

EXACTITUD Y PRECISIÓN EN LA CUANTIFICACIÓN POR MICROANÁLISIS DE *CESTRUM PARQUI* L'HÉRIT. EN EL CONTENIDO DIGESTIVO DE OVINOS EN PASTOREO

Yagueddú¹, C., Cid^{2,3}, M.S., López⁴, T. y Brizuela^{2,5}, M.A. 2000. Revista Argentina de Producción Animal 20(1): 67-75.

¹Fac.Cs.Exactas y Naturales (UNMdP).

²Fac.Cs. Agrarias (UNMdP).

³CONICET.

⁴INTA EEA Balcarce.

⁵CIC.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Intoxicaciones](#)

RESUMEN

El duraznillo negro (*Cestrum parqui* L'Hérit.) es una de las especies tóxicas de mayor impacto económico en una amplia zona de producción ganadera del país. El microanálisis del contenido digestivo ha permitido confirmar la ingestión de esta especie en ovinos alimentados exclusivamente con heno de avena y raigrás anual, e intoxicados experimentalmente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la exactitud y la precisión de la cuantificación de duraznillo negro por microanálisis del contenido digestivo y de las heces de ovinos en pastoreo en pasturas polifíticas intoxicados en forma forzada con esta especie. La exactitud se evaluó analizando si la cantidad de duraznillo negro suministrada difería de la estimada en el tracto digestivo y en las heces. La precisión se estimó por el cálculo de intervalos de confianza alrededor de la media muestral. La cantidad de duraznillo negro evaluada (promedio de tres animales) no difirió ($p > 0,05$) de la suministrada siendo el porcentaje de recuperación de $97,03\% \pm 12,06$. Los intervalos de confianza alrededor de la media muestral fueron 81,3 a 112,9 % (probabilidad 90 %) y 78,3 a 117,0 % (probabilidad 95%). Estos resultados indican que el microanálisis del contenido digestivo de ovinos permite no sólo confirmar la ingestión de duraznillo negro en base a la presencia de sus fragmentos en animales intoxicados en pasturas en las que podrían haber ingerido varias especies de dicotiledóneas, sino también estimar la cantidad de esta especie tóxica presente en el tracto con una precisión de $\pm 15,8\%$ alrededor de la media muestral (probabilidad 90%, $n=3$).

Palabras clave: *Cestrum parqui*, intoxicación, ovinos, plantas tóxicas, microanálisis.

INTRODUCCIÓN

El duraznillo negro (*Cestrum parqui* L'Hérit.) es una especie de amplia difusión en el país, la que se extiende desde el Río Colorado hacia el norte (Ragonese y Milano, 1984). Su toxicidad se conoce desde hace mucho tiempo y anualmente se registran numerosos casos de intoxicaciones en el ganado doméstico que son mortales u ocasionan afecciones de difícil recuperación en los animales sobrevivientes (López, Odriozola y Eyherabide, 1991). Esta especie tóxica es una de las de mayor impacto económico en una amplia zona de producción ganadera en el país, la que incluye la Depresión del Salado. En esta zona las muertes por intoxicación debidas a la ingestión de duraznillo negro ocurren con frecuencia en animales en pastoreo sobre pastizales, en los que el número y abundancia de dicotiledóneas es variable según la comunidad vegetal (León, 1975) y el manejo previo (Sala, 1988). El diagnóstico de las intoxicaciones mortales ocasionadas por esta especie se basa en observaciones de necropsia e histopatología hepática. En muchos casos al realizarse la necropsia se ha iniciado la autólisis de los órganos, lo que impide o al menos dificulta el diagnóstico de esta intoxicación (Odriozola, E., com.pers.). En un trabajo anterior nosotros hemos demostrado experimentalmente que el microanálisis del contenido digestivo permite confirmar la ingestión forzada de duraznillo negro, romerillo (*Baccharis coridifolia* DC), y sunchillo (*Wedelia glauca* (Ort.) Hoff.) en ovinos alimentados con heno de avena y raigrás anual (Yagueddú, Cid y López, 1998). Sin embargo, no se conoce si es posible identificar fragmentos de estas especies tóxicas en el contenido digestivo de animales en pastoreo en pasturas multiespecíficas, situaciones en las que la presencia de otras dicotiledóneas haría más difícil el reconocimiento de dichos fragmentos. Además, se desconocen la precisión y la exactitud de las cuantificaciones realizadas por microanálisis, esto es, en qué medida difiere la cantidad ingerida por el animal de la cantidad total de la especie tóxica estimada en el tracto digestivo y en las heces producidas desde la intoxicación, y cuál es la variación de esta cuantificación entre animales. El objetivo de este estudio fue establecer la exactitud y precisión de la cuantificación de duraznillo negro por microanálisis del contenido

digestivo y de las heces producidas por ovinos intoxicados en forma forzada con esta especie tóxica y que previamente pastoreaban en una pastura polifítica.

MATERIALES Y MÉTODOS

En noviembre de 1996 tres ovejas Corriedale (peso promedio = $43,8 \pm 5$ kg) se mantuvieron durante 8 días en un potrero de 2 ha de la EEA Balcarce del I.N.T.A., en el que estaban representadas dos comunidades vegetales. Treinta por ciento del potrero correspondía a un sector de loma dominado por raigrás anual (**Lolium multiflorum** L.) y *Vulpia dertonensis* (All.) Gola y el resto a un sector bajo dominado por agropiro (**Thinopyrum ponticum** (Ppodp.) Barkw. & Dewey). La disponibilidad fue estimada por doble muestreo (Carrillo y Fernández, 1988), y la composición botánica de la vegetación por corte y separación manual de 10 marcos de 0,10 m². Los marcos fueron distribuidos en forma estratificada en las comunidades y al azar dentro de cada una de ellas. Al noveno día las ovejas fueron ubicadas en corrales individuales e intoxicadas por medio de sonda esofágica con la dosis letal de duraznillo negro (10 g MS kg⁻¹ PV) (López y otros, 1991).

El material empleado en la intoxicación fue cosechado a fines de noviembre del mismo año en un campo ubicado en la zona de Colinas Verdes, Partido de General Pueyrredón, pcia. de Bs.As., en el que existían antecedentes de intoxicaciones con esta especie y consistió en brotes y hojas maduras obtenidos de plantas que se encontraban en floración. Para calcular la dosis a suministrar se determinó su contenido de materia seca (24 h, 60°C). Para facilitar el suministro de la dosis letal correspondiente a cada ovino, el duraznillo negro fue parcialmente deshidratado (30 minutos, 60°C y reducido a un tamaño de fragmento similar al observado en extrusas de fístulas esofágicas. Después de la dosificación, los animales permanecieron en los corrales, con agua **ad libitum**. Transcurridas 20 horas desde el suministro de la especie tóxica las ovejas presentaban signos de intoxicación y fueron sacrificadas, efectuándose las necropsias. Finalmente se recolectaron las heces de los corrales.

El microanálisis del contenido digestivo permite estimar el porcentaje relativo de las especies ingeridas tanto a partir de una muestra de aproximadamente 45 g MS compuesta por 15 submuestras obtenidas al azar de diferentes sectores del rumen-retículo, como de la totalidad del contenido de las restantes regiones (Yagueddú y otros, 1998). La necesidad de tomar una muestra compuesta en rumen-retículo obedece al tamaño del contenido de esta región. Antes de preparar el contenido digestivo para su cuantificación (lo que implica secado a estufa y molido sobre tamiz de malla 1 mm), las muestras deben ser lavadas con agua corriente para eliminar el mucus, restos de sangre y otras sustancias de origen digestivo que pueden coagular al secarse en estufa impidiendo la dispersión y reconocimiento de los fragmentos de las muestras. Por otra parte, para establecer la exactitud y la precisión de la cuantificación de una especie es necesario expresar su porcentaje como cantidad (g MS), y comparar esta cantidad con la cantidad suministrada o ingerida. Esto planteaba un problema operativo ya que se debía secar el contenido total del rumen-retículo para estimar su peso seco, pero a la vez lavar las muestras a analizar por microanálisis antes de secarlas. Este problema fue resuelto de la siguiente manera: 1) Extracción del contenido de cada región del tracto y remoción del exceso de agua por ligera presión sobre un tamiz de 35 mesh (0,5 mm); 2) Pesada de todo el material escurrido; 3) Muestreo del contenido del rumen- retículo de los tres animales según lo indicado anteriormente; 4) Lavado con agua corriente de las muestras de rumen-retículo, de los contenidos totales de las otras regiones y de las heces, sobre tamiz de 50 mesh (0,3 mm); 5) Secado en estufa con circulación forzada de aire (24 h, 60 °C) y pesada de todo este material; 6) Cálculo del contenido total de rumen-retículo.

Con el material de cada porción del tracto digestivo y de las heces se realizaron cinco preparados histológicos para la determinación de su composición botánica por microanálisis (Sparks y Malechek, 1968). La cuantificación se efectuó en base a la densidad de fragmentos de cada especie (número de fragmentos por campo de microscopio con aumento 100 x) en 100 campos. También se registró el número de fragmentos no reconocidos, esto es, aquéllos en los que no se podía determinar si pertenecían a una dicotiledónea o a una gramínea.

En la cuantificación del duraznillo negro se consideraron fragmentos epidérmicos que presentaban los tricomas típicos de esta especie y otros en los que sólo se observaban células epidérmicas propiamente dichas que presentaban estrías cuticulares características. Los tricomas de duraznillo negro son de dos tipos: 1) no glandular uniseriado Bramificado y 2) glandular con cabezuela bicelular. Los porcentajes de duraznillo negro se corrigieron teniendo en cuenta el porcentaje de fragmentos no reconocibles en esta especie, y el efecto de la digestión. Para determinar cómo la digestión ruminal afecta el reconocimiento de los fragmentos de duraznillo negro, tres muestras del material empleado en la dosificación fueron secadas en estufa (24 h, 60EC), molidas sobre tamiz de malla 1 mm y cada una de ellas fue dividida en dos submuestras. Una de las submuestras fue digerida **in vitro**, utilizando el procedimiento de Tilley y Terry (1963), pero reduciendo el tiempo de incubación con microbios de rumen de 48 a 24 horas, dado que éste es el lapso en el que la dosis letal produce la muerte de los animales (López, Spinelli y Villar, 1978). Después de 24 horas se recobraron por filtrado los residuos húmedos de digestión. Por microanálisis se estimó el porcentaje de fragmentos identificables en las muestras digeridas y en las no digeridas, y los resultados fueron comparados por prueba de *t*.

Para cada animal se estimó la cantidad de duraznillo negro en cada región del tracto digestivo y en heces como el producto de su peso seco y el porcentaje de la especie tóxica estimada por microanálisis. Finalmente, la cantidad total de duraznillo negro en el tracto digestivo y en las heces de cada animal se expresó como porcentaje de los gramos suministrados.

La exactitud de la cuantificación realizada por microanálisis se analizó por una prueba de *t*, evaluando si los gramos de la especie tóxica estimados diferían de los suministrados. La precisión de la estimación se evaluó por el cálculo de los intervalos de confianza ($\alpha = 0,05$ y $0,10$) alrededor de la media muestral (g de la especie tóxica estimados). Dichos intervalos representan los rangos dentro de los que se encontrará el valor de duraznillo negro presente en el tracto digestivo de los animales intoxicados con 95 y 90% de probabilidad, respectivamente y fueron expresados como porcentajes alrededor de la media muestral ($n=3$).

RESULTADOS

La disponibilidad del potrero en el que pastorearon los animales antes de ser intoxicados fue de 3335 kg MS ha^{-1} . La biomasa estuvo representada por un 85 % de gramíneas. Las tres gramíneas dominantes (***Lolium multiflorum*** Lam., ***Vulpia dertonensis*** (All.) Gola y ***Thinopyrum ponticum***) contribuyeron con el 62% a la biomasa, en tanto que otras siete gramíneas sumaron un 25%. Dos ciperáceas (***Carex*** sp y ***Eleocharis*** sp) aportaron un 4%, y ocho dicotiledóneas aproximadamente un 7%. Si bien el número de especies de dicotiledóneas fue elevado, sólo una de ellas (***Dichondra mycrocalyx*** (Hall.) Fabris) tuvo un aporte significativo a la biomasa disponible (5%) en tanto que el 2% restante correspondió a otras siete especies (Figura 1).

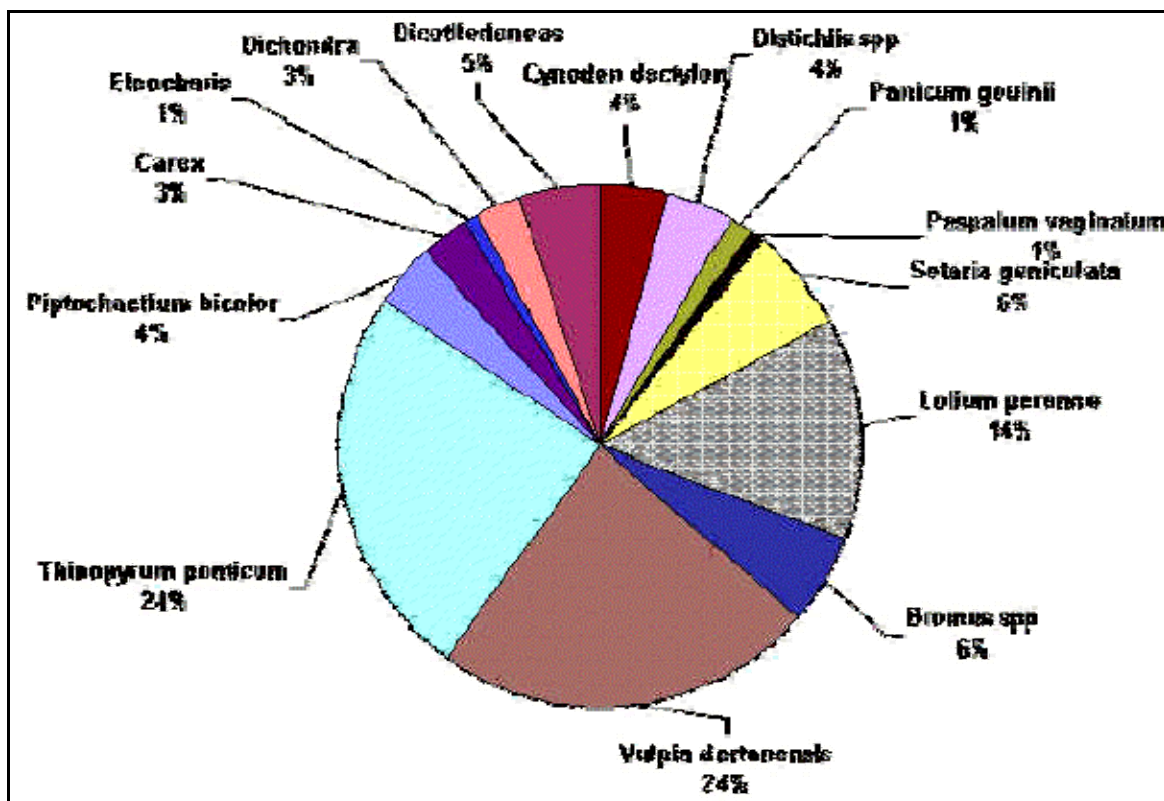


Figura 1: Composición botánica de la pastura naturalizada de agropiro utilizada por tres ovinos antes de su intoxicación con duraznillo negro (*Cestrum parqui* L=Hérit.). Balcarce, noviembre 1996.

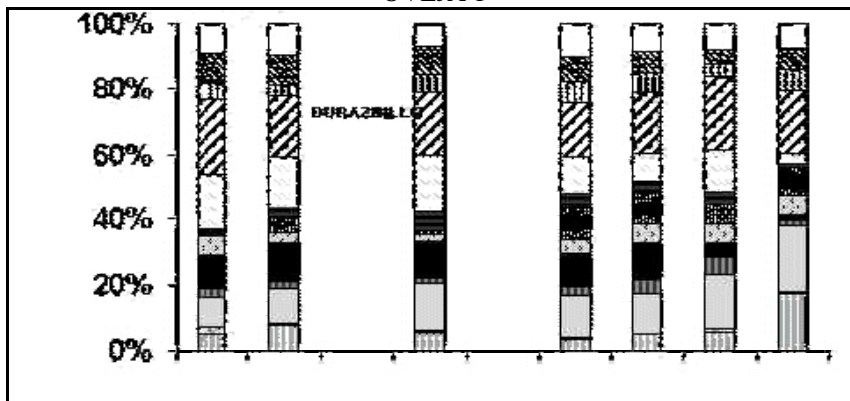
DISPONIBILIDAD= 3300 kg MS ha^{-1}

El porcentaje de materia seca del duraznillo negro suministrado fue de $20 \pm 0,5\%$, y su digestibilidad $69,4 \pm 0,8\%$. El porcentaje de reconocimiento de los fragmentos de esta especie fue alto, y no fue afectado ($p > 0,05$) por la digestión ($74,3 \pm 7,0$ y $73,2 \pm 1,5\%$ antes y después de la digestión, respectivamente). Por lo anterior, los porcentajes estimados fueron corregidos en función del porcentaje de fragmentos reconocibles del material usado en la intoxicación, pero no fue necesario corregir por el efecto de la digestión en el reconocimiento de sus fragmentos.

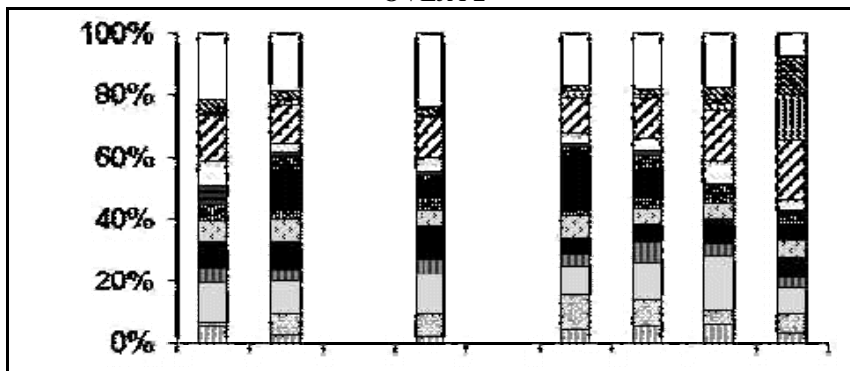
Todos los animales compusieron dietas variadas, con porcentajes de duraznillo negro de 11 a 24% en las distintas regiones del tracto digestivo. Dos de ellas (duodeno e íleon) estaban vacías o el material presente era tan escaso que no permitió su análisis. En los tres animales la menor concentración de duraznillo negro se halló en

ciego mientras que la mayor se dio en librilla de un animal y en rumen-retículo de los dos restantes (Figura 2, Cuadro 1). La cantidad en gramos de duraznillo negro recuperada en la estimación (promedio entre los tres animales) expresados como porcentaje de lo suministrado ($97,06 \pm 12,06\%$) no difirió del 100% ($p > 0,05$).

Figura 2
OVEJA 1



OVEJA 2



OVEJA 3

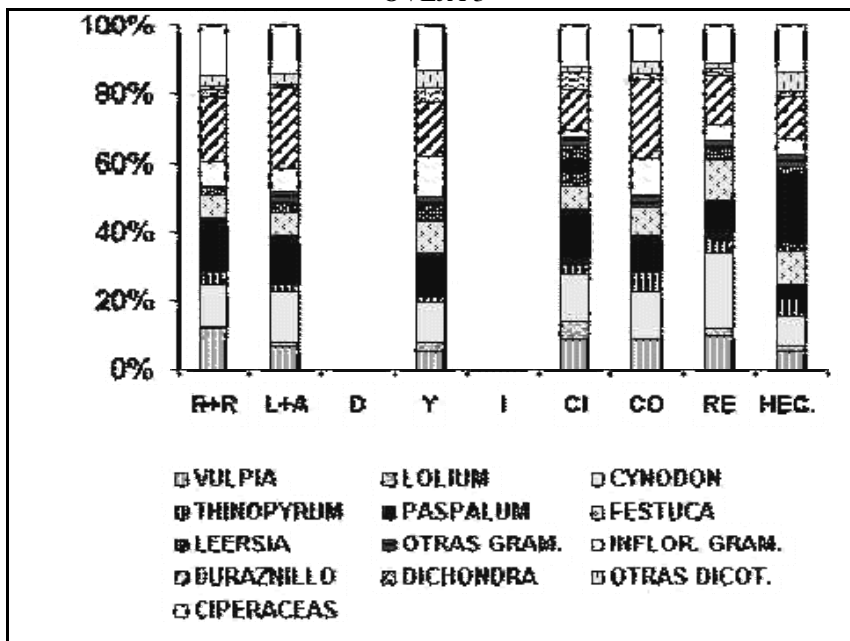


Figura 2: Composición botánica (%) del contenido de las distintas regiones del tracto digestivo de ovinos en pastoreo en una pastura de agropiro naturalizada e intoxicados experimentalmente con duraznillo negro (*Cestrum parqui* L=Hérit.).

R+R=rumen+retículo, L+A=librilla+abomaso, D=duodeno, Y=yeyuno,
I=íleon, CI=ciego, CO=colon, RE=recto, HEC.=heces.

CUADRO 1: Relación entre la cantidad de duraznillo negro (Cestrum parqui L=Hérit.) suministrada (S) a ovinos en forma forzada, y el contenido total de esta especie (Total) en su tracto digestivo y en las heces producidas desde la intoxicación.

Para cada ovino se indica como recuperado (R) el porcentaje de lo suministrado que representa la sumatoria de lo estimado en todas las regiones del tracto digestivo y en las heces producidas desde la intoxicación.

R+R=rumen+retículo, L=librillo, A=abomaso, Y=yeyuno, Ci=ciego, Co=colon, Re=recto.

	R+R	L	A	Y	Ci	Co	Re	Heces	Total	S (g)	R (%)
OVEJA 1											
CONTENIDO NETO (gMS)	375,0	2,9	10,7	5,0	14,5	5,0	6,0	90,0			
DURAZNILLO (%)	23,0	18,5	19,0	19,5	16,4	18,5	22,6	19,4			
DURAZNILLO (gMS)	86,4	0,5	2,0	1,0	2,4	0,9	1,4	17,5	112,1	96,5	116,1
OVEJA 2											
CONTENIDO NETO (gMS)	442,5	5,5	0,5	5,5	14,0	23,0	9,0	21,0			
DURAZNILLO (%)	19,0	15,0	11,0	13,0	11,0	13,0	16,0	19,0			
DURAZNILLO (gMS)	83,2	0,8	0,1	0,7	1,6	3,0	1,5	4,1	95,0	111,5	85,1
OVEJA 3											
CONTENIDO NETO (gMS)	447,0	1,8	1,5	3,5	17,3	14,0	4,0	143,0			
DURAZNILLO (%)	19,0	24,0	21,7	16,2	11,7	22,6	14,3	12,2			
DURAZNILLO (gMS)	84,8	0,4	0,3	0,6	2,0	3,2	0,6	17,5	109,3	121,6	89,9

Los intervalos de confianza calculados alrededor de la media muestral fueron 81,3 a 112,9 % (probabilidad 90 %) y 78,3 a 116,9 % (probabilidad 95 %). La cantidad de la especie tóxica eliminada en heces dentro de las 20 horas de su ingestión fue variable, representando entre el 4 y el 18% de la cantidad suministrada (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

La técnica de microanálisis ha sido utilizada en raras ocasiones para cuantificar la ingestión de especies tóxicas por ganado doméstico y herbívoros silvestres (Alipayou, Holechek, Valdez, Saiwana, Rusco y Cárdenas, 1993). Más aún, sólo se encontró una referencia en la que se informa sobre el empleo de esta técnica para confirmar la ingestión de especies tóxicas en condiciones de pastoreo (Panter, Ralph, Smart y Duelle, 1987). Por otra parte, excepto el estudio realizado previamente por nosotros (Yagueddú y otros, 1998) no pudimos detectar en la bibliografía referencias sobre la evaluación de la concentración de especies tóxicas en el tracto digestivo de animales intoxicados experimentalmente.

La distinción entre fragmentos de gramíneas y de dicotiledóneas por microanálisis no ofrece dificultades ya que la disposición y forma de las células epidérmicas de estos dos grupos de especies es diferente (Metcalf, 1960; Metcalf y Chalk, 1979), pero la distinción entre fragmentos de especies de dicotiledóneas ofrece mayores dificultades (Metcalf y Chalk, 1979; Yagueddú y Cid, 1992). Por esta razón, la presencia en la vegetación de otras dicotiledóneas además del duraznillo negro podría llevar a errores en la estimación de esta especie, al analizarse el contenido del tracto digestivo de animales en pastoreo. Sin embargo los resultados de este ensayo indican que si se toman ciertos recaudos en la cuantificación, esto es, si ésta se realiza en base a la densidad de fragmentos y se corrige el porcentaje de la especie tóxica en relación a su porcentaje de fragmentos reconocibles, las estimaciones del porcentaje de duraznillo negro son exactas. Además, la precisión de esta cuantificación es alta, ya que con una muestra pequeña (n=3) se estima el porcentaje real en el contenido del tracto con una precisión de 15,8 % alrededor de la media con un 90% de confianza.

El porcentaje de fragmentos de "duraznillo negro" reconocible antes de la digestión fue alto (75%), y no fue afectado por la digestión. Esto difiere de lo encontrado por nosotros anteriormente (Yagueddú y otros, 1998) donde el porcentaje de fragmentos reconocibles fue de 50% y 10% antes y después de la digestión respectivamente. Estas diferencias se deben a que en esa oportunidad sólo se cuantificaron los fragmentos de duraznillo negro que presentaban al menos un tricoma, mientras que en el presente trabajo se consideraron además otras características epidérmicas lo que aumentó considerablemente el porcentaje de reconocimiento.

Los porcentajes de duraznillo negro cuantificados en heces fueron sólo ligeramente inferiores a los encontrados en rumen-retículo, lo que indica que en los casos de muerte de animales a campo en los que pudieran identificarse las heces como pertenecientes al animal muerto, su microanálisis permitiría confirmar la ingestión de esta especie sin necesidad de muestrear el contenido del tracto digestivo.

Nuestros resultados muestran que el microanálisis del contenido digestivo de ovinos permite no sólo confirmar la ingestión de duraznillo negro en base a la presencia de sus fragmentos en animales intoxicados en pasturas o pastizales en las que aquéllos podrían haber ingerido varias especies de dicotiledóneas, sino también estimar la

cantidad de esta especie tóxica presente en el tracto con una precisión de $\pm 15,8\%$ alrededor de la media muestral (probabilidad 90%, n=3).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Méd. Vet. Ernesto Odriozola por sus útiles comentarios en las etapas iniciales de desarrollo de este trabajo, al Méd. Vet. Jorge García por su colaboración en las necropsias y a las asistentes, Sras. Marina Dosanto y María Salomón por su colaboración técnica.

BIBLIOGRAFÍA

- ALIPAYOU, D., HOLECHEK, J.L., VALDEZ, R., SAIWANA, L., RUSCO, M., y CÁRDENAS, M. 1993. Range condition influences on Chihuahuan desert cattle and jackrabbit diets. *J. Range Manage.* 46:296-301.
- CARRILLO, J. y FERNÁNDEZ, H. 1988. Disponibilidad forrajera: método de doble muestreo. INTA EEA Balcarce Producción Animal. Información para Extensión Vol. II N1 50 pp 37-39.
- LEÓN, R.J.C.P. 1975. Las comunidades herbáceas de la región Castelli-Pila. Monografías Comisión de Investigaciones Científicas de la pcia. de Bs.As. La Plata 5:75-107.
- LÓPEZ, T., ODRIOZOLA, E. y EYHERABIDE, J.J. 1991. Toxicidad vegetal en el ganado. Patología, prevención y control. CERBAS B INTA-EEA, Balcarce, 56 pp. Argentina.
- , SPINELLI, R., y VILLAR, J. 1978. Efectos de la dosificación *Cestrum parqui* L=Hérit. en ovinos y bovinos. *Gaceta Vet.* 40:642-650.
- METCALFE, C.R. 1960. Anatomy of the Monocotyledons. I. Gramineae. I-XLI, 1-731, figs. 1-29. Clarendon Press, Oxford.
- y CHALK, L. 1979. Anatomy of Dicotyledons. I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. I-VII:1-276, fig. 1-44, pl. 1-18. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford.
- PANTER, K.E., RALPH, M.H., SMART, R.A. y DUELKE, B. 1987. Death camas poisoning in sheep: A case report. *Vet.HumanToxicol.* 29:45-48.
- RAGONESE, A.E. y MILANO, V.A. 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la flora argentina. En: Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Editorial ACME SACI. 2da. Edición, tomo II. Bs. As., Argentina.
- SALA, O.E. 1988. The effect of herbivory on vegetation structure. En: M.J.A. Werger , P.J.M. van der Aart, H.J. During y J.T.A. Verboeven (eds), *Plant growth and vegetation structure*. Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, pp 317-330.
- SPARKS, D.R. y MALECHEK, J.C. 1968. Estimating percentage dry weight in diets using a microscope technique. *J. Range Manage.* 21: 264- 265.
- TILLEY, J.M.A. y TERRY, R.A. 1963. A two stage-technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br.Grassl.Soc.* 18:104-111.
- YAGUEDDÚ, C. y CID, M.S. 1992. Caracteres epidérmicos de dicotiledóneas de la pampa deprimida bonaerense, de utilidad en microanálisis de dietas. *Rev.Arg.Prod.Anim.* 12:265-279.
- , CID, M.S. y LÓPEZ, T. 1998. Microhistological analysis of sheep gastro- intestinal content to confirm poisonous plant ingestion. *J. Range Manage.* 51:655-6

Volver a: [Intoxicaciones](#)