



La biotoxina ptaquilósido en helechos del género *Pteridium*¹

Ptaquiloside biotoxin in ferns of the genus *Pteridium*

Massiel Rodríguez-Salazar², Alejandro Chacón-Villalobos³

- ¹ Recepción: 18 de enero, 2022. Aceptación: 18 de mayo, 2022. Este trabajo formó parte del proyecto de investigación 737-B8211 “Estudio de la estabilidad y prevalencia de ptaquilósido en leche bovina y en subproductos lácteos procesados”, inscrito en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.
- ² Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud, Cartago, Costa Rica. vrodriguez@inciensa.sa.cr (<https://orcid.org/0000-0002-6506-2005>).
- ³ Universidad de Costa Rica, Escuela de Zootecnia, Estación Experimental Alfredo Volio Mata, Cartago, Costa Rica. alejandro.chacon@ucr.ac.cr (autor para la correspondencia, <https://orcid.org/0000-0002-8454-9505>).

Resumen

Introducción. Los helechos del género *Pteridium* se caracterizan por su amplio hábitat y poder adaptativo, que permite su establecimiento en diversos tipos de suelos y altitudes; estos poseen la capacidad de producir una toxina denominada ptaquilósido. **Objetivo.** Conjuntar un cuerpo de conocimientos actualizados sobre la toxina ptaquilósido presente en helechos del género *Pteridium*. **Desarrollo.** Los helechos del género *Pteridium*, contienen la biotoxina ptaquilósido, en especial en estados fenológicos jóvenes y en las frondas. La hidrólisis de esta toxina a nivel biológico, genera compuestos con propiedades citotóxicas y genotóxicas. El ptaquilósido puede producir hematuria enzoótica bovina, depositarse en la leche del animal que lo ingiere y afectar la salud de los consumidores de lácteos. La biotoxina tiene un efecto inmunosupresor en bovinos, lo que puede favorecer al virus del papiloma, además, genera ceguera en ovejas; se relaciona con el cáncer de esófago y gástrico en seres humanos que habitan en áreas pobladas por helechos del género *Pteridium*. El efecto cancerígeno del ptaquilósido se genera porque causa una alquilación del ADN en el N3 de la adenina o en el N7 de la guanina, 24 h después de la ingestión. Para la erradicación de los helechos en las pasturas destacan: control mecánico, control biológico y control químico. **Conclusión.** La biotoxina ptaquilósido representa un riesgo para la salud humana y animal, que se puede propagar al suelo, a los cuerpos de agua y a los alimentos. Se requiere más investigación para tomar medidas que disminuyan sus efectos.

Palabras clave: malezas, toxicología, enzootia, cáncer, inocuidad alimentaria, envenenamiento.

Abstract

Introduction. The ferns of the genus *Pteridium* are characterized by their wide habitat and adaptive power that allows their establishment in various types of soils and altitudes. They have the ability to produce a toxin called ptaquiloside. **Objective.** To gather a current body of updated knowledge on the ptaquiloside toxin present in ferns of the genus *Pteridium*. **Development.** The ferns of the genus *Pteridium* produce ptaquiloside biotoxin, especially in young phenological stages and in the fronds. The hydrolysis of this toxin at the biological level generates compounds with cytotoxic and genotoxic properties. Ptaquiloside can produce enzootic bovine hematuria, be deposited in the milk



of the animal that consumes it and affects the health of dairy consumers. The biotoxin has an immunosuppressive effect in cattle, which can favor the papilloma virus, and also causes blindness in sheep. It is associated with esophageal and gastric cancer in humans living in areas populated by ferns of the genus *Pteridium*. The carcinogenic effect of ptaquiloside is generated because it causes DNA alkylation at N3 adenine or N7 guanine, 24 h after ingestion. For the eradication of ferns in pastures, mechanical control, biological control, and chemical control, are the most important. **Conclusion.** The biotoxin ptaquiloside represents a risk to human and animal health, which can spread to soil, water bodies, and food. More research is needed to take measures to reduce its effects.

Keywords: weeds, toxicology, enzootic, cancer, food safety, poisoning.

Introducción

Las plantas del género *Pteridium* pertenecen a la familia *Dennstaedtiaceae* (Eslava-Silva et al., 2020; Mira et al., 2021; Perrie et al., 2015), la cual se caracteriza por sus largos rizomas rastreros con pelos multicelulares y hojas grandes, láminas bipinnadas a pentapinnadas y ausencia de escamas verdaderas (Schwartzburd, 2017). Exhiben una plasticidad fenotípica y hasta el año 2009, el *Pteridium aquilinum* spp. *aquilinum* y el *Pteridium aquilinum* spp. *caudatum*, se clasificaban como las únicas especies en el género *Pteridium*, pero en tiempos recientes más de once nuevas variedades han sido identificadas, ocho dentro de la subespecie *aquilinum* y cuatro en la *caudatum* (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Gil da Costa, Bastos et al., 2012). El *Pteridium arachnoideum* representa una especie separada (Der et al., 2009). Se caracteriza por su amplio hábitat, que abarca desde regiones tropicales hasta aquellas cercanas a los polos (Calderón Tobar, Sánchez et al., 2014; Eslava-Silva et al., 2020), lo cual refleja su potencial adaptativo, que le permite desarrollarse incluso en suelos con alta acidez y pobres en nutrientes, y altitudes entre 600 y 3200 m s.n.m. (Verde et al., 2017). Estos helechos poseen la capacidad de producir una toxina norsesquiterpenoide que se encuentra clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer como potencial cancerígeno en el grupo 2B (Rincón et al., 2016). Esta toxina, por medio de procesos de aromatización y glucosilación, puede generar una dienona de alto potencial cancerígeno con acción mutagénica, teratogénica y clastogénica, llamada ptaquilósido (Marín, 2011; Rincón et al., 2016). Se identificó por primera vez en el año de 1985 (García-Jorgensen et al., 2020) y su perfil secundario con propiedades toxicológicas representa un riesgo tanto para la salud humana como animal.

Los animales que consumen el helecho como parte de sus hábitos forrajeros pueden presentar hematuria vesical enzoótica bovina, inmunosupresión, carcinomas, leucopenia y ulceraciones de tracto digestivo superior (Marín, 2011; Rincón et al., 2016; Verde et al., 2017). En seres humanos, la literatura menciona la potencial aparición de cáncer gástrico y de esófago, ya sea por consumo de lácteos o de agua contaminada con esporas del helecho (Calderón Tobar, Jiménez Sánchez et al., 2014; Turchi-Roudsari, 2014).

El objetivo de la presente revisión de literatura fue el de conjuntar un cuerpo de conocimientos actualizados sobre la toxina ptaquilósido presente en helechos del género *Pteridium*.

Aspectos generales del género *Pteridium*

El helecho macho o de potrero, *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, perteneciente a la familia *Dennstaedtiaceae*, es una planta o maleza que se encuentra entre las cinco con mayor presencia a nivel mundial, debido a su potencial adaptativo a suelos ácidos y pobres en nutrimentos (Gil da Costa et al., 2020; Rincón et al., 2016; Senyanzobe et al., 2020; Ugochukwu, 2019; Verde et al., 2017). Se encuentra en todos los continentes, con excepción de Antártida, pero se distribuye en gran cantidad en Sur América (Calderón Tobar, Jiménez Sánchez et al., 2014; da Silva Freitas

Ribeiro et al., 2020; Eslava-Silva et al., 2020; García-Jorgensen et al., 2021; Wu et al., 2021). Esta especie cuenta con una gran producción de esporas a lo largo del año, reproducción vegetativa, crecimiento clonal y propagación subterránea profunda para expandir las colonias establecidas (Eslava-Silva et al., 2020; dos Reis Aranha et al., 2019; García-Jorgensen et al., 2021; Senyazobe et al., 2020). Además, genera follajes densos con alta longevidad y es resistente a patógenos, plagas y a condiciones climáticas variadas, como fuegos o sequías (Senyazobe et al., 2020; Skrbic et al., 2020).

El género *Pteridium* llega a ser dominante sobre otras especies de flora dada una serie de características que le son ventajosas y le otorgan una capacidad de dispersión elevada, como reproducción por rizomas y esporas, una alta producción de esporas viables por mucho tiempo, un extenso y prominente sistema de rizomas que reservan carbohidratos, alta cantidad de rebrotes dormantes, así como clones de larga vida y resistencia a los metales pesados (Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, 2020).

La presencia del helecho macho trae consigo efectos negativos como el detrimento a largo plazo de la regeneración de árboles y la disminución en la biodiversidad de los ecosistemas, debido al reemplazo de especies encontradas en el hábitat respectivo por exclusión competitiva por agua y nutrientes en el suelo (Senyazobe et al., 2020; Skrbic et al., 2020; Wolf et al., 2019). Su aporte de hojarasca al medio permite que los incendios forestales se propaguen con mayor facilidad (Adie et al., 2011) y perturba los bancos de semillas de árboles luego de invadir el ecosistema (Akomolafe & Rahmad, 2018; Miatto et al., 2011).

El fenómeno de la alelopatía es muy complejo y no puede atribuirse como la única causa potencial de dominancia en el caso de los helechos *Pteridium*, de hecho la existencia de un compuesto con potencial aleloquímico en la planta no se traduce en que dicho compuesto esté presente en el medio ambiente circundante y disponible para interacciones con otros organismos (Duke, 2015). Los helechos de la familia *Dennstaedtiaceae* pueden afectar el crecimiento de otras plantas por el simple hecho de reducir el espacio físico, los nutrientes (N, C y P) y la luz disponible; además de cubrir el suelo con su material muerto que puede durar décadas en degradarse, por lo que se debe ser cuidadoso de separar la interferencia química de otros procesos competitivos (Senyazobe et al., 2020; Ssali et al., 2019). Los helechos no necesitan alcanzar ningún umbral de población antes de limitar otras especies de plantas (Aira et al., 2021).

Algunos estudios señalan que la colonización de los helechos mejoró la respiración microbiana del suelo (Aira et al., 2021). Otros hablan sobre la reducción de la podzolización y un efecto estabilizador de la acidez, sin que exista una afectación de la macrofauna y los detritívoros del suelo, así como un aumento de la fertilidad edáfica al favorecer sus rizomas y su asociación con micorrizas mejora la aireación, lo cual hace suponer que no se da una degradación del suelo (DeLuca et al., 2013; Valdez-Ramírez et al., 2020).

Se suelen señalar a los taninos, sesquiterpenos, polifenoles y flavonoides como potenciales aleloquímicos capaces de afectar malezas (Marchiosi et al., 2020; Mira et al., 2021). Los taninos suelen secuestrar moléculas, precipitar proteínas y disminuir la síntesis de enzimas hidrolíticas (Issaoui et al., 2020). Los polifenoles pueden causar daños a la parte radical de las plantas (Hsueh et al., 2020), mientras los flavonoides afectan la operación de los cloroplastos, la producción de ATP mitocondrial y la absorción de minerales (Marchiosi et al., 2020). La Selligueaina A, una proantocianidina (tanino condensado) aleloquímica tipo A presente en el suelo poblado de *P. arachnoideum*, mostró actividad fitotóxica con especies de sésamo (Jatoba et al., 2016).

El *Pteridium aquilinum* joven poseen una composición bioquímica específica de las frondas a saber: proteína (Nx6,25) de $20,33 \pm 0,58$ (%), lípidos de $7,07 \pm 0,41$ (%), cenizas de $9,25 \pm 0,49$ (%), carbohidratos de $58,89 \pm 0,2$ (%), carbohidratos solubles de $0,54 \pm 0,021$ (%) y una humedad de $13,87 \pm 0,17$ (%) (Tampa Sompila et al., 2019).

La altura y la densidad del helecho varían según factores como la precipitación y a la exposición al viento y altitud, dado que en zonas altas se disminuye su capacidad de síntesis de compuestos defensivos contra otros organismos, evidenciándose una menor concentración de sustancias como el ptaquilósido en helechos encontrados en alturas mayores a 1700 m s.n.m. (Marrs & Watt, 2006). Estas variaciones no solo se deben a los factores externos

de crecimiento, sino también a las características particulares de cada variedad y a su genética (Holm Rasmussen et al., 2005), así como a la traslocación de nutrientes entre frondas y rizomas influenciada por las condiciones imperantes al ser el helecho una planta perenne de hoja caduca (Holm Rasmussen, 2021). A lo largo del año, las concentraciones de ptaquilósido pueden variar entre 1000 y 50,000 μg en las frondas, la concentración es mayor en brotes tiernos y está presente entre 5 a 7050 μg en los rizomas, que tiende a disminuir en primavera e incrementarse en el otoño (Holm Rasmussen, 2021; Holm Rasmussen et al., 2005; Medeiros-Fonseca et al., 2021).

El *P. aquilinum* (L.) Kuhn, posee dos fases heteromórficas como parte de su ciclo de vida, una llamada esporofítica, que produce las esporas y es la fase dominante, y la gametofítica, generadora de gametos; sin embargo, resulta difícil determinar ambas fases en helechos encontrados en el campo, por lo que se cultivan de manera *in vitro* para observar ambas fases en condiciones controladas (Eslava-Silva et al., 2020).

Con la técnica de cultivo *in vitro*, se determinó el porcentaje de germinación, formación del esporófito y el desarrollo protálico de esta especie en ambientes silvestres, para la fase gametofítica o haploide. Esto es uno de los fundamentos de uso de la biotecnología de generación de biomoléculas activas en otras áreas como en el caso de la obtención de ecdisteroides (metabolito usado en control de plagas para cultivos) y sustancias alelopáticas para control de malezas (Eslava-Silva et al., 2020; Jatoba et al., 2016).

Compuestos bioquímicos de interés en el género *Pteridium*

El género *Pteridium* posee una variedad muy heterogénea de compuestos bioquímicos activos, entre los que se encuentran los ácidos dihidrofólico, benzoico, cinámico y p-cumárico, tiaminasas, cianógenos, glucopiranosidos, braxinas A1 y A2, flavonoides, taninos, derivados del p-hidroxiestireno y sesquiterpenos (iludalanos e iludanos) (Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, 2020; Gil da Costa, Bastos et al., 2012; Leitolis et al., 2017). Destacan compuestos como las pterosinas, potelósidos, pterianosidos y ptaquilósido (PTA), esta última es la principal toxina de la planta (Marrs & Watt, 2006). Dichos compuestos suelen ser polares y móviles, varios de ellos resultan tóxicos al ser consumidos, como el ptaquilósido, ya que se encuentran en cantidades considerables en la biomasa del helecho (García-Jorgensen et al., 2021; Holm-Rasmussen et al., 2013), muchos son considerados compuestos mutagénicos, clastogénicos, carcinogénicos e inmunosupresores. Aunque estos están distribuidos en toda la planta, los rizomas, esporas y hojas jóvenes destacan por su alto contenido (Skrbic et al., 2020). Se considera una planta de alto potencial toxicológico (dos Reis Aranha et al., 2019).

a) Biotoxina ptaquilósido

El ptaquilósido forma parte de los compuestos encontrados en las frondas, rizomas y raíces de varias especies del mismo género de helechos, su nivel de toxicidad varía por especie de helecho (Skrbic et al., 2020; Ugochukwu, 2019; Wu et al., 2021). Este compuesto pertenece al grupo de glucósidos iludanos de alta toxicidad y genotóxicos, dentro de los cuales se encuentran otros como caudatósido, ptesculentósido y ptaquilósido Z, que contienen un sistema de anillo de ciclopropano reactivo que corresponde a un glucósido norsesquiterpenoide (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; dos Reis Aranha et al., 2019; Skrbic et al., 2020). La Figura 1 muestra la estructura general de este compuesto.

Los hallazgos iniciales de su potencial cancerígeno fueron descubiertos en 1960, por Rosenberger & Heeschen (Vargas Peixoto et al., 2003). Estos autores lograron determinar un cambio en la mucosa de la vejiga urinaria de los animales, así como hematuria (Ugochukwu, 2019), por lo que en el año 1983 fue denominado como cancerígeno (García-Jorgensen et al., 2021; Rincón et al., 2016).

La concentración de la biotoxina ptaquilósido es variable según la ubicación del helecho, su parte anatómica y su edad (Holm Rasmussen et al., 2013; Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021). Algunos estudios reportan contenidos

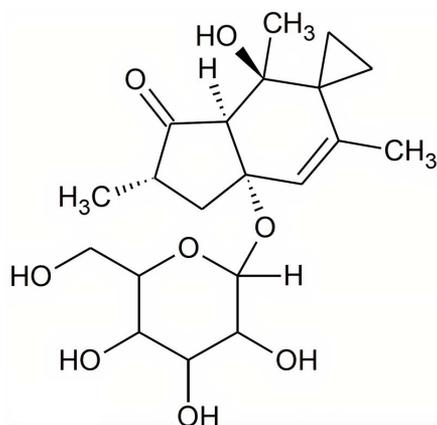


Figura 1. Estructura química del ptaquilósido. Adaptado de Yamada et al. (2007).

Figure 1. Chemical structure of ptaquiloside. Adapted from Yamada et al. (2007).

de hasta 50 % mayores de ptaquilósido en helechos jóvenes, en comparación con los helechos más desarrollados (Panter et al., 2007; Rincón et al., 2016). También se han observado variaciones en el contenido de PTA, según la época del año y entre cepas y plantas que están una cerca de la otra (Gil da Costa, Bastos et al., 2012). Por ejemplo, las variaciones de concentración en las hojas rondan los 0,28 a 13,3 mg g⁻¹ en estudios realizados en Nueva Zelanda, y de 2,49 a 2,75 mg g⁻¹ en Brasil; en Gran Bretaña, en los rizomas, se han reportado concentraciones entre 0,01 y 1 mg g⁻¹, mientras que en las esporas se obtuvieron de 4,5 – 23,5 μg g⁻¹ (Holm Rasmussen et al., 2013; Skrbic et al., 2020). El contenido total en la biomasa de helechos desarrollados ronda los 0,1 y 5,9 kg por hectárea de suelo cubierto con la planta (Skrbic et al., 2020). En frondas verdes maduras de *P. arachnoideum*, da Silva Freitas Ribeiro et al. (2020) reportaron un contenido de ptaquilósido que osciló entre de 2,49 y 2,75 mg g⁻¹, mientras que el rango de pterosina B se ubicó entre 68 y 0,88 mg g⁻¹. En el caso de los brotes, el contenido de ptaquilósido se ubicó entre 12,47 y 18,81 mg g⁻¹, el de pterosina B tuvo un contenido en el rango de 4,03 a 10,42 mg g⁻¹. Se encontraron contenidos de PTA en rizomas entre 0,01 y 0,90 mg g⁻¹ (Skrbic et al., 2020). Otros autores como Rasmussen et al. (2003; 2015), estimaron la carga total de PTA en biomasa madura de helecho entre 0,1 y 5,9 kg ha⁻¹, y Rodríguez et al. (2018) señalaron que el ptaquilósido puede representar hasta un 1 % del peso seco de la planta.

Se han reportado contenidos de PTA que varían de 5 μg g⁻¹ a 7050 μg g⁻¹ en los rizomas subterráneos de los helechos, con las concentraciones mayores presentándose en otoño; en las raíces, el PTA se encuentra en un rango de 5 μg g⁻¹ a 230 μg g⁻¹ (Holm Rasmussen et al., 2005). La acidez en el suelo también puede afectar el contenido de PTA, ya que en solución acuosa, su vida media suele rondar horas o inclusive días en condiciones de pH menor a 4, mientras que en pH mayores a 7, disminuye su vida media a minutos u horas. En las mismas condiciones, se han reportado ensayos que determinan que el potencial mutagénico del PTA aumenta en pH de 8,5, ya que se favorece la formación de la dienona (Rincón et al., 2016).

Diversos factores pueden afectar la cantidad de ptaquilósido en el helecho (Skrbic et al., 2020), ya que este puede disminuir al ser consumido por los animales, por la descomposición del material vegetativo, precipitaciones intensas y bajas temperaturas (García-Jorgensen et al., 2021; Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021). El PTA tiene una afinidad baja por la absorción de materia húmica en los suelos y no posee grupos funcionales que promuevan su unión con los minerales superficiales del suelo, por lo que las aguas superficiales y subterráneas también se ven afectadas por efecto de lixiviación (Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021). Si estos mantos acuíferos poseen una acidez moderada o neutra, la presencia del PTA podría durar meses, debido a una hidrólisis lenta (Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021). Por este motivo, aguas subterráneas neutras y ácidas pueden significar una fuente de

exposición al ptaquilósido para los humanos y consumidores de estas aguas en general; pueden llegar a formar parte de tanques de agua destinados para consumo humano en áreas donde este se encuentre cerca (Ramwell et al., 2010; Skrbic et al., 2020; Tourchi-Roudsari, 2014; Wu et al., 2021). Con base en las propiedades carcinogénicas, el máximo tolerable de ptaquilósido en agua para beber debe estar entre 0,005 y 0,016 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Holm Rasmussen et al., 2005; Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021).

El ptaquilósido es soluble en agua (30 g L^{-1}) (Hama & Strobel, 2019; Ríos Gutiérrez et al., 2017), puede ser lavado y transportado por simple contacto de la planta con la lluvia (García-Jorgensen et al., 2021). Contenidos de PTA entre 0,01 a 60-70 $\mu\text{g L}^{-1}$ pueden encontrarse en el suelo aledaño a colonias de helechos después de la lluvia y hasta 169 $\mu\text{g L}^{-1}$ en el escurrido de las frondas. Estudios como el de García-Jorgensen (2020) reportaron eventos con deposiciones de 13,1 mg m^{-2} de PTA; sin embargo, hasta un 99 % es degradado con rapidez (vida media de 3,3 a 73 h), en especial cuando hay alta actividad microbiana (Holm Rasmussen et al., 2005; Wu et al., 2021). Solo un 0,1 % de la toxina permea más allá del suelo para ingresar a la zona freática (García-Jorgensen, 2020).

b) Hidrólisis del ptaquilósido (PTA)

Una propiedad del PTA es su solubilidad en agua y en acetato de etilo, la relación de reparto entre estos dos compuestos es de 6:1 ($\text{H}_2\text{O-EtOAc}$) en peso. El ptaquilósido presenta dentro de su estructura una molécula de glucosa adherida (Figura 1), que fomenta su polaridad y favorece su solubilidad en agua. El PTA es sensible a la hidrólisis ácida y alcalina, lo que da como resultado la aromatización y formación de pterosina B (PTB) no cancerígena (Fletcher et al., 2011; Virgilio et al., 2015). La tasa de hidrólisis tiene un mínimo a pH 5,5 con una ventana de hidrólisis lenta en el rango de pH de 4,5 a 6,5 (Wu et al., 2021). En pH menores a 4 tiene una vida media de horas a días, cuando el pH es mayor a 7 la vida media es de segundos a horas (Marrero-Faz & Calderón-Tobar, 2012; Rincón et al., 2016). La hidrólisis del PTA se debe a su capacidad alquilante hacia los nucleófilos, así como su sensibilidad a la hidrólisis alcalina (Yamada et al., 2007), por ello su velocidad de descomposición depende del pH de la solución (Marrs & Watt, 2006).

Durante este proceso de descomposición, el ptaquilósido experimenta una aromatización que forma un compuesto muy reactivo llamado dienona conjugada de helecho. Esta puede reaccionar con el ADN de los animales que lo consumen, por sus propiedades alquilantes (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Holm Rasmussen et al., 2005; Ugochukwu, 2019), representa una vía para la citotoxicidad, genotoxicidad y el desarrollo de tumores en el tracto urinario y gastrointestinal, tanto en animales que lo consuman, como en humanos (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; García-Jorgensen et al., 2021; Gomes et al., 2012).

La dienona es inestable en condiciones ácidas, y al entrar en contacto con soluciones acuosas puras, proporciona compuestos aromáticos como la pterosina B (PTB) (dos Reis Aranha et al., 2019; Holm Rasmussen et al., 2013; Skrbic et al., 2020). La Figura 2 ilustra el mecanismo de transformación descrito.

La hidrólisis de PTA puede ser descrita por medio de la cinética de hidrólisis convencional en condiciones experimentales (ecuación 1) (Wu et al., 2021).

$$k_{obs} = k_A[H^+] + K_N + \frac{k_B K_W}{[H^+]} \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde:

$k_w = 10-14,10$ (22 °C).

$k_A = 25,70 \text{ M}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (condiciones ácidas).

$K_N = 9,49 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$ (condiciones neutras).

$K_B = 4,83 \times 10^4 \text{ M h}^{-1}$ (condiciones alcalinas).

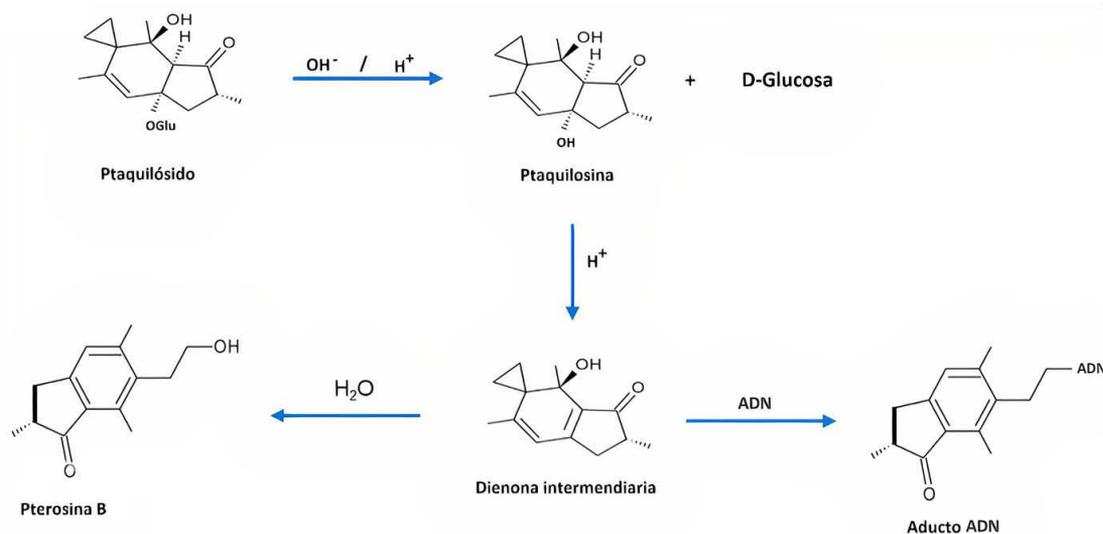


Figura 2. Estructura molecular del ptaquilósido y mecanismo de transformación en sus compuestos derivados. Fuente: Tomado de Vetter (2009).

Figure 2. Molecular structure of ptaquiloside and transformation mechanism in its derived compounds. Source: Taken from Vetter (2009).

El PTB es más hidrófobo, no es tóxico, ni cancerígeno; al encontrarse en capas de suelos o fuentes de agua indica la presencia previa de PTA (Skrbic et al., 2020; Wu et al., 2021), tiene una vida media entre 8 y 180 h, según el tipo de material del suelo (García-Jorgensen et al., 2021). En contraparte, los compuestos que se forman durante el proceso de conversión de PTA a PTB (Figura 2), se consideran citotóxicos, genotóxicos y promueven efectos inmunomoduladores (dos Reis Aranha et al., 2019). Estos son metabolizados de forma rápida por la biota en el suelo y en algunos tipos de suelos, como los arcillosos, sufren de absorción irreversible. La materia orgánica en el suelo afecta el contenido de PTA porque produce una disminución en su movilidad, lo que aumenta la posibilidad de que se degrade más rápido (dos Reis Aranha et al., 2019; García-Jorgensen et al., 2021; Skourti-Stathaki et al., 2016; Zaccone et al., 2014). En el momento en el que el PTA entra a sistemas biológicos complejos como el rumen del ganado, se pueden generar diversas reacciones y su hidrólisis depende de la temperatura y del agua consumida por el animal, y de interacciones con enzimas (dos Reis Aranha et al., 2019).

c) Métodos de análisis para la pterosina B

Analizar al ptaquilósido en su forma original es difícil dada su inestabilidad (Mohammad et al., 2016), es por ello que, antes de su determinación, se convierte en pterosina B (Bonadies et al., 2004; da Silva Freitas Ribeiro et al., 2019). En la evaluación de la pterosina B se listan diferentes metodologías, que incluyen la determinación con espectroscopía de resonancia magnética nuclear en 1D y 2D, previa extracción con solventes como cloroformo o diclorometano y separación por cromatografía en columna de capa fina, fase normal y cromatografía flash de fase inversa (Lu et al., 2019; Mohammad et al., 2016; Skrbic et al., 2020). Si se tiene una buena cristalización de la

pterosina, la cristalografía de rayos X es por excelencia el método posterior para determinar la configuración química absoluta, de no ser así se recurre a la comparación con datos espectroscópicos existentes en la literatura (Mohammad et al., 2016). Se citan también métodos de detección basados en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección ultravioleta (UV) aplicados a la pterosina B (Bonadies et al., 2004; da Silva Freitas Ribeiro et al., 2019; da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020). Otras variantes analíticas hacen uso de la cromatografía líquida con espectrometría de masas y de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Skrbic et al., 2020).

d) Otros compuestos de interés presentes en Pteridium

El helecho macho o de potrero *Pteridium aquilinum* (L.), además de poseer como biotoxina principal el PTA, contiene dentro de su composición otras biotoxinas indeseables para la alimentación animal. Por ejemplo, la prunacina es una molécula que se produce en los tejidos vegetales jóvenes de *Pteridium* para protegerse de la defoliación, es un glucósido cianogénico que genera toxicidad. Otro ejemplo es la quercitina, compuesto tóxico reconocido por ser inmunosupresor y mutagénico. Moléculas como los glucopiranosidos braxinas A1 and A2, tiaminasas, derivados del ácido benzoico y cinámico, glucósidos cianogénicos, flavonoides, taninos, sesquiterpenos (iludalanos, iludanos) y derivados del p-hidroxiestireno, también pueden encontrarse en este helecho (Gil da Costa, Bastos et al., 2012).

Las tiaminasas son enzimas que se encuentran en el helecho y tienen la capacidad de destruir la tiamina (Vitamina B1), que se encuentran en la planta, por esta razón la intoxicación por consumo de helecho macho puede identificarse al observar síntomas relacionados con deficiencias de esta vitamina. Algunos síntomas que se pueden observar en monogástricos son debilidades musculares, parálisis de miembros delanteros, descoordinación a nivel motor, convulsiones e inclusive hemorragias (Seva et al., 2010). Esta deficiencia no se manifiesta de inmediato en rumiantes, ya que producen vitaminas del complejo B en el rumen, sin embargo, el consumo prolongado sí puede generar deficiencia de tiamina en este tipo de animales (Marín, 2019).

Implicaciones del ptaquilósido en la salud humana

El ptaquilósido tiene efectos adversos tanto para la salud humana como animal, entre ellos los que se enumeran a continuación.

a) Efecto cancerígeno general

El PTA induce al cáncer, debido a que disminuye la viabilidad celular y promueve la apoptosis en células epiteliales gástricas; además, las esporas que pueden ingresar al organismo por medio de la respiración son genotóxicas para las células de todo tipo, incluso las gastrointestinales (Gomes et al., 2012; Holm Rasmussen et al., 2013; Rincón et al., 2016; Wu et al., 2021). El consumo de insectos que se alimentan del helecho puede representar un riesgo relativo de 1,5 a 5,5 del desarrollo de cáncer esofágico, gástrico o del tracto digestivo superior (Wu et al., 2021). Debido a las condiciones de alta acidez en el estómago humano, no se conoce la cantidad de ptaquilósido que se descompone a pterosina B, sin embargo, varios estudios reportan que una porción significativa se activaría y provocaría lesiones en el ADN, que podrían manifestarse como cáncer del tracto digestivo superior (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Lévy, 2020; Virgilio et al., 2015).

Los helechos del género *Pteridium* han sido considerados por la OMS/IARC como cancerígenos potenciales para los seres humanos en el grupo 2B (Holm Rasmussen, 2021; Skrbic et al., 2020; Yurdakok et al., 2014). Se le atribuyen efectos aneugénicos, inmunodepresores, teratogénicos, clastogénicos y mutagénicos (Ríos-Gutiérrez

et al., 2017; Tourchi-Roudsari, 2014). Aunque los helechos *Pteridium* contienen sustancias sospechosas de tener efectos en la aparición de neoplasmas, como la tiaminasa tipo I, la quercetina y las braxinas A, B y C (Yurdakok et al., 2014), el ptaquilósido es el que se considera como carcinógeno principal, así como la dienona derivada de su descomposición (Gomes et al., 2012).

El ptaquilósido y la ptaquilodienona, por medio del grupo ciclopropano reactivo, pueden romper al ADN en sitios puntuales de su secuencia; dadas sus características electrofílicas, ataca a la purina y pirimidina durante la replicación, muta algunos oncogenes y puede provocar una alquilación de la adenina en el codón 61, lo que genera una transversión (adenina a timina o citosina) o una transición (adenina a guanina) (Ríos-Gutiérrez et al., 2017; Tourchi-Roudsari, 2014; Virgilio et al., 2015). Estas sustituciones causan un bloqueo en el proceso hidrolítico del trifosfato de guanosina (GTP) del complejo Ras-GTP, lo que resulta en una vía de señalización Ras aberrada que provoca la proliferación de células anormales (Schubert et al., 2007). El ptaquilósido causa genotoxicidad durante las primeras horas de la exposición, al formar aductos lábiles de ADN en la posición N 3 de la adenina y, de forma secundaria, en la posición N 7 de la guanina (Gomes et al., 2012; Yurdakok et al., 2014).

El daño al ADN provocado por el ptaquilósido, puede causar una activación de puntos de control que inicia el mecanismo de apoptosis que resulta en muerte celular (Tourchi-Roudsari, 2014; Tourchi Roudsari et al., 2012). La respuesta al daño en el ADN se da por dos vías que se activan por rupturas en la cadena simple: la ataxia telangiectasia, que se activa en respuesta al ptaquilósido y sus derivados (punto de control quinasa 1 vía ATR-Chk1), la ataxia telangiectasia mutada ATM (punto de control quinasa 2 vía ATM-Chk2), que se da por ruptura de cadena doble (Smith et al., 2010). La activación de estas vías genera la modulación de moléculas que constituyen indicadores directos de una respuesta celular a las roturas de cadenas de ADN; por ejemplo, la proteína P53, que es importante en el desarrollo del ciclo celular, la transcripción de genes, la apoptosis y la supresión de tumores (Petitjean et al., 2007; Tourchi-Roudsari, 2014), así como una segunda molécula variante de histona H2AX (cH2AX). Los niveles de estas moléculas aumentan después de seis horas de exposición, son indicadoras de una acción del ptaquilósido en este contexto y sugieren que las lesiones al ADN se producen en las primeras horas (Gomes et al., 2012). Aunque las células afectadas pueden reparar los daños en un corto tiempo, algunas de las lesiones pueden provocar reparaciones infructuosas que resulten en cáncer (Tourchi-Roudsari, 2014).

b) Afectaciones en la salud animal

El helecho macho crece en potreros destinados a la ganadería y tiene una digestibilidad alta de 53,1 %, por lo que su consumo por animales como equinos, bovinos y ovinos suele ser común en épocas de escasez de alimentos (Borges et al., 2013; dos Reis Aranha et al., 2019).

La intoxicación a partir del consumo de helechos *Pteridium* se encuentra documentada en rumiantes como bovinos, ovinos y ciervos (Cortinovis & Caloni, 2013; Scala et al., 2014), y se ha observado que los bufalinos afectados son menos sensibles a la toxina (Rocha et al., 2022). Los caprinos, de acuerdo con la literatura, son el único ganado no susceptible a los efectos del envenenamiento por ptaquilósido (Plessers et al., 2013). En monogástricos los casos no están bien documentados, reportándose en caballos y, en muy raros casos, porcinos, los cuales presentan una alta tolerancia y requieren de ingestas prolongadas de más de seis semanas para exhibir sintomatologías (Waret-Szkuta et al., 2021). En cuanto al consumo de ptaquilósido en zonas con alta presencia de helecho, la cantidad que consume el ganado bovino durante cuatro días representa un 10 % del forraje total consumido (2,4 kg/día) (Alonso-Amelot & Avendaño, 2001). Además, 1 kg de frondas frescas de helecho contiene 130 mg de ptaquilósido, lo que resulta en un consumo aproximado de 125 mg de ptaquilósido a lo largo de cuatro días, del cual un 8 % se excretaría en la leche (Alonso-Amelot & Avendaño, 2001).

El consumo del ptaquilósido puede generar intoxicaciones agudas o crónicas en animales (Mejía Pacheco & Malo Cevallos, 2020) y, por lo general, en bovinos se presenta el riesgo de excretar biotoxinas en la leche y de

padecer hematuria enzoótica bovina (HEB) (Borges et al., 2017). Además, la biotoxina tiene potencial cancerígeno al ser ingerido, ya que puede ser responsable de la detención del ciclo celular en los animales (dos Reis Aranha et al., 2019; Tourchi-Roudsari, 2014; Ugochukwu, 2019).

Dentro de los síntomas comunes por intoxicación aguda en bovinos por el consumo del helecho macho se encuentra la fiebre, pirexia, epistaxis, anorexia, úlcera gástrica, anemia, disfagia, babeo, apatía, neoplasias en vejiga urinaria y esófago, hemorragias en diversos órganos como encías, glándulas mamarias y fosas nasales, sangre en la leche, entre otros. A la vez, se pueden presentar otros males como teratogénesis, deficiencia de tiamina, degeneración retiniana y envenenamiento agudo (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2019; da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Gil da Costa, Coehlo et al., 2012; Wolf et al., 2019; Wu et al., 2021).

Al realizar necropsias a animales que consumieron el helecho, se observaron infartos rojos en el hígado, así como una aplasia prominente de la médula ósea y depresión de la actividad hematopoyética (dos Reis Aranha et al., 2019; Holm Rasmussen et al., 2013; Ugochukwu, 2019; Verde et al., 2017).

Hay reportes de que el PTA tiene un efecto inmunosupresor (Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012) que favorece la proliferación del virus del papiloma bovino, el cual a su vez se relaciona con la presencia de carcinomas y tumores; esta inmunosupresión es atribuida al efecto genotóxico que este ejerce, ya que interfiere con procesos bioquímicos como la síntesis de proteína P 53, encargada de regular la apoptosis en las células (Bulnes & Calderón Tobar, 2014), y disminuye la actividad de las células NK involucradas en la regulación de la respuesta del sistema inmune y en la destrucción de células infectadas o cancerosas al mejorar la expresión de la metalotioneína (Latorre et al., 2013). La incidencia de tumores de vejiga urinaria es poco frecuente en bovinos, a no ser que deriven de la HEB, situación que se presenta hasta en un en el 53,5 % de los casos (Bulnes & Calderón Tobar, 2014).

Los alquilatos de las dienonas pueden dañar el ADN al provocar la liberación de bases de purina a partir de ácidos nucleicos por hidrólisis de enlaces N-glucosídicos, también provocan la ruptura misma de la cadena en sitios en los que la adenina esté presente (Gil Da Costa, Coehlo et al., 2012). Esta biotoxina incide en episodios de ceguera en ovejas, provocada por la atrofia retinal progresiva que sufren estos animales al consumir helecho *Pteridium* (Bonadies et al., 2011); Holm Rasmussen et al. (2013), mencionaron que también se ha detectado leucemia linfocítica en ratas alimentadas con esporas del helecho.

Para tratar intoxicaciones con el helecho macho, el primer paso es interrumpir la exposición y consumo, aunque es importante considerar que los síntomas pueden aparecer aún semanas después de que se elimine el consumo (Lévy, 2020). Se ha recomendado el uso de DL-batyl alcohol como antídoto y estimulante de la médula ósea, y transfusiones sanguíneas de alto volumen (2-4 L), sin embargo, estos tratamientos han demostrado ser de poco valor en casos avanzados, ya que el 90 % de los animales mueren de 1 a 10 días después de establecidos los síntomas sanguinolentos (Plessers, et al., 2013).

Hematuria enzoótica bovina (HEB)

Uno de los principales problemas encontrados en animales de producción, que se relaciona con la ingesta de *Pteridium* spp, es la hematuria enzoótica bovina (HEB) (Lévy, 2020; Skrbic et al., 2020; Ugochukwu, 2019), ya que, a pesar de que el PTA se excreta en leche, la mayor parte del compuesto se acumula en el organismo (Calderón Tobar, Sánchez et al., 2014). Este padecimiento es la forma más común de intoxicación en los bovinos e induce a inflamaciones, lesiones neoplásicas malignas, hemorragias en la vejiga urinaria y anemias intermitentes (Fletcher et al., 2011; Holm Rasmussen et al., 2013; Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012; Rincón et al., 2016). Este tipo de afectaciones se observan con mayor frecuencia en épocas finales de verano, ya que los animales suelen consumir el helecho por falta de otras especies de forrajes (Lévy, 2020), y zonas del mundo como países latinoamericanos con regiones altas específicas para ganado, son las más afectadas (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012; Ramwell et al., 2010; Riet-Correa et al., 2009).

La HEB produce síntomas leves al principio, sin embargo, un alto consumo del helecho puede derivar en otras enfermedades y síntomas más graves, como hemorragia sistémica aguda, fiebre, pancitopenia por coagulopatía trombocitopénica y supresión de médula ósea (Miesner, 2009). En terneros se observan dificultades para respirar y membranas mucosas pálidas (Lévy, 2020). La HEB presenta dos fases, una microhematuria inicial imperceptible, seguida de una macrohematuria distinguida por pérdidas prominentes de sangre en la orina, que conlleva a otros padecimientos como anemia, emaciación y tenesmo urinario (Bulnes & Calderón Tobar, 2014).

El consumo de la toxina se asocia con toda una serie de síndromes como la depresión o destrucción de la médula ósea, que provoca leucopenia, trombocitopenia, pancitopenia y anemia, y problemas coagulatorios (Plessers et al., 2013). Además, puede presentarse un engrosamiento de la mucosa urinaria, neoplasmas como papilomas, fibromas, mixomas, hemangioendoteliomas y carcinomas que afectan el hígado, vejiga, riñones y el tracto superior gastrointestinal (Rocha et al., 2022; Ugochukwu, 2019). Otros padecimientos que pueden sufrir los animales son: la hematuria vesical enzoótica bovina causada por lesiones tumorales, disuria y el síndrome hemorrágico agudo provocado por el daño a la médula ósea (Waret-Szkuta et al., 2021). Los principales síntomas observados son: pérdida progresiva de peso y productividad, anorexia, debilidad, palidez de mucosas, cuadros febriles y pérdida de sangre en la orina (Plessers et al., 2013). Este último, es el principal síntoma de alarma que sugiere tumores de vejiga (Calderón et al., 2015).

En relación con la hematuria enzoótica bovina, en Bolivia se reportaron casos de carcinoma en áreas superiores del tracto digestivo en el ganado y una tasa de incidencia de 7,8 % y 10,6 % (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012; Oliviera Latorre et al., 2009). En Costa Rica, existe una alta incidencia de este padecimiento y se ha relacionado con la distribución de cáncer gástrico en seres humanos (Gomes et al., 2012; Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012; Ramwell et al., 2010; Skrbic et al., 2020), sin embargo, es necesario realizar más investigaciones relacionadas con el tema (Calderón Tobar, Sánchez et al., 2014).

Relación con el virus del papiloma bovino (BPV)

El virus del papiloma bovino (BPV) se relaciona con la presencia de carcinomas y tumores en los animales, se encuentra distribuido en el mundo y produce una amplia gama de enfermedades benignas y malignas, lo que lo convierte en un motivo importante de preocupación a nivel mundial (Bulnes & Calderón Tobar, 2014; Medeiros-Fonseca et al., 2021). Dentro de las enfermedades que puede provocar este virus, se incluyen papilomas cutáneos, diferentes tipos de cánceres de vejiga urinaria y afectaciones en el sistema digestivo superior, como carcinomas de células escamosas y papilomas (Medeiros-Fonseca et al., 2021). Este virus es capaz de alquilar el ADN e introducir mutaciones que generan una mayor proliferación celular y la acumulación de daño genotóxico, característica compartida con el ptaquilósido (Bulnes & Calderón Tobar, 2014; Medeiros-Fonseca et al., 2021).

En la actualidad, existen investigaciones que reportan una disminución en la inmunidad provocada por el ptaquilósido (Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012), ya que disminuye la actividad de las células NK, interfiere con el proceso de síntesis de la proteína P 53, encargada de regular la apoptosis de las células y tiene la capacidad de inactivar los linfocitos T citotóxicos (Bulnes & Calderón Tobar, 2014; Santos et al., 2017). Las células NK y los linfocitos T reconocen y destruyen células infectadas por virus y mejoran la expresión de la metalotioneína, por lo que son esenciales para defender a los animales contra infecciones virales y contra el cáncer (Bulnes & Calderón Tobar, 2014; Latorre et al., 2013; Oliveira Latorre et al., 2009). La inactivación generada por la presencia de PTA facilita la persistencia de infecciones por virus como el BPV e induce aberraciones cromosómicas que generan un fenotipo neoplásico en los animales (Gil da Costa, Coehlo et al., 2012; Medeiros-Fonseca et al., 2021). Por esta razón, el consumo de helechos que contengan PTA se relaciona con la presencia de cánceres asociados al BPV y a su persistencia en los animales (Gil da Costa, Coehlo et al., 2012).

Diagnóstico

Algunos animales pueden pasar un largo periodo asintomáticos hasta que se evidencia la sangre en orina y pasan a un cuadro de decadencia progresiva (Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012). En caso de que se presenten problemas de malezas que expongan a los animales al consumo de *Pteridium* spp, un diagnóstico precoz de la posible intoxicación con o sin clínica aparente es lo más indicado (Marrero Faz & Calderón Tobar, 2012). Sin dejar de lado los signos clínicos e histopatológicos, pueden utilizarse otros métodos de identificación, un ejemplo es el uso de tiras reactivas que permiten detectar sangre oculta en orina, que es una herramienta importante en la detección y análisis microscópico del sedimento urinario (Verde et al., 2017). Se utiliza PCR para la detección de papilomavirus en lesiones, análisis hematológicos (hemoglobina, índices eritrocíticos y minerales) (Calderón Tobar et al., 2011), y exámenes rectales y ecografías, que pueden revelar una pared de la vejiga y neoplasmas (Ugochukwu, 2019).

c) Afectaciones por consumo de ptaquilósido en la salud humana

El PTA ha sido relacionado con el cáncer de esófago y gástrico en seres humanos que habitan áreas que están pobladas por helechos y que están expuestos a alimentos contaminados, por lo que se ha convertido en una necesidad evitar la distribución de esta biotoxina dentro de la cadena alimentaria (Bonadies et al., 2011), como se observa en la Figura 3.

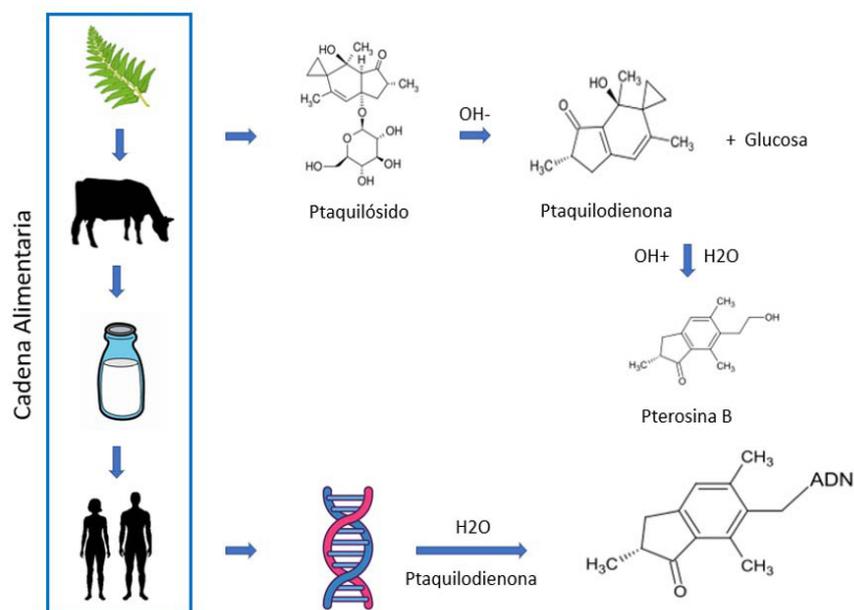


Figura 3. Cadena alimentaria del helecho (*Pteridium*) y reactividad bajo condiciones fisiológicas del ptaquilósido Fuente: Adaptado de Reis Aranha et al. (2014).

Figure 3. Fern (*Pteridium*) food chain and reactivity under physiological conditions of ptaquiloside. Source: Adapted from Reis Aranha et al. (2014).

Consumo cultural y uso en medicina tradicional

En Japón y otros países asiáticos, los humanos suelen consumir *Pteridium* en su estado de desarrollo como parte de ciertas recetas o en aplicaciones médicas tradicionales. Existe una estrecha relación entre la ingesta de hojas de helecho derivadas de la medicina tradicional y la aparición de neoplasias en seres humanos (Tourchi-Roudsari, 2014).

Presencia de ptaquilósido en la leche

Los productos lácteos se consumen en todo el mundo, poblaciones específicas como lactantes y niños pequeños son los mayores consumidores, por lo que estos productos son de suma importancia al ser una fuente de nutrientes considerable en la dieta de la población en general y de este grupo en especial. Por este motivo, asegurar la inocuidad de estos productos por medio de controles estrictos debe ser una prioridad para la industria láctea, ya que un contaminante en estos alimentos puede representar un gran riesgo para la salud humana (Fischer et al., 2011).

El contenido o trazas de ptaquilósido se han identificado como contaminantes en la leche. La presencia de esta molécula en la leche se relaciona con infestaciones de helechos en las áreas de pastoreo o corte dedicadas a la alimentación del ganado (Calderón Tobar, Sánchez et al., 2014). Es posible detectar el ptaquilósido en la leche unas 38 h después de la ingesta, manteniéndose identificable aún pasadas 48 h (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2019).

El ptaquilósido se deposita en la leche de diferentes formas, ya que se han reportado cantidades mínimas de 0,1 mg L⁻¹ de PTA en leche y tasas de deposición del ptaquilósido ingerido que van del 1 al 11 % (Fischer et al., 2011). De igual forma, se reportan deposiciones en leche a concentraciones de 8,6 % de la cantidad total de helecho consumido por la vaca (dos Reis Aranha et al., 2019; Ugochukwu, 2019). Con base en estos datos y un consumo aproximado de 0,5 L diarios de leche por persona, podría estimarse que una persona consumiría cerca de 10 mg diarios de ptaquilósido, cantidad que podría considerarse alta, ya que se refiere a una biotoxina (Yamada et al., 2007).

Otros estudios han reportado que las frondas de helecho presentan contenidos variables de ptaquilósido, ya que llegan a valores de hasta 2500 mg kg⁻¹ de helecho, que se traduciría en 45 mg de biotoxina por litro de leche (Alonso-Amelot & Avendaño, 2001).

El ptaquilósido se ha detectado en leche de cabras y de ovejas, no obstante, en manadas mixtas se han detectado mayores dosis de toxina en leche caprina que en la ovina durante el mismo periodo estacional. Este fenómeno puede deberse a que las cabras tienden a consumir y mordisquear los brotes y hojas más jóvenes en las plantas que, en el caso del helecho, son las zonas con mayores cantidades de ptaquilósido (Virgilio et al., 2015).

Existen vacíos de conocimiento con respecto a la estabilidad del PTA en la leche y sus subproductos, no obstante, se espera que los consumidores de leche proveniente de animales alimentados con dietas controladas y que haya sido procesada a nivel industrial, presenten un menor riesgo de consumir la biotoxina. Esto se debería a que la leche ingresada a la industria se diluye con leches de varias fincas y se pasteuriza antes de su consumo. Este proceso es de suma importancia, ya que se ha reportado que podría propiciar una disminución en la concentración del PTA en leche en un 50 %, mientras que el proceso de ebullición presenta una disminución de un 75 % (Gil da Costa, Coehlo et al., 2012). No obstante, no se sabe con certeza si la biotoxina todavía está presente en la leche después de la pasteurización o esterilización (Bonadies et al., 2011; dos Reis Aranha et al., 2019).

A nivel molecular, la ruta de degradación del PTA no está establecida, ni existen investigaciones relacionadas a su procesamiento y estabilidad durante el almacenaje de subproductos lácteos elaborados en zonas rurales, como el queso blando y yogurt (Bonadies et al., 2011). Tampoco existe una prueba determinante de la presencia de PTA en leche, solo de la presencia de compuestos que reaccionan y forman pterosinas al ser sometidas a diversos tratamientos (dos Reis Aranha et al., 2019).

Habitación en zonas de alta incidencia de helechos Pteridium

Se ha considerado que la exposición a la toxina, derivada del simple hecho de habitar en zonas con infestaciones de helechos *Pteridium*, puede representar un riesgo relativo entre 1,5 y 5, de que se desarrollen cánceres en el sistema digestivo (Wu et al., 2021). En países del mundo en los que esta especie es abundante, como Costa Rica y Gales del Norte (Marrs & Watt, 2006; Tourchi-Roudsari, 2014; Virgilio et al., 2015), los efectos adversos de la biotoxina se pueden generar no solo a través de la leche, sino por múltiples rutas, incluidas las aguas contaminadas con el compuesto (da Silva Freitas Ribeiro et al., 2020; Gil da Costa, Coehlo et al., 2012; Gomes et al., 2012; Skrbic et al., 2020; Ugochukwu, 2019).

El cáncer gástrico es común en el mundo y se ha determinado que es potenciado por diversos factores como infecciones por *Helicobacter pylori*, que posee una sinergia con el PTA, y fomenta el efecto cancerígeno (Gomes et al., 2012; Skrbic et al., 2020; Ugochukwu, 2019). En el año 2013, en Costa Rica este padecimiento se situó en el puesto número tres en hombres (tasa de 18,65 % por cien mil habitantes) y número cinco en mujeres (tasa de 12,65 % por cien mil habitantes) (Ministerio de Salud, 2019). En el año 1985, se realizó un estudio de comparación de la tasa de incidencia de cáncer gástrico y de esófago entre personas nacidas en zonas en las que se encontraba el helecho y zonas libres de este, el cual demostró que la cantidad de personas con estos tipos de cáncer fue dos veces mayor en zonas en las que había presencia del helecho (Bonadies et al., 2011). También se planteó que personas que habitan en áreas con abundancia de helecho y migran a zonas sin la presencia de este, mantienen altas posibilidades de padecer cáncer gástrico o de esófago, lo que parece indicar un efecto acumulativo de la biotoxina en el organismo (Bonadies et al., 2011).

Métodos para el control de helechos del género *Pteridium*

El control de los helechos *Pteridium* suele dificultarse, especialmente por sus extensos rizomas (Plessers et al., 2013), su resistencia a las condiciones secas y al fuego (Jatoba et al., 2016). Esta planta coloniza zonas despejadas por incendios, debido a la gran profundidad a la que pueden llegar sus rizomas (0,25 m) y las reservas de carbohidratos en estos, que les permiten rebrotar con facilidad (Aira et al., 2021; Senyanzobe et al., 2020). Además, presentan una alta resistencia a patógenos y plagas (Senyanzobe et al., 2020), logran prosperar incluso a la sombra y en suelos pobres en nutrientes y alta acidez (Valdez-Ramírez et al., 2020), y su producción de esporas es alta (Mira et al., 2021). Todas las características anteriores le dan a estos helechos una gran capacidad de supervivencia (Cepeda & Amoroso, 2016) y explican por qué en varios lugares del mundo, el campesinado suele abandonar los terrenos una vez invadido por *Pteridium*, dada las dificultades que representa su erradicación (Suazo-Ortuño et al., 2015).

Existen varios métodos para controlar los helechos del género *Pteridium*, dentro de los cuales destacan el control mecánico, herbicidas y biológico (Sánchez et al., 2003). El método de control mecánico hace referencia al corte total de la vegetación mediante un arado profundo con maquinaria, complementado con la quema de rizomas que puedan generar rebrotes. El corte mecánico efectuado entre dos y tres veces al año ha demostrado ser exitoso, en conjunto con la remoción de material orgánico desechado por el helecho en general (Jatoba et al., 2016; Scottish Environmental, 2008; Sánchez et al., 2003). El segundo método de prevención consiste en el control biológico, que se refiere al uso común de artrópodos o insectos herbívoros no nativos de la zona que se alimentan de especies desconocidas, dañan las hojas y reducen la cobertura de helecho (Van Driesche et al., 2007).

El uso de herbicidas consiste en utilizar productos químicos para eliminar el helecho, su uso es necesario cuando este se encuentra en su mayor capacidad productiva de frondas (Maren et al., 2008). Dentro de los productos usados con este fin se encuentra el N-(4-aminofenil) sulfonil carbónico ácido metil éster (aminofenil) al 4 % y el N-fosfometil-glicina (glifosato) al 3 %, ya que son capaces de reducir más del 95 % de la cobertura de helechos luego de dos aplicaciones anuales (Ghorbani et al., 2003; Ghorbani et al., 2007). Para la eliminación del helecho

macho, Borges et al. (2017) determinaron que el uso de metil metsulfurón en terrenos previos a la siembra de pastos y en combinación con glifosato, fue efectivo y no afectó otras gramíneas. Sin embargo, este último producto mencionado está relacionado con varias investigaciones concernientes a propiedades carcinogénicas en seres humanos desde el 2015, por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer.

La aplicación de asulam, ha sido sugerida con diversos grados de éxito y con uso de cantidades generosas (Jatoba et al., 2016; Plessers et al., 2013).

Conclusiones

Las plantas del género *Pteridium* spp se han extendido a nivel mundial, lo que ha facilitado la deforestación y la erosión. Este fenómeno ha propiciado un creciente contacto de esta maleza con los seres humanos y los animales. Esto constituye un problema inminente, dado el importante contenido de la biotoxina ptaquilósido que estos helechos poseen y que se puede propagar al suelo, a los cuerpos de agua y a los alimentos. Además, el abandono de tierras infestadas genera problemas de terrenos en desuso y desplazamiento social. Una amplia gama de problemáticas en la salud, entre las que destacan la hematuria enzootica bovina en animales y la aparición de lesiones cancerosas en los humanos y el ganado.

Con base en lo indicado en la literatura y la evidencia científica existente en torno a su toxicidad, aún es necesaria mayor investigación que derive no solo en una mejor comprensión de los riesgos y sus mecanismos, sino también en la toma de medidas que disminuyan el impacto económico y sobre la salud humana y animal en las poblaciones más vulnerables.

Referencias

- Adie, H., Richert, S., Kirkman, K., & Lawes, M. (2011). The heat is on: frequent high intensity fire in bracken (*Pteridium aquilinum*) drives mortality of the sprouting tree *Protea caffra* in temperate grasslands. *Plant Ecology*, *212*, 2013–2022. <http://doi.org/10.1007/s11258-011-9945-8>
- Aira, M., Tato, A., & Domínguez, J. (2021). Seasonal dynamics of soil nutrients and microbial activity due to colonization by bracken ferns (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) in a pine forest. *European Journal of Soil Biology*, *103*, Article 103295. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2021.103295>
- Akomolafe, G. F., & Rahmad, Z. B. (2018). A review on global ferns invasions: mechanisms, management and control. *Journal of Research in Forestry, Wildlife and Environment*, *10*(3), 42–54. <https://www.ajol.info/index.php/jrfwe/article/view/178581>
- Alonso-Amelot, M. E., & Avendaño, M. (2001). Possible association between gastric cancer and bracken fern in Venezuela: an epidemiologic study. *International Journal of Cancer*, *91*(2), 252–259.
- Bonadies, F., Borzacchiello, G., Dezzi, S., Nicoletti, R., & Roperto, S. (2004). Mass spectrometric analysis of ptaquiloside, the toxic sesquiterpene from bracken fern. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *18*(7), 825–828. <https://doi.org/10.1002/rcm.1410>
- Bonadies, F., Berardi, G., Nicoletti, R., Romolo, F. S., De Giovanni, F., Marabelli, R., Santoro, A., Raso, C., Tagarelli, A., Roperto, F., Russo, V., & Roperto, S. (2011). A new, very sensitive method of assessment of ptaquiloside, the major bracken carcinogen in the milk of farm animals. *Food Chemistry*, *124*(2), 660–665. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.059>

- Borges, J. A., Camacaro, O., Domínguez, L., & Graterol, A. (2013). Composición bromatológica de *Pteridium aquilinum* subs. *Arachnoideum* colectado en el municipio Bolívar, estado de Yaracuy, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ*, 30, 431–440. https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/julio_septiembre2013/v30n3a2013431440.pdf
- Borges, J. A., Dominguez, L., Camacaro, O., & Graterol, A. (2017). Control químico de *Pteridium esculentum* (G. Forst.) Cockayne (Thomson, 2012) en el Municipio Bolívar, Estado Yaracuy, Venezuela. *Bioagro*, 29(2), 145–150.
- Bulnes, C., & Calderón Tobar, A. (2014). Lesiones asociadas a la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) en animales de matadero (camal) de la Provincia Bolívar, Ecuador. *Revista Salud Animal*, 36(2), 97–105. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/442>
- Calderón, A., Marrero, E., Bulnes, C., & Silva, J. (2015). Diagnóstico epidemiológico y clínico de la hematuria enzoótica bovina en la provincia Bolívar, Ecuador. *Talentos*, 2(1), 1–12. <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/75>
- Calderón Tobar, A., Jiménez Sánchez, A., Sánchez Perera, L. M., Mancebo Dorvigny, B., & Marrero Faz, E. (2014). Risk by human health for invasion of *Pteridium arachnoideum*, in Bolívar, Ecuador. Ptaquiloside's content in fronds and in milk. *International Journal of Applied Science and Technology*, 4(6), 84–94. <http://www.ijastnet.com/journal/index/688>
- Calderón Tobar, A., Marrero Faz, E., Murillo, V., & Vega, V. (2011). Reporte de casos de hematuria enzoótica bovina por ingestión de *Pteridium arachnoideum* en la región ganadera de San Miguel De Bolívar, provincia Bolívar, Ecuador. *Revista Salud Animal*, 33(3), 197–202.
- Calderón Tobar, A., Sánchez, L. M., Mancebo, B., Marrero, E., Chiriboga, X., & Silva, J. (2014). Residualidad del ptaquilósido en la leche procedente de granjas bovinas en tres cantones de la provincia Bolívar, Ecuador. *Revista de Salud Animal*, 36(1), 19–27. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/367>
- Cepeda, C., & Amoroso, A. (2016). *Experiencias de desarrollo sustentable y conservación en la Península de Yucatán* (1ª ed.). The Nature Conservancy. http://www.biosakbe.com/desarrollo_rural_sustentable/docs/espanol/experiencias.pdf
- Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca. (2020). *Plan de prevención, manejo y control del helecho marranero (Pteridium aquilinum (L.) kuhn) para la jurisdicción de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca CAR*. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca.
- Cortinovis, C., & Caloni, F. (2013). Epidemiology of intoxication of domestic animals by plants in Europe. *The Veterinary Journal*, 197(2), 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.03.007>
- da Silva Freitas Ribeiro, D., Moura Keller, K., Martins Melos, M., & Soto-Blanco, B. (2019). Determination of ptaquiloside in cow's milk by HPLC-UV. *Ciencias Agrarias*, 40(4), 1715–1722. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n4p1715>
- da Silva Freitas Ribeiro, D., Moura Keller, K., & Soto-Blanco, B. (2020). Ptaquiloside and pterisin B levels in mature green fronds and sprouts of *Pteridium arachnoideum*. *Toxins*, 12(5), Article 288. <https://doi.org/10.3390/toxins12050288>
- DeLuca, T., Zewdie S. A., Zackrisson, O., Healey, J. R., & Jones, D. L. (2013). Bracken fern (*Pteridium aquilinum* L. kuhn) promotes an open nitrogen cycle in heathland soils. *Plant Soil*, 367, 521–534. <http://www.jstor.org/stable/42952911>
- Der, J. P., Thomson, J. A., Stratford, J. K., & Wolf, P. G. (2009). Global chloroplast phylogeny and biogeography of bracken (*Pteridium*; *Dennstaedtiaceae*). *American Journal of Botany*, 96(5), 1041–1049. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800333>
- dos Reis Aranha, P. C., Holm Rasmussen, L., Wolf-Jäckel, G. A., Elvang Jensen, H. M. E., Bruun Hansen, H. C. & Friis, C. (2019). Fate of ptaquiloside—A bracken fern toxin—In cattle. *PLoS ONE Journal*, 14(6), Article e0218628. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218628>

- Duke, S. O. (2015). Proving allelopathy in crop–weed interactions. *Weed Science*, 63(SP1), 121–132. <https://doi.org/10.1614/WS-D-13-00130.1>
- Eslava-Silva, F. D. J., Jiménez-Durán, K., Jiménez Estrada, M., & Muñiz Díaz de León, M. E. (2020). Morfo-anatomía del ciclo de vida del helecho *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae) en cultivo *in vitro*. *Revista de Biología Tropical*, 68(1), 12–22. <http://doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36881>
- Fischer, W. J., Schilter, B., Tritscher, A. M., & Stadler, R. H. (2011). Contaminants of milk and dairy products | environmental contaminants. In J. W. Fuquay (Ed.), *Encyclopedia of dairy sciences* (2nd ed.; pp. 898–905). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00105-9>
- Fletcher, M. T., Reichmann, K. G., Brock, I. J., McKenzie, R. A., & Blaney, B. J. (2011). Residue potential of norsesquiterpene glycosides in tissues of cattle fed Austral bracken (*Pteridium esculentum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15), 8518–8523. <https://doi.org/10.1021/jf201342t>
- García-Jorgensen, D. B., Hansen, H. C. B., Abrahamsen, P., & Diamantopoulos, E. (2020). A novel model concept for modelling the leaching of natural toxins: results for the case of ptaquiloside. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(8), 1768–1779. <https://doi.org/10.1039/D0EM00182A>
- García-Jorgensen, D. B., Diamantopoulos, E., Kisielius, V., Rosenfeld, M., Holm Rasmussen, L., Strobel, B. W., & Hansen, H. C. B. (2021). Bracken growth, toxin production and transfer from plant to soil: a 2-year monitoring study. *Environmental Sciences Europe*, 33, Article 45. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00484-0>
- Ghorbani, J., Das, P. M., Das, A. B., Hughes, J. M., McAllister, H. A., Pallai, S. K., Pakeman, R. J., Marre, R. H., & Le Duc, M. G. (2003). Effects of restoration treatments on the diaspore bank under dense *Pteridium* stands in the UK. *Applied Vegetation Science*, 6(2), 189–198. <https://doi.org/10.1111/j.1654-109X.2003.tb00579.x>
- Ghorbani, J., Le Duc, M. G., McAllister, H. A., Pakeman, R. J., & Marrs, R. H. (2007). Effects of experimental restoration on the diaspore bank of an upland moor degraded by *Pteridium aquilinum* invasion. *Land Degradation & Development*, 18(6), 659–669. <https://doi.org/10.1002/ldr.804>
- Gil da Costa, R. M., Bastos, M. M. S. M., Oliveira, P. A., & Lopes, C. (2012). Bracken- associated human and animal health hazards: Chemical, biological and pathological evidence. *Journal of Hazardous Materials*, 203-204, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.12.046>
- Gil da Costa, R. M., Coehlo, P., Sousa, R., Bastos, M. M. S. M., Porto, B., Teixeira, J. P., Malheiro, I., & Lopes, C. (2012). Multiple genotoxic activities of ptaquiloside in human lymphocytes: aneuploidy, clastogenesis and induction of sister chromatid exchange. *Mutation Research*, 30(1), 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.04.010>
- Gil da Costa, R. M., Neto, T., Estêvão, D., Moutinho, M., Félix, A., Medeiros, R., Lopes, C., Bastos, M. M. S. M., & Oliveira, P. A. (2020). Ptaquiloside from bracken (*Pteridium* spp.) promotes oral carcinogenesis initiated by HPV16 in transgenic mice. *Food & Function*, 11(4), 3298–3305. <https://doi.org/10.1039/D0FO00207K>
- Gomes, J., Magalhães, A., Michel, V., Amado, I. F., Aranha, P., Ovesen, R. G., Hansen, H. C. B., Gärtner, F., Reis, A. & Touati, E. (2012). *Pteridium aquilinum* and its ptaquiloside toxin induce DNA damage response in gastric epithelial cells, a link with gastric carcinogenesis. *Toxicological Sciences*, 126(1), 60–71. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr329>
- Hama, J. R., & Strobel, B. W. (2019). Pyrrolizidine alkaloids quantified in soil and water using UPLC-MS/MS. *RSC Advances*, 52(9), 30350–30357. <https://doi.org/10.1039/C9RA05301H>

- Holm Rasmussen, L. (2021). Presence of the carcinogen ptaquiloside on fern-based food products and traditional medicine: four cases of human exposure. *Current Research in Food Science*, 4, 557–564. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.08.004>
- Holm Rasmussen, L., Bruun Hansen, H. C., & Lauren, D. (2005). Sorption, degradation and mobility of ptaquiloside, a carcinogenic Bracken (*Pteridium* sp.) constituent, in the soil environment. *Chemosphere*, 58(6), 823–835. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.088>
- Holm Rasmussen, L., Schmidt, B., & Sheffield, E. (2013). Ptaquiloside in bracken spores from Britain. *Chemosphere*, 90(10), 2539–2541. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.10.092>
- Hsueh, M. -T, Fan, C., & Chang, W. -L. (2020). Allelopathic Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Bip. on the tuber sprouting and seedling growth of *Cyperus rotundus* L. *Plants*, 9(6), Article 742. <https://doi.org/10.3390/plants9060742>
- Issaoui, H., Charrier, F., & Bouhtoury, E. (2020). Bio-based products from wood materials. In C. M. Galanakis (Ed.), *Biobased products and industries* (Chapter 7, pp. 245–277). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818493-6.00007-5>
- Jatoba, L. D. J., Varela, R. M., Gonzalez Molinillo, J. M., Ud Din, Z., Juliano Gualteri, S. C., Rodrigues-Filho, E., & Macías, F. A. (2016). Allelopathy of bracken fern (*Pteridium arachnoideum*): new evidence from green fronds, litter, and soil. *PlosOne*, 11(8), Article e0161670. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161670>
- Latorre, A. O., Caniceiro, B. D., Fukumasu, H., Gardner, D. R., Lopes, F. M., Wysochi Jr., H. L., da Silva, T., Haraguchi, M., Bressan, F. F., & Górniak, S. L. (2013). Ptaquiloside reduces NK cell activities by enhancing metallothionein expression, which is prevented by selenium. *Toxicology*, 304, 100–108. <http://doi.org/10.1016/j.tox.2012.12.010>
- Leitolis, A., Gimenez de Souza, F., Freitas, K., Barddal, H., Rauh, L., Franco, J., & Pereira, L. F. (2017). Tissue damage and embryonic malformation induced by aqueous extract of *Pteridium aquilinum* on chorioallantoic membrane of chick embryo (CAM). *Ciencias Agrarias*, 38(3), 1451–1460. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n3p1451>
- Lévy, M. (2020). *Polioencephalomalacia in ruminants (Cerebrocortical Necrosis)*. MSD Veterinary manual. <https://msdmnls.co/3Cu0oPL>
- Lu, J., Peng, C., Cheng, C., Liu, P., Ma, Q., & Shu, J. (2019). Four new Pterosins from *Pteris cretica* and their cytotoxic activities. *Molecules*, 24(15), Article 2767. <https://doi.org/10.3390/molecules24152767>
- Marchiosi, R., Wanderley, D. D. S., Polimeni Constantin, R., Barbosa de Lima, R., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., Rodrigues Mota, T., de Oliviera, M., Foletto-Felipe, M. D. P., Abrahao, J., & Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. *Phytochemistry Reviews*, 19, 865–906. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09689-2>
- Maren, I. E., Vandvik, V., & Ekelund, K. (2008). Effectiveness of chemical and mechanical bracken *Pteridium aquilinum* control treatments in northern coastal heathlands on the island of Lygra, Hordaland, Norway. *Conservation Evidence*, 5, 12–17.
- Marín, R. E. (2011). *Aportes al conocimiento de las plantas tóxicas para el ganado de la provincia de Jujuy*. Ministerio de Producción de Jujuy, & Dirección Provincial de Desarrollo Ganadero.
- Marín, R. E. (2019). *Intoxicación por Pteridium aquilinum en bovinos en Jujuy, Argentina: Caracterización clínica y patológica*. Editorial Académica Española.
- Marrero Faz, E., & Calderón Tobar, A. (2012). Plantas tóxicas e inocuidad alimentaria: Hematuria Enzoótica Bovina por *Pteridium* spp. un problema relevante de salud. *Revista de Salud Animal*, 34(3), 137–143. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/3>

- Marrs, R. H., & Watt, A. S. (2006). Biological flora of the British Isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Journal of Ecology*, 94(6), 1272–1321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01177.x>
- Medeiros-Fonseca, B., Abreu-Silva, A. L., Medeiros, R., Oliviera, P. A., & Gil da Costa, R. M. (2021). *Pteridium* spp. and bovine papillomavirus: partners in cancer. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, Article 758720. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.758720>
- Mejía Pacheco, L. M., & Malo Cevallos, I. P. (2020). Diagnóstico de la incidencia de Hematuria Enzoótica Bovina de bovinos en producción de tres zonas ganaderas. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(1), 76–86. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/234/276>
- Miatto, R. C., Silva, I. A., Silva-Matos, D. M., & Marrs, R.H. (2011). Woody vegetation structure of Brazilian Cerrado invaded by *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon (Dennstaedtiaceae). *Flora*, 206(8), 757–762. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.12.001>
- Miesner, M. D. (2009). Bovine enzootic hematuria. In D. E. Anderson, & D. Rings (Eds.), *Current veterinary therapy: Food animal practice* (Chapter 71, 5th ed., pp. 330). Saunders Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3591-6.X0135-2>
- Ministerio de Salud. (2019). *Análisis de la situación de salud 2018*. <https://bit.ly/3wEasUr>
- Mira, Y. D., Ramírez, L. A., Londoño, L. F., & Castañeda, D. A. (2021). Allelopathic effects of common bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) on germination and growth of economically important weeds. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Science*, 37(3), 290–300. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-30AEYD40030>
- Mohammad, R. H., Nur-E-Alam, M., Lahmann, M., Parveen, I., Tizzard, G. J., Coles, S. J., Fowler, M., Drake, A. F., Heyes, D., & Thoss, V. (2016). Isolation and characterisation of 13 pterosins and pterosides from bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) rhizome. *Phytochemistry*, 128, 82–94. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.05.001>
- Oliveira Latorre, A., Furlan, M. S., Sakai, M., Fukumasu, H., Machado Hueza, I., Haraguchi, M., & Lima Górnaiak, S. (2009). Immunomodulatory effects of *Pteridium aquilinum* on natural killer cell activity and select aspects of the cellular immune response of mice. *Journal of Immunotoxicology*, 6(2), 104–114. <https://doi.org/10.1080/15476910902972465>
- Panter, K. E., Gardner, D. R., Lee, S. T., Pfister, J. A., Ralphs, M. H., Stegelmeier, B. L., & James, L. F. (2007). Important poisonous plants of the United States. In R. C. Gupta (Ed.), *Veterinary toxicology: Basic and clinical principles* (Chapter 66, 3rd ed., pp. 837–889). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00061-1>
- Perrie, L. R., Shepherd, L. D., & Brownsey, P. J. (2015). An expanded phylogeny of the Dennstaedtiaceae ferns: *Oenotrichia* falls within a non-monophyletic *Dennstaedtia*, and *Saccoloma* is polyphyletic. *Australian Systematic Botany*, 28(4), 256–264. <https://doi.org/10.1071/SB15035>
- Petitjean, A., Mathe, E., Kato, S., Ishioka, C., Tavtigian, S. V., Hainaut, P., & Olivier, M. (2007). Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Human Mutation*, 28(6), 622–629. <https://doi.org/10.1002/humu.20495>
- Plessers, E., Pardon, B., Deprez, P., De Backer, P., & Croubels, S. (2013). Acute hemorrhagic syndrome by bracken poisoning in cattle in Belgium. *Tijdschrift*, 82(1), 31–37. <https://doi.org/10.21825/vdt.v82i1.16725>
- Ramwell, C. T., van Beinum, W., Rowbotham, A., Parry, H., Fera, C.R., Parson, S.A., Luo, W., & Evans, G. (2010). *Ptaquiloside & other bracken toxins: a preliminary risk assessment* (Final Report). The Food and Environment Research Agency. <https://cdn.dwi.gov.uk/wp-content/uploads/2020/10/27111037/DW170-2-237.pdf>

- Rasmussen, L. H., Donnelly, E., Strobel, B. W., Holm, P. E., & Hansen, H. C. B. (2015). Land management of bracken needs to account for bracken carcinogens - a case study from Britain. *Journal of Environmental Management*, *151*, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.052>
- Rasmussen, L. H., Kroghsbo, S., Frisvad, J. C., & Hansen, H. C. B. (2003). Occurrence of the carcinogenic bracken constituent ptaquiloside in fronds, topsoils and organic soil layers in Denmark. *Chemosphere*, *51*(2), 117–127. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00694-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00694-X)
- Reis Aranha, P. C., Bruun Hansen, H. C., Holm Rasmussen, L., Strobel, B., & Friis, C. (2014). Determination of ptaquiloside and pteroin B derived from bracken (*Pteridium aquilinum*) in cattle plasma, urine and milk. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *951–952*, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.01.022>
- Riet-Correa, F., Medeiros, R., Pfister, J., Schild, A. L., & Dantas, A. (2009). *Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock*. Editora da Universidade Federal de Campina Grande.
- Rincón, D. F., Díaz, G. J., & Gardner, D. R. (2016). Detection of Ptaquilosides in different 23hologic stages of Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and analysis of mik samples in farms with hematuria in Tolima, Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *11*(1), 72–77. <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3820>
- Ríos-Gutiérrez, M., Domingo, L. R., & Alonso-Amelot, E. (2017). A DFT study of the conversion of ptaquiloside, a bracken fern carcinogen, to Pteroin B in neutral and acidic aqueous medium. *Chemistry Select*, *2*(26), 8178–8186. <https://doi.org/10.1002/slct.201701409>
- Rocha, J. F., Santos, B. B. N., Galvão, A., Marques, T. O., Silva, L. R. L., França, T. N., & Peixoto, P. V. (2022). Occurrence of enzootic hematuria in buffaloes in Brazil: epidemiological, clinical, and pathological aspects. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *42*, Article e06875. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6875>
- Rodríguez, A. M., Derita, M. G., Borkosky, S. A., Socolsky, C., Bardón, A., & Hernández, M. A. (2018). Bioactive farina of *Notholaena sulphurea* (Pteridaceae): Morphology and histochemistry of glandular trichomes. *Flora*, *240*, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.01.008>
- Sánchez, A., Villarroel, R., Pino, D., García, D., Molero, G., & Carrasco de D., D. (2003). Evaluación comparativa de diferentes métodos de control de la hematuria enzoótica bovina. *Revista Científica FCV-LUZ*, *13*(1), 33–37. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/14958/14935>
- Santos, C., Vilanova, M., Medeiros, R., & Gil da Costa, R. M. (2017). HPV-transgenic mouse models: Tools for studying the cancer-associated immune response. *Virus Research*, *2*, 235–249. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.04.001>
- Scala, C., Ortiz, K., Catinaud, J., & Lemberger, K. (2014). Hematuria and urinary bladder lesions compatible with bracken fern (*Pteridium aquilinum*) intoxication in captive fallow deer (*Dama dama*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *45*(2), 380–385. <https://doi.org/10.1638/2013-0274R1.1>
- Schwartsburd, P. B. (2017). Flora of Espírito Santo: *Dennstaedtiaceae*. *Rodriguésia*, *68*(5), 1559–1575. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201768504>
- Schubbert, S., Shannon, K., & Bollag, G. (2007). Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nature Reviews Cancer*, *7*, 295–308. <https://doi.org/10.1038/nrc2109>
- Scottish Environmental and Rural Services. (2008). *Bracken control: a guide to best practice*. SEARS natural Scotland. <https://bit.ly/3ajMQf9>

- Senyanzobe, J. M. V., Mulei, J. M., Bizuru, E., & Nsengimuremyi, C. (2020). Impact of *Pteridium aquilinum* on vegetation in Nyungwe Forest, Rwanda. *Heliyon*, 6(9), Article e04806. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04806>
- Seva, J. I., Mas, A., Sanes, J. M., Trigueros, I., & Pallarés, F. J. (2010). Poliencefalomalacia asociada a acidosis metabólica en bovino de lidia. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 26, 91–96. <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/125081>
- Skourti-Stathaki, E., Clauson-Kaas, F., Brandt, K. K., Holm Rasmussen, L., & Bruun Hansen, H. C. (2016). Dissipation of pterisin B in acid soils – tracking the fate of the bracken fern carcinogen ptaquiloside. *Chemosphere*, 165, 453–459. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.050>
- Skrbic, N., Pedersen, A. -K., Christensen, S. C. B., Bruun Hansen, H. C., & Holm Rasmussen, L. (2020). A novel method for determination of the natural toxin ptaquiloside in ground and drinking water. *Water*, 12(10), Article 2852. <http://doi.org/10.3390/w12102852>
- Smith, J., Mun Tho, L., Xu, N., & Gillespie, D. A. (2010). The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 pathways in DNA damage signaling and cancer. *Advances in Cancer Research*, 108, 73–112. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380888-2.00003-0>
- Ssali, F., Moe, S. R., & Sheil, D. (2019). The differential effects of bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) on germination and seedling performance of tree species in the African tropics. *Plant Ecology Journal*, 220, 41–55. <https://doi.org/10.1007/s11258-018-0901-8>
- Suazo-Ortuño, I., Lopez-Toledo, L., Alvarado-Díaz, J., & Martínez-Ramos, M. (2015). Land-use change dynamics, soil type and species forming mono-dominant patches: The case of *Pteridium aquilinum* in a neotropical rain forest region. *Biotropica*, 47(1), 18–26. <https://doi.org/10.1111/btp.12181>
- Tampa Sompila, A. W. G., Moussounga, J. E., Madiélé-Mabika, A. B., Pambou-Tobi, N. P. G., Diakabana, P., Miakayizila, B. D. E., Dzondo-Gadet, M., & Silou, T. (2019). Conservation and analysis of the physicochemical parameters of a Congo food plant alicamentary [*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(9), 247–256. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.809.030>
- Tourchi Roudsari, M., Reza Bahrami, A., Dehghani, A., Iranshahi, M., Moghadam Matin, M., & Mohmoudi, M. (2012). Bracken-fern extracts induce cell cycle arrest and apoptosis in certain cancer cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(12), 6047–6053. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.12.6047>
- Tourchi-Roudsari, M. (2014). Multiple effects of bracken fern under *in vivo* and *in vitro* conditions. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(18), 7507–7509. <http://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.18.7505>
- Ugochukwu, I. C. I. (2019). Bracken fern toxicity and its associated clinicopathological effects in humans and animals: a review. *Comparative Clinical Pathology*, 28, 593–597. <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2636-2>
- Valdez-Ramírez, C., Levy-Tacher, S. I., León-Martínez, N. S., Navarrete-Gutiérrez, D. A., & Ortiz-Ceballos, A. I. (2020). Cambios químicos y biológicos del suelo provocados por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en áreas de influencia de la reserva de la biosfera de Calakmul, Campeche. *Terra Latinoamericana*, 38, 289–300. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.464>
- Van Driesche, R. G., Hoddle, M. S., & Center, T. D. (2007). *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*. USDA Forest Service.
- Vargas Peixoto, P., do Nascimento França, T., Barros, C. S. L., & Hubinger Tokarnia, C. (2003). Histopathological aspects of bovine enzootic hematuria in Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 23(2), 65–81. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2003000200004>

- Verde, G., García, M., Chavera, A., Gonzáles, C., & Falcón, N. (2017). Diagnóstico clínico de la hematuria vesical enzoótica bovina por uroanálisis de la provincia de Oxapampa, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(3), 522–529. <http://doi.org/10.15381/rivep.v28i3.13286>
- Vetter, J. A. (2009). A biological hazard of our age: bracken fern [*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn] - a review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 57(1), 183–196. <https://doi.org/10.1556/avet.57.2009.1.18>
- Virgilio, A., Sinisi, A., Russo, V., Gerardo, S., Santoro, A., Galeone, A., Tagliatela-Scafati, O., & Roperto, F. (2015). Ptaquiloside, the major carcinogen of bracken fern, in the pooled raw milk of healthy sheep and goats: an underestimated, global concern of food safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(19), 4886–4892. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01937>
- Waret-Szkuta, A., Jégou, L., Lucas, M. N., Gaide, N., Morvan, H., & Martineau, G. -P. (2021). A case of eagle fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning on a pig farm. *Porcine Health Management*, 7, Article 2. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00185-9>
- Wolf, P., Rowe, C., Kinoshian, S., Der, J., Lockhart, P., Shepherd, L., McLenachan, P., & Thomson, J. (2019). Worldwide relationships in the fern genus *Pteridium* (bracken) based on nuclear genome markers. *American Journal of Botany*, 106(10), 1365–1376. <https://doi.org/10.1002%2Fajb2.1365>
- Wu, J. S., Clauson-Kaas, F., Lindqvist, D. N., Holm-Rasmussen, L., Strobel, B., & Bruun-Hansen, H. C. (2021). Does the natural carcinogen ptaquiloside degrade readily in groundwater? *Environmental Sciences Europe*, 33, Article 24. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00468-0>
- Yamada, K., Ojika, M., & Kigoshi, H. (2007). Ptaquiloside, the major toxin of bracken, and related terpene glycosides: chemistry, biology and ecology. *Natural Product Reports*, 24(4), 798–813. <https://doi.org/10.1039/b614160a>
- Yurdakok, B., Kismali, G., & Ozen, D. (2014). Ptaquiloside-induced cytotoxicity in Crandall feline kidney and HGC-27 cells. *Oncology Letters*, 8(4), 1839–1843. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2378>
- Zaccone, C., Cavoski, I., Costi, R., Sarais, G., Caboni, P., Traversa, A., & Miano, T. (2014). Ptaquiloside in *Pteridium aquilinum* subspp. *aquilinum* and corresponding soils from the South of Italy: Influence of physical and chemical features of soils on its occurrence. *Science of The Total Environment*, 496, 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.046>