

Helecho macho, salud animal y salud humana¹

Braken fern, animal and human health

M. E. Alonso-Amelot

Resumen

El helecho *Pteridium aquilinum* es una de las malezas mas comunes en el mundo. Crece en todas las regiones desde el sub-artico hasta las partes mas sureñas de Africa y América. En la banda tropical crece profusamente en las tierras montañosas templadas intervenidas por la actividad humana, formando densas masas que excluyen otra vegetacion. La planta contiene varios componentes tóxicos que afectan el ganado de forma dramática : avitaminosis B1 parálisis mecánica, parálisis del rumen, trombocitopenia aguda, degeneración renal y hepática, hemorragias a lo largo del tubo digestivo, cáncer y hematuria vesical bovina. También ocasiona ceguera permanente en caprinos. Algunos de sus efectos pueden ser transmitidos al ser humano a través de la leche de animales expuestos al helecho, pues se ha podido demostrar que la leche contiene el carcinógeno de *Pteridium*: ptaquilósido, en cantidad suficiente para poder ser el causante o coadyuvante del muy alto índice de cáncer gástrico observado en las zonas montañosas de Venezuela y Costa Rica, donde este helecho es prevaleciente e invasor de potreros de producción láctea.

Palabras clave: Helecho, *Pteridium aquilinum*, ganado, intoxicación, cancer, ptaquilosidos.

Abstract

The braken fern (*Pteridium aquilinum*) is one of the five weeds most common in the world. It grows in all the continents, from the sub Arctic to the southerner parts of Africa and America. In the tropical regions it grows profusely in the temperate mountain zones which are cultivated by humans, forming dense masses which exclude other vegetation. The plant contains various toxic components which affect cattle dramatically: avitaminosis B1 mechanical paralysis, paralysis of the rumen, acute trombositopenia, renal and hepatic degeneration, hemorrhaging in the large digestive tract, cancer hematuria vesical in cattle. It can also cause permanent blindness in goats. Some these affects can

Recibido el 04-09-1997 ● Aceptado el 05-12-1997

1. Conferencia presentada en la XV Reunión Latinoamericana de Producción Animal y IX Congreso Venezolano de Zootecnia, Maracaibo, Venezuela, noviembre, 1997.

2. Grupo de Química Ecológica, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela. E-mail: alonso@ciens.ula.ve / Web Site: <http://www.ciens.ula.ve/gpe/>

be transmitted to humans through milk from animals in contact with the plant. Also it has been demonstrated that the milk can contain a carcinogen of *Pteridium*: ptaquiloside, in quantities sufficient to be the cause of or coagent in the high levels of stomach cancer found in the mountainous regions of Venezuela and Costa Rica, where this plant prevails and invades grazing lands of milk cattle. **Key words:** Braken fern, *Pteridium aquilinum*, cattle, intoxication, cancer, ptaquiloside.

Introducción

La mayoría de los productores pecuarios reconoce que la salud de sus animales de cría depende en buena medida de lo que consumen en su dieta. Y esta dieta esta compuesta mayormente de pastos. Al proverbio popular alemán que reza: "el hombre es lo que come" bien puede sumársele esta nueva acuñación: "el ganado rinde lo que come".

El centro de la operación ganadera en cualquier parte es el alimento, fundamentalmente pasto y balanceados preparados, por supuesto sin menoscabo de otros elementos esenciales como el control adecuado de enfermedades, calidad del plantel genético, tecnología de reproducción y manejo, instalaciones y mercadeo.

Pero la solución al problema alimenticio del ganado no siempre está resuelto.

Si bien hay numerosas especies de pastos -usualmente introducidos- que permiten, con un manejo adecuado del potrero, garantizar económicamente una alimentación apropiada con alto contenido de proteínas, vitaminas y polisacáridos digeribles, existe también el permanente problema de la contaminación de esos potreros con plantas silvestres, además del

suministro adecuado de agua y fertilizantes para que ese pasto se mantenga en condiciones de producción suficientes.

El problema tiene una raíz ecológica inevitable: al prepararse un terreno para la siembra de un determinado pasto, pangola, kikuyo, yaraguá, elefante o gamelote, en la práctica se está iniciando, desde el nivel cero, una nueva sucesión. Por "sucesión" se entiende ecológicamente el proceso mediante el cual la naturaleza va transformando paulatinamente un espacio en su composición florística y faunística, hasta alcanzar, con el paso de los años, un nuevo equilibrio entre esos elementos. Así por ejemplo, una tierra quemada o cosechada, al dejarse en barbecho, se va poblando progresivamente de plantas silvestres y rastros del cultivo que dejó ser illas en el sitio formando una primera sabana, para luego aparecer arbustos y rastrojos, luego pequeños árboles entremezclados. Si el régimen de lluvias y sustentación del terreno lo permiten, se forma finalmente un bosque si ese espacio no es intervenido de nuevo para aprovechamiento agropecuario.

El productor, sea agricultor o

ganadero, se encuentra obligado a mantener sus terrenos en el estadio de sucesión muy temprana, pues le conviene que sus tierras sustenten un monocultivo: maíz, sorgo, o simplemente pasto seleccionado, sin que intervengan otras plantas que da por llamar "malezas". Esto es difícil, energética y económicamente, pues las plantas silvestres de los alrededores continuarán generando infinidad de semillas que serán acarreadas por el viento y los dispersadores animales hacia el cultivo, inyectando constantemente plántulas que se convertirán en esas malezas. Más aun, el ganado usualmente devora lo que le gusta en preferencia sobre otras plantas de sabor menos apetecible. Los pastos han sido desarrollados incluyendo su palatabilidad para el ganado. De esta manera, el ganado ejerce una presión selectiva *contra* el pasto y por consiguiente en *favor* de las malezas, que terminan por prevalecer a menos que se controlen mecánicamente o con herbicidas. Ambos procesos son costosos y por consiguiente no están siempre al alcance de todos los productores. Así, poco a poco el ganado se va exponiendo más y más a las plantas silvestres que termina por comer e incluso favorecer cuando el pasto de cultivo se hace escaso por sobrepastoreo o bien porque veranea.

El caso se agrava en la situación de ganado criado extensivamente, sobre amplias tierras en que se confía en la abundancia local de gramíneas y otras plantas de hojas anchas para mantenerlo razonablemente alimentado, como sucede en gran parte de los llanos centro-orientales y del sur

del país. En contraste con zonas de clima templado, en los trópicos la riqueza de especies vegetales es enorme, y por consiguiente el potencial de invasión e inyección de diversidad florística es mayor.

Si bien en apariencia las malezas sólo tendrían la única desventaja de no ofrecer tan buenos nutrientes al ganado, en realidad su riesgo es mucho mayor. No es infrecuente encontrar que las plantas silvestres que son agresivas colonizadoras poseen toxinas en su constitución química que provocan efectos negativos en el ganado. Estos efectos van desde la simple disminución en la ganancia de peso hasta la debilitación del sistema inmunoestático, desórdenes fisiológicos graves, y hasta cáncer, intoxicación aguda y muerte, a veces en pocas horas.

Por ejemplo, la planta llamada "lengua de perro" (*Cynoglossum officinale*), originaria de Europa y Eurasia e introducida en Norteamérica en los estados del oeste puede provocar la muerte por toxicosis hepática aguda en pocas horas a los vacunos que la consumen. En una hacienda del estado de Utah en 1988, a un lote de nueve becerros estabulados se le dió pasto cortado que inadvertidamente contenía hojas de "lengua de perro". Los nueve animales murieron en menos de tres días. La necropsia mostró claras señales de envenenamiento por alcaloides de tipo pirrolicidínico contenidos en alta proporción en hojas y semillas (0,51 y 1,18% respectivamente de esta planta (6). La alcaloidosis pirrolicidínica puede inducirse en cantidades subtóxicas aun cuando letales en plazo

extendido. Un estudio reciente demuestra que al exponerse ganado vacuno a sólo tres días de alimentación con complementos moderados de *Senecio jacobea*, los animales desarrollaron síntomas clínicos después de varias semanas, y todos estaban muertos al año del experimento (19). Estos alcaloides se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en especial en las familias Compositae, Leguminosae, y Boraginaceae, todas con amplia representación en Venezuela y Colombia. Además, hay multitud de otros tipos de alcaloides con potencial tóxico, como por ejemplo los indólicos y isoquinolicidínicos que se encuentran en alta concentración en ciertas plantas tropicales y subtropicales, como las abundantes lupinas de las zonas montañosas del país.

Se suman a éstas otras plantas con componentes muy agresivos tales como los glucosinolatos e isocianatos de las crucíferas silvestres (mostacillas), los glicósidos cardíacos o cardenólidos de las Asclepiadáceas, los agentes tóxicos aún no clarificados de varias Rutáceas, el ácido anacárdico de las Anacardiáceas (e.g. merey), el ácido aristolóquico de las Aristolochias, la ipomeamarona de las Ipomeas, los aminoácidos no protéicos de muchas semillas de leguminosas, los glicósidos cianogénicos, los metilendioxi-propenil bencenos, las lactonas sesquiterpénicas y muchos otros compuestos ofensivos contenidos en una amplia variedad de plantas a las que el ganado va a exponerse en potreros silvestres o mal manejados. En Venezuela tenemos

todavía mal entendida esta situación de riesgo, pues los estudios químicos de plantas tóxicas propias de potreros apenas han comenzado. Pero el riesgo es real pues todas las familias de plantas mencionadas están bien representadas en la flora venezolana. Basta examinar rápidamente la variedad de ramas que emplean los campesinos como barbasco de pesca para darse cuenta del potencial tóxico que enfrenta el ganado. El número de plantas tóxicas para el ganado en todo el mundo es suficiente para llenar más de un libro con más de siete mil registros (14)

En Venezuela, como se dijo, está poco investigada la intoxicación del ganado por plantas silvestres que se encuentran en el potrero. Uno de esos casos, que más bien corresponde en parte a falta de nutrientes en esas plantas silvestres, es el del Síndrome Parapléjico del Bovino (SPB). Esta es una enfermedad bastante generalizada en los llanos del Orinoco, que es tal vez el resultado de varios componentes tanto bióticos u orgánicos como abióticos o inorgánicos. En lo segundo, las plantas, aunque obviamente organismos vivos, son vehículo para la ingestión de macro y micronutrientes minerales que el bóvido necesita para su normal desenvolvimiento. Tales minerales se encuentran en cantidades muy insuficientes en el pasto natural que crece en esas regiones (26) por lo que causa una predisposición al desarrollo de otros síntomas que resultan en muerte y graves pérdidas económicas.

El helecho macho

Otro caso en cuestión es el de este helecho, también conocido como helecho de montaña, helecho común, y helecho águila que crece profusamente en las zonas montañosas húmedas y semihúmedas de toda Venezuela (22). Su nombre sistemático es *Pteridium aquilinum*, y en el norte de Suramérica y Centro América se tienen dos de las doce variedades que existen en el mundo, la *caudatum* y la *arachnoideum*.

No se trata de una planta rara o de fácil control. Por el contrario, *P. aquilinum* es una de las cinco malezas más importantes del mundo. Afecta profundamente los ecosistemas intervenidos por la actividad agropecuaria en los cinco continentes, y hasta islas remotas del océano Pacífico, quedando exentos de su abundante presencia algunos lugares como las zonas desérticas, el espinar xerofítico, las selvas húmedas tropicales, las selvas nubladas de montaña (mientras no se las elimine pues cuando esto ocurre crece explosivamente), y las sabanas húmedas bajas hipotérmicas del trópico en las que no puede competir con otras especies vegetales que están mejor adaptadas para soportar los meses de sequía extendida, propia de nuestra geografía, y las altas temperaturas.

Por eso en Venezuela, país de vegetación fuertemente intervenida por la actividad agropecuaria, minera y maderera, o por la simple e inútil destrucción de bosques y sabanas por el fuego, el helecho macho se extiende

a lo largo de toda la cordillera, que arrancando desde el Táchira, llega a la Península de Paria a través de la Cordillera de la Costa y el Macizo de Turumiquire. Esto incluye las ramificaciones hacia el norte, por la cordillera de Perijá y la Serranía de Coro. Recientemente se le ha detectado en varios puntos de Guayana como Los Pijiguaos y la Gran Sabana y algunos tepuyes en el Estado Bolívar, y la Sierra de Imataca (22). Los pies de monte se ven igualmente afectados desde los 300 a 500 m sobre el nivel del mar, a ambos lados de la cordillera andina por ejemplo. Montañas geológicamente aisladas y recientes tales como el cerro Santa Ana en la península de Paraguaná, posee macizos de helecho macho, a pesar de estar rodeado por todas partes de bosque xerofítico en el que no hay estos helechos, y que las montañas más cercanas -la Sierra de Coro- se encuentran a más de cien kilómetros de distancia. Ello demuestra la capacidad invasiva de esta planta por intermedio de sus esporas.

El *Pteridium* es especialmente propenso a invadir áreas intervenidas por el fuego o la tala. Humboldt no lo menciona entre la flora venezolana de 1800, aun cuando conocía su existencia pues lo señala en las Islas Canarias en el mismo viaje. Ello hace pensar que era escaso en aquel tiempo. Dos siglos más tarde se le encuentra en vastas colonias en casi todas las zonas montañosas del país. Esto también demuestra su capacidad de invasión y la dimensión de la intervención

humana de la capa vegetal natural de nuestro territorio.

Los peligros del *Pteridium*.

No se trata solamente de una maleza que crece profusamente, ahogando pastos y algunos cultivos. Al ser ingerido por los animales de cría, *P. aquilinum* produce una variedad de afecciones graves. Hace unos cien años (25) se le tipificó como similar al temido antrax bovino, lo que dará una idea de la intensidad de las lesiones. Desde entonces han sido muy extensos los estudios realizados que reseñamos muy brevemente a continuación, según el tipo de afección:

Avitaminosis B1. El hehecho contiene en su fracción acuosa una enzima denominada tiaminasa, que en forma muy efectiva destruye la tiamina o vitamina B1 presente en el tracto digestivo del animal (10). Otros compuestos en el hehecho producen una acción similar (12). Ello ocasiona una avitaminosis severa que se manifiesta en síntomas neurológicos tales como descordinación motora, parálisis -especialmente de los cuartos delanteros- caída, convulsiones y muerte por asfixia motora si la dosis de hehecho ingerida es muy grande. Puede corregirse con complementos (a tiempo) de vitamina B1 inyectada. Esta condición afecta especialmente a cerdos, caballos, mulas y burros, pero no así a los bóvidos y caprinos debido a las diferencias conocidas en el sistema de digestión y a la flora ruminal que produce cantidades considerables de esta vitamina.

Afecciones hematológicas. Se ponen primeramente de manifiesto al hacer placas al microscopio de muestras de sangre. Al esparcir la

muestra aparecen estrías y glomérulos impropios de sangre normal. Más profundamente, se presenta en casos avanzados, anemia aplástica, cuya manifestación más visible es la depresión de la médula ósea. Ello conduce a una severa leucopenia y trombocitopenia que debilita rápidamente el animal y lo hace propenso a infecciones severas que pueden matarlo. Si la dosis ingerida de hehecho es suficiente (lo cual depende de varios factores como madurez de la fronda, contenido de ciertos compuestos, época del año, etc.), la afección puede presentarse a los pocos días de esa ingestión. (11).

Ceguera de las ovejas. Al devorar hehecho macho, estos animales desarrollan ceguera paulatinamente hasta quedar enteramente ciegos, como producto de la degeneración de la retina (7) y necrosis cerebrocortical (9). Mueren por inanición al no ser capaces de alimentarse o de mantenerse en el rebaño. Esta afección está acompañada de trombocitopenia y leucopenia igualmente.

Hemorragia interna. El *P. aquilinum* contiene cantidades variables de glicósidos cianogénicos. Como su nombre lo indica, estos son compuestos que dan origen a ácido cianhídrico (HCN) una vez ingeridos por el animal. Este HCN así liberado interfiere directamente en varios procesos fisiológicos como el de respiración electrónica, al unirse irreversiblemente con varias enzimas críticas como el citocromo C, la hemoglobina y la mioglobina muscular. Si la concentración es suficientemente alta, se produce la asfixia -a veces convulsa- en pocos

instantes. Pero el helecho solamente tiene cantidades limitadas de este material, (hasta 50 mg de HCN por cada 100 g de planta seca) y es probable que no llegue a tener efectos visibles en animales grandes por este concepto. Sin embargo, en Venezuela se ha podido constatar que el contenido de HCN en frondes juveniles es bastante más alto especialmente en la variedad *arachnoideum*. De hecho, es conocido que el HCN ingerido produce inflamación gastrointestinal con hemorragias, congestión del riñón y el hígado acompañado de pelagra (20), por lo que las degeneraciones del riñón y el hígado que se han podido constatar en patologías de animales afectados en los Andes venezolanos bien pudieran deberse a este HCN.

Tales afecciones se conocen en otros países como España, Suecia, Estados Unidos y Turkía, donde se registran situaciones endémicas precisamente en la región norte costera del Mar Negro en que el *P. aquilinum* es también endémico (24).

Hematuria enzoótica bovina (HEB). Es sin duda la afección más importante y grave causada por *Pteridium*. Por HEB o hematuria vesical se conoce la pérdida de sangre entera por la orina del ganado bovino y algunas veces del caprino. Se la denomina comunmente "vegigazo" o simplemente "orinadera de sangre", y se distingue de otras hematurias en que la sangre no aparece hemolizada coloreando todo el licor urinario sino con todo su componente corpuscular/celular completo. Además, la orina roja aparece frecuentemente hacia el final de la evacuación. Dejar reposar una muestra de orina en un envase de

vidrio permite decantar la fracción celular y poder hacer un diagnóstico primario en campo de la HEB.

La HEB es una enfermedad grave, pues usualmente conduce a la muerte del animal en pocos meses. Aunque no tiene cura definitiva puede paliarse temporalmente con complementos de hierro y vitamina K. Pero el final es inevitable, al punto de que, al reconocer algún animal enfermo, los productores sistemática y prontamente lo separan para beneficio antes de que pierda peso, aún si se trata de vacas en lactancia.

Esta gravedad se entiende si se examina el cuadro clínico que acompaña a la hematuria. En todos los casos aparecen vesículas altamente vascularizadas en la pared interior vesigal. Estas vesículas son en realidad carcinomas, que en su proceso de crecimiento y vascularización descontrolados, terminan por abrirse y derramar sangre directamente en la orina. Pueden cicatrizar por lo que el animal no estará perdiendo sangre constantemente, salvo en casos avanzados. Esto a veces enmascara el diagnóstico temprano de la enfermedad. Sin embargo, la HEB conduce a una anemia creciente que debilita el animal y lo hace propenso a otras consecuencias derivadas de ésta. Estas neoplasias no se limitan a la vegiga urinaria, sino que también se observan en el esófago (causando una cierta ronquera o tos del ganado), e intestino. También se producen hemorragias en varias partes del tubo digestivo, mucosa nasal, laringe, tráquea, corazón, páncreas, tiroides, riñón, útero, y ovarios. En autopsias de ganado afectado por HEB en Ve-

nezuela, es frecuente observar lesiones en el tubo digestivo, degradación del hígado y del riñón aunque no se tienen evidencias de si éstas son consecuencias laterales o primarias de lo que ocasione la HEB.

La HEB se ha observado en numerosos países en los que llega a valores realmente críticos. Lugares tan diversos como Nueva Zelanda, Brasil, Suecia, Inglaterra, Canadá y las islas Fiji muestran pérdidas económicas por HEB.

La HEB en Venezuela. La incidencia de HEB puede ser muy alta, especialmente en zonas montañosas productoras de ganado. En los Andes meridionales, hay zonas como la de Santo Domingo, en que el 18% de los rebaños en promedio muestran HEB (8). Más aún, hay fincas de la zona aledaña a la población de Jají en el Distrito Campo Elías del Estado Mérida, en las que recientemente acusan un 80 % de ganado afectado. Incluso, lotes enteros de animales importados en determinadas fincas andinas han sucumbido a la HEB en los últimos dos años (Alonso-Amelot, información privada). Los demás estados andinos se ven igualmente afectados, así como otras zonas de producción de altura en Colombia. La incidencia de HEB disminuye drásticamente en las fincas del pie de monte andino, los llanos y la planicie de la costa del lago de Maracaibo. Se ha atribuido a la falta de incentivos económicos para el productor de leche el aumento de la HEB en la región andina en tiempos recientes, pues la falta de capital frena las operaciones de limpieza de los potreros y hace prohibitivo el uso de herbicidas efectivos contra el helecho

como Kombo y Ally.

La causa de la HEB. Aunque han habido numerosas teorías a través del tiempo, algunas derivadas de la experiencia personal de ganaderos, y otras más o menos científicas, para procurar una explicación a esta enfermedad, ya se tiene claro que es la ingestión del helecho *Pteridium aquilinum* la que causa la HEB, pues han podido reproducir todos los síntomas en bovinos experimentales a los que se les dió cantidades controladas de este helecho (23). Otros síntomas igualmente letales que incluían la formación de tumores cancerosos en pulmón y glándula mamaria pudieron inducirse en ratas y ratones de laboratorio (15, 16, 18).

Estudios más recientes sobre la composición química del helecho macho arrojaron la presencia de un determinado compuesto, el ptaquilósido (21), que parece ser el responsable de toda la sintomatología de la HEB, pues al suministrarlo experimentalmente a bóvidos por vía oral se pudo inducir tanto las lesiones vasculares como los carcinomas (17). Incluso, si la cantidad de ptaquilósido es suficientemente alta (> 10 g/animal/día en vacas) se llega a provocar un cuadro de intoxicación aguda, muy similar al que ocasiona la sobre-ingestión de helecho macho entero, que mata el animal en pocas horas.

Cómo funciona el ptaquilósido. Al traspasar la barrera fisiológica del estómago e intestino del animal, el *ptaquilósido* es capaz de incorporarse al torrente sanguíneo y de allí distribuirse por los tejidos, incluyendo el hígado, el riñón y la vejiga que resultan particularmente

afectados. Del mismo modo, puede traspasar la membrana celular y hasta nuclear.

El *ptaquilósido* es un compuesto termoinestable, que se descompone a un segundo derivado químico denominado *dienona*. Este nuevo material es el tóxico verdadero, pues es poderosamente alquilante. Así, es capaz de asociarse químicamente con infinidad de proteínas que poseen terminales amino expuestos, también ácidos nucleicos, y hasta ADN. Allí causará una alteración permanente e irreparable de los genes afectados. Si estos genes son aquellos que codifican para la activación de otros genes, o para una función especialmente sensible o reguladora de otros procesos bioquímicos, como por ejemplo, la proteína P53, encargada de regular la apoptosis o autodestrucción de aquellas células que funcionan anormalmente por cualquier deformidad metabólica, vejez, o incluso por ser protoneoplásicas, la invasión de *dienona* estará propiciando la formación y multiplicación de tejido disfuncional o canceroso. De allí las profundas lesiones observadas patológicamente. El animal, en consecuencia, se hace inviable y muere (4).

Ptaquilósido en Venezuela.

El helecho macho de Venezuela también posee cantidades importantes de *ptaquilósido*. Para cuantificar su presencia, primero se hizo preciso distinguir dos parámetros fundamentales: variedad y edad de la fronda.

Variiedad. En el mundo se observan 12 variedades de helecho macho, agrupadas en dos subespecies:

aquilinum y *caudatum*, y una sola especie: *aquilinum*. En Venezuela, Colombia y Sur de Centro América se han descrito dos variedades de la subespecie *caudatum*. Estas variedades son la *caudatum* y la *arachnoideum*, y son morfológicamente distinguibles. Es muy importante reconocer sus diferencias, ya que, poseen potencial tóxico muy diferente.

La variedad *caudatum* es de porte menor, tallos lisos (que se sienten al tacto al pasar esos tallos entre dos dedos), y hojitas que poseen un pequeño lóbulo apenas diferenciado en su base. Además estas hojitas forman un ángulo aproximadamente de 120° con el pseudotallo sobre el que crecen.

Por su parte, la variedad *arachnoideum* es de mayor porte (alcanza entre 1m y 60 cm hasta más de dos metros de alzada, los tallos son ásperos al tacto, las hojitas tienen el lóbulo mencionado del lado opuesto del tallo, y el eje de cada hojita tiende a ser recto o de 90° con el pseudotallo en el que crecen. Estas diferencias morfológicas pueden apreciarse en la figura 1. Nótese, por una parte, que la variedad *caudatum* posee los segmentos (pequeñas hojuelas) en ángulo hacia adelante respecto al eje central o raquis de la pínula, mientras que en el *arachnoideum* tienden a ser perpendiculares. Por otra parte, es de destacar el pequeño lóbulo semi-separado de la parte inferior de cada segmento en *arachnoideum*, mientras que en *caudatum* aparece fusionado en mayor o menor medida con el segmento.

Se ha estudiado la presencia de varias toxinas en estas variedades de helecho en Venezuela, observando que

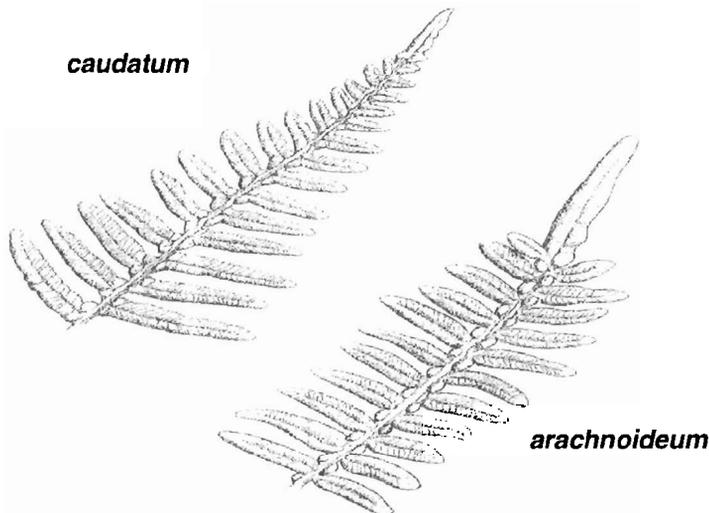


Figura 1. Dibujo de puntas de frondes (pinulas) de las dos variedades de helecho macho (*Pteridium aquilinum*) que crecen en Venezuela, mostrando diferencias morfológicas que permiten su identificación en el campo.

las cantidades de toxina cambian considerablemente según la edad del fronde y según la variedad. También cambian de un individuo a otro, y de la altitud a la que crece la muestra de helecho. Es necesario conocer todos estos factores para poder estimar la magnitud del riesgo del ganado de contraer HEB u otra afección derivada de ingerir el helecho en un determinado potrero. A continuación se describen estos hallazgos de acuerdo a cada una de estas variables.

Edad del fronde. Los frondes crecen con rapidez (ver más adelante), desde un pequeño pseudotallo en forma de báculo o cayado, que va expandiendo paulatinamente las láminas foliares a los lados de un eje central o raquis. A los propósitos de estos estudios, separamos las etapas de crecimiento, desde el cayado hasta el fronde maduro, en cuatro fases fenológicas. En la

primera etapa, el cayado asoma en la superficie del suelo y crece verticalmente con un haz de meristemas plegados en la punta sin que aparezcan hojas abiertas. El tejido es muy tierno y propenso a romperse mecánicamente. En la segunda etapa, ha aparecido desplegado completamente el primer par de láminas foliares a ambos lados del raquis, mientras que las otras láminas se encuentran todavía expandiéndose en forma de cayados secundarios. Todo el fronde sigue siendo tierno. El eje central deja de ser vertical y se curva hacia un lado. En la tercera etapa ahora estará desplegado el segundo par de láminas, mientras que en la cuarta está desplegada toda la fronda con superficies foliares a todo lo largo del raquis (figura 2). En la primera, sólo hay una vara de extremo blando, erecta y verde, de entre 10 y 50 cm de

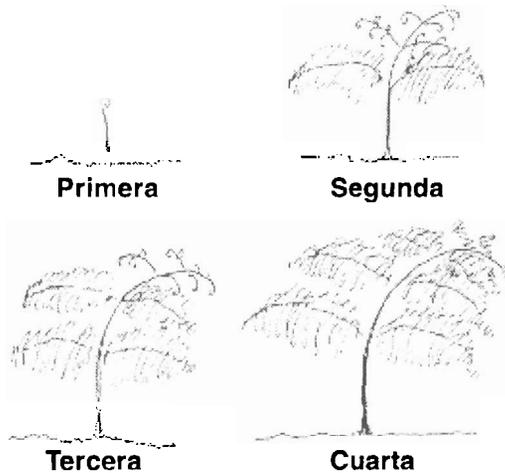


Figura 2. Aspecto general esquematizado de los frondes de helecho macho dividido en sus cuatro etapas de crecimiento.

longitud. En la segunda etapa, el primer par de pinnas se encuentra totalmente abierto, con las hojuelas o segmentos abiertos, mientras que las ramificaciones siguientes (usualmente una a tres) se encuentran sin segmentos. En la tercera etapa, el segundo par se encuentra también abierto pero los ejes de las demás pinnas, usualmente cinco a ocho, permanecen sin segmentos. En la cuarta se terminan de desenrollar las últimas pinnas y el fronde cesa de expandirse. De allí en adelante el fronde se endurece progresivamente, puede generar esporas en dos a tres meses y luego se marchita. Se consolidan y linnifican los tejidos del fronde, haciéndose duro y coriáceo con el tiempo. Hay autores que distinguen una quinta etapa en la cual los tejidos han terminado por endurecerse y mineralizarse, para luego presentar esporangios en el envés de los segmentos y luego comenzar a

marchitarse en diversos puntos de la lámina. Preferimos obviar esta última etapa pues los cambios químicos que allí suceden ya son mínimos.

El contenido de cianuro (en forma de prunasina, un glicósido cianogénico) disminuye rápidamente a medida que el fronde pasa de una etapa fenológica a la siguiente. El mayor contenido de cianuro, que alcanza entre 70 y 100 mg por cada gramo de fronde seco en el cayado de la variedad *caudatum*, va haciéndose progresivamente menor hasta restar menos del 5% de esta cantidad en el fronde maduro (cuarta etapa). A pesar de que este material es altamente tóxico, no ha podido demostrarse que produzca paralización del rumen. Probablemente es procesado por sus bacterias antes de que tenga oportunidad de absorberse en el animal.

Del mismo modo, el contenido de *ptaquilósido* y otra sustancia relacionada, la pterosina B, va

descendiendo desde la primera a la cuarta etapa en el helecho de variedad *caudatum*, quedando una cantidad inferior al 5% de la inicial (figura 3). Además se ha descubierto recientemente que el *ptaquilósido* está acompañado de otros tres compuestos muy parecidos que pueden tener las mismas características de carcinogenicidad de acuerdo a su estructura química. Estos compuestos, llamados isoptaquilósido, caudatósido y ptaquilósido Z están presentes solamente en los cayados recién cortados. Luego desaparecen para la segunda etapa fenológica.

Al contrario de esta dinámica descendente, otros dos componentes

nocivos en el helecho aumentan su concentración a medida que se avanza en el crecimiento de los frondes. Estos son taninos y fenólicos, por una parte, y la sílice u óxido de silicio por la otra. Se conoce desde hace mucho que los taninos son sustancias tóxicas para muchos herbívoros. Entre otras, poseen la cualidad de asociarse irreversiblemente con proteínas solubles transformándolas a un complejo insoluble e indigerible. Esto conduce a una digestión ineficiente y disminución de la ganancia de peso del animal. Los taninos también pueden formar complejos similares con las proteínas de las mucosas a lo largo del tracto digestivo, causando

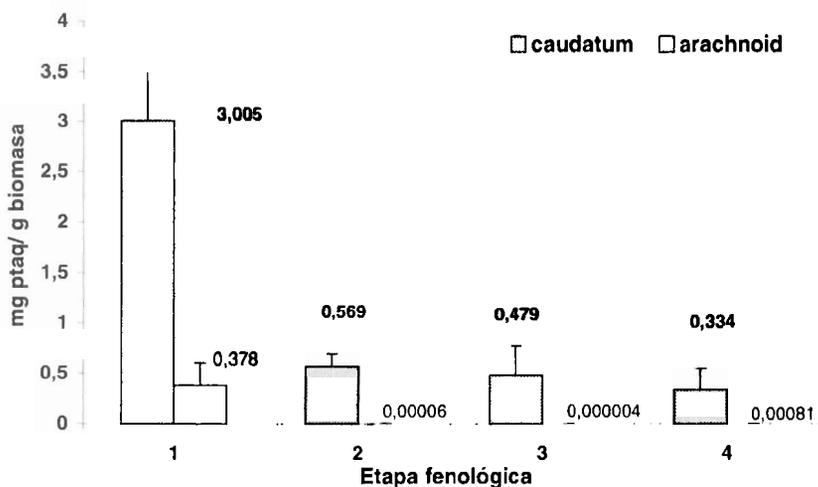


Figura 3. Variación ontogénica comparada del contenido del carcinógeno, ptaquilósido, presente en el helecho macho *Pteridium aquilinum*, en sus dos variedades *caudatum* y *arachnoideum*, de acuerdo a la etapa de crecimiento del fronde. Datos sobre 30 individuos distribuidos en tres parcelas experimentales, a 1900 m sobre el nivel del mar en las cercanías de Mérida, Venezuela. Alonso-Amelot y col. (1).

perturbación en su funcionamiento normal. El acomplejamiento en la mucosa bucal es responsable del rechazo o impatabilidad del alimento con alto contenido de tanino por parte del ganado, tal como se observa en las sabanas de los llanos orientales cubiertas por *Trachiopogon* y *Andropogon*, que poseen alto contenido de taninos a partir del tercer mes de crecimiento luego de la entrada de lluvias. En casos de exposición prolongada, estos taninos pueden ocasionar lesiones cancerosas.

Por su parte, el helecho es muy eficiente en la translocación de sílice desde el suelo ácido en que se desarrolla con preferencia, hasta los segmentos u hojitas, donde se deposita abundantemente en canales sinuosos que atraviesan estas hojitas de una cara a la otra. Sin embargo tiende a acumularse mayormente en la epidermis, muy cerca de la superficie. La forma soluble de este sílice es amorfa, mientras que la insoluble se deposita en cristales en forma de peine doble con agudos filos que resultan irritantes a la mucosa intestinal. Si esta irritación es prolongada, se transforma en un símil de la silicosis pulmonar y puede causar inflamación crónica y hasta cuadros pre y post-cancerosos. Siendo un proceso de translocación y deposición, es lógico encontrar que el contenido global de este sílice vaya en aumento -al igual que los taninos- a medida que el fronde avanza en su crecimiento.

Hay sitios rocosos en que los helechos presentan un aspecto coriáceo y áspero similar al de un arbusto de chaparro, y creemos que obedece a la acumulación de esta sílice en forma de

fitolitos o cristales asociados al tejido vegetal.

De estos primeros resultados podemos deducir que el potencial tóxico del helecho varía a lo largo de su crecimiento según la expresión química que lo represente. En términos de ptaquilosinemia y de afectación por cianuro, el riesgo de consumirlo es mayor mientras más juvenil es el fronde. Este riesgo se ve acentuado debido a que el tejido del helecho es más tierno -y por consiguiente más aceptable al ganado- en esas etapas. Por otra parte, en términos de los riesgos derivados del consumo de taninos y sílice sucede lo contrario: aumenta con la edad del fronde. Este riesgo se ve atenuado por la dureza que va adquiriendo el fronde con su envejecimiento relativo, lo que lo hace menos aceptable al ganado, así como el sabor desagradable que causa la acumulación de tanino. En el momento actual no hemos desarrollado todavía información acerca de la variación de la tiaminasa asociada a la avitaminosis B1, que presenta el *Pteridium*.

Variación de la planta. Las dos variedades de *Pteridium* presentan diferencias notables en la cantidad de material tóxico que acumulan. Se ha estudiado en detalle solamente sobre ptaquilósido, cianuro y taninos, pero no sílice ni tiaminasa todavía.

Ptaquilósido es mucho más abundante en la variedad *caulatum* que en la *arachnoideum*. Además, mientras que en la primera variedad se conserva una cantidad residual de ptaquilósido en los tejidos del fronde, este compuesto desaparece por debajo de nuestro límite de detección (10^{-6} mg/

g de biomasa) a partir de la segunda etapa de crecimiento del fronde de *arachnoideum* (Figura 3). En oposición a ésto, el contenido de cianuro de *caudatum* es entre un 30 y un 70% menor que el de *arachnoideum*.

Como puede deducirse de estos resultados, el riesgo para el ganado de contraer HEB en potreros infestados de *Pteridium* de la variedad *caudatum* es mucho mayor que en aquellas zonas con la variedad *arachnoideum* presente en el potrero. De allí la importancia de saber distinguir las dos variedades de helecho que se tiene en la finca. Más adelante veremos que hay una segregación climática de estas dos variedades que facilita predecir qué clase de infestación se tiene en la finca.

Altitud de la finca. Las plantas en general se encuentran adaptadas a aquellas características del entorno que le resultan más favorables a su crecimiento, reproducción y metabolismo. El helecho es ciertamente muy adaptable a una amplia variedad de climas y entornos, pero hay ambientes que le son más favorables que otros para prosperar, en los que la actividad metabólica será máxima. Fuera de éstos, esa actividad deberá disminuir y con ello también disminuirá su capacidad para biosintetizar compuestos xenobióticos u ofensivos a otros organismos. Sobre esta hipótesis, se estudió la variación en el contenido de algunos de los componentes tóxicos de la variedad más riesgosa, la *caudatum*, a lo largo de una transecta altitudinal en los Andes merideños con los siguientes resultados:

Ptaquilósido. Su concentración disminuye progresivamente con la

altitud (figura 4), así como también la enverguradura promedio de los frondes. Esto hace pensar en un primer análisis, que las fincas por encima de los 1700 mts sobre el nivel del mar (snm) tendrán menor riesgo de que su ganado contraiga HEB que aquellas más abajo. Sin embargo, esto no es necesariamente así, pues dependerá no sólo de la concentración de un tóxico en particular (ptaquilósido en este caso) sino también de: la abundancia relativa de helecho frente a otros pastos; la severidad del verano pues el helecho permanece verde mientras las gramíneas perecen, de la frecuencia de los incendios accidentales o para limpieza de potreros (que favorecen el crecimiento de masas densas de helecho) y de la susceptibilidad del plantel a la HEB.

Cianuro y taninos. En un extenso muestreo realizado a lo largo del Estado Mérida a diversas alturas y zonas climáticas, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de estos compuestos ni la cinética de su liberación al medio ambiente al dañarse los frondes, de modo que el riesgo a su exposición es más o menos el mismo independientemente de la zona.

Segregación altitudinal de variedades *caudatum* y *arachnoideum*. Estas variedades se distinguen, además de morfológicamente, por la preferencia de hábitats. Ambos crecen en orillas de bosque húmedo, sabanas de montaña y pie de monte, sobre suelos preferentemente ácidos y pobres en nutrientes. Pero *caudatum* se da en Venezuela con mayor abundancia entre 600 y 2000 msnm mientras que

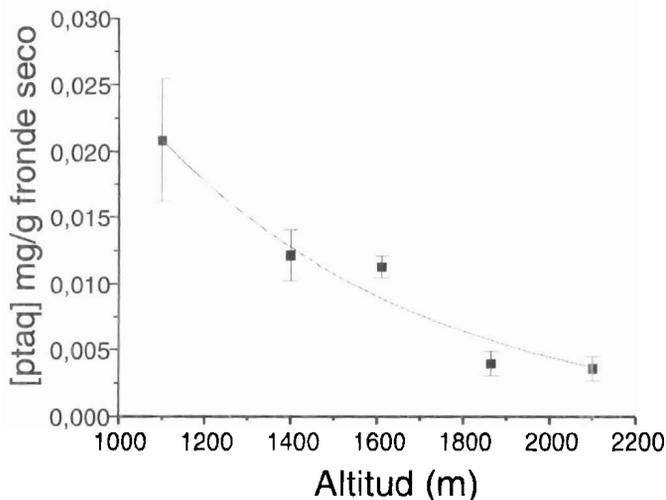


Figura 4. Variación del contenido de ptaquilósido en frondes maduros de *Pteridium aquilinum* var *caudatum* a lo largo de un gradiente altitudinal entre 1000 y 2000 mts sobre el nivel del mar, en una zona montañosa de los Andes venezolanos. Estudio preliminar sobre 5 réplicas por cada una de cinco estaciones de trabajo. Alonso y Pérez, datos no publicados.

arachnoideum se da preferentemente entre 1800 y 3000 msnm. Sin duda, hay individuos que se salen de esas cotas, pero constituyen una minoría. Hay incluso casos excepcionales de *arachnoideum* creciendo a 700 msnm y *caudatum* al nivel del mar, como lo hemos presenciado en las estibaciones

costeras de la Sierra de Salamanca en Costa Rica, pero no así en Venezuela. Esta distribución se corresponde bastante bien con la relativa ausencia de HEB en muchas fincas por encima de los 2000 msnm, mientras que fincas vecinas más abajo se ven seriamente afectadas por la HEB.

¿Qué recomendar?

Potreros de alturas medias (entre 600 y 1800 msnm) de suelos pobres y ácidos, en los que se hacen operaciones de limpieza mediante el fuego, y que confían en pastos sembrados sin mayor cuidado, estarán expuestas a un muy alto riesgo de infestación por *Pteridium aquilinum*

variedad *caudatum*, y con ello registrarán en poco tiempo pérdidas severas en la producción de carne y/o leche debidas a HEB.

Fincas que se establezcan sobre bosques húmedos de montaña vírgen, mediante la tala y la quema de esa vegetación, ubicadas en alturas medias,

se verán afectadas en pocos años por grandes masas expansivas de *Pteridium aquilinum* variedad *caudatum*, con las consecuencias antedichas

Fincas que se establezcan sobre bosques húmedos altos (>2000 msnm) y su eliminación mediante tala y quema y sustitución por pastos adecuados a la altura, tendrán un alto

riesgo de infestación por *Pteridium aquilinum* variedad *arachnoideum* con menor riesgo de aparición de HEB, pero mayor riesgo de enfermedades derivadas de cianurosis y empobrecimiento en el rendimiento del alimento ingerido por la acción de los taninos. Además, la mayor robustez y densidad del *arachnoideum* implicará mayores costos de control.

Helecho macho y salud humana

En apariencia, el *Pteridium aquilinum* es un problema de los animales y lo es del hombre sólo en la medida en que sus animales de cría se vean afectados. Pero es más que esto, lamentablemente. Hace tiempo que se vienen observando correlaciones un tanto extrañas entre la presencia de masas de helecho macho y ciertas dolencias en el hombre. Por ejemplo, en Gales, al oeste de Inglaterra donde abunda este helecho se ha observado una inusual incidencia de cáncer entre la población humana (13). Se han adelantado varias hipótesis incluyendo la contaminación del agua de pozo por exudados de las raíces y rizomas del helecho, y la invasión de sus esporas en los acueductos de superficie, pero no se ha podido demostrar claramente ninguna relación. También en Japón, país en que no sólo hay abundancia de *Pteridium* sino que se comen los brotes tiernos como una delicadeza en ensaladas, preparándolos por decocción breve en agua, se observa un índice muy elevado de cáncer gástrico y esofágico en relación con otros tipos de cáncer humano.

Estudios etiográficos en Costa

Rica (27) han ido más allá. Se ha podido encontrar una correlación geográfica entre las zonas de montaña invadidas por *Pteridium*, las áreas productoras de ganado de leche, la distribución territorial de HEB y las poblaciones humanas con alto índice de cáncer gástrico. Al comparar las zonas infestadas de helecho con aquellas en que está ausente esta planta, se encontró una incidencia 2,73 veces mayor de cáncer gástrico y 2,98 veces de cáncer esofágico en las zonas de helechales.

En Venezuela, aunque las estadísticas se llevan con índices diferentes, también se acusa un desusado índice de cáncer gástrico humano en los estados andinos, mucho mayor que el de las zonas bajas del país. De los decesos habidos por todos los tipos de cáncer registrados en los diversos hospitales del Estado Mérida entre 1987 y 1990 (alrededor de 400 casos), el 28% correspondió a cáncer gástrico (hombres) cuando normalmente es entre 3 y 5% la incidencia esperable en el grueso de la población. Las mujeres también mostraron una incidencia muy alta

(23%) aunque algo menor. En ambos casos, es el gástrico el tipo de cáncer mayor causante de muerte. Recientemente se ha adelantado un estudio epidemiológico que compara la mortalidad por cáncer gástrico en los estados andinos y el estado Zulia, habida cuenta de que en este último la presencia de helecho macho se limita a zonas restringidas del pié de monte andino, pero abunda más en las faldas de la cordillera de Perijá, en el valle del Guasare y en las colinas cevinas a Machiques. (Alonso-Amelot y

Avendaño, en preparación). Dichos autores han determinado que la población andina masculina corre $4,44 \pm 0,94$ veces más riesgo de morir que los zulianos por cáncer gástrico, mientras que para las mujeres el índice es $3,69 \pm 1,14$. Luego de un análisis minucioso de los factores de riesgo, el único que se pudo establecer era la presencia de helecho macho en superposición con fincas de ganadería de altura que, debido a manejo inadecuado del potrero, presentaban abundancia de este helecho.

El eslabón

Entre estos dos fenómenos, el helecho carcinogénico y el cáncer gástrico humano, es posible que exista un nexo, y ese nexo podría ser la leche. En efecto, experimentos preliminares lograron demostrar que la leche de vacunos expuestos a dietas con *Pteridium* inducían diversos carcinomas a ratas a las que se la incluía en su dieta. Recientemente nosotros se ha demostrado la existencia de ptaquilósido, el carcinógeno principal de *Pteridium* (1, 5).

El proceso comienza con el helecho en el potrero. Al comérselo, los animales ingieren una cantidad sustancial de ptaquilósido, 10 g por día y más, que excretan en parte -hasta cerca del 10%- por la leche en los siguientes días. Por ejemplo, si una vaca consume unos pocos kilos de helecho por cada uno de cinco días consecutivos, comenzará a excretar ptaquilósido desde el segundo día en adelante en cantidad creciente. Al sus-

pende la ingestión de helecho, continuará expulsando este compuesto en su leche por tres días más. (figura 5) Del mismo modo, si un animal devora helecho por varios días, suspende temporalmente su dieta de *Pteridium* para comerlo nuevamente en forma irregular, generará pulsos de ptaquilósido en su leche que ampliarán considerablemente el riesgo de que este carcinógeno sea ingerido por alguna persona. (figura 6).

De modo que, si alguien toma dos vasos de leche de una vaca que ha comido 6 a 7 kg de helecho conteniendo aproximadamente 5 g de ptaquilósido, y que produce unos 20 L/día de leche, esa persona estará ingiriendo entre 2 y 10 mg de este potente carcinógeno. Parte del ptaquilósido ingerido será destruido por la acidez del estómago humano, pero parte puede ser absorbido en las paredes antes de que se destruya, y causar a largo plazo, sus efectos.

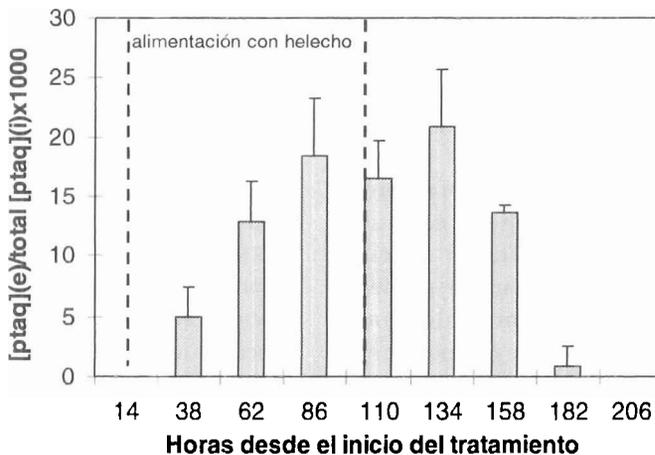


Figura 5. Excreción del carcinógeno Ptaquilósido a través de la leche de vacas (N = 6) alimentadas con complementos (6 kg/animal/día) de frondes frescos de helecho macho *Pteridium aquilinum* var *caudatum*. Período de alimentación: 96 horas. Holstein mestizas 3/4, segundo parto, segundo mes de lactancia. Ordenada: fracción de ptaquilósido excretado por día [ptaq](e) sobre la cantidad ingerida total a lo largo de todo el tratamiento [ptaq](i). Barras de error = error estándar. Alonso-Amelot y col. (3).

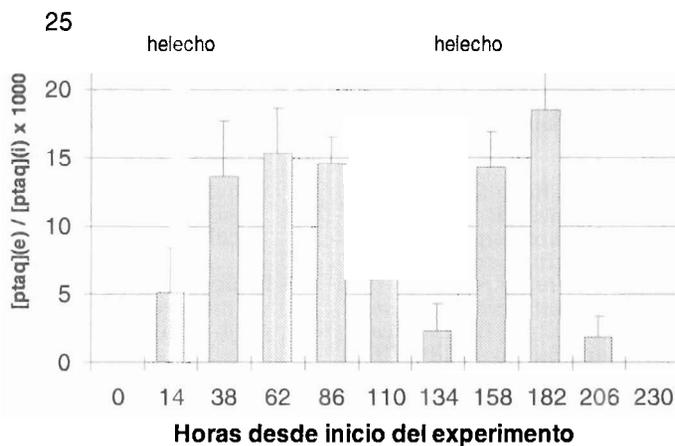


Figura 6. Excreción de ptaquilósido por medio de vacas alimentadas con helecho macho en dos períodos sucesivos de 72 y 48 h. Las demás condiciones del experimento son similares a los de la figura 5. Alonso-Amelot y col. (3).

¿Qué hacer ahora?

La respuesta es sencilla: controlar la presencia de helecho macho en los potreros y si es posible, hacerlo desaparecer completamente. Las técnicas para lograr ésto son siempre costosas, desde el sencillo "paloteo" mediante el cual se golpean los frondes tiernos con palos para quebrantar sus raquis y exponer sus tejidos internos a la invasión de hongos

y bacterias, hasta el tratamiento químico con herbicidas. En Venezuela, los estudios de control de *Pteridium* por cualquiera de estos métodos está todavía por hacerse de una manera sistemática, de modo que resulte económicamente óptimo. Pero en ello inciden estudios ecológicos que se han hecho que tienden a señalar los puntos débiles de esta extraordinaria planta.

Literatura citada

1. Alonso-Amelot, M. E. Castillo, U. y De Jongh, F. 1993 "Passage of the Bracken Fern Carcinogen Ptaquiloside into Bovine Milk", Lait, 73, 323-332.
2. Alonso-Amelot, M. E. Castillo, U., Smith, B. L. and Lauren, D.R. 1996 Bracken ptaquiloside in milk. Nature 382:587-588.
3. Alonso-Amelot, M. E. y Serbia Rodulfo-Baechler 1996. Comparative spatial distribution, size, biomass, and growth rate of two varieties of bracken fern (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn) in a Neotropical Montane habitat. Vegetation (Plant Ecology) 125(2): 137-147.
4. Alonso-Amelot, M. E., Rodulfo-Baechler, S. y Jaimes-Espinoza, R. 1995. Comparative dynamics of ptaquiloside and pteroin B in the two varieties (*caudatum* and *arachnoideum*) of Neotropical Bracken Fern (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn)", Biochemical Systematics and Ecology, 23, 709-716.
5. Alonso-Amelot ME, Castillo U, Smith BL, Lauren DR (1998). Excretion, through milk, of ptaquiloside in bracken-fed cows. A quantitative assessment. Lait 78: 413-423.
6. Baker, D. C., Smart, R. A., Ralphs, M., y Molyneux, R. J. 1989. Hound's-tongue (*Cynoglossum officinale*) poisoning in a calf. JAVMA 194(7), 929-930.
7. Barnett, K. C. y Watson, W. A. 1970. Bright blindness in sheep. A primary retinopathy due to feeding bracken (*Pteris aquilina*) Res. Vet. Sci. II: 289-291.
8. De Jongh, F. 1978. Ocurrencia y diagnóstico histopatológico de la hematuria vesical clínica en bovinos de la zona alta del Estado Mérida. programa para el desarrollo de la ganadería lechera en las zonas altas de la región de Los Andes. Convenio ULA-Corpoandes-UCV. Boletín # 10, 25 pp.
9. Evans, W. C., Evans, I. A., Humphreys, D. J., Lewin, B., Davies, W. E. J. y Axford, R. F. E. 1975). Induction of thiamine deficiency in sheep with lesions similar to those of cerebrocortical necrosis. J. Comparative Pathology. 85: 253-267.
10. Evans, W. C. 1976 Bracken thiaminase-mediated neurotoxic syndromes. Bot. J. Linn. Soc. 73: 113-131.
11. Evans, I. A. y Howell, R. M. 1962. Bovine bracken poisoning. Nature 194: 584-585.
12. Fukuoka, M. 1982. Chemical and toxicological studies on bracken fern, *Pteridium aquilinum* var *latiusculum*. VI. Isolation of 5-o-caffeoylshikimic acid as an antithiamine factor. Chem. Pharm Bull. 30(9): 3219-3224.

13. Galpin OP, Whitaker CJ, Whitaker R, and Kassab JY (1990). Gastric cancer in Gwynedd. Possible links with bracken. *Br. J. Cancer* 61:737-740.
14. Hails, M. R. 1993. *Plant Poisoning in Animals: an annotated bibliography*. CAB International, Nueva York.
15. Hirono, I., Shibuya, G., Fushimi, K y Haga, M. 1970. Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*. *J. Natl. Cancer Inst.* 45: 179-188.
16. Hirono, I., Aiso, S., Yamaji, T., Niwa, H., Ojika, M., Wakamatsu, K., y Yamada, K. 1984. Hyperplastic nodules of the liver in rats fed bracken diet. *Cancer Lett.* 22: 151-155
17. Hirono, I., Kono, Y., Takahashi, K., Yamada, K., Niwa, H., Ojika, M., Kigoshi, H., Nijima, K., y Uosaki, Y. 1984. Reproduction of acute bracken poisonin in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. *Vet. Record.* 115: 375-378.
18. Hirono, I., Ogino, H., Fujimoto, M., Yamada, K., Yoshida, Y., Ikagawa, M., y Okomura, M. 1987. Induction of tumors in ACI rats given a diet containing ptaquiloside, a Bracken carcinogen. *J. Natl. Cancer Inst.* 79: 1143-1149.
19. Molyneux, R. J., Johnson, E. y Stuart, L. D. Delayed manifestation of senecio-induced pyrrolizidine alkaloidosis in cattle: case reports. *Vet. Hum. Toxicol* 30: 201-205.
20. Moon, F. E. y Rafaat, M. A. 1951. Some biochemical aspects of bracken poisoning in the ruminant animal, II. The significance of the cyanogenetic principle. *J. Sci. Food Agric.* 2: 327-336.
21. Niwa, H., Ojika, M., Wakamatsu, K., Yamada, K., Ohba, S., Saito, Y., Hirono, I., y Matsushita, K. 1983. Stereochemistry of ptaquiloside, a novel norsesquiterpene glucoside from bracken, *Pteridium aquilinum* var *latiusculum*. *Tetrahedron Lett.* 24: 5371-5372.
22. Ortega, F. 1991. El género *Pteridium* en Venezuela: taxonomía y distribución geográfica. *Biollania* 7: 47-56.
23. Pamukcu, A. M., Goksoy, C. y Price, J. M. 1967. Unrinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows. *Cancer Res.* 21; 917-924.
24. Pamukcu, A. M. 1963. Epidemiologic studies on primary urinary bladder tumors in Turkish cattle. *Annals N. Y. Acad Sci.* 108: 938-947
25. Penberthy, J. 1893. Vegetable poisoning simulating anthrax in cattle. *J. Comparative. Pathol.* 6: 266-275.
26. Rojas, H., Serrano, J. R. y DiPolo, R. 1994. Micro y macronutrientes en el