

RECUPERACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE FRAGMENTOS FOLIARES DE HIEDRA (*Hedera helix* L.), UNA ESPECIE TÓXICA, EN HECES DE CACHORRO CANINO

RECOVERY AND IDENTIFICATION OF LEAF FRAGMENTS OF IVY (*Hedera helix* L.), A TOXIC PLANT, IN DREGS OF CANINE PUPPY

Patricia Susana NASCA DE ZAMORA; Lorna Cynthia REID

Laboratorio de Histología Vegetal. Cátedra de Botánica General. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán. Av. Roca 1900. CP. 4000 San Miguel de Tucumán. Argentina.

e-mail: fliazamora@yahoo.com

RESUMEN. Las epidermis vegetales presentan características particulares para diferentes especies; además, resisten la digestión de los animales, por lo cual es posible su identificación en las heces, mediante técnicas microhistológicas. Estas técnicas se utilizan en estudios sobre composición botánica de la dieta de herbívoros y/o confirmación de ingestión de plantas tóxicas. Aunque no hay antecedentes de su aplicación en animales no herbívoros, podría ser útil para confirmar diagnósticos de intoxicación de mascotas domésticas. Muchas plantas ornamentales producen intoxicaciones en mascotas; entre ellas, la hiedra. En este trabajo se analiza la posibilidad de identificación de fragmentos foliares de hiedra en heces de un cachorro canino. Se suministraron hojas de hiedra, junto con el alimento balanceado, a una hembra canina de 4 meses, previo ayuno y confinamiento durante 24h. Se recolectaron muestras de materia fecal desde ese momento hasta 72h posteriores a la ingesta. Se confeccionaron preparados de referencia de hiedra y del alimento balanceado. Se recuperaron fragmentos y epidermis foliares de hiedra, en muestras tomadas desde 8 a 48h posteriores a la ingesta. En todas las muestras se encontraron restos vegetales correspondientes al alimento. Se concluye que, realizando ajustes, es posible la aplicación de esta técnica en medicina veterinaria para cachorros caninos.

Palabras clave: microhistología vegetal, heces caninas, hiedra.

ABSTRACT. Plant leaf epidermis presents particular characteristics for different species. In addition, it resists the digestion of animals, for which its identification is possible in the dregs, by means of microhistological technologies. These technologies are in use in studies on botanical composition of the diet of herbivores and / or confirmation of ingestion of toxic plants. Though there are no precedents of his application in not herbivorous animals, it might be useful to confirm diagnoses of poisoning of domestic pets. Many ornamental plants produce poisonings in pets; between them, the ivy. In this work there is analyzed the possibility of identification of leaf fragments of ivy in dregs of a canine puppy. Leaves of ivy were supplied, together with the food to a canine female of 4 month, previous fasting and confinement during 24h. There were gathered samples of fecal matter from this moment up to 72h later to the ingestion. They were made prepared of reference of ivy and of the balanced food. Leaf fragments and epidermis of ivy, were recovered in samples taken from 8 to 48h later to the ingestion. In all the samples vegetable remains were found, corresponding to the food. One concludes that, realizing adjustments, there is possible the application of this technology in veterinary medicine for canine puppies.

Key words: microhistology, dog faeces, ivy.

INTRODUCCIÓN

Algunos tejidos vegetales, como la epidermis o los vasos xilemáticos, resisten el pasaje por el tracto digestivo de los animales, permaneciendo prácticamente inalterables. Además, las características epidérmicas de las plantas presentan distintos patrones para diferentes géneros o especies, permitiendo así su reconocimiento mediante el análisis microscópico. Basados en estos hechos, los investigadores Baungartner y Martin (1) idearon la técnica microhistológica, que consiste en la identificación de epidermis vegetales presentes en muestras fecales, estomacales o fistulares de animales herbívoros. La identificación de fragmentos de plantas en el contenido digestivo de herbívoros permite realizar análisis cualitativos y cuantitativos de la composición botánica de sus dietas y confirmar la ingestión de especies tóxicas (2).

Muchas plantas ornamentales cultivadas en jardines públicos o privados, pueden producir intoxicaciones en cachorros caninos o felinos que las mordisquean e ingieren por curiosidad (3). En estos casos, mediante la técnica microhistológica podría detectarse la especie vegetal causante de la intoxicación posibilitando la adopción de posteriores medidas preventivas. Para ello es necesario realizar ajustes a esta técnica ya que en la bibliografía no se encontraron antecedentes de su uso en animales no herbívoros.

Dentro de las plantas ornamentales de cultivo común en Argentina se encuentra la hiedra, *Hedera helix* L. Esta planta posee saponinas en hojas y frutos, que pueden hidrolizarse a compuestos tóxicos denominados hederinas. Estos, cuando son ingeridos

en cantidad suficiente, provocan intoxicaciones en animales y personas. Los síntomas que caracterizan a esta intoxicación incluyen: vómitos, diarrea, agitación, espasmos musculares y parálisis. Sobre la piel, se pueden observar eritema y presencia de ampollas (4).

Con el objeto de realizar una experiencia preliminar de ajuste de la técnica microhistológica en animales no herbívoros, en el presente trabajo se analiza la posibilidad de recuperación e identificación de fragmentos foliares de hiedra a partir de las heces de un cachorro canino al que se le administraron hojas de esta especie junto con el alimento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tratamiento del cachorro y toma de muestras de materia fecal

Se trabajó con un animal de la especie canina, hembra, mestiza, de 4 meses, estado general muy bueno, libre de parásitos. Su peso al momento del ensayo fue de 6,800 Kg. Se confinó al animal en una jaula de internación 24 h antes del comienzo de la experiencia, para evitar el consumo accidental de otras especies vegetales durante el periodo de ingesta y muestreo. Durante todo el período de ensayo se mantuvo la dieta habitual, consistente en alimento balanceado seco, de calidad *premium*. La alimentación se ofreció en dos raciones diarias. Se suministró al animal, 10 gr de hojas de hiedra (*Hedera helix* L.), correspondientes a 3 gr de materia seca, dividida en 2 porciones, una a las 10:00 h y otra a las 19:00 h del primer día de ensayo, previo ayuno de 24 h.

Las muestras de materia fecal se recolectaron a partir del momento del confinamiento considerando "muestra 0" la última emitida por el canino, antes de

la ingestión del vegetal en estudio. Las siguientes se recolectaron hasta las 72 h posteriores a la ingesta de hiedra. En cada muestreo se homogeneizó la materia fecal emitida y se tomó una muestra de aproximadamente 5 gr, equivalente a una cucharadita de té. Se registró la hora de recolección y las características macroscópicas de las heces. Las muestras se conservaron en frascos con fijador FAA, rotuladas cronológicamente.

Preparados de referencia

Hojas de hiedra

Con el fin de contar con imágenes conocidas para establecer una comparación, se extrajeron, con el método de Schultze (5), las epidermis adaxial y abaxial de hojas de hiedra, se confeccionaron preparados microscópicos y se tomaron fotografías. Se observaron y describieron las zonas nerval e internerval de ambas epidermis. Para las descripciones se tomaron en cuenta la forma de las células epidérmicas fundamentales, siguiendo la terminología propuesta por Dilcher (6), la presencia o ausencia de estomas, presencia o ausencia de tricomas, el tipo de tricomas y el tipo de estomas, según la clasificación propuesta por Van Cotte (7).

Alimento balanceado

Se analizaron al microscopio muestras del alimento balanceado suministrado al cachorro con el fin de determinar la presencia de fragmentos vegetales, propios de los ingredientes del mismo, que pudieran interferir con la identificación de fragmentos de hiedra en la materia fecal. Se colocaron en una caja de Petri 2 a 3 granos de alimento balanceado, y se hidrataron con agua caliente a fin de facilitar y acelerar el proceso

de desintegración. Se dejaron reposar de 10 a 30 minutos y luego se desmenuzaron con una varilla de vidrio hasta formar una pasta cremosa. Se tomaron pequeñas porciones, se suspendieron en agua y se observaron al microscopio. Para la confirmación de la presencia de almidón, se utilizó una solución de Lugol como colorante específico y el reactivo Sudán IV para el reconocimiento de componentes lipídicos.

Tratamiento de las heces

Las muestras fecales fueron suspendidas en solución enriquecida de NaCl y posteriormente centrifugadas. Se analizaron al microscopio, por separado, el sobrenadante y el precipitado. Las estructuras observadas se compararon con las encontradas en los preparados microscópicos de hojas de hiedra y de alimento balanceado.

RESULTADOS

Descripción de las epidermis foliares de hiedra.

La hoja de hiedra, en la cara adaxial no presenta estomas. Las células epidérmicas fundamentales son isodiamétricas o alargadas en proporción 2:1; de contorno lobulado, con 5 a 8 lóbulos, semejantes a las piezas de un rompecabezas (fig. 1). Sobre las venas, las células son isodiamétricas o ligeramente alargadas y tienen forma poligonal, con 3 ó 4 lados. Se presentan ordenadas en filas longitudinales, paralelas a la nervadura. No se observan estomas. Existen formas de transición entre las células lobuladas de la zona internerval y las células poligonales de la zona nerval (fig. 2).

La epidermis abaxial presenta abundantes estomas anomocíticos. Las células epidérmicas fundamentales son alargadas o isodiamétricas, de contorno lobulado,

con 5 a 8 lóbulos, como las de la cara adaxial (figs. 3 y 4).

Sobre las venas las células tienen contorno poligonal, generalmente con 4 lados; son isodiamétricas a ligeramente alargadas y están ordenadas en filas longitudinales. En esta zona no se observan estomas (fig.5).

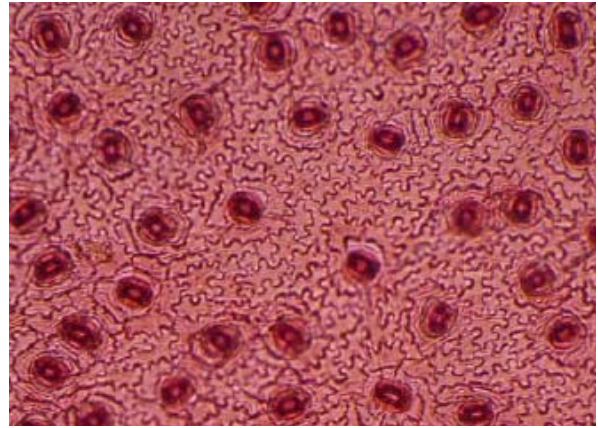


Figura 3. Hoja de hiedra, epidermis abaxial, zona internerval. Estomas anomocíticos.

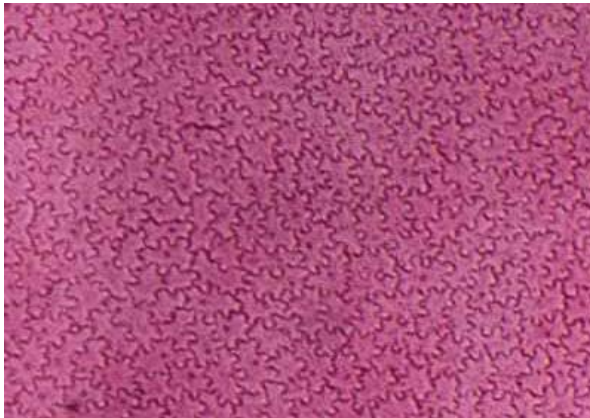


Figura 1. Hoja de hiedra, epidermis adaxial, zona internerval.

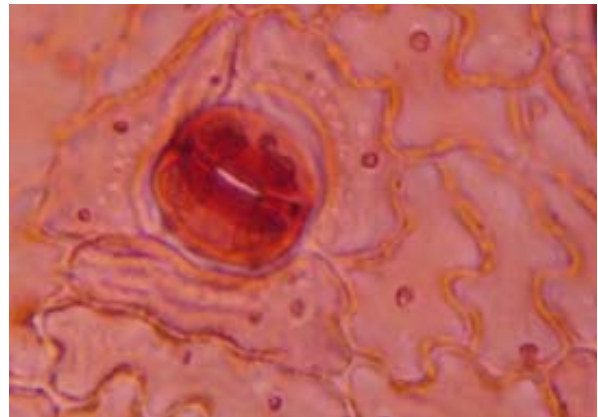


Figura 4. Hoja de hiedra, epidermis abaxial. Detalle de un estoma.

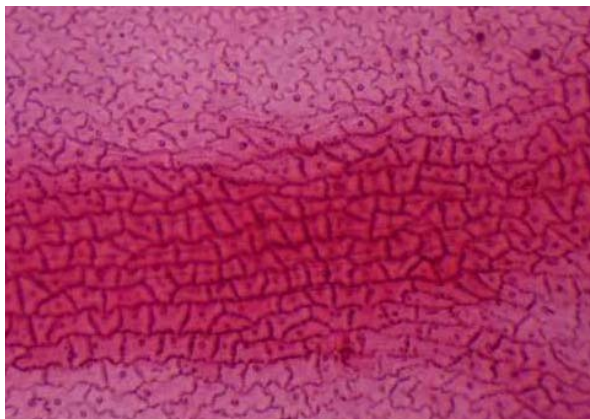


Figura 2. Hoja de hiedra, epidermis adaxial, zona nerval.

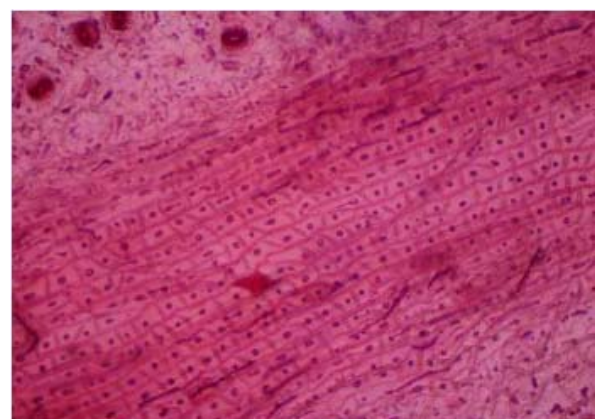


Figura 5. Hoja de hiedra, epidermis abaxial. Zona nerval.

Alimento balanceado

En la muestra de alimento balanceado se encontraron cristales aciculares insolubles en agua, que generalmente se presentan agrupados (fig. 6). También granos de almidón de diverso origen, que se tiñen de azul oscuro con lugol (fig. 7). Entre los granos de almidón se identificaron algunos con morfología de tipo poroto: de forma oval e hilo alargado y ramificado (fig. 8). Se encontraron también fibras y vasos xilemáticos disociados (figs. 9 y 10) y porciones

de tejidos vegetales formados por células isodiamétricas de color pardo oscuro, de contorno poligonal, con paredes gruesas y claras, sin estomas (fig. 11).

Estas porciones de tejidos frecuentemente se encuentran superpuestas con estructuras típicas de epidermis de Gramíneas (fig. 12). Se observaron también componentes lipídicos, que reaccionan con el colorante específico tomando color anaranjado intenso (fig. 13) y partículas diversas no identificadas (fig. 14).



Figura 6. Muestra de alimento balanceado: cristales aciculares.



Figura 8. Muestra de alimento balanceado: granos de almidón tipo poroto.

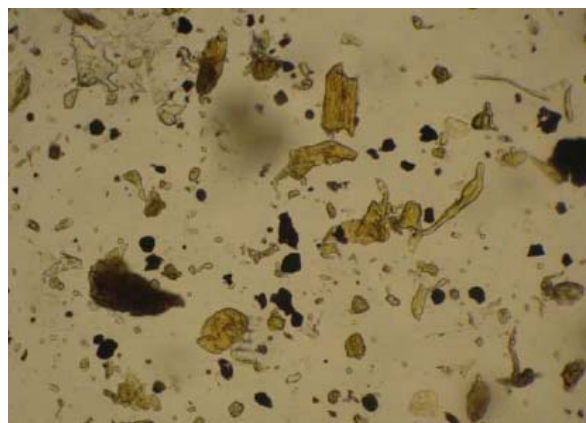


Figura 7. Muestra de alimento balanceado: granos de almidón, teñidos con lugol.



Figura 9. Muestra de alimento balanceado: fibra vegetal.



Figura 10. Muestra de alimento balanceado: vasos xilemáticos.

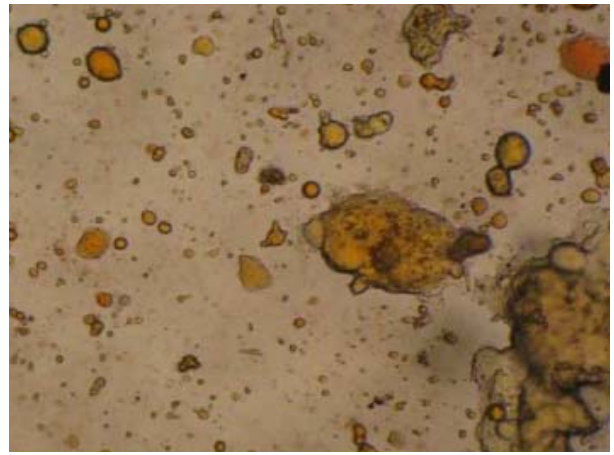


Figura 13. Muestra de alimento balanceado: componentes lipídicos.



Figura 11. Muestra de alimento balanceado: tejido vegetal, sin estomas.

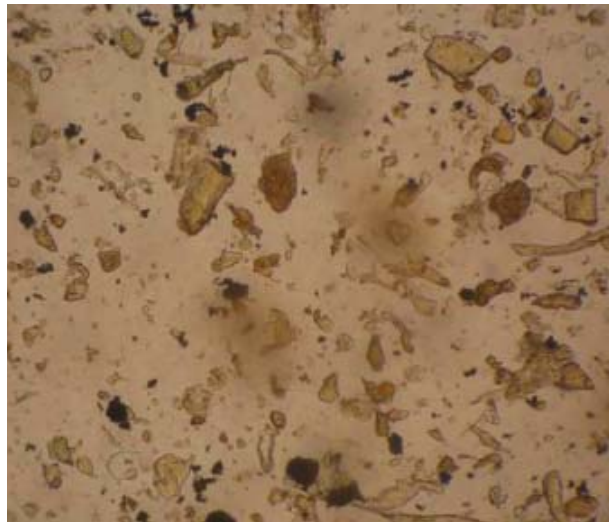


Figura 14. Muestra de alimento balanceado: partículas sin identificar.

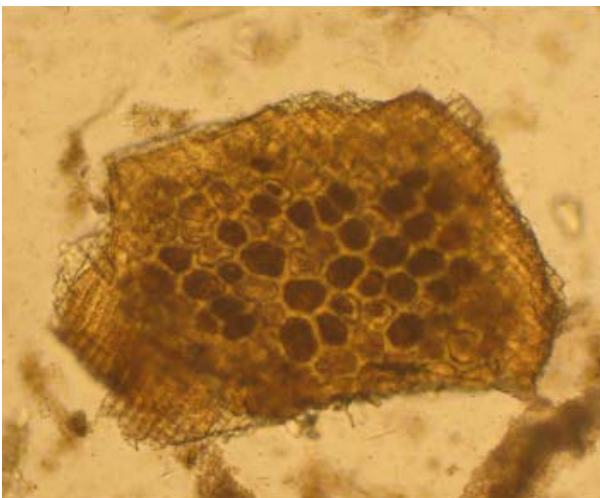


Figura 12. Muestra de alimento balanceado: salvado de trigo.

Materia fecal

En la tabla 1 se consigna, para cada muestra de materia fecal, el tiempo transcurrido desde la ingesta de hiedra y las estructuras encontradas en el análisis microscópico.

N° de muestra	Tiempo desde la ingesta de hiedra	Estructuras encontradas en el análisis microscópico
0	Muestra anterior a la ingesta.	Componentes del alimento balanceado.
1	8 horas	Componentes del alimento balanceado. Fragmentos de hoja de hiedra.
2	24 horas	Componentes del alimento balanceado. Fragmentos de hoja de hiedra.
3	30 horas	Componentes del alimento balanceado.
4	36 horas	Componentes del alimento balanceado.
5	48 horas	Componentes del alimento balanceado. Fragmentos de hoja de hiedra.
6	72 horas	Componentes del alimento balanceado.

Tabla 1. Muestra de materia fecal, tiempo transcurrido desde la ingesta de hiedra y estructuras encontradas en el análisis microscópico.

En todas las muestras se encontraron fragmentos vegetales correspondientes al alimento balanceado: en el sobrenadante se encontraron abundantes cristales en forma de aguja (fig. 15).



Figura 15. Muestra de materia fecal: cristales aciculares.

En el precipitado: fragmentos de epidermis con células isodiamétricas, de paredes gruesas (fig. 16), fragmentos de epidermis típica de Gramíneas (fig. 17), elementos conductores del xilema (fig. 18) y partículas varias, no identificadas.

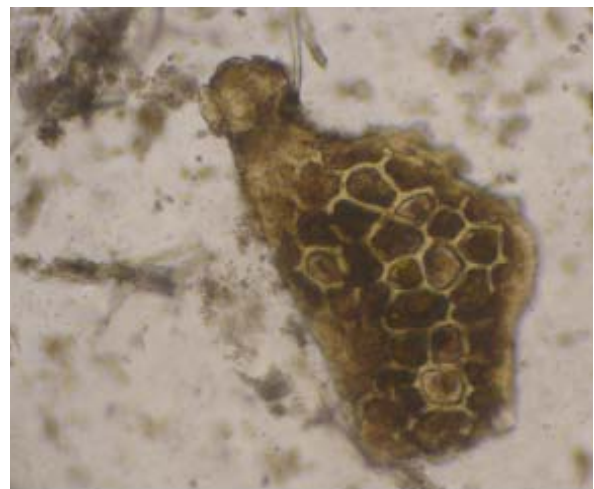


Figura 16. Muestra de materia fecal: salvado de trigo.

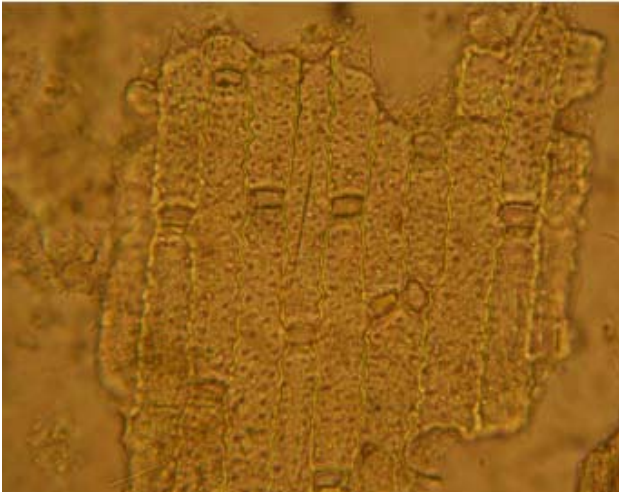


Figura 17. Muestra de materia fecal: epidermis de Gramínea.



Figura 18. Muestra de materia fecal: vasos xilemáticos.

En el precipitado de las muestras 1, 2 y 5 se encontraron fragmentos foliares con características típicas de las hojas de hiedra: células epidérmicas

fundamentales lobuladas y estomas anomocíticos (figs. 19 a 22).

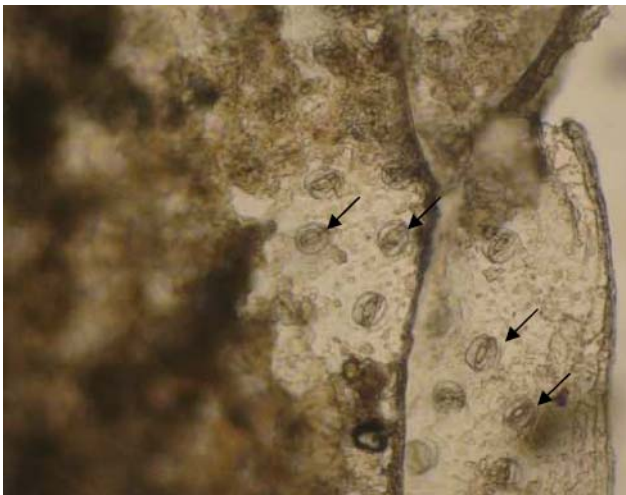


Figura 19. Muestra de materia fecal: fragmento foliar de hiedra. Las flechas indican estomas.



Figura 20. Muestra de materia fecal: fragmento foliar de hiedra. Detalle de un estoma.

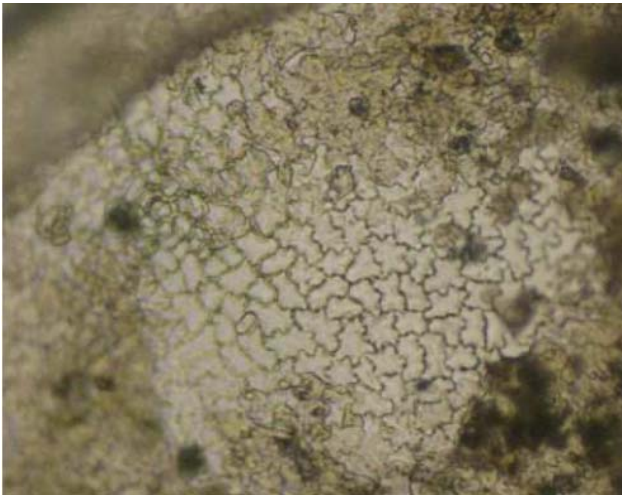


Figura 21. Muestra de materia fecal: epidermis adaxial de hiedra, sin estomas.

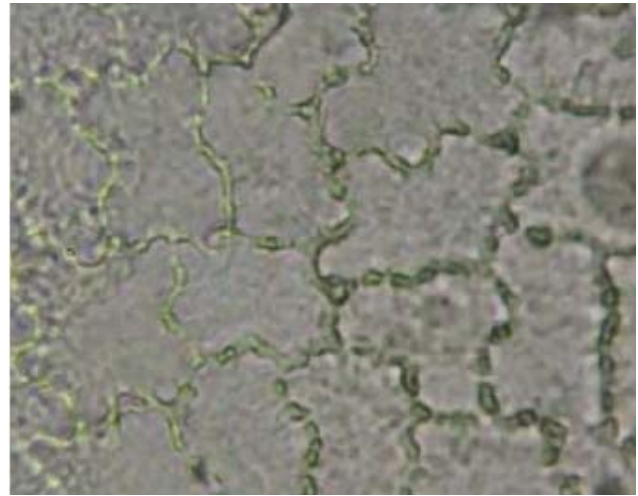


Figura 22. Muestra de materia fecal: epidermis adaxial de hiedra, sin estomas. Detalle.

DISCUSIÓN

La identificación de las estructuras correspondientes a la planta tóxica y al alimento suministrado, fue posible por comparación con las muestras patrones. Jalil et al (8), comparando con muestras puras, identificaron los fragmentos de epidermis sin estomas, formadas por células isodiamétricas de paredes gruesas, como salvado de trigo, un componente común en los alimentos balanceados para mascotas.

Otros componentes del alimento balanceado, como los granos de almidón, no se encontraron en las muestras fecales; probablemente porque fueron transformados y asimilados durante el proceso digestivo.

Los fragmentos y epidermis foliares de hiedra se recuperaron de las deposiciones emitidas entre 8 y 48 horas posteriores a la ingesta (Tabla 1). En todos los casos los fragmentos se encontraron en el precipitado de las muestras centrifugadas. Estos datos serán de

gran importancia al momento de diseñar un protocolo de toma de muestras para la identificación de especies vegetales tóxicas en la materia fecal de mascotas.

CONCLUSIÓN

Se concluye que, realizando ajustes, es posible la aplicación de esta técnica en medicina veterinaria para cachorros caninos.

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Agr. Elizabeth Zita Ortega por su inestimable colaboración en el análisis de muestras del alimento balanceado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baungartner LL, Martin AC. (1939). Plant histology as aid in squirrel food habits studies. *J. Wild. Manage*; 3: 266-268.
2. Pelliza de Sbriller A. (1993). Acerca de la Microhistología. INTA Comunicación Técnica N° 32.
3. Monteverde S. Intoxicaciones causadas por plantas Ornamentales y de Jardín. Asociación Argentina de Medicina Felina. http://www.aamefe.org/intoxicaciones_plantas_monterverde.htm[Consulta:26/02/2008].
4. Zeinsteger PA, Gurni A. (2004). Plantas tóxicas que afectan el aparato digestivo de caninos y felinos; *Rev. Vet.* 15: 35-44.
5. D'Ambrogio de Argüeso A. (1986). Manual de Técnicas en Histología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
6. Dilcher DL. (1974). The study of angiosperm leaf remains. *Bot Rev*; 40: 1-157.
7. Van Cootthem W R. (1970). A classification of stomata types. *Bot J Linn Soc.* 63: 235-246.
8. Jalil AC, Medina MM, Ortega EZ. (2010). Descripción de Caracteres Microscópicos de Componentes Vegetales de Alimentos Balanceados Para Mascotas. Cuartas Jornadas de Jóvenes Investigadores UNT – CONICET. Tucumán, Argentina. Junio 22 al 24. Comunicación N° 49, pp. 1-11.