

ALTERAÇÕES CLÍNICO-PATOLÓGICAS DE GALINHAS POEDEIRAS (*Gallus gallus domesticus*) INTOXICADAS EXPERIMENTALMENTE COM SEMENTES DE *Crotalaria spectabilis* (Leg. *Papilionoideae*)

CLINICAL AND PATHOLOGICAL CHANGES OF LAYING HENS (*Gallus gallus domesticus*)
EXPERIMENTALLY POISONED BY *Crotalaria spectabilis* SEEDS (Leg. *Papilionoideae*)

W. A. B. PEREIRA^{1*}, M. R. HATAYDE², G. S. GODOY³, A. C. ALESSI³,
A. BERTCHIERI-JUNIOR³.

RESUMO

A *C. spectabilis* pertence ao gênero *Crotalaria*, família *Leguminosae* e é utilizada como adubação verde. Desta forma, suas sementes podem ser colhidas juntamente com os grãos de milho e soja contaminando alimentos para animais. Para avaliar a toxicidade das sementes de *C. spectabilis* para galinhas poedeiras, foram utilizadas 80 galinhas “Hisex White”, distribuídas nos grupos G₁, G₂, G₃ e G₄, que receberam durante 28 dias, rações contendo respectivamente: 0,00, 0,02, 0,04 e 0,06% de sementes trituradas de *C. spectabilis*. As aves que morreram durante o experimento, e as, sacrificadas ao final do mesmo foram necropsiadas colhendo-se fragmentos de fígado, rim, pró-ventrículo, pulmão e coração para histopatologia. Macroscopicamente verificou-se ascite, caquexia, fígado reduzido ou aumentado de volume com presença de fibrina e/ou hematomas subcapsulares. Microscopicamente, encontrou-se esteatose, congestão, hemorragia, megalocitose e necrose de hepatócitos. Assim, conclui-se que as sementes de *C. spectabilis* incorporadas na ração aos níveis de 0,02%, 0,04% e 0,06% são hepatotóxicas para galinhas poedeiras.

PALAVRAS-CHAVE: Alcalóides pirrolizidínicos. Alterações hepáticas. Monocrotalina

SUMMARY

C. spectabilis belongs to *Crotalaria* genus of the *Leguminosae* family, and is used as “green manuring”. In that manner, its seeds may be harvested along with corn and soy beans contaminating animal foods. The purpose of this work was to evaluate the toxicity of *C. spectabilis* seeds present in the diet fed to laying hens. Eighty fowls “Hisex White” were divided into four groups G₁, G₂, G₃ and G₄. The laying hens were fed diets containing 0.00, 0.02, 0.04 and 0.06% of crushed seeds of *C. spectabilis* for 28 days. Every day, fowls were monitored clinically. The fowls that died in the course of the experiment and the fowls euthanized at the end, were necropsied and fragments of liver, kidneys, proventricle, lungs and heart were collected for histopathology. Macroscopic examination of poisoned fowls revealed ascites, cachexia, liver volume increased or reduced with fibrin or subcapsule hematomas. Histopathology showed steatosis, congestion, hemorrhage, megalocytosis and necrosis of hepatocytes. Therefore, the *C. spectabilis* seeds incorporated into diets at levels of 0.02%, 0.04% and 0.06% were hepato-toxic for laying hens.

KEY-WORDS: Hepatic changes. Monocrotaline. Pyrrolizidine alkaloids

¹ Universidade de Uberaba – UNIUBE, Curso de Medicina Veterinária. Uberaba, MG, Brasil.

² Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –UNESP- Jaboticabal.

³ Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –UNESP- Jaboticabal. *Hospital Veterinário de Uberaba, Avenida Tutunas, 720, Bairro Tutunas, CEP: 38061-500, Uberaba, MG. email: wabpereira@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

A *Crotalaria spectabilis* pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae e apresenta-se distribuída principalmente em áreas tropicais e subtropicais do planeta (WILLIAMS & MOLLYNEAUX, 1987), sendo utilizada principalmente em práticas de adubação verde, em lavouras de milho e soja. Para tal finalidade, a *C. spectabilis* é plantada e posteriormente incorporada ao solo, a fim de preservar e/ou restaurar os teores de matéria orgânica e nutrientes (SILVA et al., 1999). Entretanto, após a incorporação ao solo, a crotalária pode crescer espontaneamente nessas plantações e, suas sementes serem colhidas juntamente com o milho ou a soja, contaminando-os.

Uma vez ingeridas, as sementes podem ocasionar efeitos deletérios aos animais e ao homem, por conterem o alcalóide pirrolizidínico monocrotalina, que além de efeitos tóxicos apresenta também atividade tumorigênica (FU et al, 2002, COPPLE et al., 2004, WANG et al., 2005). Casos naturais de intoxicação têm sido descritos em eqüinos, bovinos, ovinos, caprinos, suínos, aves e humanos (FU et al., 2002, NOBRE et al., 2004).

A monocrotalina no fígado produz necrose das células parenquimais centrolobulares, danos às células endoteliais das vênulas centrais e dos sinusóides, resultando em congestão e dilatação dos sinusóides além de hemorragia e ativação do sistema de coagulação com posterior deposição de fibrina nas regiões centrolobulares (COPPLE et al., 2004). No início da fase aguda, as células endoteliais dos sinusóides e das vênulas hepáticas, assim como as células do parênquima hepático são lesionadas. Posteriormente, segue-se a fase subaguda que consiste na obliteração de vênulas intra-hepáticas associada à fibrose dos sinusóides, sendo este processo denominado: doença veno-oclusiva hepática ou síndrome da obstrução sinusoidal (COOPLE et al., 2003). A exposição crônica a essa substância causa ainda megalocitose, degeneração gordurosa, aumento do tamanho dos núcleos com maior densidade da cromatina nuclear, perda da função metabólica, inibição de mitoses, proliferação de ductos biliares, cirrose hepática, hiperplasia nodular e adenomas ou adenocarcinomas (WANG et al., 2005).

Estudos verificaram a toxicidade de espécies de crotalárias para as aves e para os animais domésticos (ALFONSO et al., 1993, HATAYDE et al., 1997^a, HATAYDE et al., 1997^b, SOUZA et al., 1997, NOBRE, et al., 2004). Entretanto, não se encontram relatos sobre a intoxicação de galinhas poedeiras com sementes de *C. spectabilis*. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos tóxicos das sementes de *Crotalaria spectabilis*, trituradas e adicionadas à ração de galinhas poedeiras, observando-se as possíveis alterações clínico-patológicas decorrentes da intoxicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 80 galinhas poedeiras “Hisex White” híbridas, com 72 semanas de idade ao início do experimento, que foram doadas pelo Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP. As aves foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos de 20 aves (G_1 , G_2 , G_3 e G_4), e mantidas em gaiolas individuais de postura, contendo um bebedouro tipo “nipple” por gaiola e comedouros coletivos de madeira com capacidade para 10 aves, separados entre os grupos experimentais por uma distância de 1,60 m. As aves recebiam 110g/ave/dia de uma ração de manutenção de postura, formulada de acordo com as recomendações do NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC, sendo a principal fonte de carboidrato o milho e de proteína a soja, com ausência de drogas coccidiostáticas. A ração foi feita pela fábrica de ração da FCAV - UNESP – *Campus* de Jaboticabal, com ingredientes selecionados. A água foi oferecida *ad libitum*. Os grupos experimentais foram divididos de acordo com os níveis de inclusão de sementes *C. spectabilis*, trituradas e previamente misturadas na ração seguindo-se as seguintes proporções:

G_1 – Ração de manutenção (sem adição de sementes) – Grupo Controle;

G_2 – Ração de manutenção + 0,02% de sementes (20,0 g de sementes/ 100,00 kg de ração)

G_3 - Ração de manutenção + 0,04% de sementes (40,0 g de sementes/ 100,00 kg de ração)

G_4 - Ração de manutenção + 0,06% de sementes (60,00 g de sementes/ 100,00 kg de ração)

As quantidades de sementes para delineamento da intoxicação foram determinadas seguindo-se as recomendações de Hatayde et al.(1997a).

Diariamente realizou-se inspeção à distância das aves, avaliando-se o comportamento, a postura e atitude comparando-se as intoxicadas com as do grupo controle. As aves que apresentavam alguma alteração à distância eram retiradas da gaiola e submetidas ao exame físico.

Durante o período do experimento, as aves que morreram, e aquelas remanescentes, sacrificadas ao final dos 28 dias, foram necropsiadas no Setor de Anatomia Patológica do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV - UNESP – *Campus* de Jaboticabal. Foram colhidos fragmentos de coração, pulmão, fígado, pró-ventrículo e rim, os quais foram fixados em solução de formol a 10% neutro tamponado com fosfato, por um período de 24 horas. Após a fixação, os fragmentos foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo com espessura de 3,0 μ m e corados com hematoxilina e eosina (LUNA, 1968). Os cortes histológicos foram examinados à microscopia óptica.

RESULTADOS

Os principais sinais clínicos observados nas aves dos grupos G₂, G₃ e G₄ quando comparadas às aves do G₁ estão descritos na Tabela 1.

Os sinais clínicos foram evidentes a partir da segunda semana de intoxicação nas aves do grupo G₄, o qual teve ao final deste período três mortas, durante este período as aves manifestaram anorexia, emagrecimento, dispnéia, abaulamento do abdômen, penas eriçadas e palidez das cristas. Na terceira semana as aves do G₃ começaram a apresentar sinais clínicos mais brandos do que as aves do G₄, como abaulamento do abdômen, anorexia, depressão e mucosas pálidas, entretanto ao final desta semana três aves do G₃

morreram. Nos últimos sete dias de experimento as aves do G₂ demonstraram diminuição da ingestão de ração, perda de peso e abaulamento do abdômen. Os sinais clínicos foram semelhantes entre as aves dos grupos intoxicados, entretanto, as galinhas do G₄ apresentaram sinais clínicos mais severos. Durante os 28 dias de experimento, morreram 14 aves, sendo que oito pertenciam ao G₄, cinco ao G₃ e uma ao G₂. No grupo G₁ não houve mortalidade.

As aves que vieram a óbito e as sacrificadas no último dia de experimento, foram necropsiadas, encontrando-se lesões macroscópicas, nas aves dos grupos G₂, G₃ e G₄. As alterações observadas foram semelhantes entre os grupos variando apenas em severidade, conforme representado na Tabela 2.

Tabela 1 - Principais sinais clínicos observados nas galinhas poedeiras intoxicadas experimentalmente (0,02%, 0,04% e 0,06%) por sementes de *Crotalaria spectabilis* quando comparadas ao grupo controle (0,00%)

Sinais clínicos	Grupos experimentais			
	G1 (0,00%)	G2 (0,02%)	G3 (0,04%)	G4 (0,06%)
Anorexia	0/ 20 ¹	5/ 20	12/ 20	20/ 20
Fraqueza	0/ 20	5/ 20	12/ 20	19/ 20
Dispnéia	1/ 20	0/ 20	10/ 20	20/20
Penas eriçadas	0/ 20	6/ 20	11/ 20	18/ 20
Depressão	0/ 20	4/ 20	9/ 20	19/ 20
Mucosas pálidas	0/ 20	3/ 20	4/ 20	10/ 20
Abaulamento do abdômen	0/ 20	10/ 20	18/20	20/ 20
Emagrecimento	0/ 20	5/ 20	20/ 20	20/ 20
Incoordenação	0/ 20	0/ 20	2/ 20	3/ 20

Nota: ¹ número de animais afetados/ número total de aves do grupo

Tabela 2 - Principais achados de necropsia encontrados em galinhas poedeiras intoxicadas experimentalmente (0,02%, 0,04% e 0,06%) por sementes de *Crotalaria spectabilis* quando comparadas ao grupo controle (0,0%)

ACHADOS DE NECRÓPSIA	Grupo			
	G1	G2	G3	G4
Caquexia	0/ 20	3/20	10/ 20	20/ 20
Palidez de mucosas/ crista	0/ 20	10/ 20	11/ 20	13/ 20
Ascite	0/ 20	15/ 20	20/ 20	20/ 20
Parênquima hepático				
• Aumentado	2/ 20	6/ 20	3/ 20	0/ 20
• Diminuído	0/ 20	3/ 20	12/ 20	18/ 20
• Deposição de fibrina	0/ 20	10/ 20	16/ 20	17/ 20
• Hematoma subcapsular	0/ 20	8/ 20	11/ 20	15/ 20
• Congestão/ hemorragia	0/ 20	14/ 20	16/ 20	15/ 20
• Fibrose	0/ 20	3/ 20	10/ 20	18/ 20
• Necrose	0/ 20	3/ 20	12/ 20	18/ 20

Tabela 3 - Número de galinhas poedeiras intoxicadas experimentalmente (0,02%, 0,04% e 0,06%) por sementes de *Crotalaria spectabilis* quando comparadas ao grupo controle (0,00%). e escores de intensidades de lesões hepáticas.

Intensidade das lesões hepáticas (escores)	Grupo			
	G1	G2	G3	G4
1	0	3	2	0
2	0	4	2	6
3	0	1	4	3
4	0	3	4	5
Total de Lâminas Avaliadas	10	11	12	14

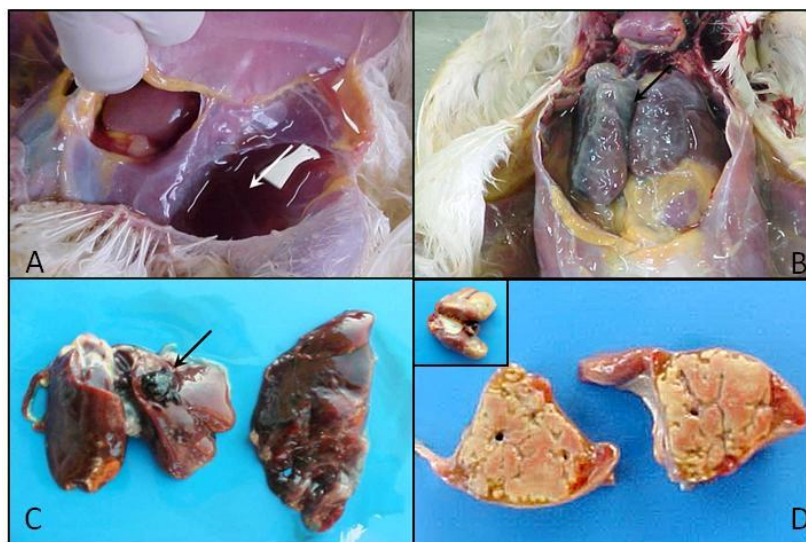


Figura 1 - Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* em galinhas poedeiras. A: Presença de líquido sero-sanguinolento na cavidade celomática (→); B: Presença de fibrina depositada sobre o fígado (→); C: Ruptura do parênquima hepático com presença de hematoma subcapsular (→); D: Fígado diminuído de tamanho com presença de extensa área com coloração amarelada e consistência firme. Em destaque nota-se que a área estende-se à superfície de corte.

A caquexia foi constatada pela deformidade da quilha e atrofia da musculatura do peito das aves intoxicadas, sendo este achado muito evidente nas aves do G₄. Outro achado frequente nas aves dos grupos G₂, G₃ e G₄ foi a ascite com presença de líquido, de coloração amarelada, avermelhada (Figura 1A) ou hemorrágico. Com frequência, notou-se depósito de fibrina sobre as vísceras (figura 1B) e/ou aderida à cápsula hepática (Figura 1B – seta). As lesões mais graves foram observadas nos fígados das aves, os quais apresentavam congestão, hemorragias e hematomas subcapsulares (Figura 1C) decorrentes de pontos de ruptura do parênquima hepático, fazendo com que o sangue ficasse acumulado entre o parênquima e a cápsula hepática, sem extravasar para cavidade. Outras alterações observadas foram o fígado de coloração amarelada, diminuído de tamanho, de consistência firme, com superfície irregular e focos de deposição de fibrina na cápsula, assim como, presença de nódulos amarelados distribuídos aleatoriamente pelo parênquima (Figura 1D) Nos outros órgãos não observaram-se alterações macroscópicas.

O exame microscópico dos órgãos das aves do grupo G₁ revelou em 3 aves a presença de esteatose hepática branca. Várias lesões foram observadas nos fígados dos animais dos grupos G₂, G₃ e G₄. Em diferentes níveis de gravidade constatou-se a presença de degeneração gordurosa e necrose de hepatócitos (Figuras 2A e 2B), megalocitose de hepatócitos (Figuras 2A e 2C), hemorragia (Figura 2D) e proliferação de tecido conjuntivo fibroso (Figuras 2A e 2B) e de ductos biliares (Figuras 2B e 2C). As hemorragias também se apresentavam extensas, formando grandes acúmulos de sangue (hematoma) ou se infiltrando entre os hepatócitos (Figura 2D). Congestão de sinusóides, fibrose capsular, colestase intra-hepática e infiltrado inflamatório misto foram visualizadas com menor frequência.

Devido à repetição das lesões histopatológicas hepáticas que ocorreram em todos os animais, realizou-se a classificação por escores de intensidade (Tabela 3). Assim, atribuiu-se o escore 1 para as lesões consideradas mais brandas – degeneração e megalocitose; escore 2 – degeneração, megalocitose, proliferação acentuada de tecido conjuntivo e de ductos

biliares; escore 3 - degeneração, megalocitose, proliferação acentuada de tecido conjuntivo, hemorragias leves, necrose de pequenas áreas; escore 4 – degeneração, megalocitose, necrose extensa, hemorragia profusa, proliferação de tecido conjuntivo e de ductos biliares intensa.

Nos rins foram observadas degeneração hidrópica e necrose de túbulos renais corticais em duas aves do G₁, 3 aves do G₂, 5 aves do G₃ e em 7 aves do G₄. No coração, nos pulmões e no pró-ventrículo das aves dos grupos G₂, G₃ e G₄ não foram observadas alterações histopatológicas.

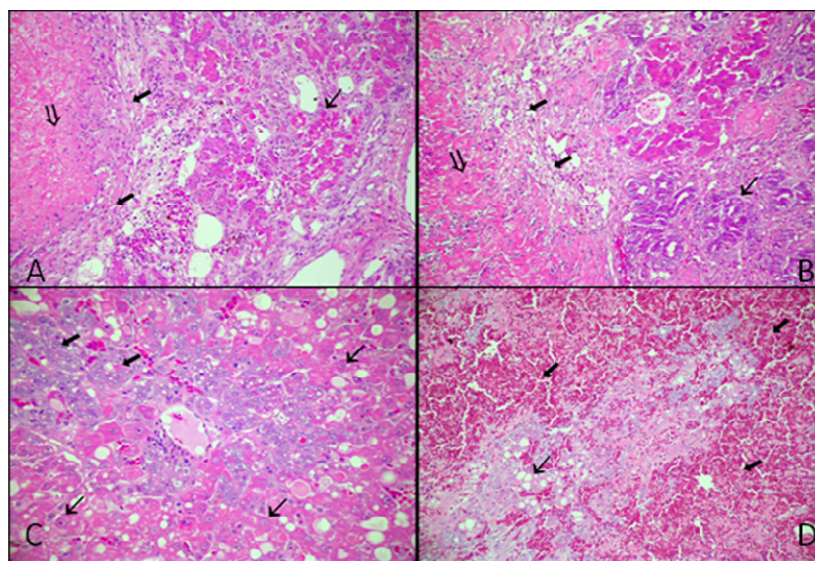


Figura 2 - Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria spectabilis* em galinhas poedeiras. Liver histopathology. A: extensa área de necrose de coagulação (⇒), proliferação de tecido conjuntivo fibroso (→) e megalocitose de hepatócitos (⇒) (HE, obj. 20X); B: proliferação de ductos biliares (→), além de necrose de coagulação (⇒) e proliferação de tecido conjuntivo fibroso (→) (HE, obj. 20X); C: proliferação de ductos biliares (→) e megalocitose de hepatócitos (⇒) (HE, obj. 40X); D: hemorragia multifocal e acentuada (→) e esteatose hepática (⇒) (HE, obj. 20X).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Todas as aves que ingeriram a ração contendo sementes de *C. spectabilis* apresentaram sintomas de intoxicação e esta sintomatologia foi semelhante entre os grupos, diferindo apenas no tempo e na intensidade do aparecimento dos sintomas, mostrando que a severidade do processo é proporcional a dose da intoxicação. Os dados mostram que os níveis de sementes utilizadas representam um grave problema para as aves de postura, uma vez que a quantidade de sementes é muito pequena quando comparada com a quantidade total de ração produzida. A ingestão das sementes de *C. spectabilis* pelos grupos G₂, G₃ e G₄ propiciou o aparecimento de sintomas muito semelhantes aos encontrados em vários estudos (ALFONSO et al., 1993, HATAYDE et al., 1997^a, HATAYDE et al., 1997b), como penas eriçadas, abaulamento do abdômen e dispnéia, exceto em relação à presença de icterícia, que não foi observada em nenhuma ave intoxicada.

Durante a necropsia, as alterações encontradas foram semelhantes às descritas por Alfonso et al. (1993), Hatayde et al. (1997a) e Hatayde et al. (1997b), como presença de ascite e fígado reduzido de volume, amarelado com pontos esbranquiçados, superfície retraída e recobertos por fibrina. Entretanto, a presença

de ascite com conteúdo sero-sanguinolento ou hemorrágico não foi descrita por estes autores. Outra lesão característica foi a presença de pontos de ruptura do parênquima hepático com a formação de hematomas situados entre o parênquima e a cápsula hepática, conforme ilustrado na Figura 1C. As alterações macroscópicas ficaram restritas apenas ao fígado, diferente do observado pelos demais autores que observaram lesões macroscópicas em rins e pulmões além das alterações hepáticas.

Ao exame microscópico no fígado encontraram-se lesões como hemorragias, alterações degenerativas, necrose de hepatócitos, proliferação conjuntiva, esteatose com grandes e pequenos vacúolos, infiltrados focais difusos ou extensos de células inflamatórias. Lesões estas semelhantes às descritas por vários estudos (ALFONSO et al., 1993, COPPLE et al., 2004, NOBRE et al., 2004). Além dessas lesões foram observados a presença de proliferação de ductos biliares, espessamento de cápsula hepática, hematomas e necrose aleatória e massiva de hepatócitos.

A presença de megalocitose, com adensamento da membrana nuclear e nucléolos evidentes e aumentados foi comum no fígado das aves intoxicadas. Esta mesma lesão foi evidenciada em pintinhos (HATAYDE et al., 1997a) frangos de corte (HATAYDE et al., 1997b), suínos (SOUZA et al., 1997) intoxicados com

sementes de *C. spectabilis*, ratos intoxicados experimentalmente com monocrotalina (COPPLE et al., 2004, WANG et al., 2005), humanos após a ingestão de alcalóides pirrolizidínicos contidos em suplementos dietéticos (FU et al., 2002) e equinos intoxicados naturalmente com *Crotalaria retusa* (NOBRE et al., 2004).

Segundo FU et al. (2002), a intoxicação aguda por monocrotalina causa uma hepatotoxicidade massiva, com necrose hemorrágica, enquanto a intoxicação crônica envolve lesões nos pulmões e rins, além do fígado. Entretanto isso não foi observado neste trabalho, uma vez que a ingestão de sementes nas proporções de 0,02, 0,04, 0,06% junto com a ração induziram quadros crônicos de intoxicação sem afetar pulmões e rins. As alterações hepáticas foram marcantes para as aves, sendo que muitas chegaram a apresentar ruptura do parênquima hepático com formação de hematomas subcapsulares. Além da ruptura hepática, a utilização das sementes nestas proporções pode ser utilizada como um modelo para indução experimental de ascite em aves.

Assim, pode-se concluir que a ingestão de sementes de *C. spectabilis* trituradas na ração para galinhas poedeiras, nas proporções de 0,02, 0,04, 0,06% por 28 dias causa apenas lesões hepáticas, sem alterações pulmonares ou renais, comprometendo o desenvolvimento e a produtividade das galinhas poedeiras.

REFERÊNCIAS

- ALFONSO, H. A., ANGELES-FIGUEREDO, M., SANCHEZ, L. M., GOMES, B. C. Intoxication due *Crotalaria retusa* and *Crotalaria spectabilis* in chickens and geese. **Veterinary and Human Toxicology**, v.35, n.6, p.539, 1993.
- COOPLE, B. L.; GANEY, P. E.; ROTH, R. A. Liver inflammation during monocrotaline hepatotoxicity. **Toxicology**, v.190, n.3, p.155-169, 2003.
- COPPLE, B. L.; RONDELLI, C. M.; MADDOX, J. F.; HOGLEN, N. C.; GANEY, P. E.; ROTH, R. A. A. Models of cell death in rat liver after monocrotaline exposure. **Toxicological Sciences**, v.77, n.1, p.172-182, 2004.
- FU, P. P.; YANG, Y. C.; XIA, Q.; CHOU, M. W.; CUI, Y. Y.; LIN, G. Pyrrolizidine alkaloids – tumorigenic components in Chinese herbal medicines and dietary supplements. **Journal of Food and Drug Analysis**, v.10, n.4, p.198-211, 2002.
- HATAYDE, M. R.; ALESSI, A. C.; BERCHIERI JUNIOR, A.; CURTARELLI, S. M. Estudo experimental sobre a intoxicação de *Gallus gallus domesticus* com sementes de *Crotalaria spectabilis*. I – Efeito em aves na fase inicial de crescimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.34, n.6, p.332-336, 1997a.
- HATAYDE, M. R.; BERCHIERI JUNIOR, A.; ALESSI, A. C.; CURTARELLI, S. M. Estudo experimental sobre a intoxicação de *Gallus gallus domesticus* com sementes de *Crotalaria spectabilis*. II- Efeito em aves na fase final de crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.49, n.2, p.239-249, 1997b.
- LUNA, L.G. **Manual of histological staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**, 3ed., New York: McGraw-Hill, 1968, 258p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Washington, Estados Unidos). **Nutrient requirements of poultry**. 9. ed. Washington: National Academy Press, 1994. 155p.
- NOBRE, V. M. T.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA FILHO, J. M.; DANTAS, A. F. M.; TABOSA, I. M.; VASCONCELOS, J. S. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em equídeos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.3, p.132-143, 2004.
- SILVA, J. A. A.; DONADIO, L. C.; CARLOS, J. A. D. **Adubação verde em citros**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. 37p. (Boletim Citrícola, 9).
- SOUZA, A. C.; HATAYDE, M. R.; BECHARA, G. H. Aspectos patológicos da intoxicação de suínos por sementes de *Crotalaria spectabilis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.1, p.12-18, 1997.
- WANG, P. Y.; YAN, F.; FU, P. P.; CHOU, M. W. Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid N-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. **Toxicology Letters**, v.155, n.3, p.411-420, 2005.
- WILLIAMS, M. C.; MOLLYNEAUX, R. J. Occurrence, concentration and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in crotalaria seeds. **Weed Science**, v.35, p.476-481, 1987.