

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL CON *Senecio oxyphyllus* EN BOVINOS**

**Por:**

**Rodrigo GIRÓ LÓPEZ  
Matías Sebastián DE LEÓN VEDOVATTI  
Camila REZK ELSO**

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de Doctor  
en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Producción Animal


MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2018**

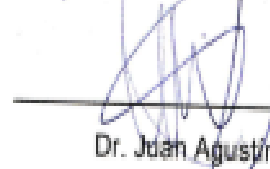
**PÁGINA DE APROBACIÓN**

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jorge Moraes

Segundo miembro (Tutor):

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Juan Agustín García

Tercer miembro:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Alicia Dib

Cuarto miembro:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Fernando Dutra

Quinto miembro:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Carmen García y Santos

Fecha:

06/12/2018

Autores:

  
\_\_\_\_\_  
Matías De León

  
\_\_\_\_\_  
Rodrigo Giró

  
\_\_\_\_\_  
Camila Rezk

## **AGRADECIMIENTOS**

*Todo el grupo agradece la colaboración, apoyo y dedicación de nuestro tutor Dr. Juan Agustín García, a nuestros co-tutores Dr. Fernando Dutra y Dra. Carmen García y Santos por su continuo apoyo y guía durante este proceso.*

*Al Director de INIA Treinta y Tres el Sr. Walter Ayala y funcionario del Laboratorio de Pasturas Néstor Serrón Duplatt por permitirnos utilizar sus instalaciones y maquinaria.*

*A los funcionarios del DILAVE Regional Este: Machado, Stella, Carina, Leticia y personal de seguridad por el apoyo y ayuda en todo momento.*

*A los productores e Ingenieros Agrs. Hermann Huber y Carminia Mello por el aporte de los animales, que sin ellos no pudiera haber sido posible el ensayo.*

*Ing. Agr. Mauricio Bonifacino de la Cátedra de Botánica de la Facultad de Agronomía por su aporte a través de la identificación de la especie.*

*Al Dr. Dale Gardner por realizar estudios incluidos en el trabajo.*

*A los empleados de las Instalaciones de Ortiz por brindar las balanzas para realizar los pesajes de los animales.*

*Ante todo y como último agradecer todo el apoyo, paciencia y compañía de nuestras familias, amigos y compañeros, que estuvieron a lo largo de este proceso.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>PÁGINA DE APROBACIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>3</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	<b>6</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
Seneciosis en la región Este de Uruguay .....	11
Clasificación botánica de <i>Senecio oxyphyllus</i> DC .....	13
Alcaloides pirrolizidínicos y su mecanismo de acción.....	13
<b>INTOXICACIÓN POR <i>Senecio</i> EN BOVINOS</b> .....	<b>16</b>
Epidemiología .....	16
Signos clínicos .....	17
Lesiones macroscópicas .....	18
Lesiones microscópicas .....	18
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
Objetivo general .....	20
Objetivos específicos.....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
Identificación de especie vegetal .....	21
Recolección de las plantas .....	21
Acondicionamiento de las plantas.....	21
Determinación de alcaloides pirrolizidínicos .....	22
Diseño experimental.....	22
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
Identificación botánica de especie vegetal y determinación de materia seca: .....	24
Determinación de Alcaloides Pirrolizidínicos .....	24
Ensayo experimental .....	24
Análisis clínicos y paraclínicos.....	26

Examen <i>post mortem</i> .....	28
Patología microscópica e Inmunohistoquímica.....	30
<b>Discusión .....</b>	<b>32</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>35</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>36</b>

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

### LISTA DE FIGURAS:

<b>Figura 1:</b> Senecio Oxyphyllus .....	13
<b>Figura 2:</b> Ternero Holando tratado al día 20 .....	25
<b>Figura 3:</b> Ternero Holando tratado al día 21 .....	25
<b>Figura 4:</b> Ternero Holando tratado al día 24 .....	26
<b>Figura 5:</b> Niveles séricos de la enzima gamaglutamiltransferasa .....	27
<b>Figura 6:</b> Niveles séricos de la enzima fosfatasa alcalina.....	27
<b>Figura 7:</b> Examen <i>post mortem</i> , cavidad abdominal se observa ascitis.....	29
<b>Figura 8:</b> Examen post mortem, cavidad abdominal se observa edema de mesenterio.....	29
<b>Figura 9:</b> Examen post mortem, hígado con discreto reticulado blanco en parénquima.....	30
<b>Figura 10:</b> Patología Microscópica de hígado .....	30
<b>Figura 11:</b> Inmunohistoquímica de hígado .....	31

### LISTA DE CUADRO:

<b>Cuadro 1:</b> Principales alcaloides pirrolizidínicos en especies de Senecio asociados a seneciosis en bovinos en la región. ....	16
<b>Cuadro 2:</b> Peso de los animales, dosificación de Senecio en base seca molida y cantidad de dosis, días de inicio de signos y duración del ensayo. ....	24
<b>Cuadro 3:</b> Parámetros de temperatura, frecuencia cardíaca y respiratoria, tomados diariamente durante el período del ensayo del animal tratado y del animal control.....	26
<b>Cuadro 4:</b> Valores séricos de albumina, globulina, proteínas totales, bilirrubina total y creatinquinasa en el animal tratado y el animal control.....	28

## RESUMEN

La intoxicación por consumo de especies del género *Senecio* es una de las más frecuentes en animales de producción. Es la principal causa tóxica de muerte en bovinos en la región Este de Uruguay, con un crecimiento exponencial en los últimos años e identificación de especies de *Senecio* no registradas como tóxicas al momento. La presente tesis confirma la toxicidad de la especie *S. oxyphyllus* en bovinos. Para ello se realizó un ensayo experimental en dos terneros Holando, uno tratado, al que se le administró una dosis oral de 4 g de MS por kg/PV por día y un animal control. Previa identificación de la especie vegetal *S. oxyphyllus*, recolección y secado para administración y estudio de alcaloides pirrolizidínicos. El alcaloide principal resultó retrorsina con una concentración total media de 2.6 mg/g. El ensayo duró 24 días, durante los cuales se realizó inspección clínica y control de parámetros clínicos, observando apatía, desmejoramiento progresivo y diarrea intermitente. Los valores séricos de fosfatasa alcalina y gamma-glutamyl-transferasa, que determinan funcionalidad hepática, se vieron alterados a partir del día 13 con un aumento progresivo. Al día 24 se realizó la eutanasia *in extremis* encontrando ascitis, edema de mesenterios, reticulado blanco discreto en parénquima hepático. Microscópicamente se observó leve megalocitosis, marcada fibrosis centrolobulillar, fibrosis portal conectiva leve y proliferación ductal. Mediante inmunohistoquímica se observó inmunomarcación positiva, células cuboidales dispuestas en túbulos de diferente calibre en espacio porta confirmando origen ductal. Estos hallazgos confirman la toxicidad de *S. oxyphyllus* en bovinos.

## **SUMMARY**

Intoxication due to consumption of species of the *Senecio* genus accounts for one of the most frequent plant-related poisonings in production animals. It is the main toxic cause of death in cattle in the eastern region of Uruguay, with an exponential growth in recent years and identification of species not registered as toxic at the time such as *S. oxyphyllus*. This thesis confirms the toxicity of the species *S. oxyphyllus* in cattle. An experimental assay was carried out on a Holando calf (treated animal) administering an oral dose of 4 g of DM per kg / pv per day, and a control animal. Previously, identification of the plant species *S. oxyphyllus*, collection and drying for administration and study of pyrrolizidine alkaloids were carried out. The main alkaloid was retrorsine with a mean total concentration of 2.6 mg / g. The trial lasted 24 days, during which clinical inspection and control of clinical parameters was performed, observing apathy, progressive deterioration and intermittent diarrhea. The serum values of phosphatase and gamma-glutamyltransferase, which determine liver function, were altered starting on day 13 with a progressive increase. On the 24th day, euthanasia was performed in extremis, finding ascites, mesentery edema, discrete white reticulum in hepatic parenchyma. Microscopically, mild megalocytosis, marked centrilobular fibrosis, mild connective portal fibrosis, and ductal proliferation were observed. Immuno histochemistry showed positive immunostaining of cuboidal cells arranged in tubules in portal space confirming ductal origin. The study confirms *S. oxyphyllus* toxicity in cattle.



## INTRODUCCIÓN

El género *Senecio* (Asteraceae) está integrado por más de 1500 especies distribuidas mundialmente, principalmente en Sud América y Sud África (Langel y col., 2011; Yang y col., 2011). Las plantas del género se caracterizan por la presencia de alcaloides pirrolizidínicos (AP) de conocido efecto hepatotóxico crónico letal. Afectan bovinos, equinos y ovinos, entre otras especies, con diferencias significativas de susceptibilidad (Stegelmeier, 2011). También se reportan episodios esporádicos en humanos (Prakash y col., 1999). A nivel regional, en Uruguay, Argentina y Sur de Brasil, su consumo resulta el principal diagnóstico de intoxicación. Es por eso que se considera de importancia económica, ya que son responsables de hasta el 50% de las muertes en bovinos por causas tóxicas (Riet-Correa y Medeiros, 2001; Rissi y col., 2007).

Los AP son metabolitos secundarios de las plantas, no tóxicos por sí mismos, requiriendo su bioactivación a pirroles reactivos por enzimas microsomales (citocromomono-oxigenasas P450). Esta transformación ocurre principalmente en el hígado, resultando el principal órgano afectado (Prakash y col., 1999; Stegelmeier, 2011). Los pirroles tienen efecto antimitótico al inhibir la síntesis de ADN y de la mitosis de los hepatocitos y además presentan efecto citotóxico (Cullen y Stalker, 2016). Existen más de 660 AP identificados con una gran diversidad de tipos y de concentraciones que varían intra- e inter-especies vegetales (Langel y col., 2011; Stegelmeier, 2011).

Debido a la baja palatabilidad de las plantas de *Senecio*, los episodios de intoxicación en bovinos de pastoreo se presentan en períodos de baja disponibilidad forrajera, principalmente en invierno y/o por altas cargas animales en potreros infestados con la planta (Riet Correa y col., 1993). La enfermedad en bovinos es de presentación crónica, ocurriendo semanas a meses después del consumo progresivo de la planta (Méndez y col., 1990; Riet-Correa y col., 1993; Cullen y Stalker, 2016). Los signos clínicos son variables, caracterizándose por adelgazamiento progresivo, diarrea intermitente, tenesmo y signos neurológicos con disminución del sensorio o agresividad marcada (Wouters y col., 2013). Raramente se observa fotosensibilización con ictericia y desprendimiento de piel en áreas no pigmentadas (Giaretta y col., 2014).

Macroscópicamente, el hígado se caracteriza por fibrosis con numerosos nódulos de regeneración, evidenciando consistencia firme al tacto (Grecco y col.,

2010). El parénquima presenta distintos patrones de color según distribución de la fibrosis con un reticulado blanco; y según eficiencia del drenaje biliar con cambios de coloración desde amarillenta, verde o marrón (Grecco y col., 2010; Cullen y Stalker, 2016). En cavidad abdominal se observa edema de mesenterio y ascitis, y múltiples pólipos serosos en la mucosa de la vesícula biliar (Riet-Correa y col., 2001; Grecco y col., 2010). Microscópicamente el hígado presenta las lesiones características de una intoxicación por AP con hepatomegalocitosis, fibrosis difusa y proliferación biliar (Cullen y Stalker, 2016). Estos cambios hepáticos son progresivos dados por el efecto acumulativo de los AP, e irreversibles de evolución generalmente letal (Stegelmeier, 2011; Cullen y Stalker, 2016).

En Uruguay es la principal planta tóxica de la Región Este (García y col., 2018) como así también de la región oeste (Rivero R, com. pers, 2017). Hasta el momento se identificaron 25 especies de *Senecio*, de las cuales se registraron como tóxicas las siguientes: *S. selloi*, *S. madagascariensis*, *S. heterotrichuis*, *S. brasilensis* y *S. grisebachii* (Dutra y col., 2011; Dutra y col., 2015; Preliasco y col., 2017).

En datos registrados por DILAVE Regional Este (1990-2016), resulta una de las principales patologías en sistemas extensivos de cría, y la principal causa tóxica (Dutra y col., 2015; García y col., 2016). La enfermedad tuvo un crecimiento exponencial a partir del 2010, con una disposición espacio-temporal significativa en seccionales de departamentos vecinos a la frontera con Brasil (Dutra y col., 2015; García y col., 2018). Esto se ha asociado a una disminución de la población ovina en los sistemas ganaderos de la zona y a la aparición de especies de *Senecio* que eran poco prevalentes o inexistentes (Dutra y col., 2015; Dutra y col., 2016). En brotes ocurridos entre 2015 y 2016 se identificó una nueva especie en la zona como *S. oxyphyllus*, con presencia en 23 de 28 predios ganaderos visitados asociados a intoxicación por Seneciosis bovina (Dutra y col., 2016; García y col., 2018)

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El género *Senecio* se encuentra dentro de la familia de las plantas compuestas (Compositae) y está integrado por más de 1500 especies distribuidas mundialmente, principalmente en Sud América y Sud África (Pelser y col., 2007; Monroy y Preliasco, 2008; Yang y col., 2011). Su consumo es reconocido como la intoxicación asociada a plantas más frecuente en animales de producción (Stegelmeier, 1999; Lucena y col., 2010). La intoxicación se presenta en especies vegetales que contienen alcaloides pirrolizidínicos (AP), los cuales actúan como químicos de defensa, siendo compuestos anti-herbívoros (Mattocks, 1986; Hartmann y Witte, 1995; Boppre, 2011). Estos AP, de gran variedad intra- e inter-especies, son bien conocidos por su efecto hepatotóxico crónico, letal, afectando principalmente bovinos y equinos, entre otras especies, existiendo diferencias significativas de susceptibilidad (Stegelmeier, 2011; Boppre, 2011). También existen reportes esporádicos de intoxicación en humanos (Prakash y col., 1999).

A nivel regional, en Uruguay, Argentina y sur de Brasil, el consumo de *Senecio spp* es la principal causa de intoxicación en bovinos a pastoreo, siendo responsable de hasta el 50% de las muertes por plantas tóxicas, generando grandes pérdidas económicas (Riet-Correa y Medeiros, 2001; Rissi y col., 2007; García y col., 2018).

### Seneciosis en la región Este de Uruguay

En Uruguay, según datos registrados por 30 años por DILAVE Regional Este la intoxicación por consumo de *Senecio* es una de las principales patologías en sistemas extensivos de cría -solo superada por la Tristeza parasitaria-, y la más importante de las etiologías tóxicas alcanzando el 25% de las causas de este origen (Dutra y col., 2015; García y col., 2016). También es la principal planta tóxica de la región litoral Oeste (Rivero R, com. pers, 2017).

La Región Este de Uruguay comprende el 38,3% de la población bovina del país cuya principal actividad es ganadera extensiva para producción de carne, predominando los pastizales naturales, con más de 4.300.000 millones de bovinos de carne. De aquí que su principal actividad sea ganadera de tipo extensivo, donde predominan los pastizales naturales con gran diversidad de especies vegetales (Más, 1978; Brazeiro y col., 2012), por lo que los animales se encuentran en continua exposición a posibles plantas tóxicas. En la región, la intoxicación por

*Senecio spp.* ha crecido exponencialmente en los últimos 10 años, siendo que de 91 focos de seneciosis registrados en bovinos en la Base de Datos 33 del DILAVE Regional Este entre 1988 y 2016 (28 años), el 76% de los mismos ocurrieron entre el 2010 y el 2016 (Dutra y col., 2017). Hasta el año 2007 aproximadamente, la seneciosis en el Este se presentaba como una intoxicación esporádica, en la cual la especie *S. selloi* era la causa predominante, con algunos focos por *S. brasiliensis* en las serranías de la Cuchilla Grande (Dutra y col., 2010). El aumento significativo de la seneciosis, a partir del 2010 se ha presentado en departamentos en estrecho contacto con la frontera de Brasil (Dutra y col., 2017; García y col., 2018). Se identificaron 2 clústeres de significancia, involucrando un clúster de la 5ª seccional policial de Cerro Largo, y el otro clúster la 11ª y 14ª seccional policial de Cerro Largo, todas vecinas con la frontera de Brasil (Dutra y col., 2015). Esto mostró un descenso espacio-temporal (Norte-Sur) de los clústeres con punto de partida la frontera con Brasil (García y col., 2018). Esta emergencia de la seneciosis se asoció a la posible invasión de plantas desde Brasil, disminución del stock ovino y a la aparición y/o expansión de especies de *Senecio* que anteriormente eran poco prevalentes o inexistentes (Dutra y col., 2016; García y col., 2018). Al momento, en la región Este, se identificaron las siguientes especies: *S. brasiliensis*, *S. madagascariensis*, *S. selloi* y *S. oxyphyllus* (García y col., 2018). Particularmente la alta densidad, la rápida dinámica de expansión y relativa alta toxicidad de la especie *S. oxyphyllus*, sugiere ser la principal involucrada en los brotes de seneciosis bovina en la región (García y col., 2018). Esta especie ha sido identificada hace más de 25 años en Rio Grande del Sur, Brasil, aunque es caracterizada como de baja toxicidad y presencia, de poca importancia epidemiológica sanitaria (Driemeier y col., 1992; Karam y col., 2004). Los focos de seneciosis se presentan durante todo el año con una marcada estacionalidad entre los meses de septiembre y noviembre (Dutra y col., 2017). Esta estacionalidad se da por el consumo de la planta en invierno cuando es el único forraje verde disponible y por el período de incubación de 1 a 2 meses (Méndez y col., 1990; Bersane y col., 2008; Preliasco y col., 2017). En cuanto a la edad, la mayoría de los focos ocurren en bovinos adultos, mayores a 2 años, generalmente vacas de cría, debido a su mayor estadía en los predios con mayor exposición a la planta, debido a la característica acumulativa-crónica de la intoxicación por AP (Cullen y Stalker, 2016).

## Clasificación botánica de *Senecio oxyphyllus* DC

Hierba anual bianual perenne, de aproximadamente 50 cm de alto, cortamente glanduloso pubescentes con tallos costados, erectos, ramificados en la base, densamente hojosos en la parte inferior y laxamente en la superior. Hojas alternas, sésiles, las inferiores lanceoladas, de 6 a 10 cm de largo, atenuadas en pseudopecíolo, agudas en el ápice, aserradas y algo revolutas en el margen, glabrescentes en la cara superior y densamente gríseo-tomentosas en la inferior; mientras las hojas superiores linear-lanceoladas, auriculadas en la base, atenuadas en el ápice, aserradas y notablemente revolutas en el margen. Capítulos radiados, numerosos, dispuestos en cimas corimbiformes laxas; pedúnculos glanduloso-pubescentes de hasta 5 cm de largo. Flores con corolas amarillas, liguladas o tubulosas, lígula oblonga, de 10-15 mm de largo. Aquenios cilíndricos, costados, glabros. Papús blanco (Fig. 1) (Freire y col., 2015)

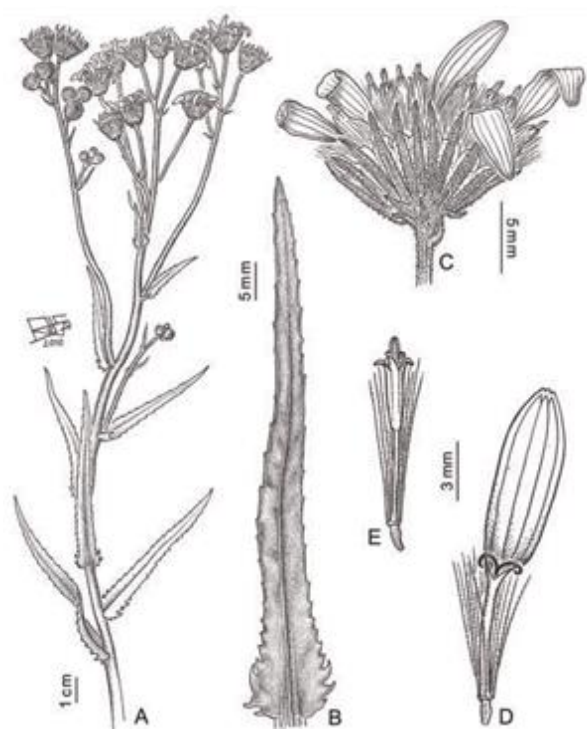


Figura 1. *Senecio Oxyphyllus*. A. Rama florífera. B. Hoja superior. C. Capítulo. D. Flor del margen. E. Flor del centro. (Adaptado de Freire y col., 2015).

## Alcaloides pirrolizidínicos y su mecanismo de acción

Los AP son metabolitos secundarios de las plantas (fitoquímicos) que actúan como químicos de defensa antiherbivoría (Mattocks, 1986; Boppre, 2011). Hay aproximadamente 660 estructuras químicas de AP en alrededor de 6.000 especies

de plantas de diversos géneros y familias (Culvenor, 1980). Los géneros se encuentran dentro de las familias *Asteraceae*, *Boraginaceae* y *Fabaceae*, principalmente, con una distribución mundial en casi todos los ecosistemas existentes (Hartmann y Dierich, 1998; Boppre, 2011). Consisten de ésteres con una base de necina (alcohol amino) y un ácido nécico con una estructura central de 2 anillos de 5 miembros fusionados que comparten un átomo de nitrógeno en la posición 4 (Mattocks, 1986; Crews y col., 2010). Según la estructura de la base de necina (esqueleto básico) existen principalmente 4 grupos de AP: retronecina, heliotridina, otonecina y platynecina (Fu y col., 2004). Los AP del grupo retronecina, heliotridina y otonecina contienen una base de necina insaturada siendo altamente tóxicos, mientras los de tipo platynecina con base de necina saturada no son tóxicos (Boppre, 2011; Yang y col., 2011; Zhu y col., 2015). Según el tipo de esterificación se diferencian 3 clases: monoésteres, diésteres no cíclicos y diésteres macrocíclicos (Hartmann y Witte, 1995; Gottschalk y col., 2015). Los diésteres macrocíclicos son los ésteres más tóxicos (Cheeke, 1988). El tipo senecionina macrocíclico es la principal de la tribu Senecioneae (Hartmann y Dierich, 1998). Estos comprenden más de 100 estructuras dentro de la tribu, siendo las principales especies asignadas las del género *Senecio* (Pelser y col., 2005; Yang y col., 2011). A partir de la senecionina se generan la mayoría de los AP derivados como integerrimina, retrorsina, usaramina, erucifolina, senecifilina y jacobina (Yaber y col., 2009).

Estos compuestos no son tóxicos por sí mismos, requiriendo de bioactivación por enzimas microsomales (citocromo mono-oxigenasas P450), principalmente en hígado, para formar pirroles reactivos *in situ* (McLean, 1970, Prakash y col., 1999). Tras ingestión de la planta, en rumen e intestino los AP son reducidos y absorbidos vía vena porta al hígado, ocurriendo la bioactivación y generando los metabolitos reactivos (Prakash y col., 1999; Stegelmeier, 2011). Los pirroles formados poseen efecto hepatotóxico actuando químicamente como agentes electrofílicos que reaccionan con sustancias celulares de carácter nucleofílico, principalmente formando aductos con ácidos nucleicos, amino ácidos y proteínas, resultando en daño citotóxico y antimitótico, con disfunción y necrosis celular (Mattocks, 1986; Stegelmeier, 2011; Burrow y Tyrl, 2013). En el Cuadro 1 se enumeran los principales alcaloides encontrados según especie de *Senecio* en la región, asociados a seneciosis en bovinos.

Los AP tienen grandes variaciones asociadas a su estructura genética y a factores ambientales como condiciones de estrés, sequías, condiciones del suelo, altas temperaturas e interacción con herbívoros (Kirk y col., 2010; Johnson y col., 1985; Tokarnia y col., 2000; Karam y col., 2004). La variación inter-especies determina la diversidad de perfiles de AP de tal manera que el conjunto de AP dentro de una especie de planta es generalmente único (Pelser y col., 2005; Kirk y col., 2010). Los componentes de la variación intra-especie del metabolismo secundario de las plantas están bajo cierto control genético, con perfiles AP especie específicos (Zangerl y Berenbaum, 1990; Berenbaum y Zangerl, 1992; Vrieling y col., 1993; Van Dam y Vrieling, 1994; Hartmann y Dierich, 1998). Esto genera similitud en perfiles de AP en las especies, aunque ante distintas condiciones, bióticas y/o abióticas puede generar variación en tipo y concentración de AP (Castells y col., 2014). Esto puede resultar en diversidad de perfiles de AP con distintos genotipos mostrando diferente respuesta (Van Dam y Vrieling, 1994; Kirk y col., 2010; Cheng y col., 2011). A pesar de la variación con múltiples tipos de AP presentes en una planta, uno de esos tipos es dominante respecto a concentración, siendo específico de especie (Macel y col., 2004; Langel y col., 2011; García y col., 2017).

García y col. (2018) registró a *S. brasiliensis* con la mayor concentración total de AP, seguido por *S. oxyphyllus*, mientras no hubo diferencias entre *S. madagascariensis* y *S. selloi* de baja toxicidad. En trabajos en Hawaii y Brasil la concentración de AP en *S. madagascariensis* varió entre rangos de 0.22 a 1.99 mg/g MS (Gardner y col., 2006) y de 0.50 a 4.0 mg/g MS (Stigger y col., 2014) respectivamente. (Karam y col., 2004) reportó variaciones en la concentración total de AP para *S. brasiliensis* (1.7 a 2.5 mg/g MS), *S. oxyphyllus* (0.25 a 1.96 mg/g MS) y *S. selloi* (0.08 a 0.21 mg/g MS). La alta variación en la concentración de AP está bien documentada, y se ha atribuido a etapas de crecimiento de la planta, estación del año como así también a condiciones ambientales (Karam y col., 2004; Grecco y col. 2010; Langel, 2011; Castells y col., 2014).

Cuadro 1. Principales alcaloides pirrolizidínicos en especies de *Senecio* asociados a seneciosis en bovinos en la región.

Especie de <i>Senecio</i>	Alcaloide pirrolizidínicos	País	Referencia
<i>S. brasiliensis</i>	Retrorsina, intergerrimina	Brasil	Méndez y col., 1990
<i>S. selloi</i>	Retrorsina, senecionina	Brasil	Méndez y col., 1990
<i>S. madagascariensis</i>	Retrorsina, intergerrimina, senecionina	Uruguay	Arróspide y col., 2010
<i>S. oxyphyllus</i>	Retrosina	Brasil	Liddell y col., 1992
<i>S. heterotrichus</i>	Retrorsina, intergerrimina	Brasil	Méndez y col., 1990
<i>S. grisebachii</i>	Seneciophylline, Senecionine, retrorsine	Uruguay	Preliasco y col., 2017

## INTOXICACIÓN POR *Senecio* EN BOVINOS

### Epidemiología

El efecto hepatotóxico de los AP por consumo de *Senecio* spp. asociado a mortandades en bovinos es bien conocido, caracterizándose por daño progresivo e irreversible de los hepatocitos (Riet-Correa, 1993; Stegelmeier, 2011; Wiedenfeld, 2011). Los bovinos poseen susceptibilidad intermedia junto a los equinos, mientras suinos y aves son las especies más susceptibles, los ovinos y caprinos son los menos susceptibles (Stegelmeier, 2011; Cullen y Stalker, 2016).

Las especies de *Senecio* son poco palatables, siendo consumidas bajo determinadas condiciones, principalmente en el período invernal, cuando la mayoría de las especies están en brotación. Es en ese momento que presentan alta concentración de AP y la disponibilidad de forraje está disminuida (Riet-Correa, 1993). Otra condición es la alta carga animal en potreros con alta infestación de la especie vegetal (Karam y col., 2011; García y col., 2018). A su vez la toxicidad de cada especie está dada por el perfil de AP que varía inter- e intraespecies, y entre regiones y años según condiciones ambientales (Habermehl y col., 1988, Méndez y



col., 1990, Hartman y Dierich, 1998; Tokarnia y col., 2000; Boppre 2011; García y col. 2018).

La morbilidad en bovinos varía entre 1% y 30%, con una letalidad cercana al 100% (Karam y col., 2011; Dutra y col., 2017; Krabbe y col., 2017). Las categorías animales jóvenes son más susceptibles, aunque los adultos resultan afectados con mayor frecuencia al permanecer mayor tiempo en los establecimientos, consumiendo mayor cantidad de *Senecio* (Karam y col., 2004; Panziera y col., 2017). A su vez, los machos son más susceptibles que las hembras, asociado a mayor actividad de enzimas que activan los AP en el hígado (Karam y col., 2004). Otros factores como situaciones estresantes con mayor demanda fisiológica como parición, transporte, entre otras, pueden desencadenar la intoxicación latente (Karam y col., 2011).

Los factores ambientales como frío excesivo en invierno o déficit hídrico en el verano y formas inadecuadas de manejo como fuego y carga animal excesiva (Crawshaw y col., 2007, Overbeck y col., 2007). Un pastoreo pesado en invierno, o en época de alta precipitación, contribuye a la disminución de la capa de cobertura vegetal, aumentando la incidencia de luz en el suelo y, consecuentemente, la temperatura, lo que favorece la germinación de las semillas allí presentes (Thompson y col., 1977, Coombs y col., 1991, Beskow, 1995).

La ingestión puede también ser accidental a través de heno, silaje y granos contaminados ya que mantiene la toxicidad, con una pérdida de hasta el 30% del contenido de alcaloides en silajes (Peterson y Culvenor, 1983, Méndez 1993; Coombs y col., 1997, Radostits y col., 2002; Boppre, 2011).

Hay 3 presentaciones clínico–patológicos: una forma aguda tras ingesta masiva de grandes cantidades de alcaloides en una dosis, poco frecuente debido a su baja palatabilidad; la exposición repetitiva o en fases a los AP en dosis bajas (generalmente estacional), de carácter crónico, con atrofia hepática y formación de nódulos de regeneración, siendo la presentación más común en bovinos a pastoreo; y la exposición prolongada exclusivamente a plantas del género *Heliotropium* dando un hígado firme, fibrótico, atrófico, sin nódulos de regeneración (Cullen y Stalker, 2016).

### **Signos clínicos**

Los signos clínicos en bovinos se presentan tras el consumo de más del 5% del peso vivo en un período de semanas (Stegelmeier, 2011). Los animales

afectados presentan principalmente falta de apetito, apatía, con o sin diarrea, tenesmo y pérdida progresiva de peso (Riet-Correa y col., 2009; Wiedenfeld, 2011). En fases terminales se caracteriza por signos neurológicos de depresión o hiperexcitabilidad, incoordinación y agresión (Wouters y col., 2013; Giaretta y col., 2014). Otros signos poco frecuentes son fotosensibilización (Giaretta y col., 2014; Panziera y col., 2017).

Los animales intoxicados se caracterizan por niveles elevados séricos de aspartato amino-transferasa y gamma-glutamyltransferasa (GGT), los cuales indican daño hepatocelular y colestásis o hiperplasia biliar, respectivamente (Bain, 2011). La determinación de GGT, es una enzima inducida, siendo el mejor parámetro por mantenerse elevado durante el transcurso de la enfermedad (Giaretta y col., 2014; Panziera y col., 2017).

### **Lesiones macroscópicas**

Macroscópicamente el hígado presenta patrones morfológicos variables dependiendo de la evolución y dosis ingerida, siempre encontrándose firme al tacto o corte del órgano (Riet-Correa y col., 2009; Grecco y col., 2010, Cullen y Stalker, 2016). Se caracteriza por fibrosis difusa y nódulos hiperplásicos en parénquima, de coloración y tamaño variable, y distorsión de la arquitectura normal del hígado (Grecco y col., 2010). La presencia de un reticulado fibroso puede ser desde discreto o marcado con patrón marmolado (Grecco y col., 2010). También se puede volver atrófico ya que la pérdida de hepatocitos es más rápida que su reemplazo (Cullen y Stalker, 2016; Preliasco y col., 2017). La coloración del parénquima varía con patrones desde amarillo, hasta verde y marrón, dependiendo de la eficiencia del drenaje biliar de los lobulillos hepáticos afectados (Cullen y Stalker, 2016; Panziera y col., 2017). A su vez, la fibrosis hepática puede causar hipertensión portal con ascitis y severo edema de mesenterios (Cullen y Stalker, 2016). Raramente se observa ictericia y fotosensibilización (Riet-Correa, 1993; Giaretta y col., 2014; Panziera y col., 2017). Un hallazgo frecuente es el edema de la pared de la vesícula biliar, en algunos casos con múltiples nódulos de 2-3 mm en la mucosa (Riet-Correa y col., 1993; Riet-Correa y col., 2009; Dutra y col., 2016).

### **Lesiones microscópicas**

Histológicamente las lesiones en hígado características de la intoxicación por AP son la presencia de megalocitosis, fibrosis difusa y proliferación de células de los conductos biliares (Grecco y col., 2010; Riet-Correa y col., 2009). La pérdida de

hepatocitos se compensa por distintos grados de megalocitosis y regeneración de hepatocitos normales menos inhibidos que forman nódulos de regeneración (Riet-Correa y col., 2009; Cullen y Stalker, 2016). Al mismo tiempo ocurre la reacción ductal en las tríadas portales como respuesta al estímulo regenerativo cuando la masa hepática es inadecuada (Cullen y Stalker, 2016). La fibroplasia en el bovino es marcada, siendo que el tejido fibroso puede infiltrar a través de los sinusoides separando los hepatocitos en pequeños grupos o individualmente (Grecco y col., 2010; Cullen y Stalker, 2016). En algunos casos puede ocurrir el patrón de fibrosis “veno-oclusiva” más común en humanos, con fibrosis y obliteración de las vénulas hepáticas (Cullen y Stalker, 2016; Panziera y col., 2017). Se observan diferentes grados y patrones de degeneración y necrosis de hepatocitos (Riet-Correa y col., 2009). A nivel del sistema nervioso central hay degeneración esponjosa (*status spongiosus*) atribuida a edema intramielínico, caracterizada por vacuolización de la sustancia blanca en el borde con la unión de la sustancia gris (Méndez y col., 1990; Riet-Correa y col., 2009; Wouters y col., 2013).

## **HIPÓTESIS**

*Senecio oxyphyllus*, recientemente identificada de exponencial crecimiento en la Región Este, se comporta como tóxica ante el consumo por parte de bovinos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Contribuir con la investigación y generar conocimiento acerca de las plantas tóxicas para bovinos existentes en nuestro país que perjudican la producción.

### **Objetivos específicos**

- Confirmar la intoxicación por *S. oxyphyllus* en bovinos.
- Conocer el potencial tóxico mediante perfil de alcaloides pirrolizidínicos de *S. oxyphyllus*.
- Determinar los parámetros clínicos y paraclínicos y describir los hallazgos macro y microscópicos a causa de la intoxicación.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio experimental en bovinos con material seco molido de *Senecio oxyphyllus* en el período 2017 en las instalaciones del DILAVE Regional Este “Miguel C. Rubino”, ubicado en la Ciudad de Treinta y Tres.

### **Identificación de especie vegetal**

En el mes de noviembre de 2016 se realizó la visita a un predio ganadero de la Sección Policial N°4 en el Departamento de Treinta y Tres. Los ejemplares para la identificación de las plantas de *Senecio* se realizaron en el km 303 de la Ruta Nacional N° 8, con la autorización de los propietarios. La planta fue secada por 24 horas a temperatura ambiente (24 a 28 °C) y colocada en un sobre de papel madera debidamente rotulada para envío a identificación a cargo del Ing. Agr. Mauricio Bonifacino de la Cátedra de Botánica de la Facultad de Agronomía.

### **Recolección de las plantas**

El 22 de noviembre del 2016 se visitó nuevamente el predio luego de la identificación de especie para la recolección en cantidad de *S. oxyphyllus*. La colecta fue efectuada manualmente, cortando material vegetal aéreo (tallo, hojas y flor). Se recolectaron aproximadamente 80 kg de materia fresca verde.

### **Acondicionamiento de las plantas**

Se realizó secado de las plantas a temperatura ambiente por 72 horas en un lugar con ventilación y techado. Luego se realizó secado en Horno de Secado Novatech a 60° por 24 horas. Una vez secas se procedió al molido de la planta en máquina de molido Henan Gelgoog 20B, hasta consistencia de polvo con criba de 1mm de diámetro. La cantidad de *Senecio* que se obtuvo luego de moler fueron 24 kg, el pesaje del mismo se realizó en balanza digital de precisión Cadence. Posterior al molido se acondicionó la muestra en bolsas con la cantidad de dosis diaria administrar, las cuales fueron pesadas individualmente con balanza digital de precisión Gram AH 1200 y posteriormente fueron dejadas en un lugar con sombra a temperatura ambiente hasta su utilización. Se midió la humedad correspondiente con una muestra representativa de 10 kg de materia.

## **Determinación de alcaloides pirrolizidínicos**

De las muestras molidas se pesaron 15 g y dispusieron en un tubo Falcon de 50mL y fueron enviadas al Laboratorio de Investigación de Plantas Tóxicas de ARS-USDA (Utah, Estados Unidos). En el mismo se realizó la determinación de AP mediante la técnica de HPLC-MS y GC-MS, a cargo del Dr. Dale Gardner.

## **Diseño experimental**

Se utilizaron 2 bovinos raza Holando de entre 100 y 150 kg de 4 a 6 meses de edad clínicamente sanos. Los animales fueron identificados, uno como animal control y otro como animal tratado.

Los terneros fueron mantenidos en un potrero limpio, con sombra, en donde no había presencia de plantas toxicas, predominando en la pastura las especies gramíneas y algunas leguminosas, a su vez presentaban agua ad libitum y se les brindaba un ingreso extra además de la pastura, de 500 grs de ración Ternero 16% PC a cada animal, una vez al día.

Se utilizó en el animal tratado una dosis alta de administración oral por sonda oro-esofágica de *S. oxyphyllus*, de 4 g de MS por kg/PV por día. La administración se acompañó de 1 litro de agua por vez.

Se efectuó la inspección clínica diaria de ambos animales en donde se midieron parámetros clínicos como temperatura corporal, frecuencia cardíaca y frecuencia respiratoria. A su vez se observó y describió la aparición de signos clínicos asociados a la intoxicación.

Conjunto se realizó la toma de muestras de sangre de vena yugular, con agujas cono rosa (40x12mm), diariamente con posterior extracción del suero, las cuales estaban debidamente rotuladas y conservadas en heladera a -20 grados para su análisis. Se determinaron enzimas para ver funcionalidad hepática (gamma-glutamilttransferasa, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, fosfatasa alcalina, albúmina y proteína) en el Laboratorio de Análisis Clínico de la Facultad de Veterinaria.

Los animales fueron pesados al día 0 y día 24 en una balanza de pesaje de barra para ganado 2000 kg. A su vez, se realizó análisis de parásitos gastrointestinales (Técnica de McMaster) al día 0 y 8 de los dos animales, de muestras de materia fecal extraídas del recto.

Al día 24 del ensayo se realizó la eutanasia del animal *in extremis*, de acuerdo con las recomendaciones de la CHEA (Protocolo: Ceaufvet-455) mediante tiopental

(aldehído) 60-80 mg/kg PV IV única dosis, como anestésico, y posteriormente exsanguinados para posterior examen post-mortem utilizando la técnica Americana (Mason y Madden, 2007), posición decúbito lateral izquierdo. Se recolectaron muestras de órganos para diagnóstico histopatológico, previa fijación por inmersión en formol neutral-bufferado (pH 7.2) al 10% por 48 hs, luego rutinariamente embebidos en parafina y posteriormente teñidos con hematoxilina y eosina para estudio histopatológico. Muestras de hígado se procesaron por inmunohistoquímica (IHQ), para identificación de células epiteliales ductales (Jain y col., 2010), a cargo del Laboratorio de Patología Especial Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

## RESULTADOS

### Identificación botánica de especie vegetal y determinación de materia seca:

La especie recolectada se identificó como *Senecio oxyphyllus* D.C. y porcentaje de materia seca se determinó en 29,5%.

### Determinación de Alcaloides Pirrolizidínicos

El principal alcaloide identificado resultó ser retrorsina en una concentración total de 2,6 mg/g.

### Ensayo experimental

En el Cuadro 2: se detalla la información referente a los pesos inicial y final, dosis administrada, comienzo de signos y día de muerte de los dos terneros, tratado y control.

Cuadro 2. Peso de los animales, dosificación de *Senecio* en base seca molida y cantidad de dosis, días de inicio de signos y duración del ensayo.

	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Dosis administrada (g MS/día)	Número de administraciones	Total de planta administrada	Inicio de signos (días)	Día de muerte
Tratado	110	80	440	25 Dosis	11 kg	13	24
Control	130	125	-	-	-	-	-

A partir del día 13 pos administración el animal tratado empezó a manifestar apatía, diarrea intermitente y desmejoramiento progresivo (Figura 2). Los signos fueron evidenciándose al día 20 con dificultad en la locomoción, depresión, períodos prolongados de decúbito esternal y lateral con dificultad para incorporarse, y abalnamiento ventral del abdomen (Figura 3). Al día 24 se realizó la eutanasia ya que el animal presentó imposibilidad para incorporarse (Figura 4).





Figura 2. Ternero Holando tratado, día 20. Decúbito esternal con sensorio disminuido.

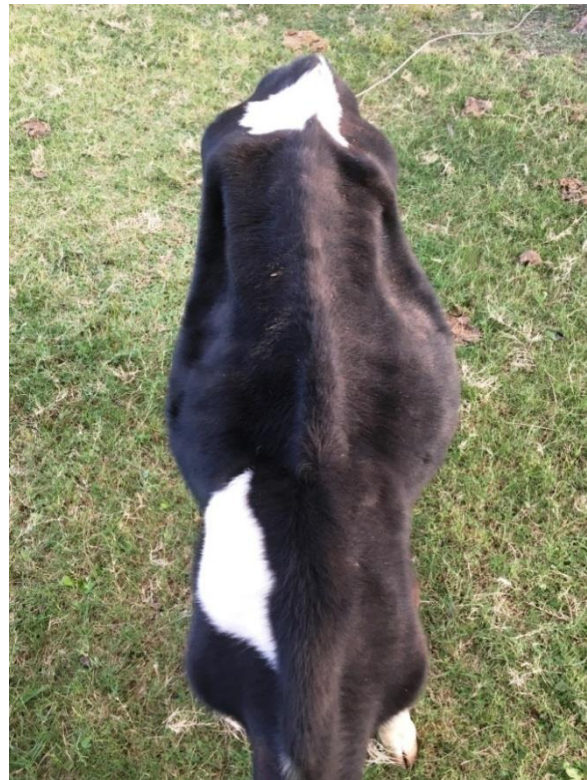


Figura 3. Ternero Holando tratado, día 21. Nótese prominencia de apófisis transversas y espinosas de los cuerpos vertebrales denotando pérdida de condición corporal con distensión ventral.



Figura 4. Ternero Holando tratado, día 24. Decúbito esternal con imposibilidad para incorporarse y depresión.

### **Análisis clínicos y paraclínicos**

Los parámetros de temperatura, frecuencia cardíaca y respiratoria resultaron dentro de los valores de referencia sin variaciones durante el ensayo ni entre los animales (Cuadro 3).

Cuadro 3. Parámetros de temperatura, frecuencia cardíaca y respiratoria tomados diariamente durante el período del ensayo, del animal tratado y del animal control. Valores de referencia extraídos de Bradford, 2010.

Parámetros	Animal tratado	Animal control	Valores Normales
Frecuencia Cardíaca	56 – 96	56 – 108	40 – 80
Frecuencia Respiratoria	36 – 92	40 – 80	12 - 36
Temperatura	36 - 38,6	36,4 - 38,9	38 - 39

Respecto a las enzimas que determinan función hepática la fosfatasa alcalina (FA) (VR: 182 – 248 U/l) y gamaglutamiltransferasa (GGT) (VR: 4 – 33 U/l) presentaron elevación de su concentración en el animal tratado a partir del día 13 días post administración, en comparación con el animal control (Figura 5 y 6). Los valores séricos de albumina, globulina, proteínas totales, bilirrubina total y creatinquinasa

resultaron dentro de los valores de referencia o levemente superiores sin diferencia significativa entre animal control y tratado (Cuadro 4).

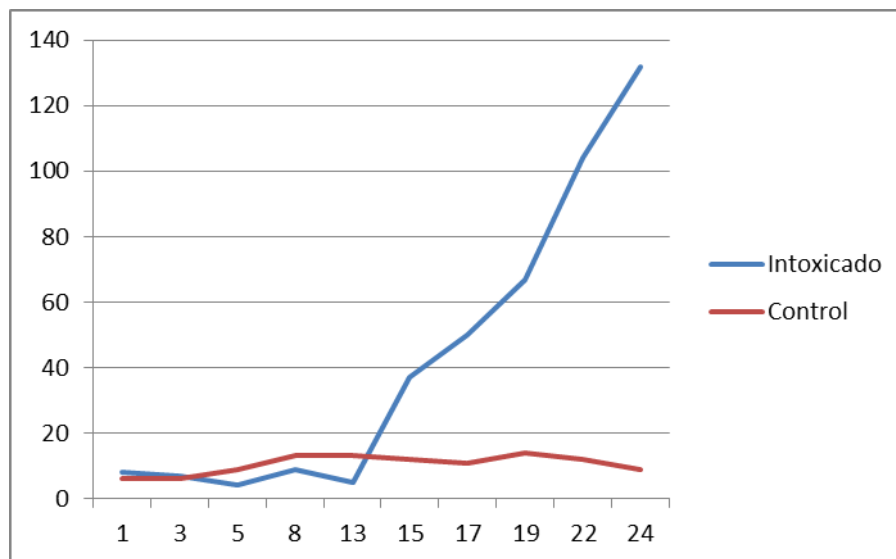


Figura 5. Niveles séricos de la enzima gamaglutamiltransferasa (VR: 4 – 33 U/l) del animal control (línea roja) y el animal tratado (línea azul) durante el ensayo.

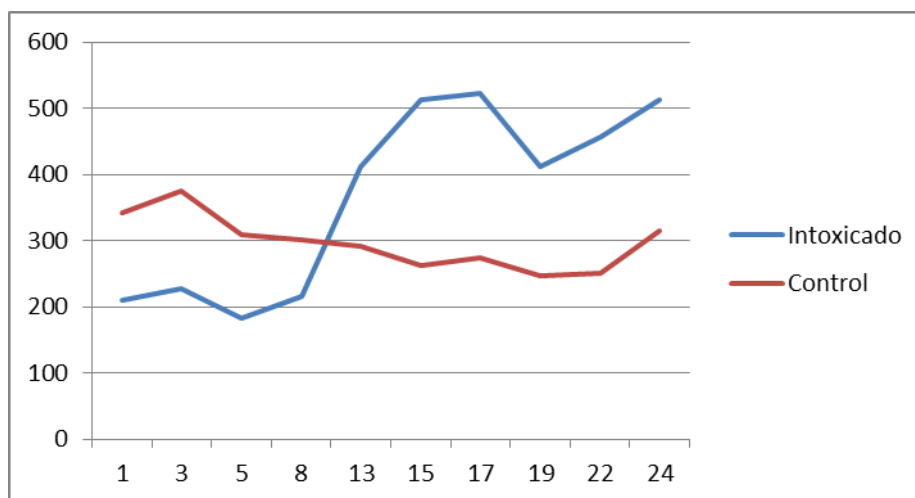


Figura 6. Niveles séricos de la enzima fosfatasa alcalina (VR: 182 – 248 U/l) del animal control (línea roja) y el animal tratado (línea azul) durante el ensayo.

Cuadro 4. Valores séricos de albumina, globulina, proteínas totales, bilirrubina total y creatinquinasa en el animal tratado y el animal control. Incluye 10 muestreos para los días 1, 3, 5, 8, 13, 15, 17, 19, 22, 24.

	Unidad	Animal tratado		Animal control		Valores de referencia
		Media	Rango mín- máx	Media	Rango mín.- máx	
Albúmina	g/dl	2,8	2,5 - 3,2	3,6	3,4 – 3,8	3,2 – 4,1
Globulinas	g/dl	5,6	3,8 - 8,9	3	2,6 – 3,4	3 – 3,5
Proteínas totales	g/dl	8,4	6,5 – 11,9	6,6	6,1 – 7	6,3 – 8,7
Bilirrubina total	mg/dl	1,7	0,4 – 3,3	0,2	0,1 – 0,3	0,1 – 0,3
Creatinquinasa	U/l	234	85 - 687	418	86 – 1243	69 – 268
Aspartato amino transferasa	U/l	132	76 - 178	120	90 – 166	46 – 189

El análisis de parásitos gastrointestinales al día 0, fue de 0 hpg para ambos animales, y para el día 8 el animal tratado fue de 0 hpg mientras el animal control fue de 100 hpg.

### **Examen *post mortem***

Macroscópicamente el animal tratado presentó abundante líquido (aprox. 10 lt) en cavidad abdominal (ascitis) (Figura 7) y marcado edema de mesenterio (Figura 8). El hígado presentó color blanquecino de la cápsula superficial y consistencia firme al corte del parénquima, con un discreto reticulado blanco (Figura 9). En los otros órganos no se observaron lesiones de significancia patológica.

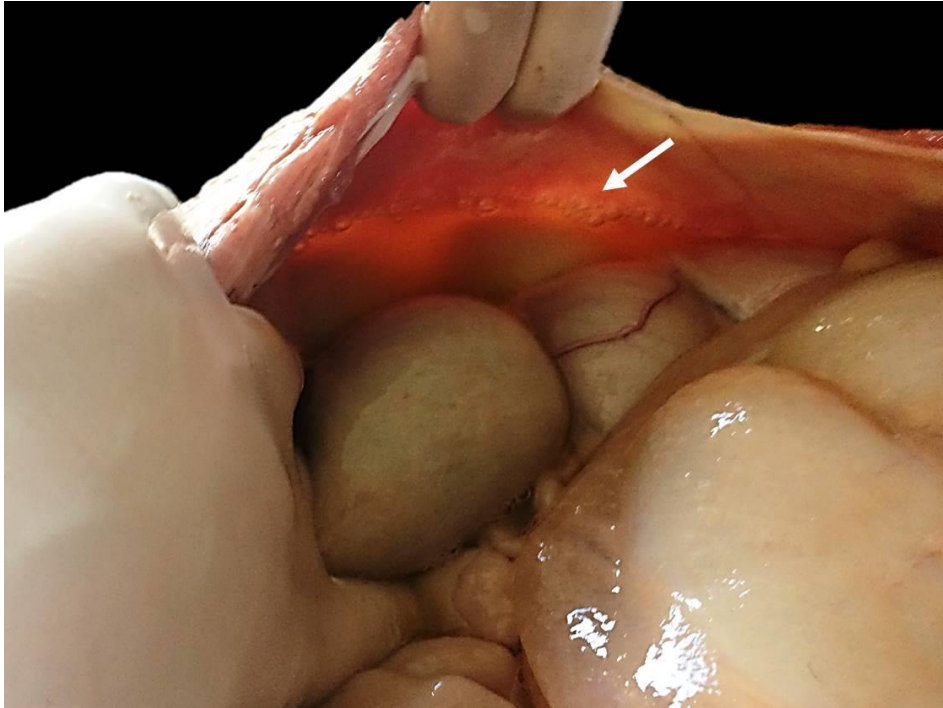


Figura 7. Ternero Holando tratado, cavidad abdominal. Se observa ascitis (flecha blanca).



Figura 8. Ternero Holando tratado, cavidad abdominal. Se observa edema de mesenterio. Note asa intestinal en inferior.



Figura 9. Ternero Holando tratado, hígado. Discreto reticulado blanco en parénquima.

### Patología microscópica e Inmunohistoquímica

Microscópicamente en hígado se observa fibrosis portal conectiva leve, y moderada fibrosis endotelial de venas centrolobulillares y portales, con oclusión parcial. Hay proliferación ductal periportal, con células epiteliales ductales formando nidos múltiples aleatorios, presencia ocasional de hepatomegalocitos (Figura 10). Los restantes órganos no presentaron lesiones de relevancia patológica.

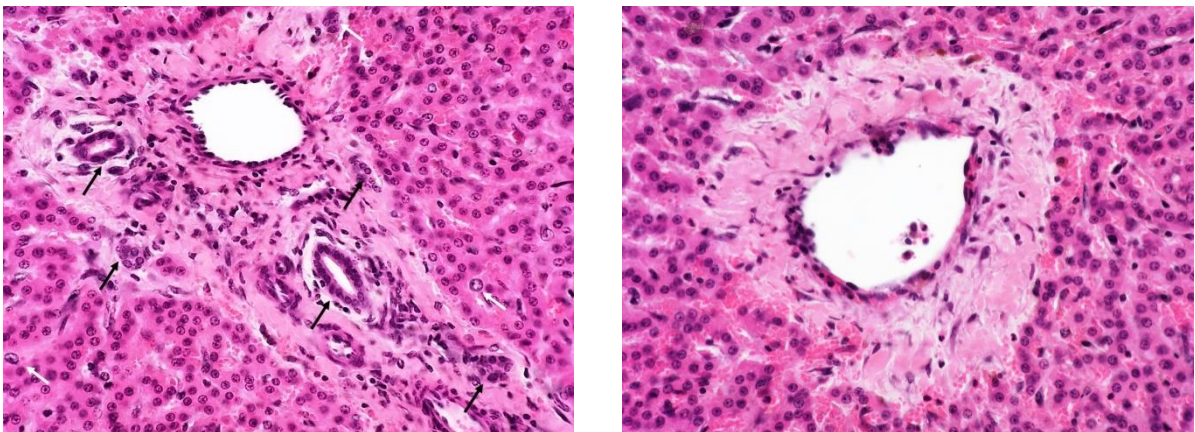


Figura 10. Ternero Holando tratado, hígado. Izquierda: fibrosis portal leve, proliferación ductal (flecha negra) y megalocitos (flecha blanca). Derecha: fibrosis de vena centrolobulillar. H&E 40x.

Mediante inmunohistoquímica se observó inmunomarcación positiva con anti CK19 en el citoplasma de células cuboidales dispuestas en túbulos de diferente

calibre en espacio porta y con distribución aleatoria formando nidos confirmando origen epitelial (Figura 11).

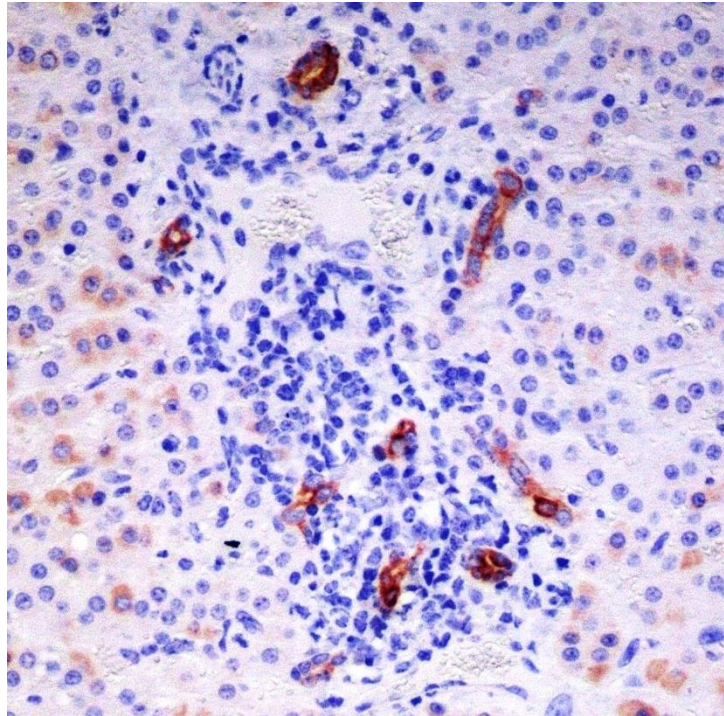


Figura 11. Ternero Holando tratado, hígado. Inmunomarcación intensa de células epiteliales del ducto biliar. 20x. IHQ (anti-citoqueratina 19, dilución 1:100), cromógeno diaminobencidina, contracoloración de hematoxilina. IHQ 40x.

## Discusión

Este trabajo permitió confirmar a la especie vegetal *S. oxyphyllus* como tóxica para bovinos (Méndez y col., 1990; Driemeier y col., 1992; Preliasco y col., 2017).

Hasta el momento, las especies de *Senecio* en Uruguay asociadas a brotes de seneciosis eran: *S. grisebachii*, *S. selloi*, *S. brasiliensis*, *S. heterotrichus* y *S. madagascariensis* (Villalba y Fernández, 2000; Dutra y col., 2011; Preliasco y col., 2017). *S. oxyphyllus* fue observada recientemente en la región Este de Uruguay (Dutra y col., 2016) pero no estaba confirmada como tóxica en el país. Actualmente es considerada la especie de mayor relevancia de la activa epidemia de seneciosis bovina en la región Este de Uruguay (Dutra y col., 2017; García y col., 2018). La misma posee una alta capacidad adaptativa con alta dispersión hacia áreas geográficas nuevas (García y col., 2018), sumado a la toxicidad confirmada, demuestra el alto riesgo potencial para el ganado de pastoreo. (Driemeier y col., 1992) reprodujo experimentalmente la intoxicación con *S. oxyphyllus* en bovinos, en Brasil. Sin embargo, en Brasil es considerada de baja toxicidad y presencia, con mínima implicancia en brotes de seneciosis bovina (Karam y col., 2004; Lucena y col., 2010).

Esta especie de *Senecio* identificada como nueva para Uruguay, posiblemente haya invadido departamentos de Cerro Largo desde la frontera con Brasil (Dutra y col., 2017; García y col., 2017). Esta expansión se pudo producir por traslado de semillas contaminadas con semillas de *Senecio*, pasaje de animales diseminadores mediante materia fecal, diseminación por viento, características propias de la especie como alta capacidad reproductiva y alta capacidad invasiva (Sindell y col., 1998; Gardner y col., 2006; Le Roux y col., 2010; García y col., 2018).

Como fue demostrado con otras especies de *Senecio*, la desecación de las plantas de *S. oxyphyllus* no determina la pérdida de su toxicidad (Riet-Correa y Méndez, 1993; Tokarnia y col., 2000; Villar y col., 2006; Bersane y col., 2008; Preliasco y col., 2017).

Cabe destacar que la especie *S. grisebachii*, confirmada como tóxica en la región Oeste de Uruguay (Monroy y Preliasco en 2008), posee características fenotípicas indiferenciables a *S. oxyphyllus* en estado vegetativo siendo necesaria la identificación en estado reproductivo por un especialista.



La concentración de AP de *S. oxyphyllus* del presente trabajo, resultó mayor que la de *S. madagascariensis* (0.22 a 1.99 mg/g MS) para muestras recolectadas en Hawaii y Brasil (0.50 a 4.0 mg/g MS) (Gardner y col., 2006; Stigger y col., 2014), y que *S. selloi* de muestras de Uruguay (1,8 mg/g MS) y de Brasil (1 mg/g MS) (Méndez y col., 1990; García y col., 2018). Mientras que fue ampliamente menor que *S. brasiliensis* (11,2 a 32,2 mg/g MS) (García y col., 2018). Sin embargo, Karam y col., (2004) reporta variaciones para *S. brasiliensis* (1.7 a 2.5 mg/g MS), *S. oxyphyllus* (0.25 a 1.96 mg/g MS) y *S. selloi* (0.08 a 0.21 mg/g MS), siendo muy similares a los valores del presente estudio. Otros trabajos observaron concentraciones mayores de *S. oxyphyllus* (4.0 mg/g DW) (Liddell y col., 1992). La variación en concentración de AP está bien documentada, asociado parcialmente a una base genética como a factores ambientales como sequías, condiciones del suelo como concentración de fósforo y nitrógeno, altas temperaturas, relación planta herbívoros, y etapa del ciclo vegetativo (Johnson y col., 1985; Tokarnia y col., 2000; Karam y col., 2004; Kirk y col., 2010; Grecco y col., 2010; Langel, 2011; Castells y col., 2014). La baja concentración de AP puede presentarse por altos índices pluviométricos (Karam y col., 2004; Grecco y col., 2010). (García y col., 2018) registró para la misma especie en el año 2015, con una precipitación acumulada del 30% respecto al 2016, niveles mayores a 6,8 mg/g de AP.

Respecto al tipo químico de AP resultó esencialmente el mismo que otros trabajos previamente reportados con retrorsina como principal alcaloide (Liddell y col., 1992). Este alcaloide resulta de los más tóxicos (Cheeke, 1988; Hartmann, 1999) y se encuentra también en *S. brasiliensis*, *S. madagascariensis* y *S. selloi*, también presentando otros alcaloides de menor toxicidad (Méndez y col., 1990; Trigo y col., 2003; Gardner y col., 2006; García y col., 2018).

La dosis utilizada de 4 g de MS por kg/PV, fue menor a la utilizada con *S. madagascariensis* donde se registró 65 g de MS por Kg/PV (Ferreira y Fumero, 2008); *S. selloi* con 180 grs de MS por Kg/PV y *S. brasiliensis* con dosis de 18 y 37 g de MS por kg/PV (Tokarnia y Dobereni, 1984). En cuanto a *S. grisebachii* se reprodujo la intoxicación a dosis de 15, 24 y 45 g de MS por kg/PV (Preliasco y col., 2017).

El ternero tratado desarrolló un cuadro progresivo con depresión, emaciación y fotofobia como observado en otras intoxicaciones experimentales (Méndez y col., 1990; Bersane y col., 2008; Preliasco y col., 2017).

Los hallazgos macroscópicos y microscópicos son coincidentes con una intoxicación con AP en casos naturales y experimentales (Riet-Correa y col., 2009; Grecco y col., 2010; Cullen y Stalker, 2016; Preliasco y col., 2017). Las lesiones se presentaron leves (en comparación con las otras descritas por los autores), posiblemente por la baja toxicidad, dada la baja concentración de AP.

La inmunomarcación positiva del citoplasma de células cuboidales dispuestas en túbulos de diferente calibre en espacio porta y con distribución aleatoria formando nidos confirman su origen epitelial y en conjunto con los hallazgos microscópicos fue interpretado como hiperplasia de conductillos biliares (Jain y col., 2010).

Es necesario el estudio y aplicación de medidas de control integradas de la maleza mediante manejos de pastoreo, controles biológicos y químicos para disminuir la densidad de la planta y así minimizar las pérdidas económicas.

La pérdida de peso lo puede asociar tanto a la intoxicación (en el caso del tratado), asociado a la baja disponibilidad forrajera o por un escaso ingreso de nutrientes extra que no cubrieron los requerimientos de ambos animales. Ambos animales disminuyeron de peso, siendo la pérdida de peso en el animal tratado considerablemente mayor, disminuyendo su peso de 110 kgs (peso inicial) a 80 kgs (peso final) en contraposición al animal control cuyo peso inicial fue 140 kgs y su peso final 135 kgs.

## **Conclusiones**

Se confirma la toxicidad de *S. oxyphyllus* para bovinos. El cuadro clínico, la patología clínica y los hallazgos macro y microscópicos coinciden con una intoxicación por AP natural o experimental.

La especie *S. oxyphyllus* recientemente reconocida en Uruguay como planta tóxica por productores y veterinarios en Uruguay, implica un alto riesgo de toxicidad para los bovinos de pastoreo.

Creemos esencial informar a productores y veterinarios sobre el riesgo de la misma y el cuadro tóxico en los animales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arróspide JI, Lorenzelli JM, Monteverde JN. (2010). Determinación de la toxicidad de *Senecio madagascariensis* para bovinos, Tesis de Grado, Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Montevideo, 58p.
2. Bain PJ. (2011). Liver. En: Duncan y Prasse's. Veterinary laboratory medicine clinical pathology, 5ª edition, Latimer, pp. 211-231.
3. Berenbaum MR, Zangerl AR. (1992). Genetics of secondary metabolism and herbivore resistance in plants. En: Rosenthal A, Berenbaum MR. Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. 2ª ed. San Diego, Academic Press, V.2, pp.415-438.
4. Bersane M, Torres AM, Kunie, Coelho IR. (2008). Experimental poisoning by *Senecio brasiliensis* in calves. *Pesq Vet Bras*; 28(1):43-50.
5. Beskow W. (1995). A study of the factors influencing the emergence and establishment of ragwort (*Senecio jacobaea* L.) seedlings in pasture. Tesis de Maestría, Universidad de Massey, Nueva Zelanda, 89p.
6. Boppre M. (2011). The ecological context of pyrrolizidine alkaloids in food, feed and forage, 28(3):260–281.
7. Bradford P. (2010). Anamnesis, exploración física y registros médicos en Rumiantes. En: Bradford P. Smith. Medicina Interna de Grandes Animales, California, Ed. Elsevier ,4ª edición, 1856p.
8. Brazeiro A, Panario D, Soutullo A. (2012). Clasificación y delimitación de las Eco-regiones de Uruguay, *Soc. Zoo. del Uy*, 41p.
9. Burrow GE, Tyrl RJ (2013). Asteracea martinov. En: Burrow (2013), Eds. John Wiley, Sons, Toxic plants of North America, 2ª ed, pp.203-214.
10. Castells E, Mulder PPJ, Trujillo MP (2014). Diversity of pyrrolizidine alkaloids in native and invasive *Senecio pterophorus* (asteraceae), pp.137-146.
11. Cheeke PR. (1995). Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock. *J. Anim. Sci.*, 73: 909-918.
12. Cheeke PR. (1988). Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. *J anim sci*, 66: 2343-2350
13. Cheng D, Kirk H, Mulder PPJ, Vrieling K, Klinkhamer PGL. (2011). Pyrrolizidine alkaloid variation in shoots and roots of segregating hybrids between *Jacobaea vulgaris* and *Jacobaea aquatica*. *New Phytologist*, 192: 1010–1023.

14. Coombs EM, Bedell TE, McEvoy PB (1991). *Senecio jacobaea*: importance, distribution, and control in Oregon. En: James L.F., Evans J.O., Ralphs M.H. y Child R.D., Ed. Noxious Range Weeds, San Francisco, pp.419-428.
15. Coombs E, Mallory-Smith C, Burrill LC, Callihan RH, Parker R, Radtke H. (1997). *Senecio jacobaea*, Publication Pacific Northwest Extension, (175):1-8.
16. Crawshaw D, Dall’Agnol M, Cordeiro JLP, Hasenack H. (2007). Caracterização dos campos sul-rio-grandenses, Boletim Gaúcho de Geografia (33):233-252.
17. Crews C, Berthiller F, Krska R. (2010). Update on analytical methods for toxic pyrrolizidine alkaloids, 396: 327–338.
18. Cullen JM, Stalker MJ. (2016). Liver and biliary system. En: Maxie MG. Jubb, Kennedy and Palmer’s pathology of domestic animals, 6ª ed. Missouri, Elsevier, pp.336–338.
19. Culvenor CCJ. (1980). Alkaloids and human disease. En: Smith RL, Bababunmi EA. Toxicology in the tropics, Eds. Taylor and Francis Ltd, London, pp.124-141.
20. Driemeier D, Barros CSL. (1992). Intoxicação experimental por *Senecio oxyphyllus* (Compositae) em bovinos. Pesq. Vet. Bras; 12(1-2): 33-42.
21. Dutra F, Romero A, Quinteros C. (2010). Intoxicación por *Senecio selloi*, Archivos Veterinarios del Este, boletín nº 2, p. 8.
22. Dutra F, Romero A., Quinteros C. (2011). Intoxicación por *Senecio heterotrichus*, Archivos Veterinarios del Este, boletín nº 11, pp. 4-5.
23. Dutra F, Romero A, Quinteros C, García J. (2015). Intoxicación por *Senecio madagascariensis* en vacas, Archivos Veterinarios del Este, boletín nº 18, pp. 4-5.
24. Dutra F, Romero A, Quinteros C, García J. (2016). Intoxicación por *Senecio oxyphyllus* en vaquillonas, Archivos Veterinarios del Este, boletín nº 19, pp. 5-7.
25. Dutra F, Romero A, Quinteros C, García J. (2017). Seneciosis bovina en el Este: una epidemia activa, Archivos Veterinarios del Este, boletín nº 20, pp. 11-12.
26. Ferreira S, Fumero R. (2008). Características reproductivas de *Senecio madagascariensis* en bovinos. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, 56p.
27. Freire SE, Ariza Espinar L, Salomón L, Hernández MP. (2015). Tribu Senecioneae Cass. En: Freire SE. Flora Vascular de la república Argentina. Instituto de Botánica Darwiniano, vol. 7, (2):27-220.
28. Fu PP, Xia QW, Lin G, Chou MW. (2004). Pyrrolizidine alkaloids: genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms, pp.1- 55.

29. García JA, Romero A, Quinteros C, Dutra F. (2016). Análisis retrospectivo de intoxicaciones asociadas a plantas tóxicas, micotoxinas y otros compuestos en bovinos de la Región Este de Uruguay (1994-2015). XLIV Jornadas Uruguayas, Buiatría 2016, Paysandú, Uruguay, pp.148-150.
30. García JA. (2017). Variabilidad genética y alcaloides pirrolizidínicos de *Senecio* spp. asociados a intoxicación en bovinos en la región este del Uruguay. Tesis de Maestría en Salud Animal, Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Montevideo, 67p.
31. García JA, García y Santos C, Rosas J, Dutra F, Dale R. Gardner. (2018). A Survey of *Senecio* spp. affecting livestock in Uruguay and the associated Pyrrolizidine Alkaloid Content, *Ciencia Rural*, 48:(2).
32. Gardner DR, Thorne MS, Molyneux RJ, Pfister JA, Seawright AA. (2006). Pyrrolizidine alkaloids in *Senecio madagascariensis* from Australia and Hawaii and assessment of possible livestock poisoning, pp.736–744.
33. Giaretta PR, Panzier W, Hammerschmitt ME, Galiza GJA, Brum JS, Bianchi RM, Hammerschmitt ME, Bazzi T, Barros CSL. (2014). Seneciosis in cattle associated with photosensitization. *Pesq. Vet. Bras*; 34 (5):427-432.
34. Gottschalk C, Ronczkaa S, Preiweigerta A, Ostertagc J, Klaffkea H, Schaffta H, Lahrssen-wiederholt M. (2015). Pyrrolizidine alkaloids in natural and experimental grasssilages and implications for feed safety, 207: 253- 261.
35. Grecco FB, Schild AL, Soares MP, Pereira CM, Silva PE, Sallis ESV. (2010). Aspectos epidemiológicos e padrões de lesões hepáticas em 35 surtos de intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*; 30(5):389-397.
36. Habermehl GG, Martz W, Tokarnia CH, Dobereiner J, Méndez MC. (1988). Livestock poisoning in South America by species of the *Senecio* plant. *Toxicon*, v 26 (3): 275-286.
37. Hartmann T, Witte L. (1995). Alkaloids: chemical and biological perspectives. En: Pelletier SW. *Chemistry, biology and chemoecology of pyrrolizidine alkaloids*. Ed. Oxford, Pergamon, pp.155–233.
38. Hartmann T, Dierich B. (1998). Chemical diversity and variation of pyrrolizidine alkaloids of the senecionine type: biological need or coincidence, *Planta* 206 pp.443-451.

39. Hartmann T. (1999). Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* 207, pp.483–495
40. Jain R, Fischer S, Serra S, Chetty R. (2010). The Use of Cytokeratin 19 (CK19) Immunohistochemistry in Lesions of the Pancreas, Gastrointestinal Tract, and Liver, 8(1).
41. Johnson AE, Molyneux RJ, Merrill GB. (1985) Chemistry of toxic range plants: variation in pyrrolizidine alkaloid content of *senecio*, *amsinckia*, and *crotalaria* species, 33: 50–55.
42. Karam FSC; Soares MP, Haraguchi M, Riet-correa F, Méndez MC, Jarenkow JA. (2004). Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do rio grande do sul. *Pesq. Vet. Bras*; 24(4): 191-198.
43. Karam FSC, Schild AL, Mello JRB. (2011). Intoxicação por *Senecio spp.* em bovinos no Rio Grande do Sul: condições ambientais favoráveis e medidas de controle. *Pesq. Vet. Bras*; 31(7):603-609.
44. Kirk H, Vrieling K, van der Meijden E, Klinkhammer PLG. (2010). Species by environment interactions affect pyrrolizidine alkaloid expression in *Senecio jacobaea*, *Senecio aquaticus*, and their hybrids, 36: 378–387.
45. Krabbe AA, Gonçalves MA, Silveira CS, Morais RM, Quevedo LS, Ribeiro PVR (2017). Aspectos epidemiológicos, clínico-patológicos e diagnóstico precoce da seneciose bovina no Oeste do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*; 37(12):1423-1429.
46. Langel D, Ober D, Pelsler PB. (2011). The evolution of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis and diversity in the Senecioneae, 10: 3–74.
47. Le Roux JJ, Wieczorek AM, Tran CT, Vorsino A. (2010). Disentangling the dynamics of invasive fireweed (*Senecio madagascariensis* poir. species complex), 12: 2251–2264.
48. Lucena RB, Rissi DR, Maia LA, Flores MM, Dantas AFM, Nobre VMT, Riet-Correa F, Barros CSL. (2010). Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras*; 30(5):447-452.
49. Liddell JR, Stermitz FR, Barros CLS. (1992). Pyrrolizidine alkaloids from *senecio oxyphyllus*, a brazilian poisonous plant, 4: 393.
50. Macel M, Vrieling K, Klinkhamer PGL. (2004) Variation in pyrrolizidine alkaloid patterns of *Senecio jacobaea*, 65: 865–873.
51. Más C. (1978). Region Este. En: Pasturas IV. CIABB. 2da edición; 18:49-85.

52. Mason GL, Madden DJ. (2007). Performing the Field Necropsy Examination. *Vet Clin Food Anim*, 23: 503–526.
53. McLean EK. (1970). The toxic action of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids, 22: 429-483.
54. Mattocks AR. (1986) Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. Academic Press, London, 393p.
55. Méndez MC, Riet-Correa F, Schild AL, Martz W. (1990). Intoxicação experimental por cinco espécies de *Senecio* en bovinos y aves. *Pesq. Vet. Bras*, 10(3/4): 63-69.
56. Méndez MC, Riet-Correa F (1993). Intoxicación por *Senecio tweediei* en el ganado en el Sur de Brasil, (35):55.
57. Monroy I, Preliasco M. (2008). Investigación sobre la toxicidad de *Senecio grisebachii* en bovinos del Uruguay. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, 74 p.
58. Overbeck GE, Müller SC, Fidelis A, Pfadenhauer J, Pillar VD, Blanco C, Boldrini II, Both R, Forneck ED. (2007). Brazil's neglected biome: The South Brazilian campos. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 9:101-116.
59. Panziera W, Goncalves MA, Oliveira LGS, Lorenzetti MP, Reis M, Hammerschmitt ME, Pavarini SP, Driemeier D. (2017). Intoxicação por *Senecio brasiliensis* em bezerros: padrão e evolução de lesões hepáticas. *Pesq. Vet. Bras*; 37(1): 8-16.
60. Pelser PB, Devos H, Theuringcet AL. (2005). Frequent gain and loss of pyrrolizidine alkaloids in the evolution of senecio section *jacobaea* (asteraceae). *Phytochemistry*, 66: 1285–1295.
61. Pelser PB, Nordenstam B, Kadereit JW. (2007). An ITS phylogeny of tribe Senecioneae (Asteraceae) and a new delimitation of *Senecio*. *Taxon*, 56: 1077–1104.
62. Peterson JE, Culvenor CCJ. (1983). Plant and fungal toxins. En: Keeler RF, Tu AT, Ed. *Handbook of natural toxins*, New York, Dekker, V.1, pp. 637–681.
63. Prakash AS, Pereira TN, Reilly PEB, Seawright AA. (1999). Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutation research*, 443: 53–67.
64. Preliasco M, Gardner D, Moraes J, Gonzalez AC, Uriarte G, Rivero R. (2017) *Senecio grisebachii* Baker: Pyrrolizidine alkaloids and experimental poisoning in calves, 133: 68-73.



65. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW. (2002). Enfermedades causadas por toxinas vegetales, de hongos, cianofitos, cianobacterias y venenos de garrapatas y animales vertebrados. En: Blood, D.C.; Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W., Medicina Veterinaria 9a ed., México, Ed. Interamericana Vol. 2, pp.1939-2029.
66. Riet- Correa F, Méndez MC, Schild AL. (1993). Intoxicações por plantas e micotoxicoses em animais domésticos. Hemisferio Sur, Montevideo, 8p.
67. Riet-Correa F, Medeiros RMT (2001). Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importancia econômica, controle e riscos para a saúde pública. Pesq. Vet. Bras; 21: 38-42.
68. Riet-Correa F, Medeiros RMT, Pfister J, Schild AI, Dantas AFM. (2009). Poisoning by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian Livestock. En: Riet-Correa, Ed. da Universidade Federal de Campina Grande, 4: 66-80.
69. Rissi DR, Rech RR, Pierezan F, Gabriel AL, Trost ME, Brum JS, Kommers GD, Barros CSL. (2007). Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no rio grande do sul: 461 casos. Pesq. Vet. Bras; 27(7): 261-268.
70. Rivero R, Riet-Correa F, Dutra F, Matto C. (2011). Toxic plants and mycotoxins affecting cattle and sheep in Uruguay. En: Riet-Correa F, Pfister J, Schild A. L. y Wierenga T. L. Poisoning by plants, mycotoxins, and related toxins. London, CAB, pp 25-34.
71. Sindel B, Jhorar O, Reeve I, Thompson L, Moss J, Coleman M. (2009). Weed detection on farms, Armidale, 22p.
72. Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, Schoch TK, Gardner DL, Coulombe RA, Molyneux RJ. (1999). Pyrrolizidine alkaloids plants, metabolismo and metabolis. J Nat Toxins, 8(1).
73. Stegelmeier BL. (2011). Pyrrolizidine Alkaloid-Containing Toxic Plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium spp.*). Vet Clin North Am Food Anim Pract., 27(2):419-428.
74. Stigger AL, Stima-Silva P, Fiss L, Coelho ACB, Santos BL, Gardner DR, Marcolongo - Pereira C, Schild AL. (2014) *Senecio madagascariensis* poir. (asteraceae): uma nova causa de seneciose em bovinos no sul do rio grande do sul. Pesq. Vet. Bras; 34(9):851-855.
75. Tokarnia CH., Döbereiner J. (1984). Intoxicacion experimental por *Senecio brasilensis* en bovinos. Pesq. Vet, Bras; 4(2): 39-65.

76. Tokarnia C, Döbereiner J, Peixoto PV. (2000) Plantas hepatotóxicas. En: Tokarnia CH, Döbereiner J, Peixoto PV. Plantas Tóxicas do Brasil, Rio de Janeiro, Editora Helianthus, pp.80-110.
77. Thompson K, Grime JP, Mason G. (1977). Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature, (267):147-149.
78. Trigo RJ, Leal IR; Matzenbacher NI, Lewinsohn TM. (2003). Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in Southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). Biochem. Syst. Ecol, 31(1): 1011-1022
79. Van dam NM, Vrieling K. (1994). Genetic variation in constitutive and inducible pyrrolizidine alkaloid levels in *Cynoglossum officinale*. Oecologia; 99: 374-378.
80. Van Dam NM, Vuister LWM, Bersghoeff C, Vos H, Van der Meijden E. (1995). The reason of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*: deterrent effects against generalist herbivores. J Chem Ecol., 21: 507–523.
81. Villar D, Ortiz JJ. (2006). Plantas toxicas de interés veterinario, Barcelona, Masson, 179p.
82. Villalba J, Fernández G. (2000). Algunas consideraciones sobre *Senecio* spp, Cangüé, 19p.
83. Vrieling K, De Vos H, Van Wijk Cam. (1993). Genetic analysis of the concentrations of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio jacobaea*. Phytochemistry, 32: 1141–1144.
84. Wiedenfeld H, Edgar JA. (2011). Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants, Phytochem rev, 10: 137–151
85. Wouters ATB, Boabaid FM, Fredo G, Wouters F, Driemeier D. (2013). Caracterização imuno-histoquímica das alterações encefálicas em bovinos com hepatopatia tóxica por *Senecio* spp. Pesq Vet Bras; 33(11):1325-1331.
86. Yaber MA, Ciancia M, Leicach SR. (2009). Variación en la producción de alcaloides en inflorescencias de *Senecio grisebachii* por deficiencia de nutrientes, 27(1): 31-39.
87. Yang Y, Zhao L, Wang YF, Chang ML, Huo CH, Gu YC, Shi QW, Kiyota H. (2011). Chemical and Pharmacological Research on Plants from the Genus *Senecio*. Chem. Biodiv, 8: 13-72.
88. Zangerl AR, Berenbaum MR. (1990). Furano coumarin induction in wild parsnip: genetics and populational variation, pp.1933-1940.

89. Zhu L, Li N, Ruana JQ, Fuc PP, Zhao ZZ, Lin G. (2015). Chemical diversity investigation of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in qianliguang (*Senecio scandens*) and related species by UHPLC-QTOF-MS. WJTCM; 1(2): 1-11.