias. Dois dias antes do final deste tratamento (dia 8), procedeu-se à administração intramuscular de 250 UI (1,0 ml) por animal de eCG e 0,3 ml de $\text{PGF}_{2\alpha}$, para promover o crescimento folicular. No 10º dia procedeu-se a retirada da esponja e, após cerca de 20 h (24-48 horas), as cabras manifestaram estro, sendo, assim que detectado, cobertas pelo reprodutor.

As cabras foram fecundadas por meio de monta natural. Todas foram cobertas pelo mesmo reprodutor, sendo que o macho cobriu até, no máximo, 4 vezes/dia, para que não houvesse redução da fertilidade.

As cabras que foram cobertas até as 11 h da manhã, considerou-se este dia como dia 1 da prenhez; aquelas cabras que foram cobertas após esse horário, considerou-se este dia como dia 0 da prenhez. Este esquema foi adotado para não houvesse um número excessivo de animais submetidos à avaliação ultrassonográfica no mesmo dia.

3.9.4 Avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de gestação

A detecção de gestação foi feita pela avaliação ultrassonográfica, via transretal, realizada a cada 24 horas, do 24º ao 27º dia após a cobertura. Foi empregado o aparelho de ultra-som Scanner 100 Vet-Pie Medical, adaptando-se um tubo de policloreto de vinila (PVC) ao transdutor para servir de extensor e apoio, facilitando, assim, sua manipulação transretal. A fixação ao transdutor foi feita com fita adesiva elástica, que permitiu a sua fixação adequada, evitando traumatismos no esfíncter anal (LIMA, 2000).

Para a realização da avaliação ultrassonográfica, por via transretal, a cabra foi contida em estação. Em seguida, foi aplicado gel para ultra-som no esfíncter anal da cabra para lubrificar e facilitar o subsequente esvaziamento do conteúdo fecal da parte final do reto. A seguir, o gel foi colocado sobre o transdutor, que foi introduzido no reto, até que se pudessem visualizar os cornos uterinos. Nesse momento, o transdutor foi girado em um ângulo de 90 graus no sentido horário e 180 graus no sentido anti-horário até que todo trato reprodutivo da fêmea pudesse ser explorado (SCHRICK et al., 1993).

A confirmação da gestação foi evidenciada pela presença de líquido no útero, caracterizada pela visualização de áreas anecogênicas próximas à bexiga urinária e pela presença da vesícula embrionária, caracterizada pelo acúmulo de fluido embrionário anecogênico de forma arredondada ou alongada bem delimitada e, pela detecção do embrião no interior da vesícula embrionária, que foi caracterizado pelo surgimento de um ponto ecogênico próximo à parede uterina (LIMA, 2000) (Figura 2).

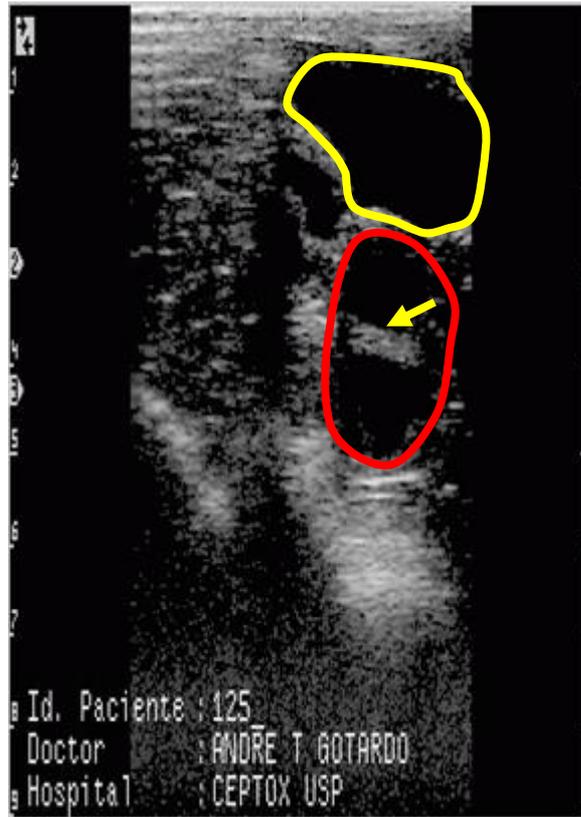


Figura 2 - Sonograma para confirmação de gestação no 27º dia pós cobertura. Vesícula embrionária (contorno vermelho); embrião (seta amarela); bexiga urinaria (contorno amarelo)

3.9.5 Coleta de Sangue para dosagem de enzimas e componentes sanguíneos

O sangue dos caprinos foi coletado por punção da veia jugular no 27º, 60º, 90º, 120º e 145º dia de gestação, sempre no período matutino, entre 8:00 e 9:00h. A coleta foi realizada com seringas sem anticoagulante para obtenção do soro.

Este material foi usado para realização da dosagem dos níveis séricos de glicose, albumina, proteína, colesterol, uréia e creatinina, além da atividade das enzimas GGT, AST, e FA, empregando-se “kits” comerciais específicos e analisador automático de bioquímica.

3.9.6 Administração de *I. carnea*

Foram administradas folhas recém colhidas e trituradas da *I. carnea* às cabras do grupo experimental nas concentrações de 1, 3 e 5g/Kg/dia a partir da 5ª semana de gestação. A folha foi administrada de manhã e, posteriormente, foi observado se houve a ingestão da *I. carnea* na quantidade desejada. Para administrar e observar a quantidade desejada da planta, as cabras foram mantidas presas, individualmente, em seu respectivo cocho até o momento que fosse ingerido as diferentes quantidades de planta determinadas para cada animal.

3.9.7 Avaliação ultrassonográfica para mensuração fetal

Os exames ultrassonográficos para mensuração fetal foram realizados na 5ª semana de prenhez, pela via transretal, e nas 7ª e 9ª semanas de gestação, pela via abdominal.

No momento do exame pela via transretal, o animal foi contido, aplicando-se, a seguir, sobre o esfíncter anal da cabra, um gel, objetivando-se lubrificar a região e facilitar o subsequente esvaziamento da parte final do reto. Posteriormente, o gel foi colocado sobre o transdutor, o qual foi introduzido no reto até a visualização de um dos cornos uterinos. Nesse momento, o transdutor foi girado em um ângulo de 90 graus, no sentido horário e 180 graus no sentido oposto, até que todo trato reprodutivo pudesse ser explorado (SCHRICK et al., 1993).

Para a realização do exame ultrassonográfico abdominal, os animais foram submetidos ao jejum hídrico e alimentar de 12 horas. A região a ser explorada foi depilada, empregando-se uma máquina de tosquia. Os animais foram contidos em estação e a seguir, aplicou-se o gel, tanto sobre o transdutor, como sobre a região depilada e procedeu-se à sua manipulação.

Foram feitas as seguintes mensurações fetais: movimentos fetais, frequência cardíaca, comprimento cranio-caudal (CCC), diâmetro biparietal (DBP), diâmetro do tórax (DT) e diâmetro do abdome (DA).

O movimento fetal foi avaliado pelas contrações do feto presente no interior da vesícula embrionária, sendo este caracterizado pela presença de uma estrutura ecogênica próximo à parede uterina (NICOLA et al., 1984)

A frequência cardíaca foi determinada pela contração de um pequeno ponto ecogênico na região torácica do feto.

Os demais parâmetros (CCC, DBP, DT e DA) foram tomados com a imagem congelada, através do traçado de uma linha reta entre dois pontos definidos, utilizando-se o *caliper* eletrônico contido no aparelho de ultrassom. Os valores foram expressos em centímetros e anotados em uma ficha própria.

O CCC (Figura 3) foi determinado pelo tamanho da linha traçada entre a parte anterior do crânio (osso occipital) até a base da cauda (primeira vértebra coccígea) (KAHN, 1994).

O DBP (Figura 4) foi determinado pela maior distância entre os ossos biparietais, que se apresentaram hiperecogênicos, contrastando internamente com o córtex cerebral que se apresentava de forma hipoecogênica (KAHN, 1994).

O DT (Figura 5) foi determinado pela distância entre os bordos ecogênicos de duas costelas em corte horizontal na altura do coração (CHAVEZ MORENO et al., 1996).

O DA (Figura 6) foi determinado pela maior distância entre os bordos do tronco, obtidos em corte horizontais ou transversais na altura entre a última costela e o cordão umbilical (CHAVEZ MORENO et al., 1996).

No caso de gestação gemelar, foi considerada a média dos dois embriões/fetos, uma vez que, o número de fetos não influencia nas suas medidas nos 2/3 iniciais de gestação (GONZÁLES DE BULNES et al., 1998).



Figura 3 - Sonograma no 49º dia de gestação mostrando o CCC



Figura 4 - Sonograma no 49º dia de gestação mostrando o DBP



Figura 5 - Sonograma no 63º dia de gestação mostrando o DT



Figura 6 - Sonograma no 63º dia de gestação mostrando o DA

3.9.8 Avaliação de anomalias e/ou malformações

Após a identificação do sexo e pesagem dos filhotes, foram realizados exames minuciosos para constatar a conformação e posicionamento de olhos, boca, crânio, mandíbula, membros anteriores e posteriores, cauda e pele, além da presença de perfuração anal, para pesquisa de possíveis malformações e/ou anomalias externas.

3.9.9 Avaliação comportamental

3.9.9.1 Avaliação das duas primeiras horas após o nascimento

As fêmeas, juntamente com suas respectivas proles, foram colocadas, logo após o parto, em uma área cercada de 4 x 3 m (metros), com marcações no chão a cada metro. Durante duas horas a mãe e seu(s) filhote(s) foram filmados, para posterior análise do comportamento materno e neonatal, com base nas variáveis descritas no quadro 1 (PFISTER et al., 2006a).

As duas horas subseqüentes ao parto, filmadas, foram divididas em quatro períodos de tempo, a saber: 0-15 min, 15-30 min, 30-60 min e 60-120 min para propiciar uma análise mais refinada dos resultados.

| COMPORTAMENTOS MATERNOS | |
|----------------------------------|--|
| Cuidados Maternos | Cheirar e lamber o filhote Atenção ao filhote |
| COMPORTAMENTOS DO FILHOTE | |
| Deitado | Levantar a cabeça Movimentos de pedalar Tentativas de ficar em pé Ficar ou não em estação |
| Andando | Aproximando-se da mãe Afastando-se da mãe |
| Ao mamar | Reflexos de mamada, na parte da frente da mãe Reflexos de mamada atrás da mãe Mamando |

Quadro 1 - Comportamentos observados nas imagens gravadas até duas horas após o parto

3.9.9.2 Teste de discriminação materna

Este teste foi realizado em duas sessões, a primeira 12h e a outra 36h após o parto. Na incapacidade do filhote realizar o teste com 12h de vida, postergou-se para 24h, sendo, neste caso, repetido 48h pós-parto.

O teste objetivou avaliar a capacidade do filhote de atender ao chamado materno, distingui-la de uma segunda cabra e de dirigir-se até ela.

O teste foi realizado conforme proposto por Pfister et al. (2006b): mãe, filhote e uma segunda cabra, que havia parido em um período máximo de cinco dias, foram colocados em uma área cercada. Colocava-se o filhote atrás de um anteparo em forma de “U” com uma janela, que permitia a visualização tanto da sua mãe como de uma segunda cabra, as quais foram colocadas, lado a lado, a uma distância de 2,5m à frente do filhote e impossibilitadas de andar em sua direção (Figura 7). Desta

forma para chegar até a sua mãe, seria necessário que o filhote saísse do anteparo em “U”, passasse por um obstáculo colocado a 1,25m de distância das cabras (o obstáculo também possuía uma janela que permitia o filhote observar as duas cabras) para finalmente ter acesso às fêmeas. Este procedimento foi realizado com duas repetições para cada horário (12h e 36h ou 24h e 48h), sendo que para evitar vícios, as cabras foram trocadas de lado a cada repetição do teste.

Foram anotados os seguintes parâmetros:

- Tempo de partida do anteparo;
- Tempo de chegada a mãe:
- Escolha correta (mãe) ou escolha incorreta (outra cabra).

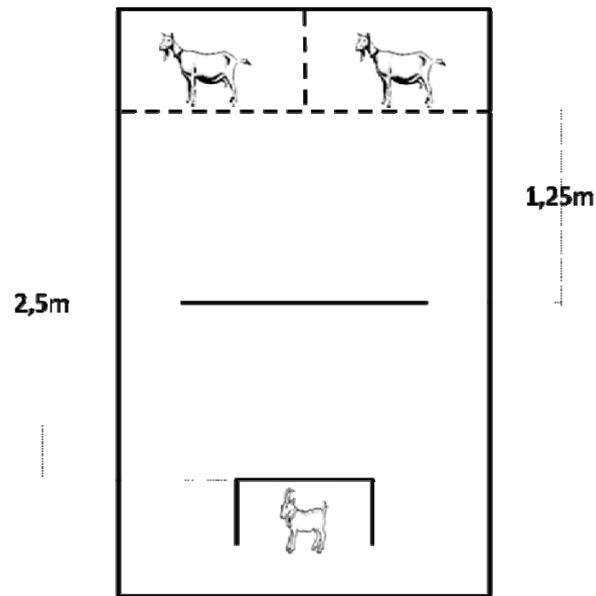


Figura 7 - Teste de discriminação. Desenho esquemático da área de teste, mostrando a posição de partida do filhote e a posição de chegada, onde estão a mãe e uma segunda cabra

3.9.9.3 Labirinto progressivo

Nesta prova o filhote foi colocado em uma área fechada do lado oposto ao da sua mãe, sendo que para chegar a ela seria necessário que o animal passasse por um número variável de obstáculos de acordo com sua idade. Assim, esta prova foi dividida em três etapas: a primeira com filhotes com dois dias de vida e dois obstáculos; a segunda com quatro dias de vida e três obstáculos e, finalmente a terceira, com seis dias de vida e um quatro obstáculos (Figura 8) (PFISTER et al., 2006b).

Cada etapa foi repetida três vezes seguidas, sendo anotadas as seguintes variáveis:

- Tempo de partida (saída de trás do primeiro obstáculo);
- Tempo de chegada até a mãe.

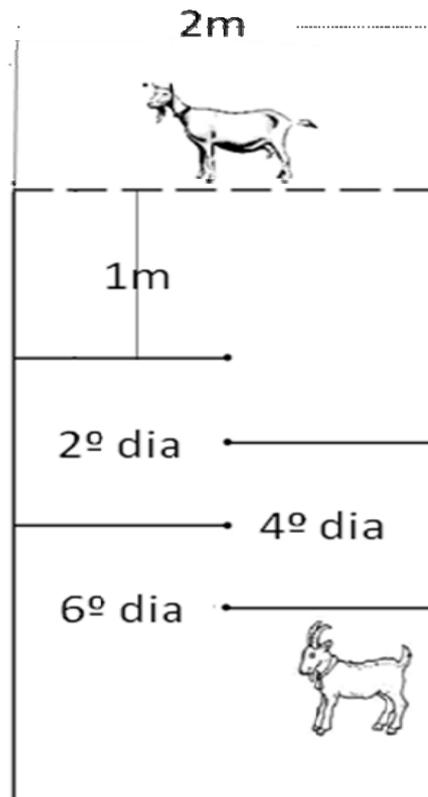


Figura 8 - Labirinto progressivo. Desenho esquemático da área de teste, mostrando a posição da mãe, a posição do filhote e os obstáculos acrescentados nos diferentes dias de teste

3.9.9.4 Testes com labirintos de “Hebb-Williams”

Para a realização desta prova foram utilizados quatro labirintos de campo fechado de “Hebb-Williams” – “Hebb-Williams A, B, C e D” (HEBB; WILLIAMS, 1946), com graus de dificuldade progressiva (Figura 9).

A avaliação nos quatro labirintos foi realizada na 2ª, 4ª e 6ª semana de vida dos filhotes. Os animais foram separados de suas mães 2h antes do seu início. Foram realizadas três repetições consecutivas de cada labirinto nas semanas acima citadas, sendo dado um tempo máximo de 5min para a realização do percurso em cada repetição.

Foram anotados os seguintes parâmetros:

- Tempo de início (tempo que o filhote demora a começar a se movimentar pelo labirinto);
- Tempo de chegada até mãe;
- Número de vezes que o filhote foi em locais errados que não o levariam a sua mãe (Figura 9).

Este teste avaliou a capacidade de aprendizado dos filhotes, uma vez que os mesmos deveriam aprender como chegar até suas mães, percorrendo o labirinto. Esperava-se que o animal aprendesse o trajeto mais curto a cada repetição do teste, de modo que, ao fim do experimento, os filhotes chegassem às suas mães percorrendo o menor trajeto e cometendo um menor número de erros conseqüentemente com menor tempo.

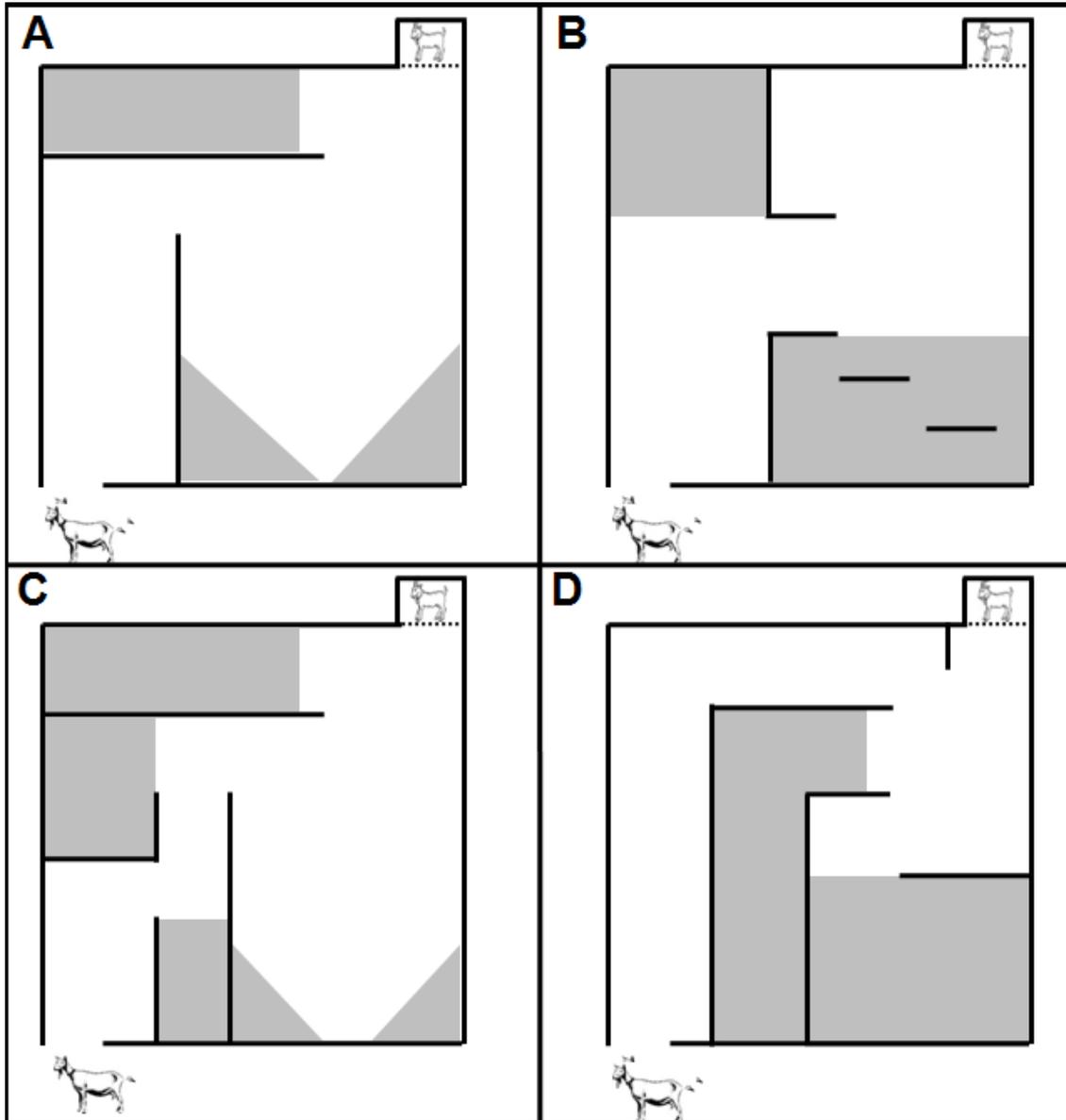


Figura 9 - Desenho esquemático dos quatro labirintos de “Hebb-Williams” (“Hebb-Williams A, B, C e D) utilizados, sendo o labirinto A o mais fácil e o D o mais difícil. As áreas acinzentadas representam os locais considerados errados uma vez que não levaria o filhote até a sua mãe

3.10 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

3.10.1 Estudo dos efeitos tóxicos produzidos pela *I. carnea* em cabras durante o período gestacional: avaliação física.

Foram utilizadas 27 cabras nulíparas. Todos os animais, antes de entrarem em experimentação, foram submetidos aos exames sorológicos e coproparasitológicos, conforme descrito no item 3.9.1. Após estes procedimentos, as fêmeas foram induzidas ao estro e acasaladas, conforme descrito o item 3.9.3.

Semanalmente, os animais foram submetidos à avaliação clínica e de ganho de peso, conforme apresentado no item 3.9.2. Entre os dias 24 e 27, pós-cobertura, as fêmeas foram submetidas a exames ultra-sonográficos, conforme descrito no item 3.9.4 para confirmação de gestação.

A partir do 35º dia de gestação, as cabras foram pesadas e divididas de forma a obter quatro grupos homogêneos: um controle e três experimentais. Os animais dos grupos experimentais, a partir da 5ª semana de gestação, passaram a receber concentrações de 1, 3 e 5g/kg/dia de folhas de *I. carnea*, conforme descrito no item 3.9.6 enquanto que aqueles animais, pertencentes ao grupo controle, receberam apenas as forrageiras e a ração.

Durante o período gestacional foi coletado, mensalmente, o sangue dos animais para obtenção do soro, sendo este armazenado em freezer para dosagem de enzimas e componentes sanguíneos (item 3.9.5).

Ainda durante o período gestacional, as cabras foram submetidas aos exames ultrassonográficos na 5ª, 7ª e 9ª semana de gestação, para proceder-se às mensurações fetais e demais parâmetros, conforme descrito no item 3.9.7. Logo após o parto, os filhotes das cabras foram avaliados para a pesquisa de possíveis malformações e/ou anomalias externas, conforme descrito no item 3.9.8.

3.10.2 Efeitos da administração da *I. carnea* em cabras gestantes: avaliação comportamental

Após o nascimento dos filhotes, tiveram início os testes comportamentais, conforme descrito no item 3.9.9.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados estão apresentados na forma de média, seguidos por seu respectivo erro-padrão.

Para avaliação dos dados referentes ao peso, a análise bioquímica, as mensurações ultrassonográficas e as variáveis das 2h após o nascimento, foi realizado o teste de Bartlett, com o objetivo de verificar a homocedasticidade dos dados (GAD, WEIL, 1989). Após comprovar que todos os dados eram paramétricos foi empregada a análise de variância ANOVA (SNEDCOR, 1946), para a comparação das médias entre os vários grupos. Para a detecção de diferenças significantes entre os grupos, foi utilizado como teste posterior à ANOVA o teste de Dunnett (GAD, WEIL, 1989). A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada capaz de revelar diferenças significantes entre os grupos. Sendo utilizado para tal o software GraphPad InStat v2.01 (GRAPHPAD, 1993)

Os dados referentes ao teste de discriminação, labirinto progressivo e labirintos de “Hebb-Willians” foram analisados pelo modelo misto por procedimento MIXED (PROC MIXED), sendo cada animal determinado como uma unidade fixa, e os demais fatores como variáveis (WOLFINGER; CHANG, 1996). Primeiramente avaliaram-se os resultados das repetições, feitas no mesmo dia. Após não verificar diferenças significantes entre as médias, dos resultados, das repetições realizadas no mesmo dia, pelo teste de variância ANOVA, estas foram retiradas do modelo sendo considerada uma média dos resultados da repetição de cada dia. Após este procedimento foi aplicado um teste de variância ANOVA (duas vias) para verificar se

havia interação significativa ($P < 0,05$) entre tratamento e tempo. A opção PDIFF foi utilizada para localizar as interações significantes. Para tal foi utilizado o software SAS (SAS, 2005). Os dados referentes ao número de erros cometidos pelos animais nos labirintos “Hebb-Williams” foram analisados da mesma forma, porém levando em conta o valor total de erro em cada labirinto.

4 Resultados

4 RESULTADOS

4.1 ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS PRODUZIDOS PELA *I. carnea* EM CABRAS DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL: AVALIAÇÃO FÍSICA

A avaliação dos exames sorológicos realizados nas cabras revelou resultado negativo em todos os animais do rebanho para *Brucella* spp., *Mycoplasma* spp., *Leptospira* spp. e *Toxoplasma* spp.. Já o exame coproparasitológico evidenciou alto número de ovos de parasitos e, por este motivo, instituiu-se o tratamento com uma avermectina, a doramectina (em dose única de 0,01g/50kg). Repetiu-se o exame coproparasitológico 15 dias após a administração do antiparasitário, verificando-se que nenhum dos animais apresentou ovos de parasitos (dados não apresentados).

O exame clínico das cabras mostrou não haver nenhuma alteração digna de nota no que se refere à frequência cardíaca e respiratória, temperatura corpórea e coloração de mucosas, durante todo o período experimental. Também não foi evidenciada nenhuma manifestação clínica característica de intoxicação pela *I. carnea*, tais como: tremores de cabeça, tremores musculares, incoordenação motora e andar cambaleante. Porém, naqueles animais do grupo que recebeu 3g/kg/dia de *I. carnea*, uma cabra morreu no 117º dia de gestação e outra abortou no 139º dia de gestação, ainda, neste mesmo grupo, um filhote morreu após o parto. Nos animais pertencentes ao grupo que recebeu 5g/kg/dia de *I. carnea*, verificou-se que uma das cabras abortou no 112º dia de gestação e outras duas fêmeas deste mesmo grupo apresentaram mortes fetais entre o 49º e 63º dia de gestação. Nos demais grupos não foram observadas alterações em nenhum dos animais (Tabela 1).

Em relação ao peso das fêmeas gestantes no início da gestação, final da gestação e ganho de peso total na gestação, a análise estatística empregada mostrou não haver diferenças significantes ($P < 0,05$), quando comparados os dados obtidos dos animais dos grupos experimentais com aqueles do controle (Tabela 2 e Figura 10).

Quanto aos dados de bioquímica sérica, as análises estatísticas empregadas revelaram não haver diferenças significantes ($p > 0,05$) entre os dados entre os diferentes grupos, no que se refere aos níveis séricos de uréia, creatinina, albumina (Tabela 3 e Figura 11), proteína total, glicose, colesterol (Tabela 4 e Figura 12), bem como da atividade da enzima GGT (Tabela 5 e Figura 13).

Quanto à atividade da enzima FA destes animais (Tabela 5 e Figura 13), verificaram-se diferenças significantes dos valores obtidos entre os grupos na 8^a, 12^a, 16^a e 20^a semanas de gestação ($F=3,24$, $F=9,45$, $F=4,46$, $F=3,36$, respectivamente; $df=3/16$ e $p > 0,05$). A aplicação do teste de Dunnett mostrou haver aumento significativo ($p > 0,05$) da atividade desta enzima na 8^a semana de gestação nos animais do grupo que recebeu 3g/kg/dia de *I. carnea*, quando comparados aos animais controle. Da mesma forma, na 12^a semana de gestação naquelas fêmeas que receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* também foi verificado aumento significativo ($p > 0,05$) da atividade desta enzima, quando comparado as fêmeas do grupo controle. Na 16^a semana de gestação o aumento foi nos animais do grupo que recebeu 5g/kg/dia de *I. carnea*, quando comparado aos dados provenientes de cabras do grupo controle. Na 20^a semana de gestação, o aumento significativo ($p > 0,05$) da atividade desta enzima foi verificado nas cabras do grupo que recebeu 3g/kg/dia de *I. carnea*, quando comparadas as do grupo controle.

A comparação dos dados relativos à atividade da enzima AST, revelou haver diferença significativa entre os diferentes grupos na 12^a e 16^a semana de gestação ($F=20,77$, $df=3/21$, $F=39,14$, $df=3/19$, respectivamente; $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou o aumento significativo ($p > 0,05$) na atividade da enzima AST daqueles animais tratados com 1, 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea*, em relação aos níveis desta enzima de fêmeas do grupo controle (Tabela 5 e Figura 13).

A análise estatística dos dados obtidos na avaliação ultrassonográfica dos diferentes parâmetros mensurados: FC, MF, CCC, DA, DT e DBP, revelaram não haver alteração significativa ($P > 0,05$), entre os animais dos diferentes grupos avaliados (Tabela 6 e Figura 14).

Quanto ao peso ao nascimento de filhotes cujas gestantes ingeriram ou não as diferentes concentrações de *I. carnea*, a análise de variância revelou haver diferença significativa entre os grupos ($F=9,51$, $df=3/24$; $p > 0,05$). A aplicação do

teste Dunnett detectou diminuição significativa ($p > 0,05$) no peso de animais cujas mães ingeriram 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados aos animais controle (Tabela 7 e Figura 15).

Tabela 1 - Parâmetros reprodutivos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto

| Parâmetros | Controle | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|--|-----------------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 3 | 5 |
| Número de cabras prenhes | 6 | 6 | 7 | 8 |
| Morte embrionária | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Mortalidade de cabras | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Aborto | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Duração da gestação (dias SEM) | 149,1 ± 0,7 | 150,1 ± 0,9 | 148,3 ± 1,8 | 151,2 ± 0,7 |
| Número de parto gemelar | 3 | 0 | 1 | 3 |
| Filhotes vivos | 9 | 6 | 6 | 9 |
| Machos | 6 (66,6) ^a | 2 (33,4) | 4 (66,6) | 2 (22,2) |
| Fêmeas | 3 (33,4) | 4 (66,6) | 2 (33,4) | 7 (77,7) |
| Mortalidade de filhotes (pós-parto) | 0 | 0 | 1 | 0 |

^a Entre parênteses, percentagens.

Tabela 2 - Peso médio (kg) inicial, final e ganho de peso total do período gestacional, de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

| Peso | Controle | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|
| | | 1 | 3 | 5 |
| Médio | | | | |
| Inicial | 41,7 ± 4,3 (6) ^a | 40,6 ± 2,5 (6) | 39,0 ± 1,9 (7) | 39,4 ± 1,8 (8) |
| Final | 49,8 ± 4,2 (6) | 44,8 ± 1,7 (6) | 46,3 ± 1,9 (6) | 46,4 ± 3,0 (5) |
| Ganho de peso | | | | |
| Total do período gestacional | 8,1 ± 0,7 (6) | 4,2 ± 2,3 (6) | 7,9 ± 1,6 (6) | 5,8 ± 1,6 (5) |

^a Entre parênteses o número de animais estudados.

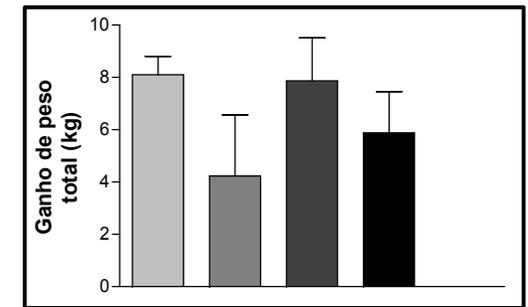
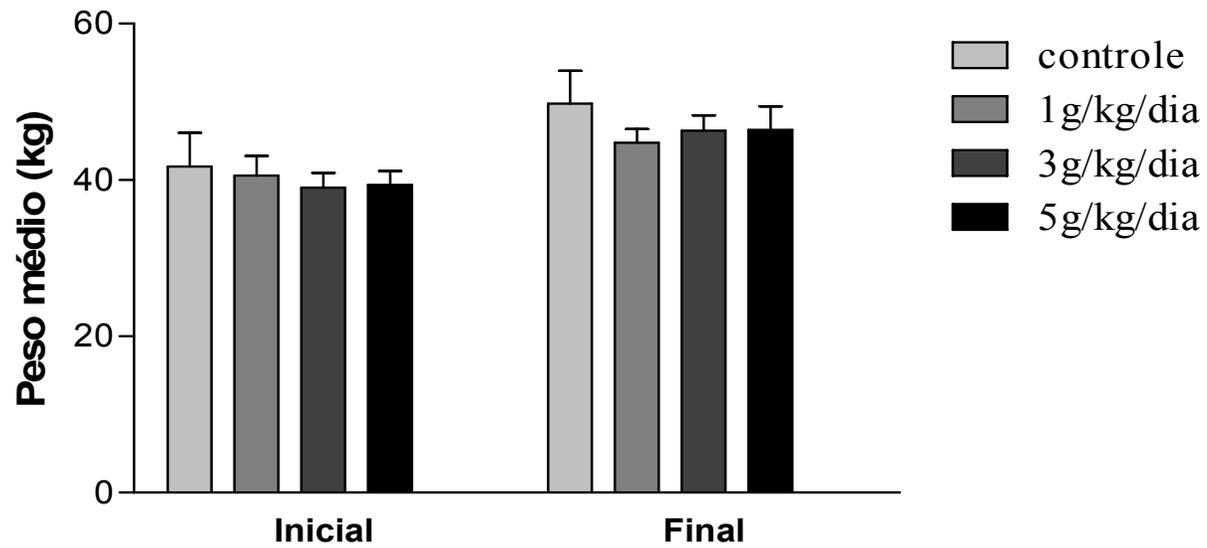


Figura 10 - Peso médio (kg) inicial, final e ganho de peso total, do período gestacional (quadro) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

Tabela 3 - Níveis séricos de uréia (mg/dl), creatinina (U/l) e albumina (g/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

| Parâmetros | Semanas de gestação | Controle | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|---------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|
| | | | 1 | 3 | 5 |
| Uréia (mg/dl) | 4 | 22,5 ± 3,0 (5) ^a | 17,0 ± 2,2 (5) | 16,6 ± 4,2 (5) | 21,5 ± 7,5 (5) |
| | 8 | 13,1 ± 3,8 (5) | 21,0 ± 4,4 (5) | 15,8 ± 0,9 (5) | 12,2 ± 3,1 (5) |
| | 12 | 12,1 ± 2,8 (5) | 15,9 ± 2,8 (5) | 17,3 ± 1,4 (5) | 19,9 ± 0,8 (5) |
| | 16 | 17,6 ± 0,8 (5) | 18,3 ± 1,9 (5) | 25,4 ± 2,2 (5) | 25,8 ± 4,6 (5) |
| | 20 | 15,1 ± 1,2 (5) | 16,2 ± 2,0 (5) | 20,1 ± 1,7 (5) | 21,6 ± 4,4 (5) |
| Creatinina (U/l) | 4 | 1,3 ± 0,1 (5) | 1,3 ± 0,1 (6) | 1,5 ± 0,1 (7) | 1,5 ± 0,1 (7) |
| | 8 | 1,2 ± 0,1 (5) | 1,4 ± 0,1 (6) | 1,5 ± 0,1 (7) | 1,5 ± 0,1 (7) |
| | 12 | 1,2 ± 0,1 (5) | 1,5 ± 0,3 (6) | 1,7 ± 0,2 (7) | 1,6 ± 0,1 (7) |
| | 16 | 1,5 ± 0,1 (5) | 1,6 ± 0,1 (6) | 1,7 ± 0,1 (6) | 1,8 ± 0,1 (6) |
| | 20 | 1,5 ± 0,1 (5) | 1,7 ± 0,2 (6) | 1,7 ± 0,2 (6) | 1,8 ± 0,2 (6) |
| Albumina (g/l) | 4 | 3,1 ± 0,3 (5) | 3,7 ± 0,2 (6) | 3,8 ± 0,1 (7) | 3,8 ± 0,2 (7) |
| | 8 | 3,5 ± 0,3 (5) | 3,7 ± 0,2 (6) | 3,8 ± 0,1 (7) | 3,7 ± 0,2 (7) |
| | 12 | 3,4 ± 0,2 (5) | 3,3 ± 0,3 (6) | 3,6 ± 0,3 (6) | 3,3 ± 0,2 (6) |
| | 16 | 3,5 ± 0,1 (5) | 3,4 ± 0,2 (6) | 3,1 ± 0,2 (6) | 3,2 ± 0,2 (6) |
| | 20 | 3,3 ± 0,2 (5) | 3,2 ± 0,2 (6) | 2,9 ± 0,2 (6) | 3,2 ± 0,2 (6) |

^a Entre parênteses o número de animais estudados.

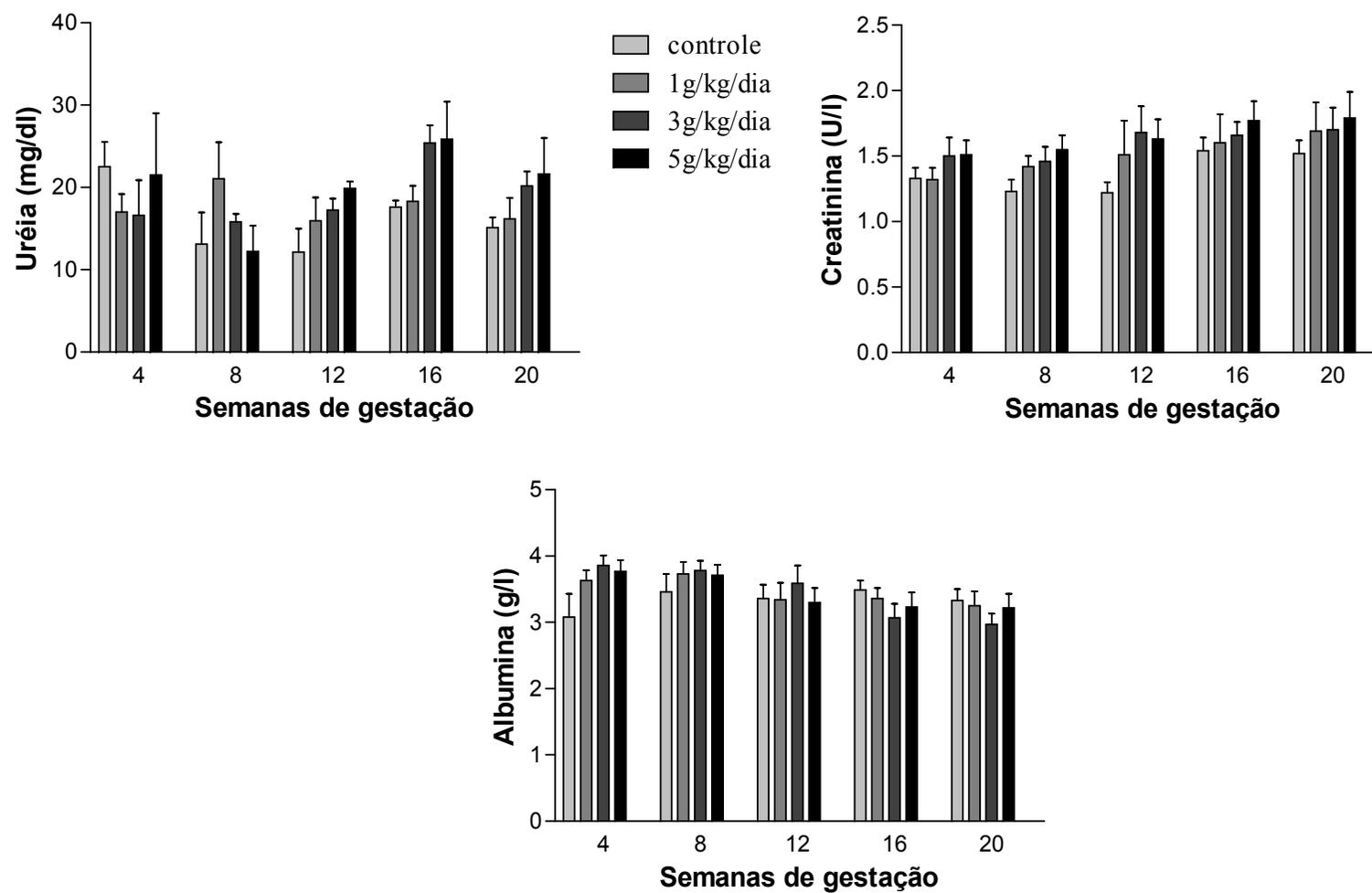


Figura 11 - Níveis séricos de uréia (mg/dl), creatinina (U/l) e albumina (g/l) de cabras prenhas tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

Tabela 4 - Níveis séricos de proteína total (g/l), glicose (mg/dl) e colesterol (mg/dl) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

| Parâmetros | Semanas de gestação | Controle | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|----------------------|---------------------|----------------------------|----------------------------------|------------------|------------------|
| | | | 1 | 3 | 5 |
| Proteína total (g/l) | 4 | 7,9 ± 0,6 (5) ^a | 8,1 ± 0,3 (6) | 9,5 ± 0,7 (7) | 8,2 ± 0,4 (7) |
| | 8 | 9,4 ± 0,7 (5) | 9,2 ± 0,5 (6) | 8,8 ± 0,6 (7) | 8,7 ± 0,4 (7) |
| | 12 | 6,7 ± 1,4 (5) | 8,5 ± 0,7 (6) | 8,8 ± 0,7 (7) | 7,2 ± 0,3 (7) |
| | 16 | 6,0 ± 0,1 (5) | 6,5 ± 1,1 (6) | 7,2 ± 1,1 (6) | 7,6 ± 1,1 (6) |
| | 20 | 5,9 ± 0,2(5) | 6,6 ± 1,0 (6) | 6,9 ± 1,0 (6) | 7,4 ± 0,8 (6) |
| Glicose (mg/dl) | 4 | 54,8 ± 3,2 (5) | 53,9 ± 5,8 (6) | 48,6 ± 3,7 (7) | 48,2 ± 3,1 (7) |
| | 8 | 56,7 ± 1,7 (5) | 54,2 ± 5,2 (6) | 50,0 ± 4,4 (7) | 43,0 ± 3,7 (7) |
| | 12 | 48,4 ± 3,3 (5) | 43,7 ± 9,9 (6) | 36,6 ± 5,9 (7) | 37,0 ± 9,8 (7) |
| | 16 | 47,5 ± 3,3 (5) | 43,5 ± 3,9 (6) | 42,5 ± 4,7 (6) | 37,7 ± 4,5 (6) |
| | 20 | 49,4 ± 2,8 (5) | 48,5 ± 3,7 (6) | 49,3 ± 9,8 (6) | 38,4 ± 6,3 (6) |
| Colesterol (mg/dl) | 4 | 110,3 ± 16,8 (5) | 118,6 ± 17,2 (6) | 119,8 ± 25,3 (7) | 90,6 ± 19,8 (7) |
| | 8 | 107,8 ± 13,5 (5) | 159,4 ± 26,1 (6) | 122,1 ± 19,7 (7) | 106,3 ± 23,1 (7) |
| | 12 | 143,3 ± 13,6 (5) | 166,1 ± 36,5 (6) | 150,7 ± 37,1 (7) | 103,2 ± 52,0 (7) |
| | 16 | 105,8 ± 5,8 (5) | 104,6 ± 11,1 (6) | 109,9 ± 9,2 (6) | 104,2 ± 12,6 (6) |
| | 20 | 94,3 ± 10,5 (5) | 114,2 ± 16,1 (6) | 108,9 ± 8,7 (6) | 104,6 ± 9,0 (6) |

^a Entre parênteses o número de animais estudados.

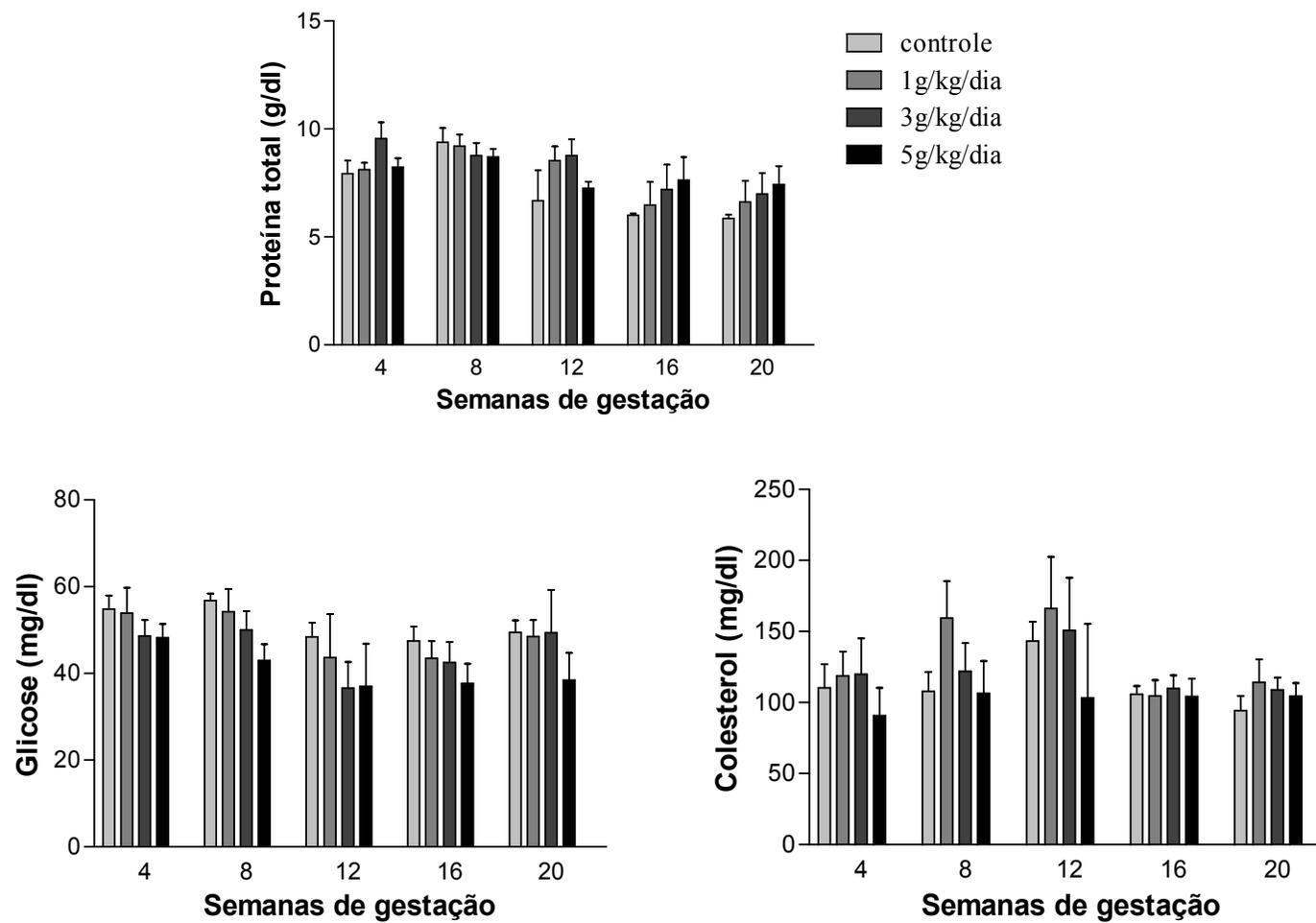


Figura 12 - Níveis séricos de proteína total (g/l), glicose (mg/dl) e colesterol (mg/dl) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

Tabela 5 - Níveis séricos de FA (U/l), AST (U/l) e GGT (U/l) de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão

| Parâmetros | Semanas de gestação | Controle | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|--------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|
| | | | 1 | 3 | 5 |
| FA (U/l) | 4 | 324,2 ± 59,6 (5) ^a | 603,8 ± 82,6 (5) | 490,7 ± 100,5 (5) | 540,0 ± 103,4 (5) |
| | 8 | 453,8 ± 95,2 (5) | 1073,6 ± 202,3 (5) | 2106,5 ± 549,7 (5)* | 1770,0 ± 895,2 (5) |
| | 12 | 582,2 ± 137,5 (5) | 1373,6 ± 270,0(5) | 2378,2 ± 458,4 (5)* | 2521,3 ± 260,5 (5)* |
| | 16 | 191,5 ± 45,2 (5) | 449,9 ± 120,7 (5) | 598,7 ± 180,5 (5) | 827,6 ± 123,9 (5)* |
| | 20 | 147,7 ± 55,0 (5) | 247,9 ± 48,8 (5) | 378,9 ± 88,3 (5)* | 380,6 ± 40,0 (5) |
| AST (U/l) | 4 | 65,3 ± 6,7 (5) | 74,8 ± 4,2 (6) | 74,7 ± 4,1 (7) | 76,6 ± 2,6 (7) |
| | 8 | 58,7 ± 16,8 (5) | 141,2 ± 13,7 (6) | 148,2 ± 35,6 (7) | 125,7 ± 21,1 (7) |
| | 12 | 58,3 ± 7,7 (5) | 148,6 ± 8,5 (6)* | 233,9 ± 21,5 (7)* | 241,3 ± 21,7 (7)* |
| | 16 | 47,9 ± 11,0 (5) | 129,9 ± 9,6 (6)* | 226,9 ± 6,4 (6)* | 225,1 ± 20,9 (6)* |
| | 20 | 64,6 ± 4,5 (5) | 112,9 ± 18,8 (6) | 181,5 ± 32,1 (6) | 140,6 ± 23,1 (6) |
| GGT (U/l) | 4 | 54,3 ± 7,9 (5) | 45,0 ± 1,3 (6) | 47,9 ± 2,4 (7) | 42,4 ± 5,5 (7) |
| | 8 | 43,1 ± 2,4 (5) | 33,6 ± 4,7 (6) | 35,1 ± 2,8 (7) | 34,5 ± 2,3 (7) |
| | 12 | 40,3 ± 11,2 (5) | 33,9 ± 3,3 (6) | 23,2 ± 2,8 (7) | 29,4 ± 2,6 (7) |
| | 16 | 24,4 ± 4,1 (5) | 23,7 ± 5,2 (6) | 29,7 ± 4,2 (6) | 25,2 ± 2,2 (6) |
| | 20 | 33,5 ± 3,0 (5) | 31,5 ± 2,1 (6) | 32,4 ± 0,6 (6) | 25,3 ± 4,7 (6) |

^a Entre parênteses o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

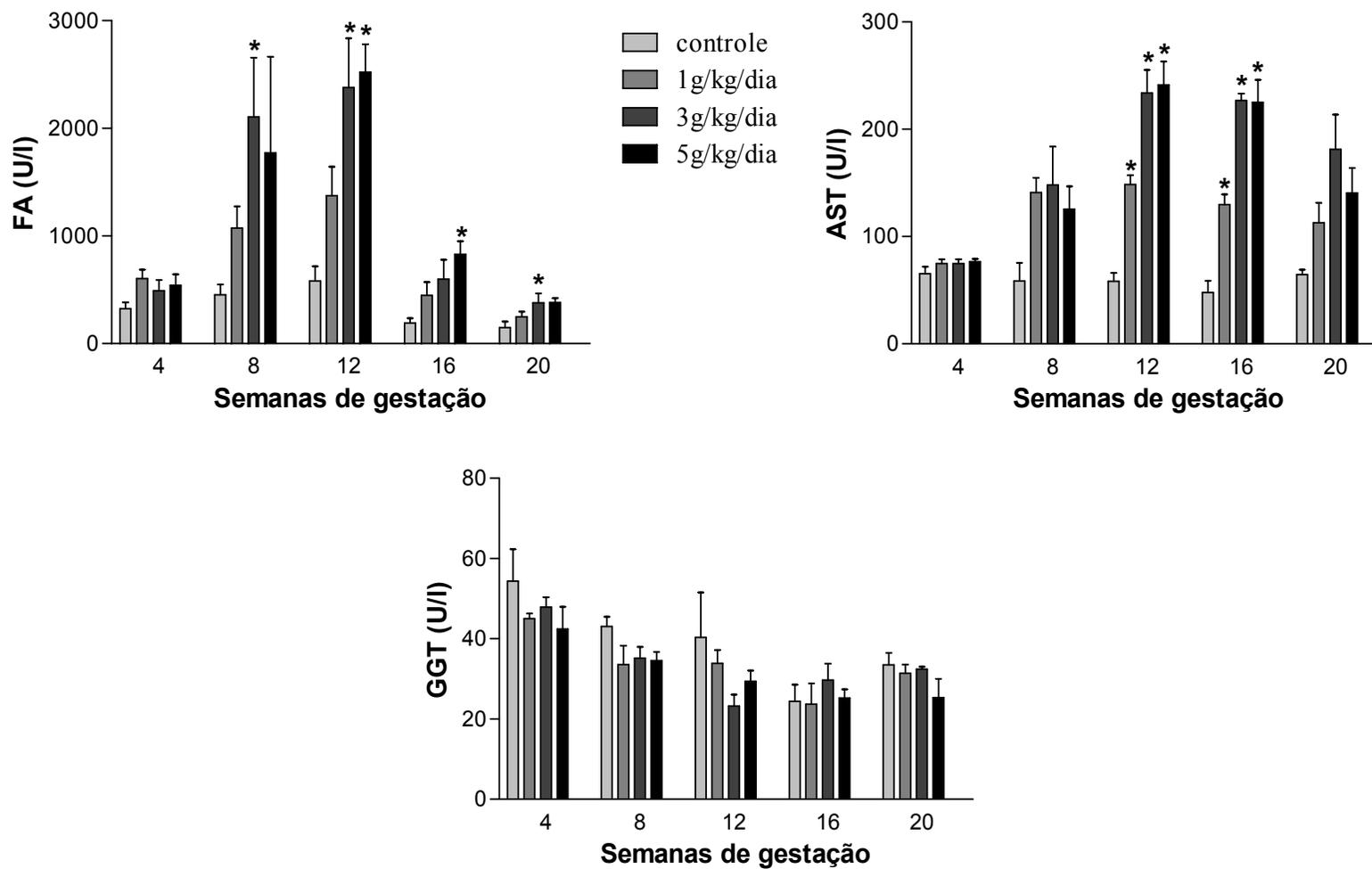


Figura 13 - Níveis séricos de FA (U/l), AST (U/l) e GGT (U/l) de cabras prenhas tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentados as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 6 - Parâmetros ultrassonográficos (FC, MF, CCC, DA, DT e DBP) dos fetos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Mensurações | Dias de Gestação | Controle (6) ^a | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|-------------|------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | | 1 (5) | 3 (7) | 5 (8) |
| FC (min) | 35º | 128,0 ± 4,6 | 125,2 ± 5,6 | 125,1 ± 3,6 | 129,7 ± 3,4 |
| | 49º | 130,0 ± 2,2 | 125,6 ± 4,5 | 128,6 ± 2,7 | 130,5 ± 1,7 |
| | 63º | 126,6 ± 2,2 | 131,2 ± 1,9 | 131,4 ± 2,5 | 130,7 ± 1,2 |
| MF (min) | 35º | 1,5 ± 0,2 | 0,8 ± 0,2 | 0,8 ± 0,3 | 0,7 ± 0,2 |
| | 49º | 2,3 ± 0,8 | 2,2 ± 0,8 | 2,4 ± 1,0 | 2,5 ± 0,7 |
| | 63º | 2,8 ± 0,7 | 2,2 ± 0,8 | 2,3 ± 0,7 | 2,6 ± 0,7 |
| CCC (cm) | 35º | 1,6 ± 0,1 | 1,4 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 1,6 ± 0,1 |
| | 49º | 5,5 ± 0,2 | 5,4 ± 0,3 | 5,9 ± 0,2 | 5,4 ± 0,2 |
| DA (cm) | 49º | 1,4 ± 0,1 | 1,6 ± 0,0 | 1,5 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 |
| | 63º | 2,5 ± 0,1 | 2,4 ± 0,2 | 2,5 ± 0,1 | 2,4 ± 0,1 |
| DT (cm) | 49º | 1,1 ± 0,0 | 1,1 ± 0,0 | 1,1 ± 0,0 | 1,1 ± 0,1 |
| | 63º | 1,6 ± 0,1 | 1,6 ± 0,1 | 1,7 ± 0,1 | 1,6 ± 0,1 |
| DBP (cm) | 49º | 1,4 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 |
| | 63º | 2,5 ± 0,1 | 2,4 ± 0,1 | 2,4 ± 0,1 | 2,3 ± 0,1 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

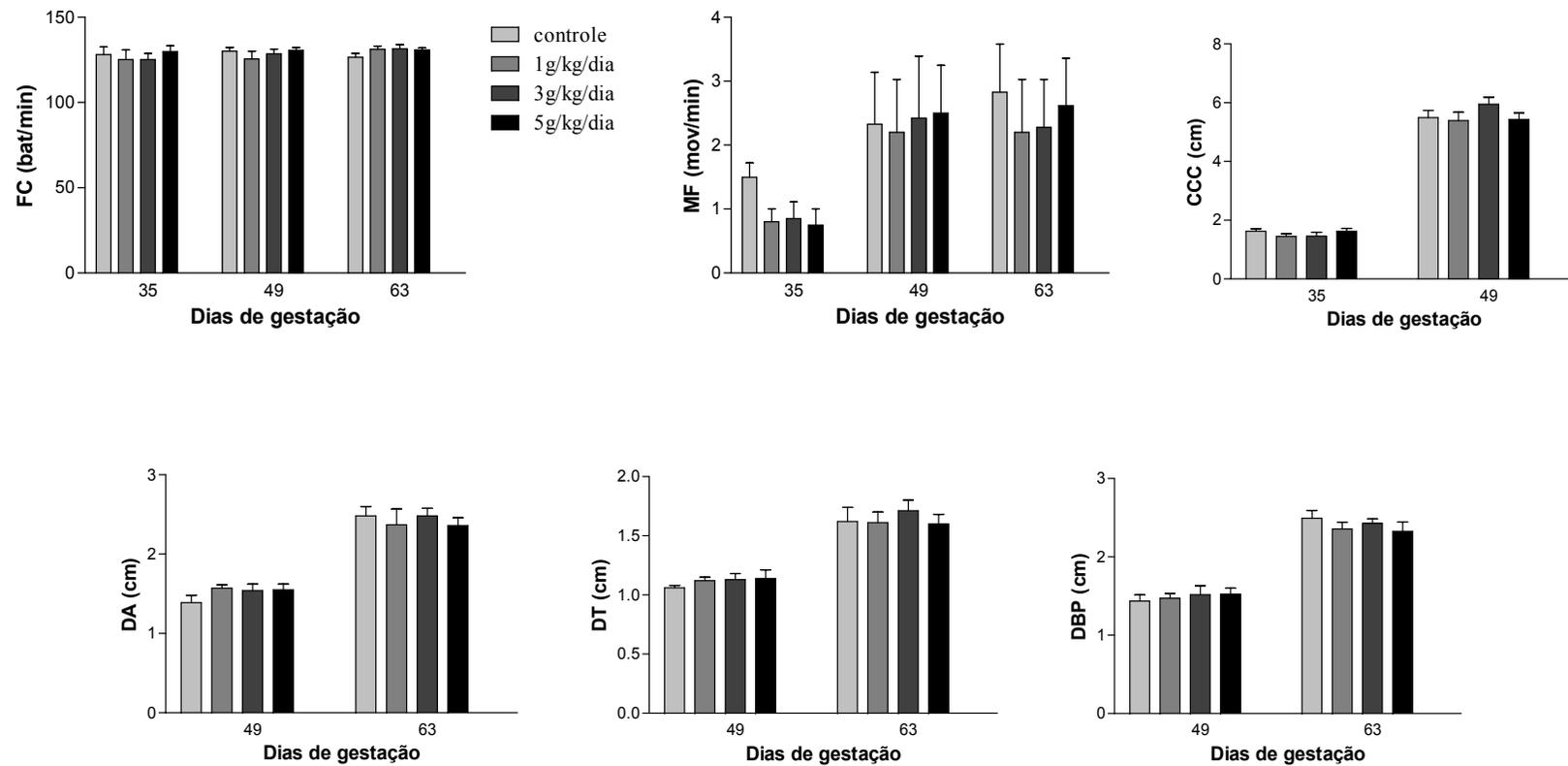


Figura 14. Parâmetros ultrassonográficos (FC, MF, CCC, DA, DT e DBP) dos fetos de cabras prenhes tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

Tabela 7 - Peso ao nascimento de filhotes de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Peso | Controle (7) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|----------------------|--------------|----------------------------------|-----------|------------|
| | | 1 (6) | 3 (6) | 5 (9) |
| Ao nascimento | 3,3 ± 0,1 | 3,5± 0,2 | 3,4 ± 0,2 | 2,35± 0,2* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

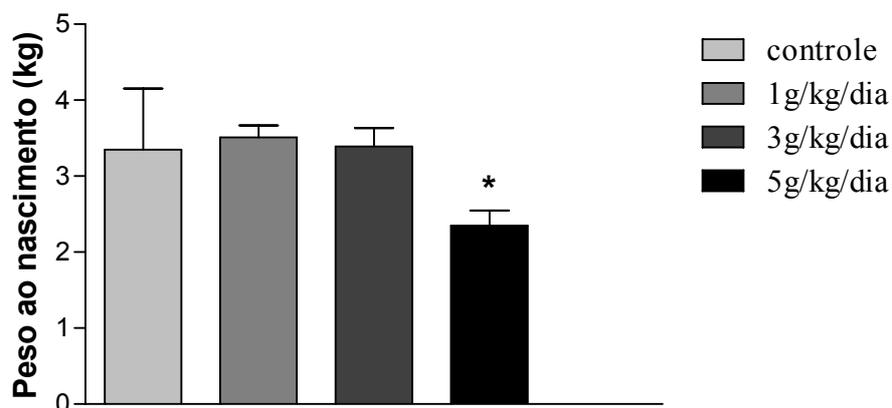


Figura 15 - Peso ao nascimento de filhotes de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

4.2 EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DA *I. carnea* EM CABRAS GESTANTES: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

Em relação aos dados referentes ao comportamento apresentado pelas mães durante as duas primeiras horas após o nascimento, a análise de variância mostrou haver diferenças significantes entre os dados obtidos entre os diferentes grupos no que se refere ao número de vezes que as mães cheiraram e lambiam os seus filhotes no primeiro, segundo e terceiro período de observação ($F=19,95$, $F=7,41$, $F=22,98$, respectivamente; $df=3/16$ e $p>0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou diminuição significativa ($p>0,05$) neste comportamento no primeiro período de observação naqueles animais que receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados ao animais do grupo controle. Já, no segundo período, as cabras do grupo que recebeu 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação apresentaram menor freqüência da variável observada, quando comparados ao grupo controle. E, finalmente, no terceiro período de observação, verificou-se que os animais dos grupos que receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação novamente mostraram uma diminuição nos movimentos de cheirar e lambe os filhotes, quando comparados com a freqüência deste comportamento realizado pelas fêmeas do grupo controle (Tabela 8 e Figura 16).

Com relação ao período de tempo gasto pelas cabras atendendo ao filhote, a análise estatística revelou haver diferenças significantes entre os grupos na primeira e segunda hora de observação ($F=13,83$, $F=7,25$, respectivamente; $df=3/16$ e $p>0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou diminuição significativa ($p>0,05$) nesta variável em ambas as horas de observação, naquelas fêmeas pertencentes aos grupos que receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea*, durante a gestação, quando comparou-se os dados obtidos com aqueles dos animais do grupo controle (Tabela 9 e Figura 17).

A avaliação do comportamento dos filhotes durante as duas primeiras horas após o nascimento mostrou que todos os neonatos pertencentes àquelas fêmeas do grupo controle mamaram, porém, este comportamento não foi observado naqueles filhotes de mães que receberam diferentes doses de *I. carnea* durante a gestação. Assim, dos cinco filhotes do grupo cujas mães receberam 1g/kg/dia da planta,

quatro mamaram e um não; dos cinco filhotes do grupo cujas mães receberam 3g/kg/dia da *I. carnea*, dois não foram capazes de mamar; e dos cinco animais do grupo cujas mães receberam 5g/kg/dia, apenas dois filhotes mamaram durante as duas primeiras horas de vida.

Ainda, em relação à avaliação do comportamento dos filhotes nas duas primeiras horas após o nascimento, a análise estatística empregada não revelou diferenças significantes ($P < 0,05$) nas tentativas dos filhotes de se levantarem e elevarem a cabeça, nos diferentes períodos avaliados (Tabela 10 e Figura 18). Já, em relação ao movimento de pedalar, a comparação dos dados obtidos entre os filhotes pertencentes aos diferentes grupos, mostrou haver diferença significativa no primeiro período de vida ($F = 6,63$, $df = 3/17$; $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou aumento significativo ($p > 0,05$) nestes movimentos no primeiro período de vida dos filhotes, cujas mães receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados aos dados obtidos dos filhotes pertencentes ao grupo controle (Tabela 10 e Figura 18).

Da mesma forma, a análise estatística dos dados referentes ao número de vezes que o neonato conseguiu manter-se em estação nos diferentes períodos avaliados, revelou haver diferença significativa no primeiro período de vida ($F = 8,51$ $df = 3/17$; $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou uma diminuição significativa ($p > 0,05$) neste parâmetro, nos dados obtidos dos filhotes pertencentes aos três grupos cujas mães receberam a planta durante a gestação (Tabela 10 e Figura 18).

Em relação às tentativas de mamar na porção anterior da mãe (Tabela 11 e Figura 19), a análise de variância ANOVA revelou haver diferenças significantes dos dados provenientes dos diferentes grupos, no primeiro e segundo período de vida dos filhotes ($F = 5,71$, $F = 22,80$, respectivamente; $df = 3/17$ e $p > 0,05$). A aplicação do teste de Dunnett detectou diminuição significativa ($p > 0,05$) neste parâmetro no primeiro e segundo período de vida dos animais cujas mães receberam as três diferentes concentrações de *I. carnea* durante a gestação.

A comparação dos dados relativos à tentativa de mamar na porção posterior da mãe, em cada período, entre os diferentes grupos, revelou haver diferença significativa no primeiro, segundo e terceiro período de vida dos filhotes ($F = 17$, $F = 34,81$, $F = 2,91$, respectivamente; $df = 3/17$, e $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett

detectou diminuição significativa ($p > 0,05$) neste parâmetro naqueles neonatos das mães dos diferentes grupos tratados com a planta, no primeiro e segundo período de vida, e uma diminuição no terceiro período de vida apenas do grupo cujas mães receberam 5g/kg/dia de *I. carnea* quando comparado ao controle (Tabela 11 e Figura 19).

A análise estatística aplicada aos dados referentes ao número de mamadas efetivas em cada período de vida, entre os filhotes pertencentes aos diferentes grupos, revelou haver diferença significativa no segundo e terceiro período de vida ($F=20,33$, $F=15,04$, respectivamente; $df=3/17$ e $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou diminuição significativa ($p > 0,05$) no segundo e terceiro período de vida, neste comportamento, naqueles animais provenientes de mães tratadas com as três diferentes doses de *I. carnea* durante a gestação, quando comparado aos valores provenientes dos animais do grupo controle (Tabela 11 e Figura 19).

Quanto ao número de vezes que os filhotes se afastaram da sua mãe nos diferentes períodos, a análise estatística empregada revelou não haver diferenças significantes ($P < 0,05$) neste comportamento, quando se comparou os dados obtidos dos diferentes grupos (Tabela 12 Figura 20).

No que se refere ao número de vezes que os filhotes se aproximaram de suas mães nos diferentes períodos, a análise de variância aplicada revelou haver diferenças significantes ($P < 0,05$) no primeiro, segundo, terceiro e quarto período de avaliação ($F=3,74$, $F=8,19$, $F=8,73$, $F=6,05$, respectivamente; $df=3/17$ e $p > 0,05$). A subsequente aplicação do teste Dunnett, detectou diminuição significativa ($p > 0,05$) neste comportamento naqueles filhotes, dos três grupos experimentais (Tabela 12 e Figura 20).

No que se diz respeito à latência para que os filhotes tentassem levantar pela primeira vez, a análise estatística empregada revelou não haver diferenças significantes ($P < 0,05$), quando foram comparados os dados obtidos dos filhotes dos diferentes grupos (Tabela 13 Figura 21). O mesmo teste, ao avaliar os dados referentes à latência para que os filhotes ficassem em estação pela primeira vez mostrou haver diferenças entre os grupos ($F=5,56$, $df=3/17$; $p > 0,05$). A aplicação do teste Dunnett detectou aumento significativo ($p > 0,05$) no tempo que os animais do grupo, cujas mães receberam 5g/kg/dia de *I. carnea*, durante a gestação, demoram

pra ficar em pé, quando comparados com os animais do grupo controle (Tabela 13 Figura 21).

A tabela 14 mostra e a figura 22 ilustra o período de tempo em estação na primeira hora após o nascimento; assim verifica-se que a análise de variância ANOVA detectou diferenças significantes, quando comparados os dados provenientes dos diferentes grupos ($F=12,38$, $df=3/17$; $P<0,05$). A aplicação do teste Dunnett mostrou haver diminuição significativa ($p>0,05$) do tempo em estação naqueles filhotes cujas mães receberam 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea*.

No que se refere ao teste de discriminação materna, realizado com 12 e 36h após o nascimento, a análise de variância revelou haver diferenças significantes nos dados obtidos entre os diferentes grupos, no tempo de partida do anteparo e tempo de chegada a mãe ($F=5,54$, $F=5,29$, respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A aplicação do teste PDIFF detectou um aumento significativo ($p>0,05$) neste parâmetro na primeira sessão, nos filhotes cujas mães foram tratadas com as diferentes concentrações da *I. carnea*, e no tempo de partida e chegada da segunda sessão, nos animais cujas mães ingeriram 3 e 5g/kg/dia da planta, quando comparados com os animais do grupo controle (Tabela 15 e Figura 23). Ainda, quanto ao teste de discriminação, a avaliação estatística binomial realizada mostrou que os animais pertencentes ao grupo controle foram aqueles que conseguiram distinguir corretamente a sua mãe entre as duas fêmeas, em mais de 50% das tentativas, nas duas sessões realizadas; enquanto que os animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais não conseguiram atingir esta porcentagem de acerto (50%, $P < 0.001$). O teste estatístico de Fisher mostrou que todos os animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais tiveram um aumento significativo ($P < 0.001$) no número de escolhas incorretas em comparação ao grupo controle (Tabela 15).

Quanto aos dados relativos ao labirinto progressivo, realizado em três etapas, a análise estatística ANOVA revelou haver diferenças estatisticamente significantes entre os dados provenientes dos diferentes grupos, tanto no tempo de partida de trás do primeiro obstáculo ($F=2,58$, $df=3/23$ e $p>0,05$) como no tempo de chegada até a mãe ($F=2,84$, $df=3/23$ e $p>0,05$). A aplicação do teste PDIFF mostrou haver um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de partida, na primeira etapa, daqueles

filhotes cujas mães eram pertencentes aos grupos tratados com 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea*; e aumento nesta mesma variável somente naqueles filhotes pertencentes ao grupo de mães tratadas com 3g/kg/dia de planta, tanto na segunda como na terceira etapa, quando comparou-se com aqueles dados obtidos dos animais provenientes do grupo controle. Ainda este mesmo teste mostrou haver um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de chegada nos filhotes cujas mães ingeriram 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, na primeira e segunda etapa, quando comparou-se com os valores dos animais do grupo controle. Este mesmo resultado também foi observado na terceira etapa; porém, apenas com aqueles filhotes de mães do grupo 3g/kg/dia (Tabela 16 e Figura 24).

Quanto aos resultados obtidos no labirinto “Hebb-Williams A”, a análise estatística empregada relevou haver diferenças significantes no tempo de partida e chegada ($F=2,29$, $F=5,52$, respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A aplicação do teste PDIFF detectou um aumento significativo ($p>0,05$) do tempo de partida dos filhotes cujas mães ingeriram 5g/kg/dia de *I. carnea*, quando comparados aos filhotes de mães do grupo controle, na segunda semana de vida. Já na quarta semana, foi observado um aumento significativo ($p>0,05$) desta variável nos filhotes provenientes de cabras que ingeriram 1g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados com os filhotes do grupo controle. Ainda, verificou-se na segunda semana pós-natal, um aumento significativo ($p>0,05$) do tempo de chegada dos filhotes cujas mães ingeriram 1, 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação quando comparados com os filhotes do grupo controle (Tabela 17 e Figura 25).

A tabela 18 mostra e a figura 26 ilustra os dados relativos à avaliação no labirinto “Hebb-Williams B”. Assim, a análise estatística revelou diferenças significantes entre os grupos no tempo de partida e no tempo de chegada ($F=1,33$, $F=1,74$, respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A aplicação do teste PDIFF mostrou haver um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de saída na 6ª semana e nos tempos de chegada na 2ª e 6ª semana de teste dos animais cujas mães ingeriram 5g/kg/dia de *I. carnea*, quando comparados com os filhotes do grupo controle.

Em relação aos dados relativos ao labirinto “Hebb-Williams C” a análise estatística empregada, revelou diferenças significantes entre os valores obtidos dos diferentes grupos nos tempos de partida e chegada dos filhotes ($F=2,39$, $F=0,59$,

respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A subsequente aplicação do teste PDIFF mostrou haver um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de partida na 2ª semana, após o nascimento, sendo este aumento observado nos animais cujas mães ingeriram 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados com animais do grupo controle. Também foi observado um aumento significativo do tempo de chegada ($p>0,05$) na 6ª semana de vida dos filhotes cujas mães pertenciam ao grupo 5g/kg/dia (Tabela 19 e Figura 27).

A tabela 20 mostra e a figura 28 ilustra os dados obtidos no labirinto “Hebb-Williams D”; assim a análise de variância ANOVA mostrou haver diferenças significantes entre os grupos no tempo de partida e chegada do filhote ($F=1,95$, $F=2,50$, respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A aplicação do teste PDIFF mostrou um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de partida na 6ª semana de vida dos filhotes cujas mães pertenciam ao grupo 5g/kg/dia, quando comparados aos animais do grupo controle. Outra observação feita com o teste PDIFF foi um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de chegada dos filhotes de mães tratadas com 3 e 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação na 2ª e 4ª semana de vida. Na 6ª semana pós-natal também foi observado um aumento significativo ($p>0,05$) no tempo de chegada, porém, dos animais cujas mães pertenciam ao grupo 1 e 5g/kg/dia quando comparados aos animais do grupo controle.

A tabela 21 mostra e a figura 29 ilustra a quantidade de erros cometida pelos filhotes durante a realização dos quatro labirintos “Hebb-Williams” (A, B, C e D). A análise estatística empregada revelou haver diferenças significantes entre os grupos nos labirintos “Webb-Williams” “A” e “C” ($F=1,55$, $F=3,61$ respectivamente; $df=3/23$ e $p>0,05$). A subsequente aplicação do teste PDIFF revelou haver um aumento significativo ($p>0,05$) no número de erros dos animais cujas mães ingeriram 5g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, sendo este aumento observado tanto no labirinto A como no C.

Tabela 8 - Comportamento de cheirar e lamber os filhotes (em quantidade de movimentos realizados), apresentados por cabras que consumiram, ou não, diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto, observada nas duas primeiras horas após o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões

| Movimentos | Período | Controle (5) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|----------------------------|---------|--------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Cheirar e lamber o filhote | 1º | 56,2 ± 2,1 | 47,6 ± 3,6 | 25,2 ± 4,1* | 29,4 ± 1,4* |
| | 2º | 42,6 ± 1,5 | 41,4 ± 1,7 | 32,6 ± 4,5 | 25,6 ± 2,5* |
| | 3º | 57,2 ± 2,2 | 47,2 ± 3,6 | 26,2 ± 4,8* | 23,4 ± 2,5* |
| | 4º | 36,2 ± 2,2 | 28,6 ± 2,6 | 38,8 ± 3,6 | 24,2 ± 4,5 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

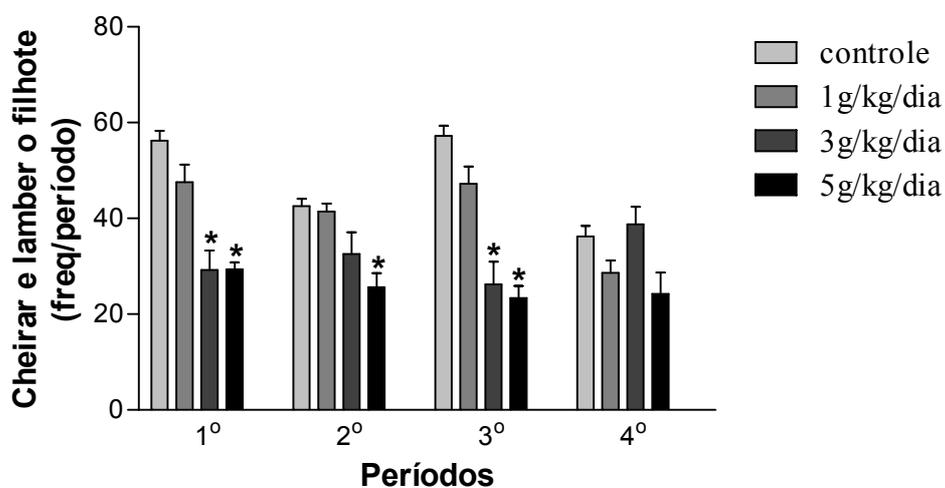


Figura 16 - Comportamento de cheirar e lamber os filhotes (em quantidade de movimentos realizados), apresentados por cabras que consumiram, ou não, diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto, observada nas duas primeiras horas após o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrões. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 9 - Período de tempo (em min) de atenção aos filhotes, nas duas primeiras horas de vida, despendido pelas mães, tratadas ou não com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Ação | Hora | Controle (5) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|--------------------|----------------|--------------|----------------------------------|-------------|-------------|
| | | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Atenção ao filhote | 1 ^a | 56,5 ± 1,3 | 51,6 ± 3,4 | 33,6 ± 3,9* | 35,8 ± 3* |
| | 2 ^a | 52,0 ± 2,5 | 47,0 ± 4,4 | 33,6 ± 2,2* | 31,2 ± 5,1* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

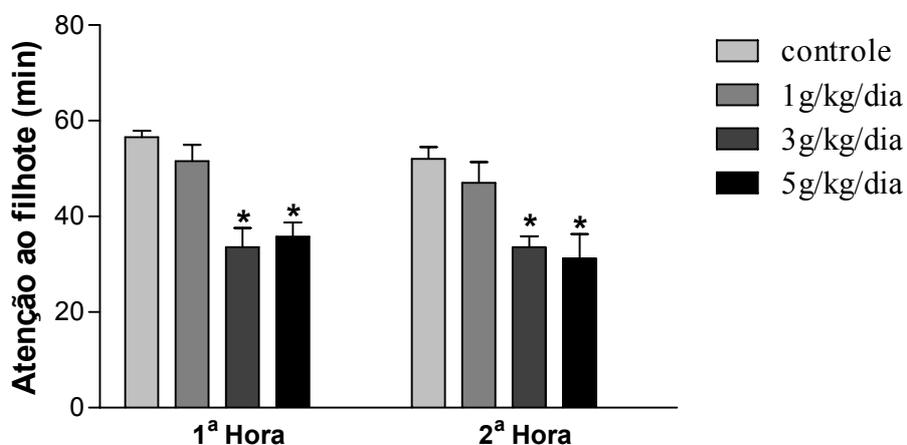


Figura 17 - Período de tempo (em min) de atenção aos filhotes, nas duas primeiras horas de vida, despendido pelas mães, tratadas ou não com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 10 - Comportamentos de pedalar, levantar a cabeça, tentativa de se levantar e de se manter em estação (em número de movimentos realizados), apresentados por filhotes, nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período

| Movimentos | Período | Controle (6) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|--------------------------|---------|--------------|----------------------------------|------------|-------------|
| | | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Pedalar | 1º | 2,3 ± 0,8 | 8,8 ± 1,8 | 9,8 ± 1,6* | 13,2 ± 2,7* |
| | 2º | 0,5 ± 0,5 | 2,8 ± 0,5 | 3,4 ± 1,2 | 3 ± 2,3 |
| | 3º | 0 | 1,6 ± 1 | 2,4 ± 1 | 5,4 ± 3,1 |
| | 4º | 0 | 0,2 ± 0,2 | 2,2 ± 0,4 | 3,2 ± 2,7 |
| Levantar a cabeça | 1º | 0,6 ± 0,3 | 2,2 ± 0,7 | 2,4 ± 0,9 | 0,6 ± 0,4 |
| | 2º | 0,2 ± 0,2 | 2,4 ± 1,5 | 0,4 ± 0,4 | 0 |
| | 3º | 0 | 0 | 0,6 ± 0,4 | 0,8 ± 0,8 |
| | 4º | 0 | 0,2 ± 0,2 | 0,2 ± 0,2 | 2 ± 1,3 |
| Tentar levantar | 1º | 16,3 ± 1,2 | 16,4 ± 4,9 | 3,8 ± 2,3* | 4,6 ± 1,9* |
| | 2º | 4 ± 1,4 | 10 ± 2 | 5,8 ± 0,9 | 6,2 ± 4 |
| | 3º | 0,3 ± 0,3 | 6 ± 4,3 | 2,2 ± 0,4 | 6,2 ± 2,5 |
| | 4º | 0 | 1,6 ± 0,7 | 5,6 ± 3,9 | 3 ± 2,7 |
| Ficar em estação | 1º | 5,2 ± 1,4 | 0,4 ± 0,2* | 0* | 0,6 ± 0,6* |
| | 2º | 4,6 ± 1,1 | 2,8 ± 1,3 | 3,4 ± 2,5 | 1,2 ± 1,2 |
| | 3º | 5,8 ± 0,9 | 4 ± 1,3 | 5 ± 2,5 | 1,4 ± 0,9 |
| | 4º | 5,7 ± 1,7 | 5,4 ± 1,8 | 9,4 ± 2 | 12,4 ± 2,5 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

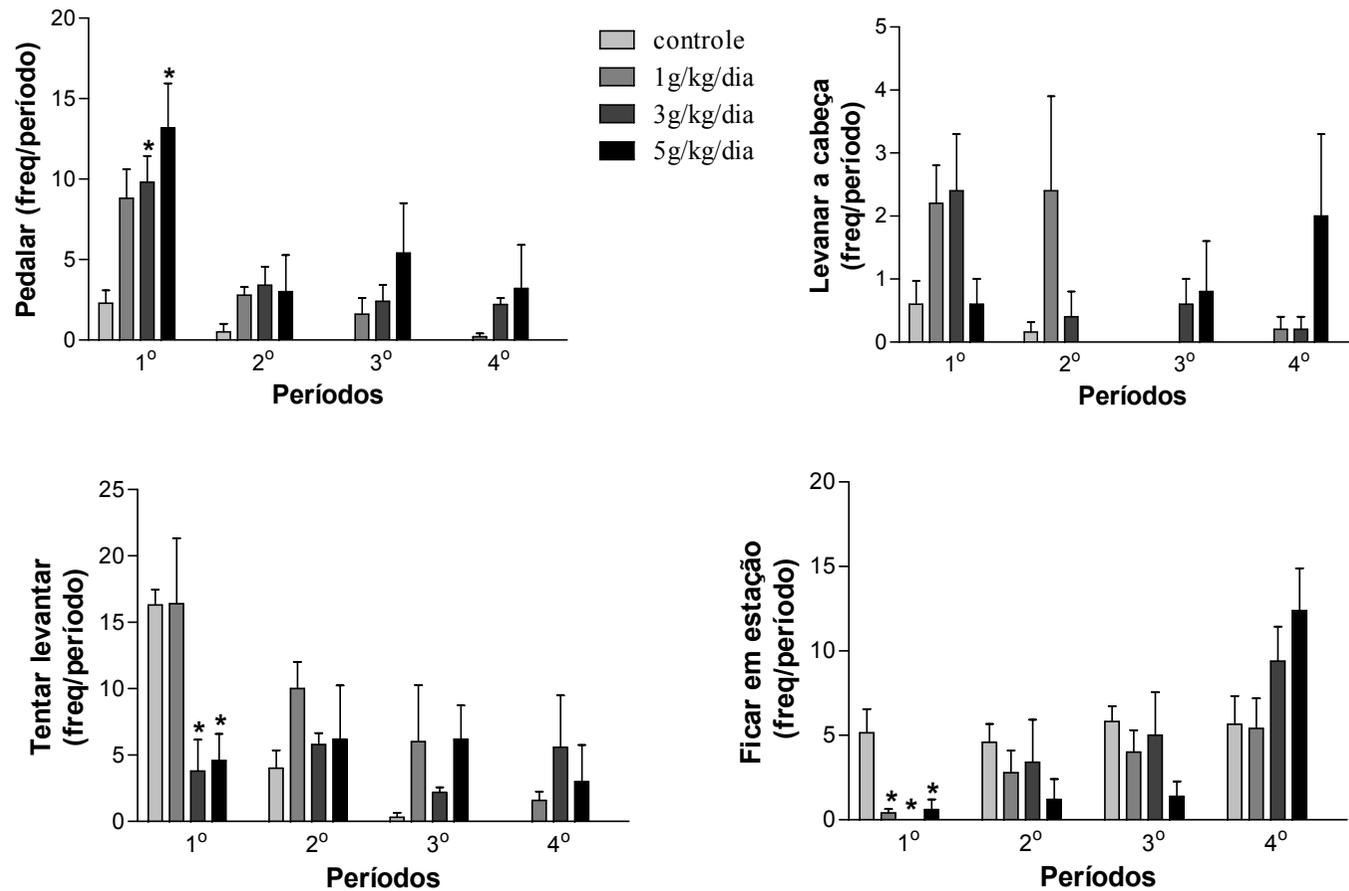


Figura 18 - Comportamentos de pedalar, levantar a cabeça, tentativa de se levantar e de se manter em estação (em número de movimentos realizados), apresentados por filhotes, nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 11.- Número de tentativas de mamar na porção anterior, porção posterior e numero de mamadas com sucesso, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35° dia de gestação até o parto, São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período

| Movimentos | Período | Controle (6) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|------------------------------------|---------|--------------|----------------------------------|------------|------------|
| | | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Mamadas na porção anterior | | | | | |
| | 1° | 4 ± 1,5 | 0* | 0* | 0* |
| | 2° | 18 ± 2,6 | 3,2 ± 1,8* | 1,2 ± 1,2* | 0* |
| | 3° | 3,8 ± 0,7 | 4,6 ± 1,2 | 4 ± 1,6 | 0,4 ± 0,4 |
| | 4° | 3,3 ± 0,6 | 4 ± 1,2 | 6,2 ± 1,3 | 2,2 ± 0,9 |
| Mamadas na porção posterior | | | | | |
| | 1° | 3,5 ± 0,8 | 0* | 0* | 0* |
| | 2° | 22,5 ± 1,3 | 2,4 ± 1,5* | 3,2 ± 3,2* | 0* |
| | 3° | 9 ± 1 | 6,2 ± 2,6 | 5,8 ± 3,3 | 0,4 ± 0,4* |
| | 4° | 5,5 ± 1,2 | 15,4 ± 5,2 | 9 ± 1,9 | 4,6 ± 2,1 |
| Mamar efetivamente | | | | | |
| | 1° | 0,3 ± 0,2 | 0 | 0 | 0 |
| | 2° | 6 ± 1 | 1,2 ± 0,6* | 0* | 0* |
| | 3° | 12 ± 1,8 | 6,6 ± 2,2* | 0,4 ± 0,4* | 0* |
| | 4° | 6,5 ± 0,6 | 3,8 ± 2,6 | 1,4 ± 0,9 | 1,8 ± 1,3 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

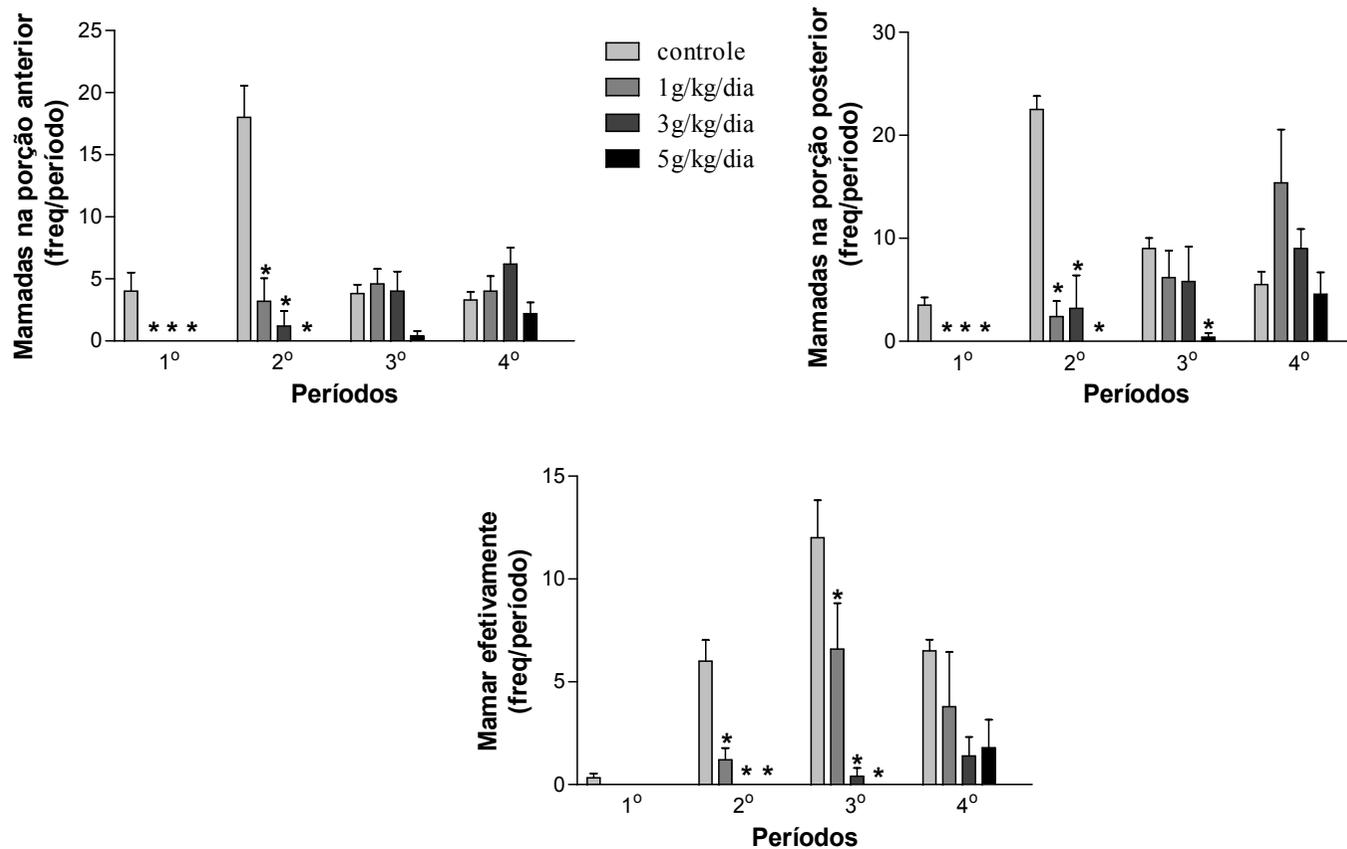


Figura 19 - Número de tentativas de mamar na porção anterior, porção posterior e numero de mamadas com sucesso, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35^o dia de gestação até o parto, São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 12 - Número de tentativas de aproximar-se e afastar-se das mães, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período

| Movimentos | Período | Controle (6) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|----------------------------|---------|--------------|----------------------------------|------------|------------|
| | | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Aproximar-se da mãe | | | | | |
| | 1º | 1,2 ± 0,5 | 0* | 0* | 0* |
| | 2º | 6 ± 1,7 | 0,8 ± 0,4* | 0,4 ± 0,4* | 0* |
| | 3º | 8,3 ± 2,2 | 1 ± 0,4* | 1 ± 0,6* | 0,4 ± 0,4* |
| | 4º | 10 ± 2,8 | 1,6 ± 0,5* | 1,2 ± 0,7* | 2,2 ± 1,2* |
| Afastar-se da mãe | | | | | |
| | 1º | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 2º | 0,2 ± 0,2 | 0,4 ± 0,4 | 0,4 ± 0,2 | 0,4 ± 0,4 |
| | 3º | 0,8 ± 0,9 | 0,2 ± 0,4 | 1,2 ± 1,1 | 1 ± 2,2 |
| | 4º | 0,3 ± 0,5 | 2 ± 2 | 2 ± 1,6 | 2,4 ± 2,3 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

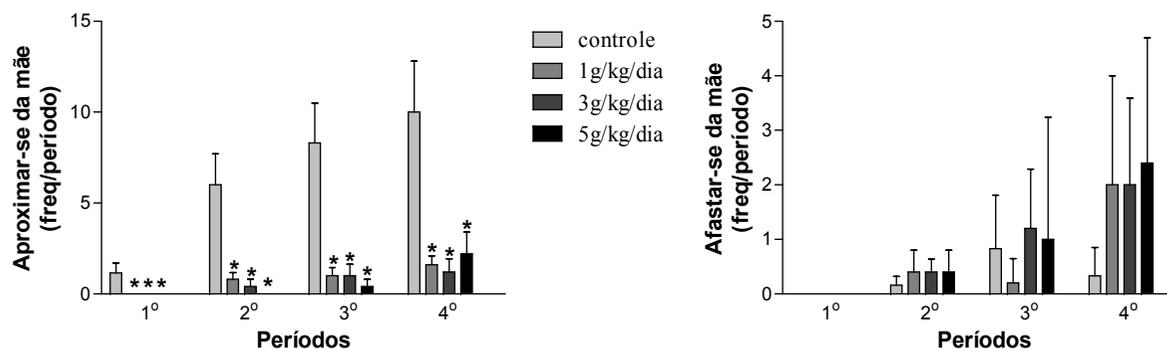


Figura 20 - Número de tentativas de aproximar-se e afastar-se das mães, realizadas por cabritos nas duas primeiras horas de vida, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão da quantidade de movimentos realizados pelo filhote em cada período. * P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 13 – Latência de tempo para a tentativa de levantar pela primeira vez e latência da primeira vez em estação, nas duas primeiras horas de vida, de cabritos, cujas mães consumiram diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão do tempo (seg) decorrido do nascimento do filhote até a realização da variável observada

| Movimentos | Controle (6) | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|---|--------------|----------------------------------|-----------------|------------------|
| | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Primeira tentativa de levantar | 95,0 ± 16,5 | 85,8 ± 26,8 | 655,0 ± 154,7 | 832,0 ± 439,4 |
| Ficar em estação pela primeira vez | 466,7 ± 88,5 | 1220,7 ± 420,3 | 2254,4 ± 1621,3 | 3668,0 ± 2018,8* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

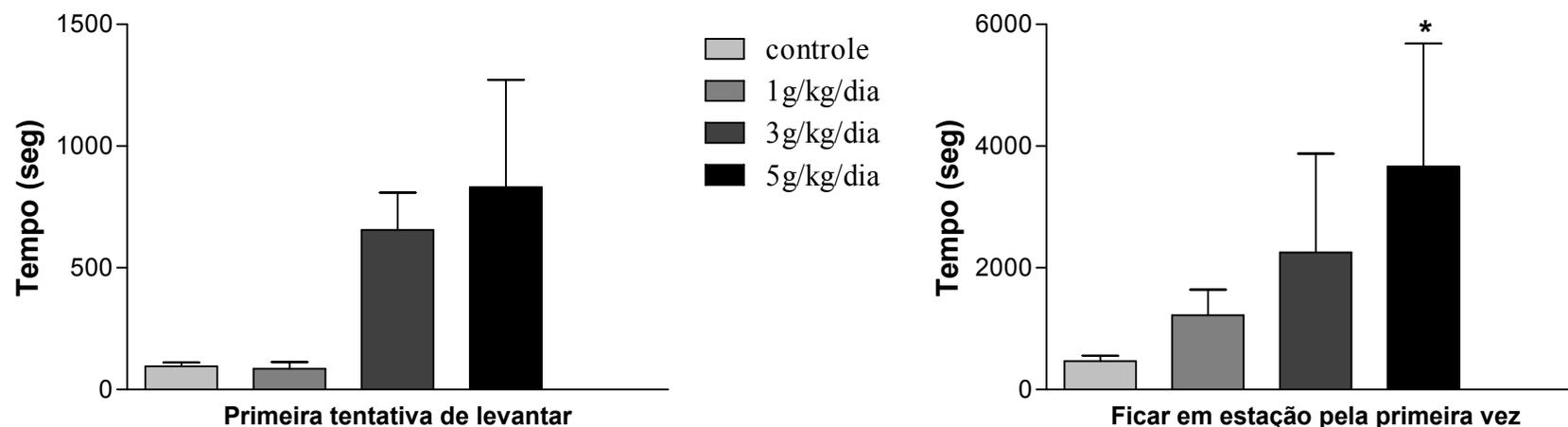


Figura 21 - Latência de tempo para a tentativa de levantar pela primeira vez e latência da primeira vez em estação, nas duas primeiras horas de vida, de cabritos, cujas mães consumiram diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão do tempo (seg) decorrido do nascimento do filhote até a realização da variável observada.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 14 - Período de tempo (em min) em estação na primeira hora de vida de filhotes de mães, tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Ação | Controle (6) ^a | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|-------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|------------|
| | | 1 (5) | 3 (5) | 5 (5) |
| Tempo em estação | 39,7 ± 3,3 | 27,8 ± 6,6 | 17,6 ± 5,4* | 2,2 ± 1,9* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett).

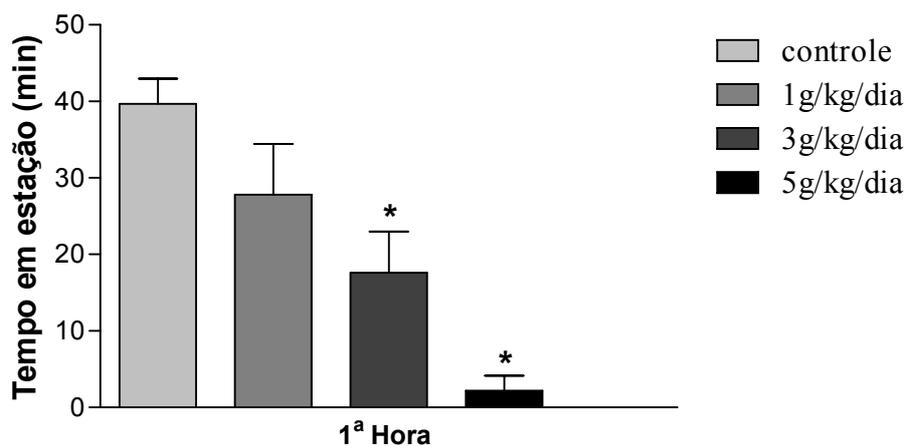


Figura 22 - Período de tempo (em min) em estação na primeira hora de vida de filhotes de mães, tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão.* P<0,05 em relação ao controle (Anova, seguido de teste Dunnett)

Tabela 15.- Latência de tempo (em seg) para a partida do anteparo e para a chegada à mãe (seg) e número de escolhas incorretas, apresentadas por filhotes (com 12 e 36h de vida) de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto, observado durante as duas sessões do teste de discriminação. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Variável | Sessão | Tempo | Controle (7) ^a | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|---------------------|----------------|---------|---------------------------|----------------------------------|---------------|---------------|
| | | | | 1 (5) | 3 (6) | 5 (9) |
| Tempo | 1 ^a | Partida | 17,6 ± 3,2 | 138,9 ± 44,1* | 172,7 ± 39,5* | 152,9 ± 32,1* |
| | | Chegada | 46,8 ± 7,3 | 155,4 ± 110,4* | 189 ± 35,9* | 188,8 ± 27,5* |
| | 2 ^a | Partida | 16,3 ± 4,8 | 79,4 ± 37,1 | 252,1 ± 32,3* | 175,8 ± 33,8* |
| | | Chegada | 32,8 ± 6,2 | 99,1 ± 34,9 | 259,6 ± 30,6* | 187,4 ± 31,1* |
| Escolhas incorretas | 1 ^a | | 0/14 | 6/10** | 8/12** | 13/18** |
| | 2 ^a | | 2/14 | 8/10** | 11/12** | 12/18** |

^b Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

** P<0,001 em relação ao controle (Fisher).

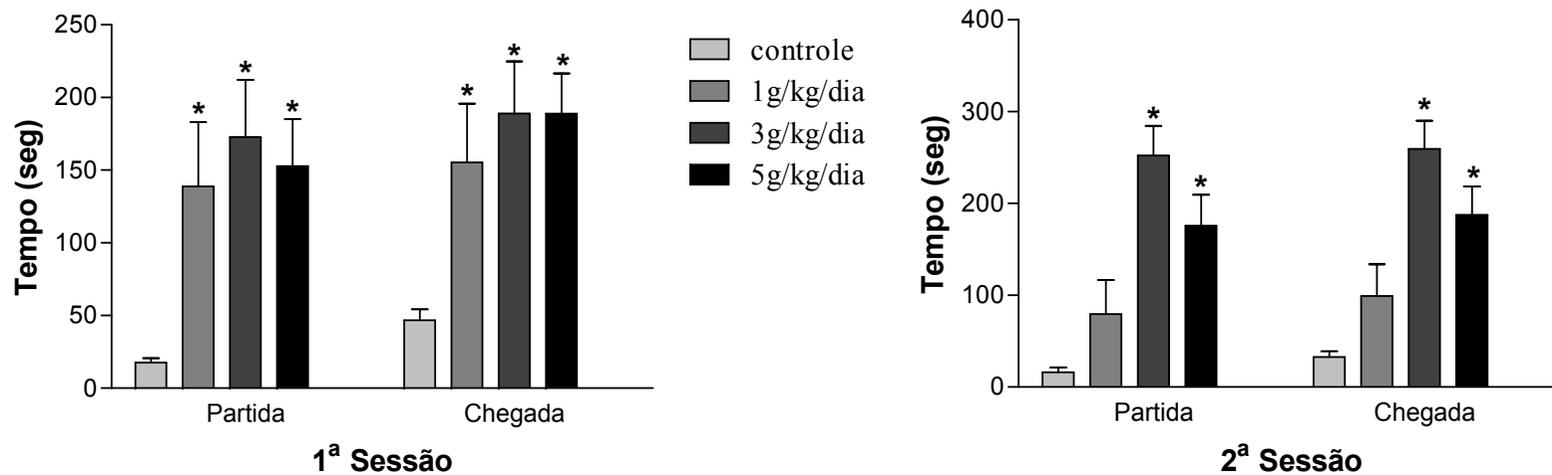


Figura 23 - Latência de tempo (em seg) para a partida do anteparo e para a chegada à mãe (em seg), apresentadas por filhotes (com 12 e 36h de vida) de cabras tratadas ou não, com diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto, observado durante as duas sessões do teste de discriminação. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 16 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto progressivo, no 2º, 4º e 6º dia de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Etapa | Controle (7) ^a | | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | | | | |
|----------------------|---------------------------|------------|----------------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | | 1 (5) | | 3 (6) | | 5 (9) | |
| | | | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada |
| 1^a | 13,3 ± 3,7 | 17,9 ± 4,0 | 54,7 ± 17,2 | 59,2 ± 16,6 | 72,1 ± 19,2* | 76,3 ± 18,5* | 68,4 ± 14,6* | 78,5 ± 14,1* |
| 2^a | 9,5 ± 2,2 | 20,5 ± 3,4 | 17,3 ± 7,3 | 29,3 ± 9,2 | 93,2 ± 21,1* | 99,5 ± 19,7* | 49,0 ± 13,8 | 61,8 ± 12,9* |
| 3^a | 5,1 ± 0,9 | 17,8 ± 2,0 | 3,6 ± 0,6 | 20,0 ± 8,6 | 57,2 ± 17,3* | 71,2 ± 17,9* | 39,3 ± 12,2 | 49,5 ± 11,9 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

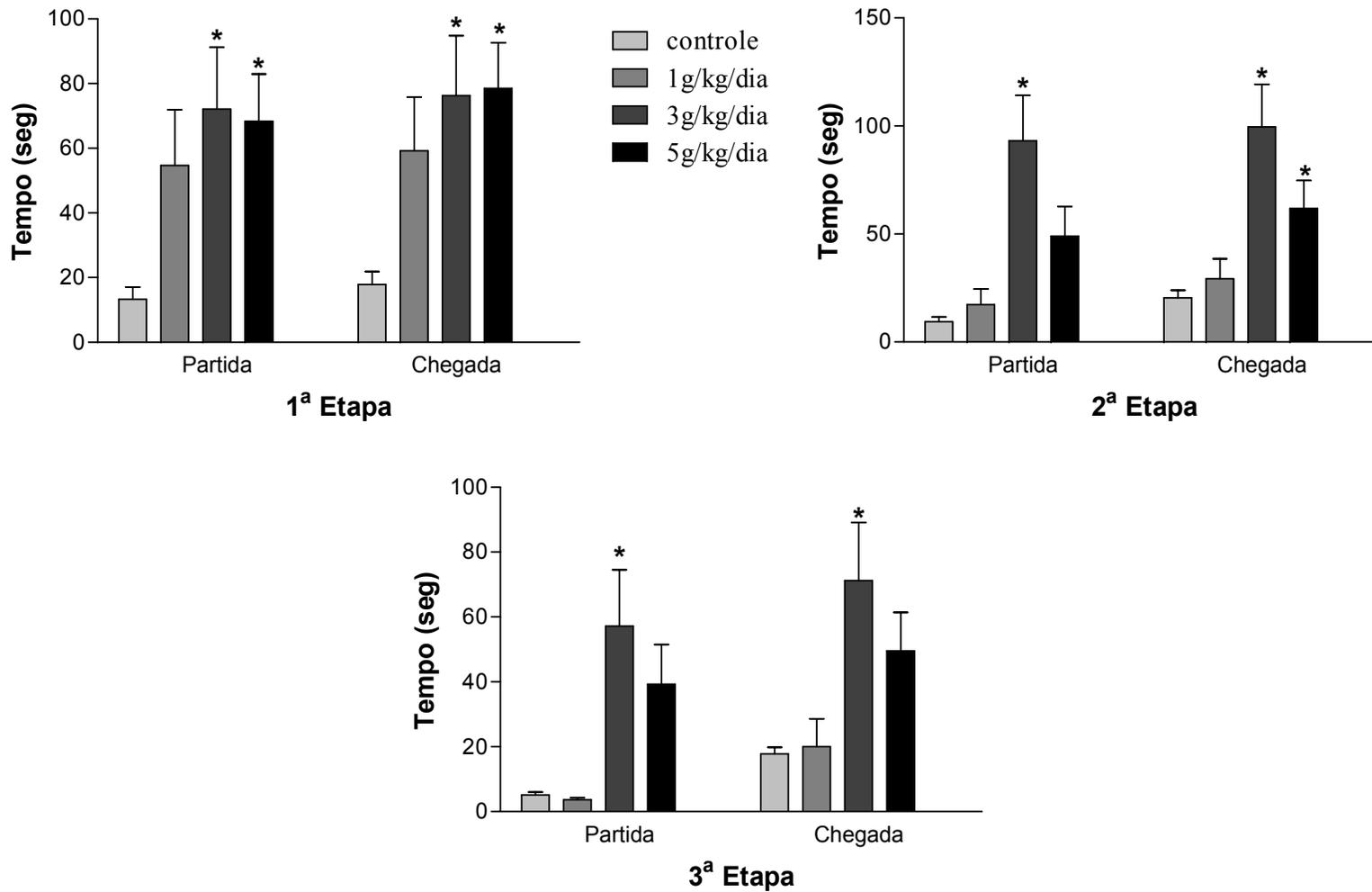


Figura 24 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto progressivo, no 2º, 4º e 6º dia de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 17 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams A”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Semana | Controle (7) ^a | | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | | | | |
|----------------|---------------------------|------------|----------------------------------|--------------|-----------|---------------|------------|---------------|
| | | | 1 (5) | | 3 (6) | | 5 (9) | |
| | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada |
| 2 ^a | 3,4 ± 1,2 | 16,4 ± 3,5 | 3,1 ± 0,6 | 99,5 ± 31,0* | 5,7 ± 1,5 | 155,8 ± 35,0* | 8,1 ± 2,4* | 158,8 ± 24,4* |
| 4 ^a | 1,8 ± 0,3 | 9,2 ± 1,6 | 8,4 ± 4,7* | 52,6 ± 26,1 | 2,2 ± 0,5 | 14,2 ± 3,9 | 2,1 ± 0,2 | 9,8 ± 1,4 |
| 6 ^a | 1,7 ± 0,3 | 8,3 ± 0,8 | 3,2 ± 0,4 | 13,1 ± 3,1 | 1,6 ± 0,1 | 14,3 ± 4,0 | 5,1 ± 1,0 | 31,1 ± 6,7 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

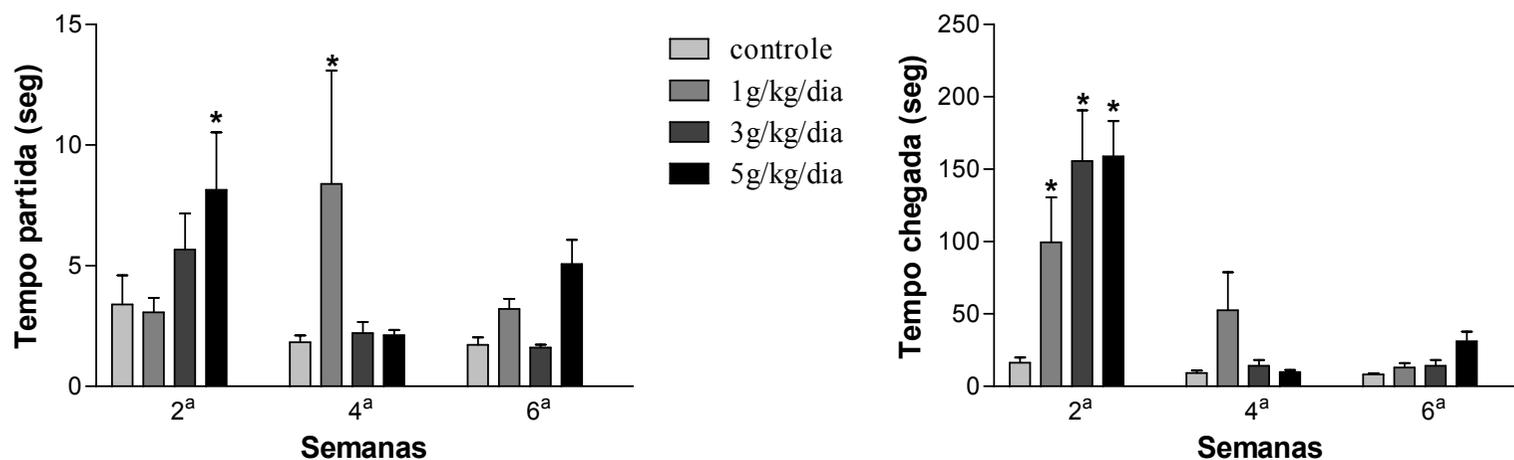


Figura 25 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams A”, na 2º, 4º e 6º semana de vida de cabritos, cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 18 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams B”, na 2ª, 4ª e 6ª semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Semana | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | | | | | | |
|----------------|----------------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|-------------|------------|--------------|
| | Controle (7) ^a | | 1 (5) | | 3 (6) | | 5 (9) | |
| | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada |
| 2 ^a | 2,6 ± 0,4 | 24,6 ± 6,7 | 4,3 ± 1,1 | 29,5 ± 10,7 | 2,0 ± 0,4 | 61,1 ± 26,1 | 4,0 ± 1,1 | 84,8 ± 23,2* |
| 4 ^a | 1,8 ± 0,2 | 9,0 ± 1,1 | 2,7 ± 0,4 | 21,7 ± 8,5 | 2,1 ± 0,1 | 22,2 ± 9,9 | 2,7 ± 0,3 | 16,9 ± 3,8 |
| 6 ^a | 1,5 ± 0,1 | 7,5 ± 0,8 | 2,0 ± 0,3 | 9,9 ± 1,4 | 2,0 ± 0,2 | 12,2 ± 3,1 | 3,9 ± 0,8* | 39,6 ± 8,8* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

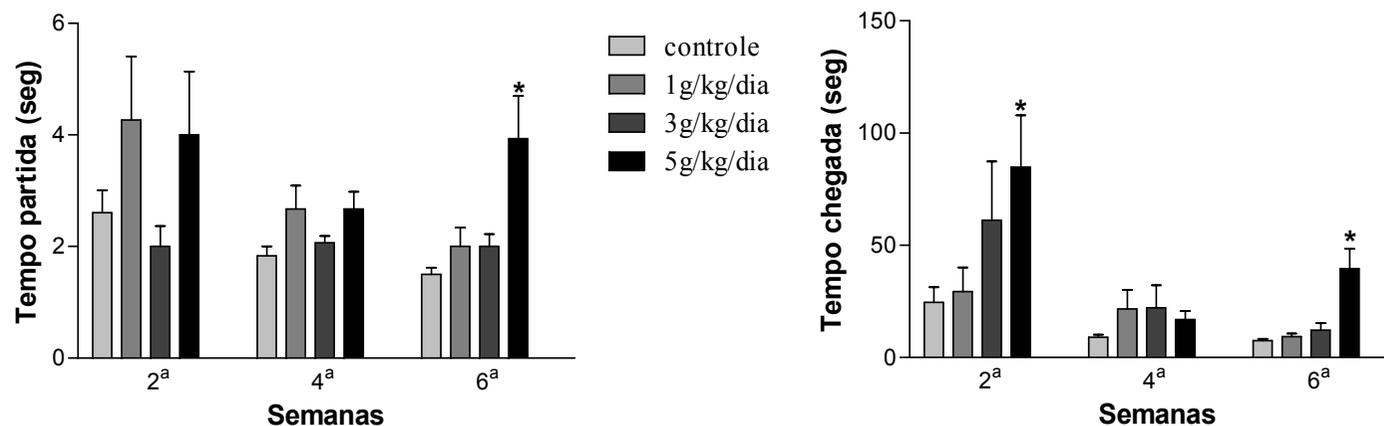


Figura 26 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams B”, na 2ª, 4ª e 6ª semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 19 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams C”, na 2^o, 4^o e 6^o semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35^o dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Semana | Controle (7) ^a | | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | | | | |
|----------------|---------------------------|------------|----------------------------------|------------|-----------|-------------|------------|-------------|
| | | | 1 (5) | | 3 (6) | | 5 (9) | |
| | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada |
| 2 ^a | 2,1 ± 0,3 | 15,4 ± 2,3 | 5,0 ± 1,9 | 23,0 ± 8,7 | 1,7 ± 0,4 | 26,1 ± 12,7 | 6,8 ± 3,2* | 50,7 ± 17,7 |
| 4 ^a | 1,7 ± 0,1 | 8,1 ± 0,7 | 1,7 ± 0,3 | 24,2 ± 6,7 | 4,8 ± 2,1 | 22,9 ± 8,5 | 4,8 ± 0,8 | 28,4 ± 4,8 |
| 6 ^a | 1,8 ± 0,2 | 7,7 ± 0,6 | 2,2 ± 0,4 | 14,9 ± 2,7 | 1,8 ± 0,2 | 8,5 ± 1,0 | 5,6 ± 1,0 | 30,6 ± 6,4* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

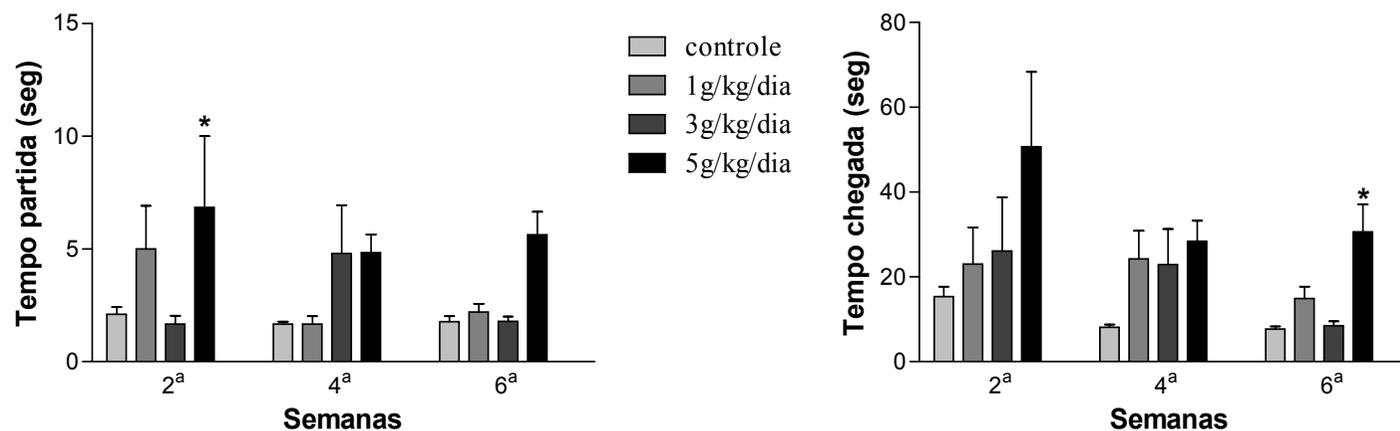


Figura 27 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams C”, na 2^o, 4^o e 6^o semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35^o dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 20 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams D”, na 2^o, 4^o e 6^o semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35^o dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Semana | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | | | | | | |
|----------------|----------------------------------|------------|-----------|--------------|-----------|---------------|------------|---------------|
| | Controle (7) ^a | | 1 (5) | | 3 (6) | | 5 (9) | |
| | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada | Partida | Chegada |
| 2 ^a | 2,6 ± 0,4 | 68,2 ± 8,3 | 6,2 ± 2,3 | 143,8 ± 32,8 | 3,1 ± 0,9 | 232,9 ± 25,8* | 4,9 ± 1,3 | 157,8 ± 23,7* |
| 4 ^a | 1,5 ± 0,1 | 27,3 ± 3,6 | 2,9 ± 0,8 | 77,8 ± 11,8 | 2,9 ± 0,7 | 118,7 ± 21,9* | 5,2 ± 0,9 | 92,6 ± 14,7* |
| 6 ^a | 1,6 ± 0,1 | 23,2 ± 2,9 | 3,7 ± 0,9 | 56,4 ± 12,1* | 3,1 ± 1,0 | 48,2 ± 14,6 | 7,5 ± 1,9* | 58,7 ± 9,8* |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

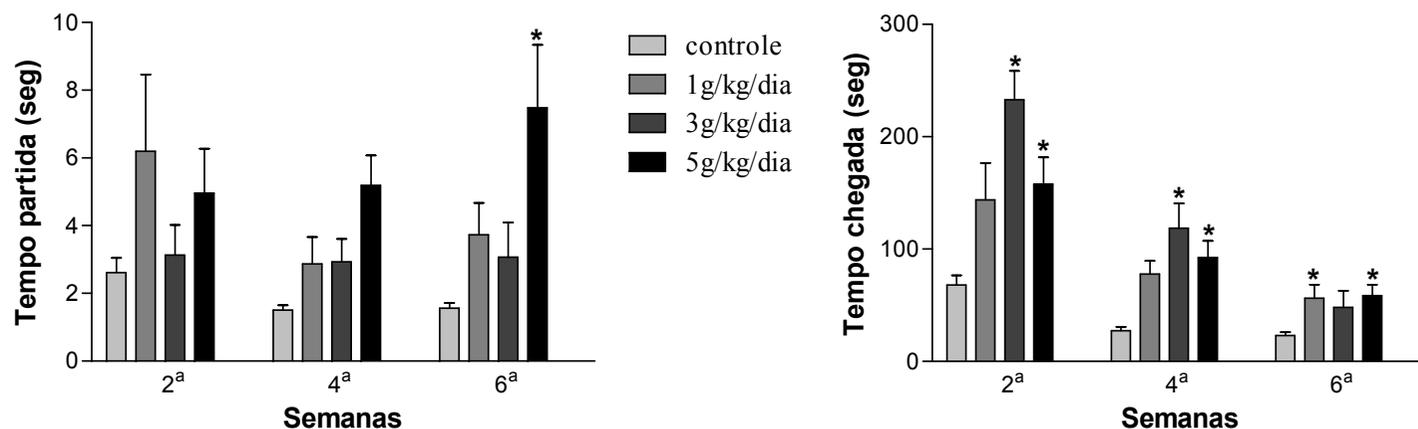


Figura 28 - Período de tempo (em seg) despendido no percurso do labirinto “Hebb-Williams D”, na 2^o, 4^o e 6^o semana de vida de cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35^o dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

Tabela 21 - Número de erros no percurso dos labirintos “Hebb-Williams A, B, C e D”, cometidos pelos cabritos, cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão

| Labirintos | Controle (7) ^a | <i>Ipomoea carnea</i> (g/kg/dia) | | |
|-----------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|--------------|
| | | 1 (5) | 3 (6) | 5 (9) |
| Hebb-Williams A | 0,17 ± 0,09 | 0,44 ± 0,14 | 0,53 ± 0,18 | 0,84 ± 0,21* |
| Hebb-Williams B | 0,2 ± 0,07 | 0,16 ± 0,06 | 0,42 ± 0,12 | 0,46 ± 0,12 |
| Hebb-Williams C | 0,17 ± 0,05 | 0,56 ± 0,11 | 0,29 ± 0,09 | 0,78 ± 0,14* |
| Hebb-Williams D | 1,72 ± 0,32 | 2 ± 0,28 | 1,93 ± 0,29 | 2,02 ± 0,26 |

^a Entre parênteses, o número de animais estudados.

* P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF).

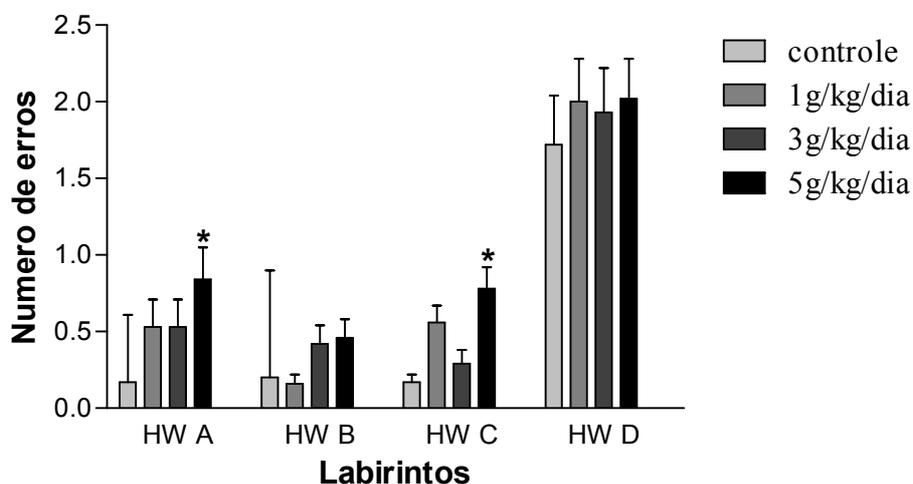


Figura 29 - Número de erros no percurso, dos labirintos “Hebb-Williams A, B, C e D”, cometidos pelos cabritos cujas mães consumiram ou não diferentes doses de *I. carnea* do 35º dia de gestação até o parto. São apresentadas as médias e os respectivos erros padrão. * P<0,05 em relação ao controle (ANOVA seguida de PDIFF)

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Os protocolos para estudos de toxicologia do desenvolvimento estabelecidos por agências regulamentadoras vêm ganhando cada vez mais importância e atenção das mesmas, provocando, desta forma, atualizações e mudanças em suas estruturas, o que os torna mais seguros e confiáveis. Sabe-se que as alterações no conceito podem ser tanto estruturais como funcionais e ocasionadas em qualquer período entre a fertilização e a maturação pós-natal (WILSON, 1977). Logo, estes protocolos procuram se tornar mais refinados e específicos, detectando, desta maneira, alterações mais sutis que antigamente passavam despercebidas pelos protocolos clássicos, ou seja as avaliações ósseas e viscerais.

Além disso, há grande preocupação por parte das agências de regulamentação no que se diz respeito à extrapolação de resultados entre as diferentes espécies de laboratório para os seres humanos. Assim, a extrapolação dos dados obtidos em animais para a exposição humana sempre permanece incerta, principalmente devido às diferenças entre espécies (NAU, 1986). O exemplo clássico é a talidomida, que é teratogênica para o homem, mas não para o rato. Neste sentido, pode-se supor que a extrapolação de dados obtidos de animais monogástricos para os poligástricos deveria ser realizada com muito maior cuidado, uma vez que o rúmen tem um importante papel na farmacocinética e no metabolismo de xenobióticos. De fato, pode-se citar o exemplo do anti-helmíntico albendazol, que causa embriotoxicidade por ação de seu metabólito sulfóxido, ou de um derivado próximo, que é gerado exclusivamente em ruminantes (DELATOUR, 1981). Outro exemplo é a teratogênese promovida pelas fitotoxinas suainsonina e castanospermina em ruminantes, que não ocorre em roedores (BERRY et al., 1989).

Portanto, é essencial uma proposta de modelo de estudo de neuroteratologia em ruminantes, modelo este ainda não descrito na literatura. Assim, este laboratório vem realizando vários estudos, com o objetivo de propor um protocolo de avaliação de teratogenicidade em ruminantes. Esta linha de pesquisa iniciada por Soto-Blanco (SOTO-BLANCO, GÓRNIK, 2004) e, posteriormente desenvolvida por Schumacher-Henrique (2005) e Barbosa-Ferreira (2008), os quais estudaram os possíveis efeitos

teratogênicos produzidos pelo cianeto, *Ipomoea carnea* e *Senna occidentalis*, respectivamente, permitiram gerar vários parâmetros para compor este protocolo.

A presente pesquisa visa contribuir com este protocolo que esta sendo desenvolvido, acrescentando ao mesmo uma metodologia para a avaliação neurocomportamental da prole, avaliando-a durante um determinado período pós-natal. Complementando, assim, o modelo de avaliação de teratogenicidade, o qual poderá ser utilizado para avaliar a toxicidade de diversas substâncias (toxinas de plantas, micotoxinas, fármacos, aditivos alimentares etc.) às quais os ruminantes possam estar expostos.

De maneira geral, as agências regulamentadoras preconizam a utilização de quatro grupos de animais: um controle e mais outros três, nos quais os animais receberão as diferentes doses da substância a ser testada. As doses utilizadas são determinadas da seguinte forma: uma dose que produza efeitos tóxicos, uma com a qual os animais não devem manifestar qualquer alteração de toxicidade e uma outra dose, intermediária entre estas. (WHO, 1967; USEPA, 1991).

O estudo realizado por Schumacher-Henrique (2005) mostrou que fêmeas gestantes, que ingeriram as folhas de *I. carnea*, na dose de 7,5 g/kg/dia tiveram alterações clínicas, com sinais nervosos muito evidentes, bem como alterações bioquímicas e reprodutivas significantes. Assim, a partir destes dados, estabeleceu-se que na presente pesquisa iriam ser utilizadas doses menores de planta que aquelas (foram, portanto, utilizadas aqui as doses de 1, 3 e 5 g/kg/dia de folhas de *I. carnea*), visando, desta maneira, reduzir os efeitos tóxicos da planta sobre as mães e o possível efeito indireto no concepto, pois é amplamente conhecido que a toxicidade materna é um fator responsável por alterações no desenvolvimento fetal (KHERA, 1984).

De fato, devido às características inerentes a estes sinais promovidos pela planta, tais como tremores de cabeça, andar cambaleante, entre outras alterações indicativas de comprometimento cerebelar, poderia acarretar em dificuldades locomotoras, fazendo com que as fêmeas tivessem menor capacidade de buscar o alimento e assim levar ao quadro de estresse, altamente indesejável no período gestacional. Neste sentido, vários são os trabalhos que correlacionam o estresse materno, não só com o próprio desenvolvimento fetal, como principalmente com

efeitos comportamentais pós-natais da prole destas mães (HUIZINK et al., 2004; KRANENDOLNK et al., 2006). Assim, esta alteração, pode-se supor, interferiria significativamente nos experimentos comportamentais realizados neste trabalho. Além disso, no estudo realizado por Schumacher-Henrique (2005), foi observado que a manifestação clínica da intoxicação por *I. carnea* em cabras, independentemente da fase da gestação, poderia resultar em aborto ou morte pós-parto, o que certamente comprometeria a continuidade do experimento.

Mesmo utilizando-se doses que provavelmente não promoveriam alterações neurológicas na gestante, já logo após o início da administração da planta avaliou-se diariamente a ocorrência de sinais clínicos de origem cerebelar, característicos da intoxicação por *I. carnea*; no entanto, estas alterações não se mostraram presentes nestes animais durante toda a prenhez.

Embora não tendo sido observada a presença dos sinais clínicos característicos da intoxicação pela *I. carnea*, verificaram-se alterações importantes na esfera reprodutiva das fêmeas; assim, duas cabras, sendo uma pertencente ao grupo 3 g/kg/dia de *I. carnea* e outra ao grupo 5 g/kg/dia de *I. carnea*, apresentaram aborto. Ainda, duas gestantes, que receberam a maior dose da planta, apresentaram morte fetal no início da gestação. Como a pesquisa por agentes infecciosos responsáveis por abortamentos de maior incidência para caprinos no Brasil (*Mycoplasma sp.*, *Brucella sp.*, *Toxoplasma sp.* e *Leptospira sp.*) resultou negativa, pode-se hipotetizar que foi a *I. carnea* a responsável por estes efeitos. Ainda, verificou-se que uma fêmea, pertencente ao grupo de animais tratados com a dose intermediária de *I. carnea*, veio à óbito no início do terço final de gestação; no entanto, pouco pode se conjecturar sobre o motivo, haja vista que este animal morreu durante a noite, inviabilizando, desta maneira, a realização do estudo necroscópico.

O peso corporal é um dos parâmetros mais importantes e o mais utilizado em toxicologia para indicar efeitos de uma determinada substância no organismo animal (STEVENS; GALLO, 1989). No presente trabalho não foi verificada nenhuma alteração significativa referente ao peso das fêmeas durante a gestação entre os diferentes grupos estudados. Estes dados são díspares daqueles obtidos por outros pesquisadores, tanto em fêmeas gestantes (SCHUMACHER-HENRIQUE, 2005),

como em machos e fêmeas adultas (TOKARNIA et al., 1960; DE BALOGH et al., 1999; SCHUMAHER-HENRIQUE et al., 2003).

Uma hipótese que pode justificar esta discrepância relacionada ao peso de fêmeas tratadas com a planta, entre o resultado aqui obtido e aqueles verificados em outros estudos, seria de que na presente pesquisa foram utilizadas doses de *I. carnea* menores que as empregadas nos trabalhos anteriores. Reforça esta conjectura, o fato de que, enquanto que nas outras pesquisas anteriormente referidas, os animais manifestaram sinais claros de intoxicação pela planta (isto é, alterações neurológicas), tal fato não foi observado nas cabras experimentais aqui avaliadas. Uma vez que Schumacher-Henrique (2005) propõe que a diminuição do peso e do ganho de peso total, verificado em todas as fêmeas tratadas com a *I. carnea*, estaria relacionada à dificuldade locomotora e, conseqüentemente, o acesso ao alimento, haja vista que estes animais não apresentavam anorexia, é plausível se supor que, como os animais nesta pesquisa não manifestaram sinais clínicos de efeitos neurotóxicos que pudessem comprometer a locomoção, a ingestão de alimentos ocorreu de maneira adequada.

A análise bioquímica é uma importante ferramenta que auxilia o diagnóstico de pacientes intoxicados, sendo que a correta escolha dos parâmetros a serem analisados é muito importante para a avaliação adequada do comprometimento de cada órgão ou sistema (HASCHEK; ROUSSEAU, 1998). Em um estudo com ovelhas, Stegelmeier et al. (1998) verificaram que o *clearance* de suainsonina no músculo esquelético, coração e soro sangüíneo foi semelhante a sua meia vida plasmática, que é de 20 horas; já no fígado, rim e pâncreas a meia vida da suainsonina foi ao redor de 60 horas. Logo, é factível se supor que o contato da suainsonina com o tecido hepático, renal e pancreático é maior que nos demais órgãos; portanto, provavelmente deveria haver alterações funcionais e/ou morfológicas particularmente nestes órgãos. De fato, o estudo realizado por Schumacher-Henrique (2005) com cabras gestantes mostrou, por meio da avaliação bioquímica, que esta planta promoveu alteração na função hepática e renal. Dados estes confirmados por este mesmo autor, por meio do estudo histopatológico, que evidenciou significantes alterações, traduzidas por vacuolizações das células, tanto no fígado como nos rins.

O presente estudo ratificou estas alterações na avaliação bioquímica do fígado. Verificou-se aumento dos níveis séricos das enzimas AST e FA; porém, a dosagem de substâncias que avaliam a função renal (níveis séricos de uréia e creatinina), não revelou comprometimento deste órgão. Embora, não seja possível concluir o porquê da não observação de alterações na função renal nos animais dos diferentes grupos experimentais, haja vista que não foi realizado o exame histopatológico deste órgão, é plausível levantar a hipótese de que a dose de *I. carnea* aqui utilizada não promoveu alterações significantes no parênquima renal que acarretasse em comprometimento de suas funções. Reforça esta suposição os dados provenientes da pesquisa conduzida por De Balogh e colaboradores (1999), os quais verificaram que foram discretas as alterações dos níveis séricos de uréia em caprinos machos adultos tratados com doses elevadas de *I. carnea*, mesmo naqueles animais cuja histopatológica revelou vacuolização de células epiteliais tubulares.

Em relação ao estudo dos efeitos no concepto, os resultados referentes às mensurações fetais por ultrassonografia não revelaram nenhuma alteração nos diferentes parâmetros fetais avaliados, diferente dos dados obtidos por Schumacher-Henrique (2005), que mostraram alteração nos movimentos fetais em diferentes semanas de observação, em todos os animais dos grupos experimentais. No entanto, deve-se reforçar a importância da ultrassonografia para a avaliação do desenvolvimento fetal, uma vez que esta ferramenta se mostrou bastante útil, permitindo acompanhar o desenvolvimento do concepto em diferentes períodos gestacionais de forma fácil e precisa. Além disto, os neonatos avaliados na presente pesquisa não mostraram, ao nascimento, qualquer alteração morfológica, ao contrário do verificado naquele estudo conduzido por Schumacher-Henrique que constatou alterações como contraturas múltiplas e artrogripose, correlacionando as mesmas com a diminuição dos movimentos fetais, avaliados na ultrassonografia. Portanto, embora neste momento não seja possível inferir sobre a discrepância de resultados na ultrassonografia obtidos nestes dois estudos, a presente pesquisa ratifica a suposição de que há, de fato, correlação entre a diminuição dos movimentos fetais e desenvolvimento inadequado de ossos, tendões e ligamentos de músculos, já que aqui não houve alteração nos parâmetros avaliados por ultrassom e nem se constatou alterações morfológicas no neonato.

Um importante parâmetro na toxicologia do desenvolvimento é o peso ao nascimento (WHO, 1967; USEPA, 1991). Na presente pesquisa, foi observada uma redução do peso ao nascimento dos filhotes de mães pertencentes ao grupo que recebeu a dose de 5 g/kg/dia de *I. carnea* durante a gestação, quando comparados aos filhotes de mães do grupo controle. Esta redução do peso também foi verificada quando se realizou a administração de *I. carnea* a ratas gestantes (HUEZA et al., 2003, 2007) e pode estar relacionada ao efeito da suainsonina, que promove potente inibição, tanto da α -manosidase lisossomal (TULSIANI; TOUSTER, 1983) como da manosidase II do complexo de Golgi (STEGELMEIER et al., 1995). Além disto, também pelo efeito das calisteginas B2 e C1, que inibem a enzima β -glicosidase (ASANO et al., 1995). Assim, a inibição destas enzimas levaria a não metabolização de oligossacarídeos e, conseqüentemente, a alterações na síntese, no processamento e no transporte de glicoproteínas, promovendo, desta maneira, o inadequado crescimento celular e, conseqüentemente, menor peso.

Interessante observar que no estudo conduzido por Schumacher-Henrique (2005), no qual foram empregadas doses maiores que aquelas aqui utilizadas, não houve diferenças significantes no peso ao nascimento dos filhotes pertencentes aos diferentes grupos de tratamentos, mesmo tendo ocorrido malformações. No entanto, deve-se considerar que o peso dos filhotes ao nascimento pode ter sido influenciado pela quantidade de partos gemelares. Neste sentido, sabe-se que neonatos gêmeos têm, em média, peso menor que aqueles que tiveram a gestação solitária (DWYER; LAWRENCE, 1998). De fato, naquela pesquisa conduzida por Schumacher-Henrique (2005), verificou-se que dentre os partos de fêmeas que não foram tratadas com a *I. carnea*, 60% eram gemelares e 20% trigemelares, enquanto que dentre as cabras pertencentes aos diferentes grupos que receberam a planta, verificou-se apenas 20% de partos gemelares e nenhum parto trigemelar.

Apesar de muito importante para o sucesso reprodutivo dos animais, estudos detalhados quanto ao comportamento perinatal de ruminantes só começaram a ser realizados na década de 1970, sendo a bovina e a ovina, as primeiras espécies de ruminantes avaliadas (SELMAN et al., 1970a,b; KILGOUR, 1972). Atualmente, existem diversos estudos relativos à avaliação deste comportamento em poligástricos (OWENS et al., 1985; HOUWING et al., 1990; RAMÍREZ et al., 1997; POINDRON et al., 2007).

A relação entre a mãe e o neonato em ruminantes é, na atualidade, muito bem caracterizada. Desta forma, sabe-se que os neonatos destas espécies são precoces e conseguem certa independência pouco tempo depois do parto, ao contrário do que ocorre com outras espécies convencionais de laboratório, como os roedores e o coelho, que não conseguem andar e precisam, por isto, permanecer nos ninhos sob os cuidados maternos por vários dias. (NOWARK et al., 2000; POINDRON et al., 2007). Assim, pode-se supor que o correto desenvolvimento neurológico é de fundamental importância para os ruminantes, uma vez que, o neonato depende da sua precocidade e independência para a sobrevivência durante o período perinatal.

Logo após o parto, as cabras iniciam seus cuidados maternos lambendo o filhote, realizando, em um primeiro momento, a limpeza da cabeça e das narinas ajudando, desta forma, o recém-nascido a se livrar das membranas fetais e promovendo a melhora da sua respiração (LICKLITER, 1985 e RAMÍREZ et al., 1997). Além disso, os movimentos de lamber e cheirar o filhote realizado pelas fêmeas nas primeiras horas de vida de sua cria são responsáveis por estimular tanto a respiração como a circulação sanguínea (BARCROFT, 1946). De uma forma geral, estes cuidados maternos com o filhote vão promover excitação no filhote, ajudando-o a permanecer em estação e a mamar, melhorando a sua viabilidade (RAMÍREZ, 1997). Outra característica inerente aos cuidados maternos logo após o parto, diz respeito ao “laço” entre mãe e filhote, formado neste momento (HERSCHER et al., 1963; POINDRON et al., 2007). Esta ligação fará com que ambos se reconheçam facilmente durante todo o período de amamentação. Este reconhecimento entre mãe e filho é fundamental, pois a mãe dedica-se apenas ao(s) seu(s) filhote(s), permitindo que somente o(s) mesmo(s) mame(m) em seus tetos (ADDAE, 1999).

No presente estudo, observou-se que as fêmeas que ingeriram as maiores doses de *I. carnea* (3 e 5 g/kg/dia) tiveram uma redução na atenção dedicada ao filhote, traduzida por diminuição na quantidade de vezes em que estas cabras cheiraram e lambeiram seus filhotes (nos três primeiros períodos, bem como no pouco tempo que despenderam dando atenção aos seus recém-nascidos, na primeira e segunda hora após o nascimento. É possível supor que, mesmo não tendo havido sinais clínicos característicos da intoxicação por *I. carnea*, as doses

aqui empregadas durante a gestação foram suficientes para promover alterações comportamentais nas fêmeas imediatamente após o nascimento de seus filhotes.

Um fato interessante é que a análise dos dados relativos ao número de cheiradas e lambidas maternas não mostrou alteração significativa no 4º período de observação (60-120min pós-natal), mesmo naquelas fêmeas tratadas com a maior dose da planta. No entanto, deve-se considerar que há uma tendência dos cuidados maternos diminuírem ao longo da primeira hora após o parto (ATROSHI; OSTERBERG, 1979).

É importante salientar os resultados obtidos quanto aos filhotes nas primeiras horas de vida após o parto. Assim, os neonatos dos grupos experimentais se mostraram mais débeis que os filhotes provenientes de mães não tratadas com a planta, apresentando incapacidade para realizar comportamentos esperados nos recém-nascidos nos primeiros 15min após o nascimento. De fato, a análise dos dados relativos à tentativa de o animal se colocar em estação, evidencia claramente uma diminuição significativa deste comportamento naqueles filhotes provenientes de mães tratadas com a planta, nesta primeira fase de observação (15min após o nascimento). Ainda, verificou-se que nesta mesma fase houve aumento nos movimentos de pedalar nestes filhotes de fêmeas experimentais. Esta alteração está diretamente relacionada à falta de vigor e a incapacidade dos filhotes tentarem levantar e/ou ficarem em estação, pois os mesmos não apresentavam aptidão para posicionar os membros abaixo do tronco e, assim, levantarem-se.

Esta análise mostrou ainda, que os filhotes do grupo controle tiveram êxito em manter-se em estação, em um período médio de 8 min após o nascimento; enquanto que aqueles filhotes cujas mães ingeriram 5 g/kg/dia de *I. carnea* apresentaram uma latência de tempo muito maior para realizar este comportamento (ao redor de 60min). Este fato refletiu diretamente no tempo de permanência em estação na primeira hora de nascimento; assim, enquanto os neonatos do grupo de fêmeas não tratadas com a planta permaneceram em estação, em média, 39 min, aqueles filhotes do grupo de cabras que recebeu a maior dose da planta, mantiveram-se em estação, em média, somente 2 min nesta primeira hora de vida.

Uma vez que, para realizar o ato de mamar é necessário, como primeira ação, que o neonato consiga manter-se em estação e, logo em seguida, vá ao encontro de sua mãe, comportamento este verificado nos filhotes de mães controles, mas não naqueles neonatos provenientes dos diferentes grupos

experimentais, pode-se concluir que aqueles cabritos, provenientes de mães tratadas com a *I. carnea*, não lograram êxito em realizar adequadamente e no período de tempo suficiente, a primeira mamada, sendo este efeito dose-dependente. Estes dados aqui obtidos foram muito semelhantes àqueles provenientes de estudos realizados em ovinos, com a *Oxytropis sericea*, planta que também possui a suainsonina como princípio ativo tóxico (PFISTER et al., 2006a,b); assim, naquelas pesquisas também foram observadas alterações comportamentais tanto nas fêmeas que receberam esta planta, como nos seus filhotes.

Estas alterações observadas nas duas horas após o parto, naqueles filhotes provenientes de mães tratadas com a planta, comprometem significativamente a ingestão do colostro. Como é amplamente conhecido, a absorção dos anticorpos maternos pelos enterócitos do filhote tende a diminuir progressivamente após o parto (RAJALA; CASTRÉN, 1995; BLUM, 1996); assim, é factível supor que estes neonatos terão déficit na imunidade passiva, pois quanto mais tarde o colostro for ingerido, menor será a absorção de imunoglobulinas. Este fato pode ser determinante para a sobrevivência do recém-nascido, pois a deficiência na transferência passiva de imunoglobulinas leva à inanição e aumento da suscetibilidade a infecções, como por exemplo, as onfalites, tão características neste período de desenvolvimento (BRENNER, 1991), e que normalmente resultam em bacteremia, septicemia e morte (HATHAWAY, et al. 1993)

Estudos conduzidos por James (1971) em ovinos e por Schumacher-Henrique (2005) em caprinos, claramente evidenciaram que a ingestão de plantas que contenham suainsonina por fêmeas gestantes pode causar significantes alterações no SNC do neonato. Ainda, em relação à *I. carnea*, Schumacher-Henrique (2005) mostrou que as lesões no SNC de filhotes, cujas mães ingeriram esta planta durante a gestação, caracterizavam-se por vacuolização e perda das células de Purkinje, gliose e medula espinhal com perda de neurônio motor.

Por outro lado, sabe-se que os animais em desenvolvimento passam por períodos críticos de maturação, sendo um deles o desenvolvimento pós-natal do cérebro. Em mamíferos, este período do desenvolvimento está associado à diversas alterações bioquímicas (ERIKSSON,1997); portanto, qualquer evento que possa conturbar tal processo, como a exposição a um agente tóxico neste período, poderá vir a alterar significativamente o desenvolvimento pós-natal. Portanto, pode-se sugerir que os dados relativos às alterações observadas nas duas primeiras horas

naqueles filhotes provenientes de cabras tratadas com a *I. carnea* estão diretamente relacionadas às alterações no SNC destes animais.

Os resultados obtidos com o teste de discriminação (realizado com 12 e 36 h de vida do filhote), no qual o filhote precisava visualizar ambas as fêmeas, fazendo a distinção entre a sua mãe e a outra cabra e ainda transpor obstáculos para então aproximar-se dela, claramente evidenciaram que existem diferenças entre os filhotes provenientes de mães tratadas ou não com a planta. Neste sentido, foi nitidamente observado que aqueles filhotes, cujas mães ingeriram as diferentes doses de *I. carnea*, apresentaram dificuldades de locomoção e se mostravam indiferentes aos chamados maternos. Conseqüentemente, o período de tempo despendido por estes animais para se deslocarem até as duas fêmeas foi significativamente maior que aquele gasto por animais do grupo controle. Ainda, este mesmo teste mostrou a dificuldade dos filhotes experimentais em distinguir entre a sua mãe e a outra cabra utilizada no teste.

Existem certos comportamentos maternos bastante característicos da espécie caprina, um destes é o comportamento “ocultador” da prole pela fêmea (LENT, 1974); assim, enquanto as mães pastam e vão à procura de alimentos, seus filhotes ficam escondidos esperando o seu regresso. Essa estratégia é utilizada para evitar predadores; porém, o sucesso deste procedimento dependerá da capacidade do filhote em aprender a distinguir a sua mãe à distância, não a confundindo, por exemplo, com predadores. Outro comportamento materno característico da espécie caprina é o aprendizado da fêmea em distinguir entre os seus filhotes e o de outras nas primeiras horas pós-parto (HERSCHER et al., 1963; POINDRON et al., 2007); desta maneira, a cabra permite que apenas seu filhote mame em seus tetos, sendo os filhotes estranhos imediatamente rechaçados (ADDAE, 1999).

Muitos são os procedimentos que podem ser empregados para avaliar o aprendizado das diferentes espécies (MATZEL et al., 2003) Desta maneira, podem ser citados estudos de aprendizado em eqüinos (MCLEAN, 2004), ovelhas (LEE; COLEGATE; FISHER, 2005) e bovinos (BROUČEK; KIŠAC; UHRINČAŤ, 2003). Porém, poucos são os trabalhos que correlacionam o aprendizado de animais de produção com a ingestão de substâncias tóxicas ou à neuroteratologia. Portanto, propôs-se na presente pesquisa realizar tal estudo e para tal, foram utilizados basicamente cinco tipos de labirintos diferentes para avaliação de aprendizado: um labirinto progressivo, no qual foram testados animais ainda na sua primeira semana

de vida (2, 4 e 6 dias de vida), conforme proposto por Pfister e colaboradores (2006b). E outros quatro labirintos de campo fechado (“Hebb-Willians A, B, C e D”), conforme proposto por “Hebb-Willians” (1946). Sendo estes últimos realizados mais tardiamente com animais (2, 4 e 6 semanas de idade).

Com relação ao labirinto progressivo, verificou-se que o tempo despendido pelos filhotes dos grupos tratados com as maiores doses de *I. carnea* para iniciar e concluir o labirinto progressivo foram significativamente elevados quando comparados com os animais controle, nas três etapas de teste realizadas respectivamente com: 2, 4 e 6 dias de vida do filhote. Ainda, a análise dos dados relativos às diferentes etapas do labirinto progressivo mostrou claramente que o período de tempo gasto pelos filhotes provenientes de fêmeas que não receberam a planta, tornava-se cada vez menor a cada etapa de testes; porém, o mesmo não foi evidenciado por aqueles cabritos de mães tratadas com a *I. carnea* nas doses de 3 e 5 gkg/dia. Portanto, a avaliação neurocomportamental aqui utilizada revelou um déficit no aprendizado naqueles animais dos grupos de mães tratadas com a planta durante a gestação.

A melhora no tempo de conclusão do labirinto progressivo observada a cada etapa nos animais do grupo controle indica que estes animais ainda retinham em sua memória a etapa anterior, fato que fazia com que o teste fosse executado mais rapidamente a cada etapa. De fato, um estudo realizado com ovinos adultos no qual os animais foram expostos, repetidas vezes, ao mesmo labirinto, evidenciou que esta espécie é capaz de reter memórias espaciais por pelo menos três dias (LEE; COLEGATE; FISHER, 2005).

Os labirintos de campo fechado são utilizados há muito tempo para avaliar o aprendizado e a memória em diferentes espécies animais. Neste sentido, diversos são os estudos que utiliza ratos como sujeito experimental (Bond; DiGiusto, 1978; Kobayashi; Ohashi; Ando, 2002). Porém, poucas são as pesquisas que visam realizar avaliações em labirintos com animais de produção, particularmente os ruminantes. Em um destes estudos pioneiros, Carson e colaboradores (1974), avaliaram as alterações comportamentais decorrentes da exposição ao chumbo em ovelhas, com diferentes testes comportamentais, entre estes foram realizadas avaliações com labirinto. Porém, estes autores não observaram alteração de *performance* neste aparelho, naqueles filhotes cujas mães receberam chumbo durante a gestação. Recentemente, Lee et al. (2005) realizaram um experimento

com ovelhas, no qual os animais foram divididos em dois grupos: um controle e um experimental, no qual os animais recebiam, 30 min antes da avaliação no labirinto, uma dose de escopolamina, um antagonista muscarínico. Os animais que foram submetidos a esta substância apresentaram deficit no aprendizado, sendo este prejuízo traduzido por um maior tempo para conclusão do percurso no labirinto. Outros estudos, utilizando-se o labirinto para avaliação de ovinos mostram alterações de cognição em animais submetidos a diferentes toxicantes (LEE; COLEGATE; FISHER, 2005; PFISTER et al., 2006b) Portanto, embora não haja ainda um corpo grande de estudos, utilizando-se o labirinto como ferramenta para avaliação de aprendizado em animais de criação, como os já muito bem estabelecidos para ratos (BARNETT 2007), certamente este aparelho é bastante confiável para a avaliação deste parâmetro também em animais de criação.

Na presente pesquisa, a reunião dos dados provenientes das avaliações com os labirintos “Hebb-Williams” mostraram, de maneira geral, que os animais dos grupos de mães tratadas com a planta apresentaram uma latência de tempo maior para realizar as tarefas nos diferentes períodos avaliados, até a 6ª semana de vida. Além disto, ficou evidente que os filhotes provenientes de mães tratadas com a *I. carnea* apresentaram de forma significativa maior número de erros no percurso que aqueles filhotes de mães que não receberam a planta. Portanto, a avaliação neurocomportamental, nesta pesquisa, utilizando-se estes diferentes labirintos permitiu observar claramente que os filhotes de mães expostas à planta durante o período gestacional apresentaram maior dificuldade em se localizar no ambiente e em aprender como chegar ao objetivo.

Estes dados aqui obtidos poderão ter importantes implicações na criação animal; assim, extrapolando-se estes dados para condições a campo, pode-se supor que estas alterações verificadas nos filhotes, os quais apresentaram um déficit de memória, bem como de orientação espacial, poderá levar a problemas de manejo e conseqüentemente grandes prejuízos econômicos, uma vez que, por exemplo, os animais retêm na memória o local onde se localiza as melhores pastagens. (DUMONT; PETIT, 1998).

Concluindo, os dados provenientes nesta pesquisa corroboram com os trabalhos anteriores, tanto em animais de laboratório (SCHWARZ et al.,2003; HUEZA et al.,2003), como em caprinos (SCHUMAHER-HENRIQUE, 2005), evidenciando que a exposição à *I. carnea* durante a gestação promove efeitos

tóxicos, tanto nas mães como nas suas proles. Além disto, verificou-se que estes animais (mães e filhotes) apresentam alterações neurocomportamentais significantes no pós-parto. Sugere-se que tais modificações no comportamento podem comprometer a sobrevivência dos filhotes. Ainda, propõe-se a incorporação dos testes de avaliação neurocomportamental, aqui apresentados, nos protocolos de avaliação de teratogenicidade para ruminantes.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

A administração de *I. carnea* a cabra gestantes, mesmo em doses baixas, foi capaz de produzir, efeitos tóxicos significantes, tanto na fêmea, quanto na sua prole, sendo estas alterações caracterizadas por:

- Morte fetal;
- Abortamento;
- Alteração do comportamento materno.
- Alteração no peso do filhote ao nascimento
- Nascimento de filhotes fracos, com dificuldades de locomoção, de se manterem em estação e de ingerir o colostro após o parto;
- Filhotes com déficit de memória, com dificuldade de aprendizado e discriminação materna.

Com base nestes resultados é possível concluir que a *I. carnea* pode ser uma planta de grande impacto na criação animal, pois além dos efeitos tóxicos já bem caracterizados em animais adultos, há implicações significantes no que se refere à esfera reprodutiva, mesmo quando gestantes são expostas a doses baixas da planta, pois embora não sejam observadas malformações nas proles, estas apresentam significantes alterações comportamentais, as quais podem comprometer a sobrevivência do neonato.

Ainda, que o protocolo proposto para avaliação de neuroteratologia foi capaz de detectar alterações sutis no comportamento dos filhotes, sendo, portanto, sugerido que o mesmo deva ser incluído no protocolo de avaliação de teratogenicidade em ruminantes.

Refêrencias

REFERÊNCIAS

- ADDAE, P. C.; AWOTWI, E. K.; OPPONG-ANANE, K.; ODDOYE, E. O.K. Behavioural interactions between West African dwarf nanny goats and their single-born kids during the first 48 hours post partum. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 67, p. 77-88, 1999.
- ASANO, N.; KATO, A.; OSEKI, K.; KIZU, H.; MATSUI, K. Calystegins of *Physalis alkekengi* var. *francheti* (Solanaceae). Structure determination and their glycosidase inhibitory activities. **European Journal of Biochemistry**, v. 229, n. 2, p. 369-376, 1995.
- ATROSHI, F.; OSTERBERG, S. The behavior of Finnsheep during and shortly after lambing. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 29, p. 258-262, 1979.
- AUSTIN, D. F.; HUAMAN, Z. A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas. **Táxon**, v. 45, p. 3-38, 1996.
- BARBOSA-FERREIRA, M. **Proposta de modelo para estudo de toxicologia perinatal em ruminantes**: avaliação dos efeitos tóxicos da *Senna occidentalis* em caprinos. 2008. 188 f. Tese (Doutorado em Ciências) -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- BARCROFT, J. **Researches on prenatal life**. Oxford: Blackwell, 1946.
- BARNETT, S. A. **The rat**: a study in behaviour. Chicago: Aldine Press, 2007.
- BERRY, D. L.; MOLYNEUX, R. J.; JAMES, L. F.; WILLHITE, C. C. Developmental toxicology of the indolizidine alkaloids castanospermine and swainsonine in rodents. In: JAMES, L. F.; ELBEIN, A. D.; MOLYNEUX, R. J.; WARREN, C. D. **Swainsonine and related glycosidase inhibitors**. Ames: Iowa State University Press, 1989. p. 417-424.
- BLUM, J. W. **The milk-fed calf: Nutritional, metabolic and endócrino aspects**. In: SYMPOSIUM ON MILK SYNTHESIS; SECRETION AND REMOVAL IN RUMINANTS, 1996, Berna, Suipa. **Proceedings...** Berna: School of Veterinary Medicine, 1996. p. 68-70.
- BOND, N. W.; DIGIUSTO, E. L. Avoidance conditioning and Hebb-Williams maze performance in rats treated prenatally with alcohol. **Psychopharmacology**, v. 58, p. 69-71, 1978.

BRANDÃO, M.; CALDAS, L. Q. Q.; COSTA, C. H. C.; FERREIRA, P. B. D. F. "Plantas Tóxicas". **Informe Agropecuário**, v.14, p.13-23, 1989.

BRENNER, J. Passive lactogenic immunity in calves: a review. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, p. 1-12, 1991.

BROUČEK, J.; KIŠAC, P.; UHRINČAŤ, M. The effect of sire line on learning and locomotor behaviour of heifers. **Czech Journal of Animal Science**, v. 48, n. 9, p. 387-394, 2003.

BROWN, N. A.; FABRO, S. The value of animal teratogenicity testing for predicting human risk. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 26, p. 467-477, 1983.

CARSON, T. L.; VANGELDER, G. A.; KARAS, G. G.; BUCK, W. B. Development of behavioral tests for the assessment of neurologic effects of lead in sheep. **Environmental Health Perspectives**, v. 7, p. 233-237, 1974.

CHAVEZ MORENO, J.; STEINMANN CHAVEZ, C.; BICKHARDT, K. Fetal heart rate measurement and sonographic fetometry for determination of fetal age in sheep. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 103, n. 11, p. 478-480, 1996.

DAMIR A., H.; ADAM, S. E. I.; TARTOUR, G. The effects of *Ipomoea carnea* on goats and sheep. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 316-319, 1987.

DE BALOGH, K. I. M.; DIMANDE, A. P.; VAN DER LUGT, J. J.; MOLYNEUX, R. J.; NAUDÉ, T. W.; WELMAN, W. G. A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, p. 266-273, 1999.

DELATOUR, P.; PARISH, R. C.; GYURIK, R. J. Albendazole: a comparison of relay embryotoxicity of individual metabolites. **Annales de Recherche Vétérinaire**, v. 12, n. 2, p. 159-167, 1981.

DUMONT, B.; PETIT, M. Spatial memory of sheep at pasture. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 60, p. 43-53, 1998.

DWYER, C. M.; LAWRENCE, A. B. Variability in the expression of maternal behavior in primiparous sheep; effects of genotype and litter size. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 58, p. 311-330, 1998.

ELBEIN, A. D. The effects of plant indolizidine alkaloids and related compounds in glycoprotein processing. In: JAMES, L. F.; ELBEIN, A. D.; MOLYNEUX, R. J.; WARREN, C. D. (Ed.). **Swainsonine and related glycosidase inhibitors**. Ames: Iowa University Press, 1989. p. 155-187.

ERIKSSON, P. **Developmental toxicology: neurodevelopmental toxicity in mammals**. UPPSALA UNIVERSITET, Environmental Toxicology, Norbyvägen 18A,

752 36 Uppsala. Last updated: 2007. Disponível em:
<http://www.fu.uu.se/etox/devtox_1.html>. Acesso em: 28 ago. 2007.

GAD, S. C.; WEIL, C. S. Statistics for toxicologists. In: HAYES, A. W. (Ed.). **Principles and methods of toxicology**. New York: Raven Press, 1989. p. 435-483.

GILDEN, N.; BODEWITZ, H. Regulating teratogenicity as a health risk. **Social Science & Medicine**, v. 32, n. 10, p. 1191-1198, 1991.

GONZALES DE BULNES, A.; GARCIA, P. F.; MAYENCO, A. M.; SANCHES DE LA MUELA, M. Ultrasonographic imaging of canine mammary tumours. **Veterinary Records**, v. 143, n. 25, p. 687-689, 1998.

HARAGUCHI, M.; GORNIK, S. L.; IKEDA, K.; MINAMI, Y.; KATO, A.; WATSON, A. A.; NASH, R. J.; MOLYNEUX, R. J.; ASANO, N. Alkaloidal components in the poisonous plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 4995-5000, 2003.

HASCHEK, W. M.; ROUSSEAU, C. G. (Ed.). **Toxicologic pathology**. New York: Academic Press, 1998.

HATHAWAY, S. C.; BULLIANS, J. A.; JOHNSTONE, A. C.; BISS, M. E.; THOMPSON, A. A Pathological and microbiological on phalo phlebitis in very young calves slaughtered in New-Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 41, n. 4, p. 166-170, 1993.

HEBB, D. O.; WILLIAMS, K. A method of rating animal intelligence. **Journal of General Psychology**, v. 34, p. 59, 1946.

HOHENE, F. C. **Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais**. São Paulo: Graphicars, 1939. 355p.

HOUWING, H.; HURNIK, F.; LEWS, N. J. Behavior of periparturient dairy cows and their calves. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 70, p. 355-362, 1990.

HUEZA, I. M. **Parâmetros inflamatórios imunológicos e histopatológicos da administração prolongada da *Ipomoea carnea* em ratos: 1 avaliação em animais adultos 2. Estudo perinatal**. 2006. p 330. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

HUEZA, I. M.; DAGLI, M. L. Z.; GÓRNIK, S. L. Toxic effects of prenatal *Ipomoea carnea* administration to rats. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, p. 298-302, 2003.

HUEZA, I. M.; GUERRA, J. L.; HARAGUCHI, M.; GARDNER, D. R.; ASANO, N.; IKEDA, K.; GÓRNIAK, S. L. Assessment of the perinatal effects of maternal ingestion of *Ipomoea carnea* in rats. **Experimental and toxicologic pathology**, v. 58, n. 6, p. 439-446, 2007.

HUIZINK, A. C.; MULDER, E. J.; BUITELAAR, J. K. Prenatal stress and risk for psychopathology: specific effects or induction of general susceptibility. **Psychological Bulletin**, v. 130, p. 115-142, 2004.

HUXTABLE, C. R.; DORLING, P. R. Nephrotic syndrome and collagenizing glomerulopathy in PVG/c rats treated with the alfa-mannosidase inhibitor "Swainsonine". **Veterinary Pathology**, v. 20, p. 727-736, 1983.

JAMES, J. D.; NIELSON, D. Locoweeds: assessment of the problem on western U.S. rangelands. In: JAMES, L. F.; RALPHS, M. H.; NIELSON, D. B. (Ed.). **The ecology and economic impact of poisonous plants on livestock production**. Boulder: Westview Press, 1988. p.171-180.

JAMES, L. F. Lesions in neonatal lambs resulting from maternal ingestion of locoweed. **Cornell Veterinary**, v. 61, p. 667-670, 1971.

KAHN, W. **Veterinary reproductive ultrasonography**. London: Mosbywife, 1994. p. 256.

KALTER, H. Experimental investigation of teratogenic action. **Annals of the New York Academy of Science**, v.123, p. 287-294, 1965.

KARASUNO, T.; KANAYAMA, Y.; NISHIURA, T.; NAKAO, H.; YONEZAWA, T.; TARUI, S. Glycosidase inhibitors (castanospermine and swainsonine) and neuraminidase inhibit pokeweed mitogen-induced B-cell maturation. **European Journal of Immunology**, v. 22, p. 2003-2008, 1992.

KHERA, K. S. Maternal toxicity - A possible factor in fetal malformations in mice. **Teratology**, v. 29, n. 3, p. 411-416, 1984.

KILGOUR, R. Behaviour of sheep at lambing. **New Zealand Journal of Agriculture**, v.125, p. 24-27, 1972.

KOBAYASHI, S.; OHASHI, Y.; ANDO, S. Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task. **Journal of Neuroscience Research**, v. 70, p. 340-346, 2002.

KRANENDOLNK, G.; HOPSTER, H.; FILLERUP, M.; EKKEK, E. D.; MULDER, E. J. H.; TAVERNE, M. A. M. Cortisol administration to pregnant sows affects novelty-induced locomotion, aggressive behavior, and blunts gender differences in the offspring. **Hormones and Behavior**, v. 49, p. 663-672, 2006.

LEE, C.; COLEGATE, S.; FISHER, A. D. Development of a maze test and its application to assess spatial learning and memory in Merino sheep. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 96, p. 43–51, 2005.

LENT, P. C. Mother-infant relationships in ungulates. In: GEST, V.; WALTER, F. (Ed.). **Behaviour of ungulates and its relation to management**. Switzerland: I. U.C.N. Morges, 1974. p. 15-55.

LICKLITER, R. E. Behaviour associated with parturition in the domestic goat. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 13, p. 335-345, 1985.

LIMA, M. C. C. **Aspectos ultra-sonográficos e aspecto hormonal da gestação ovina (Ovis aires) nas raças Bergamácia e Ideal**. 2000. 129 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestre, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 2. ed. Nova Odesa, SP: Platarum, 1991. p. 125.

MATZEL, L. D.; HAN, Y. R.; GROSSMAN, H.; KARNIK, M. S.; PATEL, D.; SCOTT, N.; SPENTCH, S. M.; GANDHI, C. C. Individual differences in the expression of a “general” learning ability in mice. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 16, p. 6423-6433, 2003.

MCLEAN, A. N. Short-term spatial memory in the domestic horse. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 85, p. 93-105, 2004.

NAU, H. Species differences in pharmacokinetics and drug teratogenesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 70, p. 113-129, 1986.

NELSON, B. K.; JAMES, L. F.; SHARMA, R. P.; CHENEY, C. D. Locoweed embryotoxicity in rats. **Clinical Toxicology**, v 16, p. 149-166, 1980.

NICOLA, C.; IACCARINO, M.; CALAPRICE, A.; SENATORE, G.; D'AMORE, V. Intrauterine activity of sheep and goat fetus determined instantaneous ultrasonography. **Atti Società Italiana Scienze Veterinarie**, v. 38, p. 3251-3253, 1984.

NOWAK, R.; PORTER, R. H.; LEVY, F.; ORGEUR, P.; SCHAAL, B. Role of mother-young interactions in the survival of offspring in domestic mammals. **Reviews of reproduction**, v. 5, p. 153-163, 2000.

OWENS, J. L.; EDEY, T. N.; BINDON, B. M.; PIPER, L. R. Parturient behavior and calf survival in a herd selected for twinning. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 13, p. 321-333, 1985.

PAN, Y. T.; GHIDONI, Y.; ELBEIN, A. D. The effects of castanospermine and swainsonine on the activity and synthesis of intestinal sucrase. **Arch Biochem Biophys**, v. 303, p. 134-144, 1993.

PANTER, K. E.; JAMES, L. F.; HARTLEY, W. J. Transient testicular degeneration in rams fed locoweed (*Astragalus lentiginosus*). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 31, p. 42-46, 1989.

PETERS, P. W. J. Developmental toxicology: adequacy of current methods. **Food Additives and Contaminants**, v. 15, n. 1, p. 55-62, 1998.

PFISTER, J. A.; ASTORGA, J. B.; PANTER, B. L.; STEGELMEIER, R. J.; MOLYNEUX, R. J. Maternal ingestion of locoweed I. Effects on ewe-lamb bonding and behavior. **Small Ruminant Research**, v. 65 p. 51-53, 2006a.

PFISTER, J. A.; DAVIDSON, T. W.; PANTER, B. L.; CHENEY, C. D.; MOLYNEUX, R. J. Maternal ingestion of locoweed III Effects on lamb behavior at birth. **Small Ruminant Research**, v. 65, p. 70-78, 2006b.

POINDRON, P.; KELLER, M.; LEVY, F. Maternal responsiveness and maternal selectivity in domestic shepp and goats: the two facets of maternal attachment. **Developmental Psychobiology**, v. 49, p. 54-70, 2007b.

POINDRON, P.; TERRAZAS, A. Sensory and physiological determinants of maternal behavior in the goat (*Capra hircus*). **Hormones and Behaviour**, v. 52, p. 99-105, 2007a.

RAJALA, P.; CASTRÉN, H. Serum immunoglobulin concentrations and health of dairy calves in two management systems from birth to 12 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2737-2743, 1995.

RAMÍREZ, A.; QUILES, A.; HEVIA, M. L.; SOTILLO, F. Behaviour of the Murciano-Granadina goat during the first hour after parturition. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 56, p. 223-230, 1997.

ROGERS, J. M.; KAVLOCK, R. J. Developmental toxicology. In: Klassen, C.D. (Ed.). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 6th ed. New York: Mc Graw-Hill, 2001. p. 351-386.

SCHARDEIN, J. L.; SCHWETZ, B. A.; KENEL, M. F. Species sensitivities and prediction of teratogenic potential. **Environmental Health Perspectives**, v. 61, p. 55-67, 1985.

SCHRICK, K. N.; SURFACE, R. A.; PRITCHARD, J. Y.; DAILEY R. A.; TOWNSEND, E. C.; INSKEEP, E. K. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. **Biology Reproduction**, v. 49, n. 5, p. 1133-1140, 1993.

SCHUMAHER HENRIQUE, B. **Efeitos tóxicos da Ipomoea carnea em caprinos: estudos de teratogenicidade.** 2005. 156 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SCHUMAHER HENRIQUE, B.; GÓRNIAC, S. L.; DAGLI, M. L. Z.; SPINOSA, H. S. Toxicity of long term administration of *Ipomoea carnea* to growing goats: clinical, biochemical, haematological and pathological alterations. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 311-319, 2003.

SCHUMAHER-HENRIQUE, B. **Estudo dos efeitos tóxicos da administração prolongada de *Ipomoea carnea* em caprinos.** 2002. 96 p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SCHWARZ, A.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M.; DAGLI, M. L. Z.; SPINOSA, H. S. Effects of *Ipomoea carnea* aqueous fraction intake by dams during pregnancy on the physical and neurobehavioral development of rat offspring. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 615-626, 2003.

SELMAN, L. E.; MEEWAN, A. D.; FISHER, E. W. Studies on natural sucking in cattle during the first eight hours postpartum: I behavioural studies (dams). **Animal Behaviour**, v. 18, p. 276-283, 1970a.

SELMAN, L. E.; MEEWAN, A. D.; FISHER, E. W. Studies on natural sucking in cattle during the first eight hours postpartum: II Behavioural studies (calves). **Animal Behaviour**, v. 18, p. 284-289, 1970b.

SNEDCOR, G. W. **Statistical methods.** 4. ed. Ames: College Press, 1946. 324 p.

SOTO-BLANCO, B. **Toxicidades subaguda, prolongada, pré-natal e pós-natal do cianeto em caprinos.** 2003. 170 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SOTO-BLANCO, B.; GÓRNIAC, S. L. Prenatal toxicity of cyanide in goats - a model for teratological studies in ruminants. **Theriogenology**, v.62, n.6, p.1012-1026, 2004.

SRILATHA, C. H.; GOPAL NAIDU, N. R.; RAMA RAO, P. Pathology of *Ipomoea carnea* toxicity in goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 7, n. 3, p. 253-254, 1997.

STEGELMEIER, B. L.; JAMES, L. F.; PANTER, K. E.; MOLYNEUX, R. J. Serum swainsonine concentration and alpha-mannosidase activity in cattle and sheep ingesting *Oxytropis sericea* and *Astragalus lentiginosus* (locoweeds). **Veterinary and Human Toxicology**, v. 56, p. 149-154, 1998.

STEGELMEIER, B. L.; MOLYNEUX, R. J.; ELBEIN, A. D.; JAMES, L. F. The lesions of locoweed (*Astragalus mollissimus*), swainsonine, and castanospermine in rats. **Veterinary Pathology**, v. 32, p. 289-298, 1995.

STEGELMEIER, B. L.; RALPHS, M. H.; GARDNER, D. R.; MOLYNEUX, R. J.; JAMES, L. F. Serum α -mannosidase and the clinicopathologic alterations of locoweed (*Astragalus mollissimus*) intoxication in range cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, p. 473-479, 1994.

STEVENS, K. R.; GALO, M. Practical considerations in the conduct chronic toxicity studies. In: HAYES, A. W. (Ed.). **Principles and methods of toxicology**. New York: Raven Pres, 1989. p. 237-250.

TARTOUR, G.; ADAM, S. E. I.; OBEID, H. M.; IDRIS, O. F. Effects of *Ipomoea carnea* on the liver and on serum enzymes in young ruminants. **Journal of Comparative Pathology**, v. 83, p. 531-41, 1973.

TAYLOR, J. B.; STRICKLAND, J. R. In vitro effect of swainsonine on bovine and ovine lymphoblastogenesis. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2857-2862, 1998.

TIRKEY, K.; YADAVA, K. P.; MANDAL, T. K. Effect of aqueous extract of *Ipomoea carnea* on the haematological and biochemical parameters in goats. **Indian Journal of Animal Sciences** v. 57, n. 9, p. 1019-1023, 1987.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C. Estudo experimental sobre a toxidez do "canudo" (*Ipomoea fistulosa* Mart.) em ruminantes. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, v. 3, p. 59-71, 1960.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas que causam perturbações nervosas. In: TOKARNIA, C. H. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. p.120-123.

TRALDI, A. S. **Tópicos em reprodução de caprinos**. São Paulo, [s.n.], 1994. 84 p. Manual Técnico.

TULSIANI, D. R. P.; TOUSTER, O. Swainsonine inhibits the biosynthesis of complex glycoproteins by inhibition of Golgi manosidase II. **Journal of Biological Chemistry**, v. 224, p. 594-600, 1983.

USEPA, 1991 USEPA, 1999. Guidelines for developmental toxicity risk assessment. **Federal Register**, v. 56, n. 234, p. 63798-63826, 1991. Disponível em: <http://www.epa.gov/ncea/raf/pdfs/devtox.pdf>. Acesso em: 30 jun. 2007.

VAN KAMPEN, K. R.; JAMES, L. F. Sequential development of cytoplasmatic vacuolation in tissues. **Pathology Veterinary**, v. 7, p. 503-508, 1970.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Principles for the testing of drugs for Teratogenicity**. Geneva: World Health Organization Technical Report Series, 1967. p. 364.

WILSON, J. G. Current status of teratology-General principles and mechanisms derived from animal studies. In: WILSON, J. G.; FRASER, F. C. (Ed.). **Handbook of teratology**. New York, Plenum Press, 1977. v. 1, p. 47-74.

WOLFINGER, R.; CHANG, M. **Comparing the SAS GLM and MIXED procedures for repeated measures**. Cary: SAS Institute Inc., 1996. 11 p.