

Características micrográficas y digestión ruminal *in vitro* de una planta tóxica (*Nerium oleander*, “laurel de campo”) versus otra inocua (*Eucalyptus camaldulensis*)

Zeinsteger, P.¹; Palacios, A.¹; Leaden, P.¹; Gurni, A.²

¹ Cátedra de Bioquímica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118 (B1904AAP) Buenos Aires, Argentina. E-mail: pzeins@fcv.unlp.edu.ar.

² Cátedra Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 954 (C1113AAD) Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Zeinsteger, P.; Palacios, A.; Leaden, P.; Gurni, A.: Características micrográficas y digestión ruminal *in vitro* de una planta tóxica (*Nerium oleander*, “laurel de campo”) versus otra inocua (*Eucalyptus camaldulensis*). Rev. vet. 20: 1, 3–9, 2009. Se definen como plantas tóxicas de importancia agropecuaria aquellas que, ingeridas voluntariamente por el ganado en condiciones naturales, causan daños a la salud y pueden provocar la muerte. En los animales domésticos las intoxicaciones vegetales son frecuentes y ocurren especialmente en épocas del año en donde la oferta forrajera disminuye por falta de precipitaciones. Los glucósidos cardiotónicos constituyen un grupo de principios activos presentes en cierto grupo de plantas con gran efecto farmacológico a nivel del aparato digestivo y principalmente sobre el corazón. El “laurel de campo” o “laurel rosa” (*Nerium oleander* L.) es un arbusto ampliamente distribuido en el mundo, capaz de producir la muerte si se ingieren sus hojas u otras partes. En ciertas ocasiones el profesional veterinario confunde inicialmente el material vegetal hallado en el contenido ruminal luego de una necropsia con otra planta totalmente inocua: hojas del árbol “eucalipto”. En el presente trabajo se explican algunos caracteres botánicos que permiten la diferenciación entre las hojas de “laurel de campo” y “eucalipto”, y además se investiga la digestión ruminal *in vitro* de ambas plantas utilizando la técnica del rumen artificial en miniatura. Las hojas de *N. oleander* y *E. camaldulensis* fueron sometidas a digestión ruminal *in vitro* y posterior análisis micrográfico para determinar los efectos de los microorganismos ruminales sobre las estructuras vegetales. No se observaron cambios significativos en los diferentes órganos vegetales que dificulten la identificación de ambas especies, lo que permite concluir que la micrografía constituye una herramienta valiosa como método de diagnóstico complementario para confirmar las intoxicaciones producidas por plantas, permitiendo en este caso en particular la diferenciación entre *Nerium oleander*, especie muy tóxica, y *Eucalyptus camaldulensis*, vegetal inocuo.

Palabras clave: bovino, intoxicación, *Nerium oleander*, *Eucalyptus camaldulensis*, micrografía.

Abstract

Zeinsteger, P.; Palacios, A.; Leaden, P.; Gurni, A.: Microhistological characteristics and *in vitro* ruminal digestion of a poisonous plant (*Nerium oleander*) versus another non-toxic (*Eucalyptus camaldulensis*). Rev. vet. 20: 1, 3–9, 2009. Poisonous plants are a serious threat to cattle. When eaten by animals in natural conditions, they lead to diverse organ injuries and may cause death. Plant poisonings are common and take place mostly during the dry season, when forage lacks due to scarce raining. Cardiotonic glycosides are compounds present in some groups of plants with marked pharmacological effects on the digestive system as well as the heart. “Laurel de campo”, “laurel rosa” or “oleander” is a widespread shrub in many countries that may cause death if ingested. Veterinarians often confuse the plant material found in the ruminal content after a necropsy with the non-toxic plant “eucalyptus”. The purposes of this work are to describe some botanical characteristics of both plants to allow the differentiation between the leaves of “oleander” and “eucalyptus”, as well as to investigate the artificial ruminal digestion of both plants by means of the miniature artificial rumen. Leaves of *N. oleander* and *E. camaldulensis* were submitted to artificial ruminal digestion

and later microhistological analysis to determine the effects of ruminal microorganisms on plant structures. No significative changes were observed for the considered vegetal organs. We conclude that microhistological analysis is a useful tool for the complementary diagnosis to confirm plant poisonings, allowing in this particular case the differentiation between *Nerium oleander*, extremely poisonous, and *Eucalyptus camaldulensis*, non-toxic species.

Key words: cattle, intoxication, *Nerium oleander*, *Eucalyptus camaldulensis*, micrographic analysis.

INTRODUCCIÓN

Numerosos vegetales pueden producir efectos tóxicos en el organismo cuando sus principios activos ingresan por la vía digestiva^{5,29}. Se definen como plantas tóxicas de importancia agropecuaria aquellas que, ingeridas voluntariamente por el ganado en condiciones naturales, causan daños a la salud y pueden provocar la muerte³².

En los animales domésticos las intoxicaciones vegetales son frecuentes y ocurren especialmente en aquellas épocas del año en donde la oferta forrajera disminuye, debido a la falta de precipitaciones³². Durante el invierno se produce una disminución en el crecimiento de pasturas naturales y artificiales destinadas a la alimentación de los animales; el hambre produce en éstos una alteración en la selectividad y palatabilidad hacia los vegetales, lo que deriva en el consumo de especies que normalmente no son ingeridas. Por el contrario, en otras circunstancias estas plantas son rechazadas debido al mal olor y sabor desagradable que poseen, propiedades utilizadas por los vegetales como defensa contra insectos y herbívoros^{15,17}.

La toxicidad depende de muchas variables tales como especie vegetal, estadio vegetativo, época del año, condiciones climáticas y edáficas; otras son inherentes al animal: especie, edad, sexo, momento del ciclo reproductivo y estados sanitario y nutricional, entre otros factores. El veterinario dedicado a grandes animales con frecuencia debe asistir a pacientes intoxicados por ingestión de vegetales, que exhiben síntomas poco claros y hallazgos *post-mortem* variados e inconstantes^{21,23}.

Los glucósidos cardiotónicos constituyen un grupo de principios activos presentes en ciertas plantas con gran efecto farmacológico a nivel del aparato digestivo y principalmente sobre el corazón¹⁶. Digoxina y digitoxina son utilizados ampliamente desde hace mucho tiempo para el tratamiento de afecciones cardíacas; sin embargo, son sustancias que poseen un margen de seguridad estrecho^{13,27}. A la familia Apocynaceae pertenecen algunos géneros de plantas que poseen como principios activos glucósidos cardiotónicos. El “laurel de campo”, “laurel de jardín”, “laurel rosa” o “adelfa” (*Nerium oleander* L.) es un arbusto o árbol ampliamente distribuido en el mundo, capaz de producir la muerte de quien ingiere sus hojas: unos cuantos gramos pue-

den conducir a un desenlace fatal^{28,30}. En Australia esta planta ha sido responsable del 27% de los casos de intoxicaciones de origen vegetal en seres humanos²⁸.

Dado que el “laurel de campo” existe en Argentina, la ausencia de reportes sobre intoxicaciones del ganado con dicha planta quizás se deba a que los veterinarios actuantes hayan confundido el material vegetal hallado en el contenido ruminal con otra planta totalmente inocua: hojas del árbol eucalipto, tal vez por la semejanza que presentan los fragmentos de ambas hojas. Sin embargo, son vegetales totalmente diferentes en cuanto a la morfología completa de las hojas y la actividad de los principios activos; aún así muchas veces resulta difícil determinar de cuál de las dos se trata en la gran mezcla que representa el contenido ruminal.

Los glucósidos cardiotónicos se encuentran en varios géneros pertenecientes a las familias Apocynaceae, Asclepiadaceae, Celastraceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae y Ranunculaceae, entre otras¹¹. Existen dos grupos básicos de glucósidos en las plantas: cardenólidos y bufadienólidos, ambos con efectos directos sobre la función cardíaca. Los más conocidos dentro de los cardenólidos son digoxina y digitoxina, químicamente se caracterizan por poseer estructura de esteroide con un grupo lactona. Poseen la propiedad farmacológica de inhibir la bomba de sodio–potasio (Na^+K^+ ATPasa), con la resultante depleción del potasio intracelular e incremento de la kalemia^{4,13}. A dosis bajas tienen un efecto terapéutico en el corazón, aumentando la fuerza de contracción, disminuyendo la frecuencia cardíaca, e incrementando el volumen minuto. El valor terapéutico de estas sustancias es reconocido desde el año 1775¹⁶, y hace tiempo son producidas comercialmente a partir de *Digitalis lanata* Ehrh²⁰. Con dosis más elevadas se registra un detrimento progresivo de la conductividad eléctrica a través del corazón, causando actividad cardíaca irregular y eventualmente un bloqueo total del corazón^{4,13}.

Existen ensayos fitoquímicos que permiten la detección de este grupo de sustancias en una variedad de plantas de diferentes géneros²⁶. Algunas son cultivadas en jardines, como la “estrella de Belén” (*Ornithogalum* spp.), el “lirio de los valles” (*Convallaria majalis* L.), el “laurel amarillo” (*Thevetia peruviana* Pers. Schum.) y el “laurel rosa”, “laurel de campo” o “adelfa” (*Nerium oleander* L.), entre otras. En esta última el glucósido principal recibe el nombre de oleandrina³³.

El “laurel de campo” constituye una potencial causa de intoxicación debido a la frecuencia con la cual se lo cultiva como arbusto ornamental, principalmente por el atractivo de sus flores y su resistencia a la falta de agua⁴. Se lo encuentra en plazas y jardines de casi todas las ciudades del mundo. Es un arbusto alto de 3–4 metros de altura, tiene hojas opuestas o verticiladas en número de tres, de color verde intenso, largamente lanceoladas (8–14 x 1,5–2,5 cm), coriáceas (consistencia recia aunque con cierta flexibilidad), con nerviaciones secundarias pinnadas, muy numerosas, densas³.

En Argentina también se lo planta en fincas y chacras. Los glucósidos cardiotónicos se encuentran en toda la planta, en especial en las hojas, y poca cantidad debe ser consumida para que se presenten los efectos tóxicos. En bovinos y equinos, tan solo el 0,005% del peso vivo en hojas de *Nerium oleander* ha provocado la muerte¹⁴. En un estudio experimental en equinos, 40 a 80 mg/kg de peso vivo de hojas administradas por sonda nasogástrica causaron efectos digestivos y cardíacos. La toxicidad se mantiene en plantas secas, aunque reducida³¹.

Los animales que consumen las hojas y tallos desarrollan inicialmente alteraciones en el aparato digestivo y corazón¹. Se cita además irritación cutánea cuando el jugo de la planta entra en contacto con la piel¹⁸. Los glucósidos actúan directamente sobre el tracto gastrointestinal causando enteritis hemorrágica, cólicos y diarrea^{14, 19}. Los efectos cardíacos se evidencian por taquicardia ventricular y bloqueo cardíaco de primer y segundo grado³⁰. Si los animales afectados son inspeccionados al inicio de la intoxicación, presentan extremidades frías y un pulso rápido y débil.

El curso raramente excede las 24 horas antes del desenlace fatal. Esto último ocurre en la casi totalidad de los casos; los animales son encontrados muertos y los hallazgos durante la necropsia consisten en hemorragia, congestión, edema y degeneración celular de órganos torácicos y de cavidad abdominal. En algunas ocasiones se observa degeneración miocárdica y necrosis²⁴. Como diagnóstico complementario se puede intentar la detección de los glucósidos cardiotónicos en suero, orina, tejidos y contenido ruminal o estomacal, sin bien las técnicas involucradas (HLPC, RIA) son complicadas y costosas y por lo tanto de difícil aplicación^{8, 25}.

En Argentina el consumo de los productos de la poda de *N. oleander* produjo la muerte de terneros de tambo. Los veterinarios que participaron en dichos casos informaron el hallazgo de fragmentos vegetales similares a las hojas de “eucalipto” (*Eucalyptus* spp.), a partir de la observación directa del contenido ruminal durante la necropsia. Se ha reportado la muerte de personas que consumieron infusiones de hojas de apariencia semejante a las de *Eucalyptus* spp, cuando en realidad eran de *N. oleander*¹⁰.

El eucalipto es un árbol originario de Australia perteneciente a la familia Myrtaceae. Mide 30–50 metros de altura, aunque en algunos casos puede alcanzar los

90 metros. Sus hojas van cayendo al suelo a medida que envejecen. Las que forman brotes jóvenes y las de los retoños son opuestas, sésiles, verde glauco, cerosas; las de ramas viejas son alternas, cortamente pecioladas, verde grisáceo, coriáceas, colgantes³. Como principios activos poseen aceites esenciales aromáticos, como mentol y eucaliptol, con propiedades balsámicas y expectorantes⁷.

Al contrario de lo que acontece con *N. oleander*, el consumo de hojas de eucalipto no produce efectos tóxicos; por lo tanto, es importante poder caracterizarlas y diferenciarlas de las de *N. oleander* a fin de realizar un diagnóstico correcto. Además de las características botánicas, ambos vegetales se pueden diferenciar por algunas de sus estructuras histológicas: *Nerium oleander* posee criptas estomáticas con pelos tectores y cristales de calcio en forma de drusas; *Eucalyptus camaldulensis* tiene cavidades esquizógenas destinadas al almacenamiento de los aceites esenciales^{2, 3}.

La micrografía es la técnica que pone en evidencia estas estructuras, consiste en una disociación o disgregación del material vegetal con hidróxido de sodio al 5% en caliente y durante unos minutos, y la posterior observación del material vegetal con microscopio óptico²². Las diferentes estructuras histológicas de una planta presentan mayor o menor grado de resistencia a los efectos de la acción microbiana ruminal. Los estomas y pelos tectores son bastante resistentes, pudiendo llegar a observarse incluso en las heces de los herbívoros; los pelos glandulares presentan una menor resistencia, y en algunos casos pierden la cabezuela, permaneciendo solo el pie. Las células epidérmicas son también de fácil observación. Dependiendo de la especie vegetal se pueden hallar distintos tipos de cristales constituidos por oxalato de calcio^{2, 3}.

Todas estas estructuras son observables tanto en la digestión ruminal *in vivo* como *in vitro*. Esta última ha sido utilizada en estudios sobre digestibilidad^{6, 12}. Ciertas técnicas han sido reputadas como complejas debido al costo de los equipos y el mantenimiento de las condiciones de trabajo, por lo cual se ha propuesto el uso del rumen artificial en miniatura¹², de fácil implementación y bajo costo. Consiste esencialmente en un saco de celulosa suspendido dentro de un frasco pequeño con tapa a rosca, el cual contiene una solución químicamente similar a la saliva de ovino. Dentro del saco se coloca el material vegetal conjuntamente con líquido ruminal, luego se enrosca la tapa, y finalmente todo el conjunto se ubica dentro de un incubador. En general las estructuras vegetales no sufren mayores cambios, siendo posible su identificación en el contenido ruminal. Esto posibilita determinar las bases para la implementación de un método complementario de diagnóstico que posibilite identificar y diferenciar estructuras anatómicas de ambas especies en el contenido ruminal de animales. Así, conjuntamente con la evaluación clínica del veterinario, el hallazgo de restos de *Nerium oleander* en la ingesta de animales necropsiados permitirá corroborar la intoxicación por ingestión de dicha planta.

En el presente trabajo se detallan los caracteres botánicos que permiten la diferenciación entre las hojas de laurel de campo y eucalipto, y además se describen los resultados obtenidos de la digestión ruminal *in vitro* de ambas plantas utilizando la técnica del rumen artificial en miniatura, para caracterizar los efectos de los microorganismos ruminales sobre ellas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron hojas de *Nerium oleander* y *Eucalyptus camaldulensis* de la ciudad de La Plata, Buenos Aires. Las plantas fueron previamente separadas en sus partes constitutivas, y las hojas desecadas a 50°C hasta peso constante. La identificación botánica estuvo a cargo de uno de los autores (Alberto Gurni), y ejemplares de referencia fueron depositados en el Herbario de la Cátedra Farmacobotánica y del Museo de Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA).

Digestión ruminal *in vitro*. Se utilizó la técnica del rumen artificial en miniatura¹². Dos tiras de membrana tubular para diálisis Spectra/Por (Spectrum Medical Industries, Inc., California) de 10 cm de longitud se ataron en un extremo (individualmente) con nylon para formar posteriormente un saco. En el interior de una de ellas se colocó 1 g de hojas de *Nerium oleander*, y en el otro la misma cantidad de hojas de *Eucalyptus camaldulensis*. En ambos se colocaron 10 ml de líquido ruminal previamente filtrado sobre malla fina obtenido de un ovino fistulizado. El recipiente de recolección para el líquido ruminal se precalentó a 39°C para evitar que el cambio brusco de temperatura pudiera afectar negativamente a los microorganismos ruminales.

El extremo libre de cada tira se anudó con nylon, quedando así conformados dos sacos tubulares. Se colocaron por separado en dos frascos de vidrio con tapa a rosca, los que contenían una solución similar en composición mineral a la saliva del ovino (100 ml). Dicha solución constituye el medio McDougall, comúnmente conocido como saliva artificial. Previamente a su utilización la solución se burbujeó en forma vigorosa con CO₂ por aproximadamente 10 minutos hasta pH 6,0.

Cada dispositivo así formado constituyó un rumen artificial en miniatura (Figura 1). Ambos fueron colocados dentro de un baño metabólico (Dubnoff Metabolic Shaking Incubator, Precision Lab.) a 38°C durante 24 h. Aproximadamente luego de 3 horas de iniciada la digestión *in vitro* se abrieron las tapas de ambos frascos por unos segundos a fin de facilitar la salida

del gas producto de la fermentación. A continuación se taparon, se agitaron para mezclar el líquido ruminal con el material vegetal y se colocaron nuevamente en el baño metabólico. Finalizada la digestión (Figura 2), ambos sacos se retiraron de los frascos y sus contenidos se lavaron con agua destilada, se filtraron, y se secaron en estufa a 60°C durante una hora. Las muestras fueron luego procesadas para micrografía.

Micrografía. Las hojas de ambas plantas fueron sometidas a disociación leve: se colocaron en sendos vasos de precipitación de 30 ml de capacidad cada uno, y se agregaron 10 ml de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5%. Se llevaron a ebullición durante 5 minutos sobre platina térmica²². Se filtraron y se lavaron con abundante agua destilada, y tal material fue luego observado con microscopio óptico. Las fotografías de los preparados se realizaron con el auxilio de un fotomicroscopio Carl Zeiss Axiolab MC 80DX.

RESULTADOS

En las muestras de *N. oleander* que no fueron sometidas a la acción del líquido ruminal (controles) pueden observarse criptas estomáticas con pelos tectores unicelulares (Figura 3) y cristales de oxalato de calcio en forma de drusas (Figura 4), estructuras que caracterizan a esta planta. Las hojas que fueron sometidas a la digestión ruminal *in vitro* presentan las mismas estructuras que los controles, se pueden observar drusas y criptas estomáticas con una ligera deformación (Figura 5). Los parénquimas asimilador en empalizada y esponjoso conservan sus morfologías distintivas aún luego del proceso de digestión ruminal (Figura 6).

Las muestras tratadas de *E. camaldulensis* prácticamente no presentan diferencias respecto de las muestras control. Esto se debe a que las hojas son muy resistentes al proceso de digestión ruminal, debido



Figura 1. Rumen artificial en miniatura. En su interior se observa el saco de celulosa con la muestra vegetal y contenido ruminal, antes de la digestión *in-vitro*.



Figura 2. Rumen artificial en miniatura. Se observa el contenido gaseoso producto de la fermentación en la parte superior del saco, luego de 24 horas de incubación.

principalmente a la presencia de numerosas fibras. En el disociado control se observan cavidades secretoras lisígenas (Figura 7). En la muestra digerida pueden observarse fragmentos de epidermis que presentan estomas anomocíticos (Figura 8), fibras (Figura 9) y cavidades secretoras lisígenas parcialmente conservadas (Figura 10).

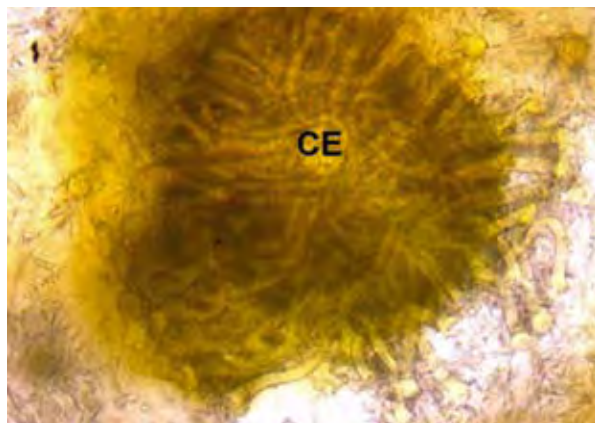


Figura 3. Micrografía control de *N. oleander*. CE: criptas estomáticas. Disociación leve, 20X.

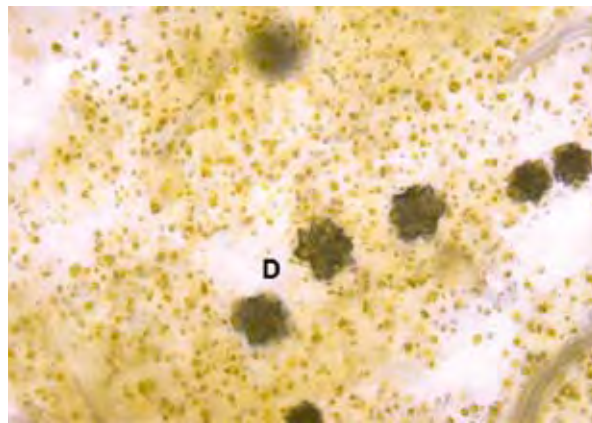


Figura 4. Micrografía control de *N. oleander*. D: drusas. Disociación leve, 40X.

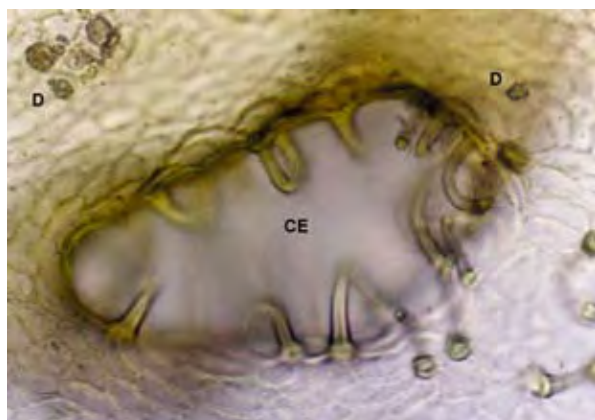


Figura 5. *N. oleander*. Micrografía post digestión ruminal *in-vitro*. CE: criptas estomáticas. D: drusas. Disociación leve, 40X.

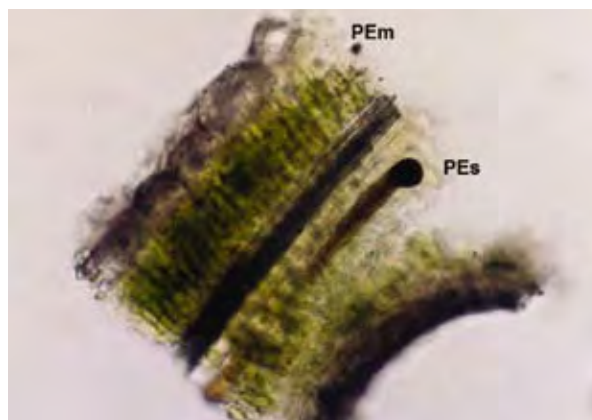


Figura 6. Micrografía de *N. oleander* luego de la digestión ruminal *in-vitro*. Parénquima asimilador en empalizada (PEm) y esponjoso (PEs). Disociación leve, 40X.

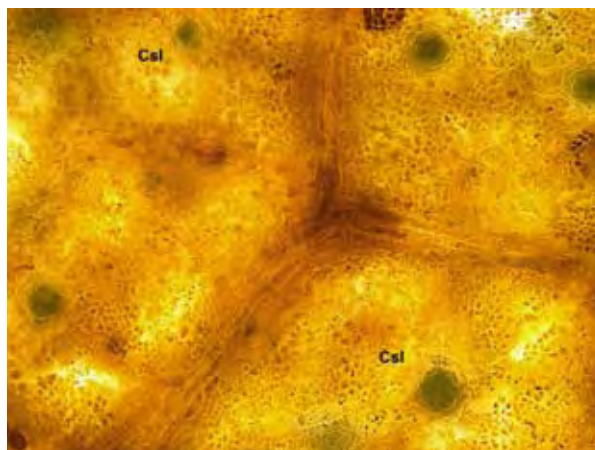


Figura 7. Micrografía control de *E. camaldulensis*. Cavidades secretoras lisígenas (Csl). Disociación leve, 20X.



Figura 8. Micrografía de *E. camaldulensis* luego de la digestión ruminal *in-vitro*. Es: estoma. Disociación leve, 40X.

inconstantes para realizar un diagnóstico^{9, 21, 33, 34}. Las causadas por plantas que afectan al corazón en general no tienen tratamiento, siendo los animales hallados muertos en la mayoría de los casos^{1, 4, 11}.

Si bien existen métodos complementarios de laboratorio disponibles para la confirmación de la intoxicación por glucósidos cardiotónicos²⁶, solo ponen en evidencia a digoxina y digitoxina y dan reacción cruzada con oleandrina, siendo por consiguiente de resultado no concluyente²⁵. Por el contrario, la micrografía constituye una técnica sencilla y económica con posibilidades de ser utilizada como método complementario para el diagnóstico de la intoxicación. De los animales presumiblemente muertos por ingestión de vegetales tóxicos se debe realizar la recolección de contenido ruminal en diferentes sitios, principalmente a nivel rumino-reticular. A pesar que en las muestras existe abundante material vegetal de diverso origen (gramíneas, leguminosas) que pudiera dificultar la identificación de las plantas tóxicas, la mayoría posee características estructurales distintivas. Se deben considerar características epidérmicas (tricomas, estomas), la presencia de cristales y de esclereidas y aún el tipo de parénquima asimilador, lo que aumenta considerablemente el porcentaje de reconocimiento.

Como se demuestra en este trabajo, las estructuras histológicas de ambas plantas son resistentes a la digestión ruminal *in vitro*. Esto último se halla en concordancia con un trabajo previo en el que se ha comprobado la resistencia de la epidermis de las hojas de *Baccharis coridifolia* DC (“mio-mio”, “romerillo”) sometidas a la digestión ruminal *in vivo*³⁵. En el caso de *N. oleander*, la presencia de criptas estomáticas con pelos tectores en su interior es un carácter prácticamente definitorio, acompañado de las drusas de oxalato de calcio que, si bien no caracterizan a la especie, poseen valor en esta comparación dado que “eucalipto” no las posee. Al mismo tiempo, las cavidades secretoras lisígenas que contienen aceites esenciales en *Eucalyptus* constituyen una característica del género, pero que no es exclusiva. En este análisis resultan de relevancia, porque *Nerium*

no presenta tales estructuras. De no poder diferenciarse macroscópicamente a las hojas de ambas plantas, la micrografía permite la caracterización precisa, pudiéndose confirmar o no la intoxicación producida por el “laurel de campo”.

Se concluye que la micrografía constituye una herramienta valiosa como método de diagnóstico complementario para confirmar las intoxicaciones producidas por especies vegetales, permitiendo en este caso en particular la diferenciación entre *Nerium oleander* y *Eucalyptus camaldulensis*, y por consiguiente corroborando la ingestión y muerte producida por el “laurel de campo”.

REFERENCIAS

1. Benson JM, Seiber JN, Bagley CV, Keeler RF, Johnson AE, Young S. 1979. Effects on sheep of the milkweeds *Asclepias eriocarpa* and *A. labriformia* and of cardiac glycoside-containing derivative material. *Toxicon* 17: 155–165.
2. Bruneton J. 2001. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales*, 3ª ed., Acribia, Zaragoza, 1099 p.
3. Bruneton J. 2001. *Plantas tóxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales*, Acribia, Zaragoza, 527 p.
4. Cheeke PR. 1998. *Natural toxicants in feeds, forages and poisonous plants*, 2ª ed., Interstate Publishers, Danville (Illinois, USA), p. 390–409.
5. Datta DV, Khuroo MS, Mattocks AR, Aikat BK, Chhuttanni PN. 1978. Herbal medicines and veno-occlusive disease in India. *Postgrad Med J* 54: 511–515.
6. Dawson RM, Ward PF, Scott TW. 1964. A micro-artificial rumen for isotopic experiments. *Biochem J* 90: 9–12.
7. Duke JA. 1992. *Handbook of biologically active phytochemicals and their activities*, CRC Press, Boca Raton (Florida, USA), 30 p.
8. Eddleston M, Ariaratnam CA, Sjostrom L, Jayalath K, Rajakanthan S, Rajapakse D, Colbert W, Meyer G, Perera S, Attapattu S, Kularatne S, Sheriff M, Warrell D. 2000. Acute yellow oleander (*Thevetia peruviana*) poisoning: cardiac arrhythmias, electrolyte disturbances, and

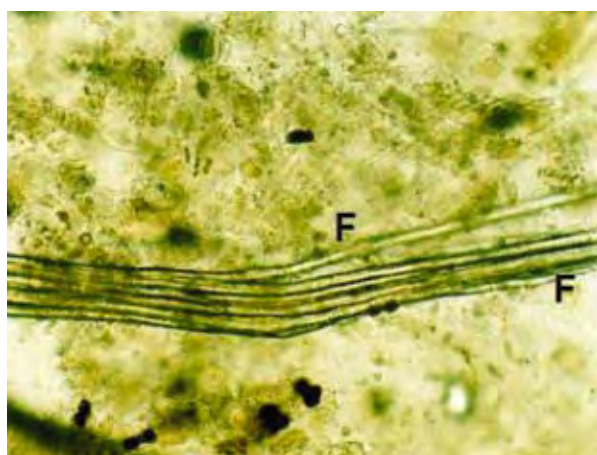


Figura 9. *E. camaldulensis*, micrografía post digestión ruminal *in-vitro*. Fibras características (F). Disociación leve, 20X.

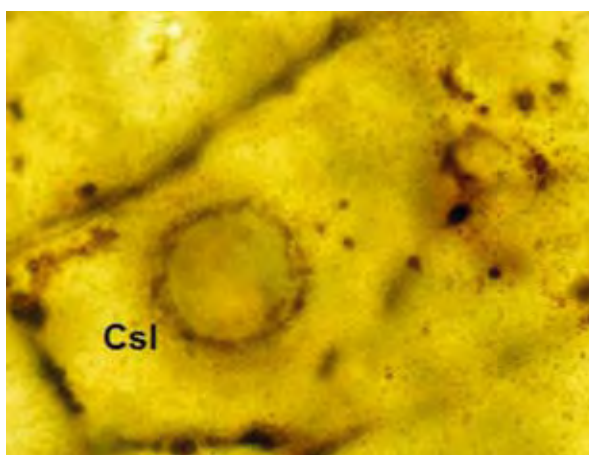


Figura 10. Micrografía de *E. camaldulensis* luego de la digestión ruminal *in-vitro*. Cavidades secretoras lisígenas (Csl). Disociación leve, 40X.

- serum cardiac glycoside concentrations on presentation to hospital. *Heart* 83: 301–306.
9. **Gallo GG.** 1987. *Plantas tóxicas para el ganado en el Cono Sur de América*, 2ª ed., Hemisferio Sur, Buenos Aires, 213 p.
 10. **Haynes BE, Bessen HA, Wightman WD.** 1985. Oleander tea: herbal draught of death. *Ann Emerg Med* 14: 350–353.
 11. **Hollman A.** 1985. Plants and cardiac glycosides. *Br Heart J* 54: 258–261.
 12. **Huhtanen CN, Saunders RK, Gall LS.** 1957. Fiber ingestion using the miniature artificial rumen. *J Dairy Sci* 3: 328–335.
 13. **Joubert JP.** 1989. Cardiac glycosides. In: *Toxicants of plant origin* (Cheeke PR, Ed.), vol 2, CRC Press, Boca Raton (Florida, USA), p. 61–96.
 14. **Kingsbury JM.** 1964. *Poisonous plants of the United States and Canada*, Prentice–Hall, Englewood Cliffs (New Jersey, USA), p. 262–267.
 15. **Konno K, Hirayama C, Nakamura M, Tetishi K, Tamura Y, Hattori M, Kohno K.** 2004. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *Plant J* 37: 370–378.
 16. **Krikler DM.** 1985. Withering and the foxglove: the making of a myth. *Br Heart J* 54: 256–257.
 17. **Kubo L, Kinst–Hori I, Nikei K, Soria F, Takasaki M, Calderon JS, Céspedes CL.** 2003. Tyrosinase inhibitors from galls of *Rhus javanica* leaves and their effects on insects. *Z Naturforsch* 58: 719–725.
 18. **Langford S, Boor PJ.** 1996. Oleander toxicity: an examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology* 109: 1–13.
 19. **Mahin L, Marzou A, Huart A.** 1986. A case report of *Nerium oleander* poisoning in cattle. *Vet Hum Toxicol* 26: 303–304.
 20. **Mastenbroek C.** 1985. Cultivation and breeding of *Digitalis lanata* in the Netherlands. *Br Heart J* 54: 262–268.
 21. **Méndez MC, Riet–Correa F.** 2002. *Plantas tóxicas e micotoxinas*, Ed. Universitaria, Laboratorio Regional de Diagnóstico, Facultad de Veterinaria, UFPel (Pelotas, Brasil), 112 p.
 22. **Norma IRAM N° 37500,** 1993. Instituto Argentino de Racionalización de Materiales, Buenos Aires, Argentina.
 23. **Odriozola E, Campero C, Casaro A, López T, Olivieri G, Melucci O.** 1994. Pyrrolizidine alkaloidosis in Argentinean cattle caused by *Senecio selloi*. *Vet Hum Toxicol* 36: 205–208.
 24. **Oryan A, Maham M, Rezakhani A, Maleki M.** 1996. Morphological studies on experimental oleander poisoning in cattle. *Zentralblatt für Vet Med* 43: 625–634.
 25. **Osterloh J, Harold S, Pond S.** 1982. Oleander interference in the digoxin radioimmunoassay in a fatal ingestion. *JAMA* 247: 1596–1597.
 26. **Radford RD, Cheung K, Urech R.** 1994. Immunologic detection of cardiac glycosides in plants. *Aust Vet J* 71: 236–238.
 27. **Reagor JC.** 1985. Increased oleander poisoning after extensive freezes in South/ Southeast Texas. *Southwest Vet* 36: 95.
 28. **Shawn D, Pearn J.** 1979. Oleander Poisoning. *Med J Aust* 2: 267–269.
 29. **Schoental R.** 1963. Liver disease and 'natural' hepatotoxins. *World Health Org* 29: 823–833.
 30. **Siemens LM, Galey FD, Johnson B, Thomas WP.** 1995. The clinical, cardiac, and patho–physiological effects of oleander toxicity in horses. *J Vet Intern Med* 9: 217.
 31. **Szabuniewicz M, Schwartz WL, McCrady JD, Russel LH, Camp BJ.** 1971. Treatment of experimentally induced oleander poisoning. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 189: 12–21.
 32. **Tokarnia CH, Döbereiner J, Silva MF.** 1979. *Plantas tóxicas da amazonia para bovinos e outros herbívoros*, Ed. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, Manaus (Brasil), 95 p.
 33. **Tracqui A, Kintz P, Branche F, Ludes B.** 1998. Confirmation of oleander poisoning by HPLC/MS. *Int J Legal Med* 111: 32–34.
 34. **Zeinsteger P, Romero A, Teibler P, Montenegro M, Ríos E, Ciotti EM, Acosta de Pérez O, Jorge N.** 2003. Toxicity of volatile compounds of *Senecio grisebachii* Baker (“margarita”) flowers, in mice. *RIA* 32: 125–135.
 35. **Zeinsteger P, Koza G, Ríos EE, Acosta de Pérez O, Gurni A.** 2004. Micrografía de *Baccharis coridifolia* DC (mio–mio) sometido a la acción *in–vivo* del licor ruminal. Estudio preliminar para el diagnóstico de la intoxicación. *Anales de la XXV Sesión de Comunicaciones Científicas*, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Corrientes, Argentina, p. 2.