



Evaluación de la presencia de toxinas, en distintos estados fenológicos de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la parroquia de Plaza Gutiérrez

Medina Vicente, Dayanna Carolina

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

MSc. Páez Barrera, Grace Tatiana

05 de agosto de 2026



Certificado de análisis
Compilatio Magister+ | ESPE-ECU

ANEXO 5 TRABAJO INTEGRACION CURRICULAR MEDINA DAYANA V7

ID : da4297a8d508d7ee742ee345b9eb92ad8fe663a4



4%
Textos sospechosos

Nombre del fichero : ANEXO 5 TRABAJO INTEGRACION CURRICULAR
MEDINA DAYANA V7.txt
Tamaño del archivo original : 3,04 MB
Número de palabras : 28.352

Depositante : GRACE TATIANA PAEZ BARRERA
Fecha de depósito : 21 de julio de 2026
Tipo de carga : Interface
fecha de fin de análisis : 23 de julio de 2026

Resumen (sección 1/2)

Localización de los textos sospechosos en el documento :



Incluido en el porcentaje de textos sospechosos :

Similitudes

Pasajes con similitudes a fuentes encontradas en diferentes colecciones.

4%



Detección de IA

Textos estilísticamente próximos a un texto generado por una IA.

Este índice es un indicador y no una prueba. Comprueba con el autor si domina los conocimientos mencionados en el documento.

1%



Idiomas no reconocidos

Pasajes en los que parte del vocabulario utilizado no forma parte del diccionario de la lengua.
Puede tratarse de un intento del autor de modificar el texto para evitar ser detectado.

3%



No incluido en el porcentaje de textos sospechosos :

Textos entre comillas

Pasajes entre comillas, a menudo indicativos de una cita.

<1%

MSc. Páez Barrera, Grace Tatiana

C.C: 1710134626

Directora del proyecto de integración curricular



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Evaluación de la presencia de toxinas, en distintos estados fenológicos de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la parroquia de Plaza Gutiérrez”** fue realizado por la señorita **Medina Vicente, Dayanna Carolina**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE; habiéndose efectuado una revisión integral de forma y de fondo conforme a los lineamientos y formatos institucionales vigentes. Además, fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 11 de agosto de 2026

MSc. Páez Barrera, Grace Tatiana

C.C: 1710134626

Directora del proyecto de integración curricular



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de autoría

Yo, **Medina Vicente, Dayanna Carolina**, con cédula de ciudadanía n° 1725159105, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Evaluación de la presencia de toxinas, en distintos estados fenológicos de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la parroquia de Plaza Gutiérrez”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 11 de agosto de 2026

Medina Vicente, Dayanna Carolina

C.C.: 1725159105



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Medina Vicente, Dayanna Carolina**, con cédula de ciudadanía n° 1725159105, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Evaluación de la presencia de toxinas, en distintos estados fenológicos de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la parroquia de Plaza Gutiérrez”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 11 de agosto de 2026

Medina Vicente, Dayanna Carolina

C.C.: 1725159105

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis padres, Norma y Milton, mi mayor apoyo e inspiración, a quienes debo todo lo que soy y este logro que también es suyo. A mis abuelitos, Blanca y José, mis segundos padres, por todo su apoyo y amor incondicional, y porque me lo han dado todo en esta vida. A mis hermanos, Andrés, José y Milena, mi motivación constante y compañeros de vida. Porque gracias a ustedes nunca me he sentido sola. A mis hijas, Mishia y Sasi, por su amor, por acompañarme cada noche de desvelo y por ser mi mayor motivo para seguir adelante. A mi familia, por su apoyo incondicional durante toda mi vida, por siempre estar presentes y ayudarme cuando lo necesité. A mis amigos, los hermanos que la universidad me dio, Dani, Jhosu, Ali, Majo y Flor, porque han estado conmigo a lo largo de toda esta travesía. Por las risas y todo el sufrimiento que hemos compartido, y sobre todo por el apoyo incondicional que me han brindado. A mi Doc Taty, por haber confiado en mí desde un inicio, por toda la paciencia y el apoyo que me ha dado y sobre todo por ser una guía y enseñanza más allá de lo académico, de vida. Y finalmente, a mi Anthony, mi amor y compañero de vida, por hacerme sentir tan amada, por ser quien me ha visto en mis momentos más vulnerables y siempre creyó en mí, incluso cuando yo dejé de hacerlo. Porque no sé qué me depara la vida, pero sea a donde sea que vaya, espero ir siempre de tu mano.

Agradecimiento

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por brindarme la formación académica y los recursos necesarios para desarrollar este trabajo de investigación. A mi directora de proyecto, MSc. Grace Tatiana Páez Barrera, por su guía, paciencia y acompañamiento constante durante todo el proceso de investigación, así como por sus valiosos aportes que enriquecieron cada etapa de este trabajo. A la docente Blanca Naranjo, por su guía y consejos en el área de fitoquímica, fundamental para el desarrollo metodológico de este estudio. Al Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad Regional Amazónica IKIAM, en especial a la Dra. Gabriela Salazar, por su apoyo con los insumos esenciales para llevar a cabo esta investigación. Al CENCINAT, por brindar el espacio y los recursos necesarios para llevar a cabo este trabajo. De manera especial, agradezco al Ing. Wilson Navas y a las ingenieras Geovanna Arroyo y Katherine Garay, Mgtr., por todos los consejos, el apoyo, el acompañamiento y la guía brindada durante el desarrollo experimental. Al Dr. Danny Zambrano director del Proyecto Social Institucional Apoyo Técnico a las comunidades rurales del Ecuador por parte de las Fuerzas Armadas y la Academia, y al Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez, por el financiamiento, apertura y acogida durante la fase de campo. Finalmente, a mi familia por ser el pilar fundamental de mi vida y a todas las personas que me apoyaron durante el transcurso de la elaboración de este proyecto.

Índice de contenidos

Certificación	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimiento	7
Resumen	14
Abstract.....	15
Capítulo I	16
Introducción	16
Planteamiento del problema.....	18
Formulación del problema o pregunta de investigación.....	20
Objetivos.....	20
Justificación	21
Capítulo II	23
Estado del arte.....	23
Marco teórico	26
Taxonomía y distribución de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	26
Clasificación taxonómica	26
Descripción morfológica	29
Distribución geográfica	32
Estadios fenológicos de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	35
Perfil fitoquímico de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	37
Contenido nutricional y aplicaciones alimenticias	38

Glucósidos iludanos	39
Pterosinas	40
Glucósidos cianogénicos	41
Tiaminasas y factores anti-tiamina	42
Otros compuestos	43
Toxicidad y mecanismo de acción de los glucósidos de iludano	43
Activación y formación de la dienona	44
Alquilación de ADN y formación de aductos	45
Consecuencias en la salud humana y animal	46
Hematuria enzoótica bovina	47
Factores de exposición del ganado	48
Sintomatología clínica	48
Pruebas de detección	50
Factores de incidencia	50
Comportamiento ambiental del ptaquilósido	51
Marco conceptual	53
Capítulo III	55
Metodología	55
Enfoque de investigación	55
Tipo y diseño de investigación	55
Población y muestra	55
Técnica e instrumento	57
Recolección de muestras	57
Caracterización botánica	59
Procesamiento de muestras	60
Extracción	61

Concentración	62
Desengrasado	63
Hidrólisis	64
Cromatografía de capa fina (TLC)	65
Estadística	65
Validación y confiabilidad del instrumento	66
Consideraciones éticas	67
Capítulo IV	68
Análisis y discusión de los resultados	68
Caracterización botánica del helecho <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	68
Extracción y evaluación de compuestos	75
Procesamiento y análisis cromatográfico de muestras	75
Evaluación del perfil cromatográfico	79
Evaluación espectral de los extractos	85
Correlación de la presencia de toxinas con la incidencia de HEB	89
Capítulo V	94
Conclusiones	94
Recomendaciones	95
Referencias	97
Apéndices	110

Índice de tablas

Tabla 1 Actualización taxonómica de las variedades de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	28
Tabla 2 Criterios morfológicos y fenológicos para la diferenciación de ejemplares maduros e inmaduros de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	58
Tabla 3 Parámetros del procesamiento de muestras de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	76
Tabla 4 Riqueza de bandas cromatográficas según el estado fenológico de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	81
Tabla 5 Frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés bajo distintos parámetros.....	83
Tabla 6 Prevalencia clínica de HEB y frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés.....	91
Tabla 7 Correlación entre la detección de la banda cromatográfica de interés y la prevalencia de HEB	92

Índice de figuras

Figura 1 Variedades de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn y sus posibles interrelaciones.....	27
Figura 2 Morfología del sistema subterráneo de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	30
Figura 3 Características morfológicas y anatómicas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	31
Figura 4 Mapa de la distribución global de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	32
Figura 5 Comparación del estado de madurez en frondas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn ...	36
Figura 6 Usos tradicionales de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	39
Figura 7 Estructura química del ptaquilósido y sus análogos identificados en <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn.....	40
Figura 8 Ruta metabólica de la prunasina	41
Figura 9 Mecanismo de acción de las tiaminasas tipo I y II	42
Figura 10 Mecanismo de transformación del ptaquilósido	45
Figura 11 Formación de aductos a partir de la ptaquilodienona	46
Figura 12 Signos clínicos y lesiones macroscópicas en órganos de bovinos intoxicados por <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	49
Figura 13 Cadena alimentaria de helechos (<i>Pteridium</i>) y mecanismo de acción del PTA.....	52
Figura 14 Ubicación geográfica de la parroquia Plaza Gutiérrez, cantón Cotacachi.	56
Figura 15 Contexto general de la zona de estudio	56
Figura 16 Rutas de recolección en fincas de estudio de la parroquia Plaza Gutiérrez.....	57
Figura 17 Recolección de ejemplares de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn en la parroquia Plaza Gutiérrez.....	58
Figura 18 Muestras de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn recolectadas en la parroquia de Plaza Gutiérrez.....	59
Figura 19 Proceso de secado de muestras	61
Figura 20 Proceso de molienda de muestras	61
Figura 21 Proceso de extracción de compuestos a partir de las muestras recolectadas	62

Figura 22 Proceso de concentración del producto de maceración de las muestras.....	63
Figura 23 Proceso de desengrasado de muestras	63
Figura 24 Proceso de hidrólisis de las muestras	64
Figura 25 Ubicación y morfología de los esporangios en el género <i>Pteridium</i>	68
Figura 26 Vista macroscópica del haz y el envés de frondas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	70
Figura 27 Vista estereoscópica del haz y el envés de frondas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	71
Figura 28 Vista estereoscópica de estructuras reproductivas de frondas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	72
Figura 29 Vista microscópica de estructuras reproductivas de frondas de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn	74
Figura 30 Partes del esporangio	75
Figura 31 Resultados de la cromatografía de capa fina para muestras inmaduras.....	78
Figura 32 Resultados de la cromatografía de capa fina para muestras maduras	79
Figura 33 Distribución del número de bandas cromatográficas según el estado fenológico	82
Figura 34 Frecuencia de la detección de la banda cromatográfica de interés según la finca de estudio	84
Figura 35 Espectros de absorción UV de los extractos de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn y el estándar de PtrA.	86
Figura 36 Gráfica de la segunda derivada promedio de los espectros UV de los extractos de <i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn y el estándar de PtrA.	87
Figura 37 Relación entre la frecuencia total de detección de banda de interés y la prevalencia de HEB	93

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo detectar la presencia de compuestos tóxicos en ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn recolectados en fincas lecheras que presentaron incidencia de Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) en la parroquia de Plaza Gutiérrez, cantón Cotacachi, provincia de Imbabura. Se recolectaron 24 muestras del helecho en tres fincas: 12 de ejemplares inmaduros y 12 maduros. Las muestras fueron sometidas al siguiente proceso: secado, molido, macerado, concentrado, desengrasado e hidrólisis, para finalmente ser analizadas mediante Cromatografía de Capa Fina (TLC), utilizando Pterosina A como estándar de referencia y marcador analítico indirecto de compuestos potencialmente tóxicos en el helecho. Los resultados obtenidos no mostraron la presencia de bandas coincidentes con el estándar de Pterosina A en ninguna de las muestras analizadas. Este particular hallazgo se respalda mediante espectrofotometría derivativa, descartando así, que el resultado negativo haya sido causado por errores técnicos. Sin embargo, los resultados obtenidos permitieron la identificación de una banda cromatográfica de interés con un factor de retención (R_f) cercano a 0,25; cuyo valor fue compatible con datos bibliográficos reportados para el glucósido cianogénico prunasina, registrada en 8 de 12 muestras inmaduras (66,7 %) y en 7 de 12 muestras maduras (58,3 %). El análisis de correlación mediante coeficiente de rangos Spearman entre la frecuencia de detección de dicha banda y la prevalencia clínica de HEB por finca mostró una correlación positiva ($\rho_s = 0,866$ y $\rho_s = 1,000$), aunque sin significancia estadística ($p > 0,05$), debido al reducido número de fincas evaluadas. Los resultados sugieren que, bajo las condiciones experimentales empleadas, no fue posible detectar la presencia de Pterosina A en las muestras, mientras que la coincidencia exploratoria de una banda compatible con un compuesto tóxico de *P. aquilinum* (L.) Kuhn y la incidencia de HEB requiere de una validación mediante métodos analíticos adicionales.

Palabras clave: *Pteridium aquilinum*, hematuria enzoótica bovina, ptaquilósido, prunasina, cromatografía de capa fina.

Abstract

This study aimed to detect the presence of toxic compounds in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn specimens collected from dairy farms with reported cases of Enzootic Bovine Hematuria (EBH) in Plaza Gutiérrez Parish, Cotacachi Canton, Imbabura Province. Twenty-four samples were collected from three farms: 12 immature and 12 mature specimens. The samples underwent drying, grinding, maceration, concentration, defatting and hydrolysis, and were subsequently analyzed by Thin-Layer Chromatography (TLC), using pterisin A as a reference standard and an indirect analytical marker of potentially toxic compounds in the fern. No chromatography bands matching the standard pterisin A were observed in any of the samples analyzed. This finding was supported by derivative spectrophotometric analysis, thereby ruling out technical errors as the cause of the negative result. However, a chromatographic band of interest with a retention factor (Rf) of approximately 0.25 was detected. This value was compatible with published data for the cyanogenic glycoside prunasin and was detected in 8 of 12 immature samples (66.7 %) and 7 of 12 mature samples (58.3 %). Spearman's rank correlation analysis between the detection frequency of this band and the clinical prevalence of EBH by farm showed positive correlations ($\rho_s = 0.866$ y $\rho_s = 1.000$), nevertheless, these associations were not statistically significant ($p > 0.05$), mainly because of the limited number of farms evaluated. The results suggest that, under the experimental conditions used, pterisin A could not be detected in the samples, whereas the exploratory correspondence between a chromatographic band tentatively associated with a potentially toxic compound reported in *P. aquilinum* (L.) Kuhn and the occurrence of EBH requires confirmation using additional analytical methods.

Keywords: *Pteridium aquilinum*, enzootic bovine hematuria, ptaquiloside, prunasin, thin-layer chromatography.

Capítulo I

Introducción

El helecho macho, helecho común o helecho águila (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) es una planta vascular inferior perenne, considerada una de las especies más invasoras en todo el mundo gracias a su alta rusticidad y capacidad reproductiva, lo que le permite invadir un amplio rango ecológico (Amouzgar et al., 2022). Se encuentra ampliamente distribuido en diversos entornos, desde terrenos perturbados hasta pastizales, praderas y distintos tipos de bosques; adaptándose sin problema a condiciones ambientales variadas (Kato-Noguchi & Kato, 2026). El helecho macho es un invasor agresivo de pastos y campos, una vez que se establece es casi imposible de erradicar, razón por la cual es considerado una de las peores malezas a nivel mundial (Štefanić et al., 2022).

P. aquilinum (L.) Kuhn se caracteriza por tener una amplia variedad de metabolitos secundarios que le otorgan una defensa clave contra patógenos y depredadores (Malík et al., 2024). Entre los componentes tóxicos más destacados se encuentra el ptaquilósido (PTA), cuya presencia se relaciona con el desarrollo de efectos inmunosupresores, hematuria enzoótica bovina, atrofia retiniana, trastornos linfoproliferativos y cáncer (Kato-Noguchi & Kato, 2026). La presencia de dichos compuestos hace que cualquier parte del helecho macho, ya sea hojas frescas o secas, brotes, rizoma o esporas, sea potencialmente venenosa tanto para animales como para el ser humano (Štefanić et al., 2022).

A nivel mundial, el consumo de *P. aquilinum* (L.) Kuhn por parte del ganado se ha asociado con el desarrollo de Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) (Falbo et al., 2005). El helecho suele abarcar la mayor parte de la vegetación presente en los pastizales donde los animales que pastan libremente se ven expuestos a su consumo, lo que termina en graves problemas de producción para los ganaderos debido a las severas consecuencias de morbilidad y mortalidad en los animales (Borena et al., 2025). Sin embargo, los problemas económicos no son la única preocupación para la población, pues se ha demostrado que el consumo de

productos derivados de animales de producción expuestos a *P. aquilinum* (L.) Kuhn o la exposición al agua potable, pozos o agua de riego en zonas invadidas por el helecho macho, conlleva una vía significativa para la exposición humana a las toxinas de esta planta (Gil da Costa et al., 2012; Skrbic et al., 2020).

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn es una de las cinco plantas más numerosas en todo el mundo, puesto que se encuentra distribuida a nivel mundial con excepción de la Antártida, y con mayor abundancia en América del sur (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Específicamente en América Latina, se ha reportado la presencia de algunos helechos tóxicos del género *Pteridium* de manera invasiva, lo cual supone un potencial riesgo para el ser humano (Calderón et al., 2011). En países como Costa Rica y Venezuela se han encontrado casos de neoplasias gástricas en zonas de alta altitud infestadas con *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y que presentaban HEB (Gil da Costa et al., 2012). Pese a la amplia distribución del helecho macho a nivel mundial, los estudios sobre la intoxicación de animales causada por el consumo de esta planta continúan siendo limitados (Borena et al., 2025), por lo que surge la necesidad de estudiar con mayor profundidad las zonas con presencia de *P. aquilinum* (L.) Kuhn, y contribuir con información que refuerce la comprensión de esta problemática.

La presente investigación tiene como finalidad evaluar la presencia de compuestos tóxicos en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en distintos estados fenológicos recolectados en la parroquia de Plaza Gutiérrez, mediante análisis fitoquímicos y técnicas cromatográficas orientadas a la detección de metabolitos tóxicos de interés. Este trabajo busca aportar información relacionada con el perfil fitoquímico de esta especie y su posible relación con problemas en la producción ganadera de la zona de estudio. Para ello, se encuentra estructurado en varios capítulos: el Capítulo I corresponde a la introducción, planteamiento de problema, formulación de la pregunta de investigación, objetivos y justificación; el Capítulo II comprende el marco teórico y antecedentes relacionados con el género *Pteridium*, sus compuestos tóxicos y efectos asociados; el Capítulo III describe la metodología empleada para

la recolección y análisis de las muestras; el Capítulo IV presenta los resultados obtenidos y su respectiva discusión; y por último, el Capítulo V presenta las conclusiones y recomendaciones derivadas de la investigación.

Planteamiento del problema

A nivel global, los helechos del género *Pteridium* se caracterizan por su capacidad de invadir entornos antropizados, como bosques deforestados, áreas agrícolas abandonadas y especialmente zonas de vegetación quemadas (Aguilar Dorantes, 2014). En América Latina se reporta la invasión por helechos, especialmente del género *Pteridium*, en una gran parte de las zonas ganaderas, lo que ha ocasionado una reducción en la producción bovina. Estos problemas se han asociado con la presencia de la HEB en el ganado, debido a que esta patología empezó a presentarse precisamente en dichas áreas invadidas (Calderón et al., 2011). En Brasil se ha reportado una invasión de helechos de este género en pastizales que sufrieron deforestación, en México estos helechos han invadido al menos 360 km² de áreas agrícolas y ganaderas deforestadas o quemadas, e incluso en Ecuador se reporta el abandono de áreas ganaderas por invasiones de más del 68 % de la zona (Aguilar Dorantes, 2014).

La situación del helecho macho en Ecuador es complicada debido a la falta de estudios, sin embargo, se sabe que está ampliamente distribuido en toda la región ecuatoriana, incluyendo las Islas Galápagos, donde forma parte de la vegetación de helechos presentes en zonas húmedas y de gran altitud (Cañarte Bermúdez et al., 2020; Coffey et al., 2011). En la provincia del Oro y Bolívar, la presencia de helechos del género desata ciertas preocupaciones y graves riesgos tanto para la salud de los animales como para la del ser humano, debido a la presencia de sus compuestos tóxicos, algunos de ellos incluso clasificados como cancerígenos (Calderón et al., 2011; Romero Solano, 2008). La presencia de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en el Ecuador representa una amenaza para la biodiversidad y la producción agropecuaria, sin embargo, existe aún un vacío de información a nivel nacional que limita comprender a profundidad el riesgo real que representa para la salud animal y humana (Robles Santi, 2023).

En la provincia de Imbabura, específicamente en Cotacachi, la invasión por *P. aquilinum* (L.) Kuhn es un riesgo para las comunidades rurales dedicadas a la producción ganadera, ya que su rápida expansión favorece la invasión de los potreros y puede ocasionar enfermedades en el ganado. El manejo de esta situación y la reducción de los efectos negativos de la especie en áreas afectadas constituyen un desafío que preocupa a los pobladores del lugar (Báez Gómez, 2023). Dentro de Cotacachi, está ubicada la Parroquia Rural Leonidas Plaza Gutiérrez, territorio que se caracteriza por sus condiciones ambientales de alta humedad y fuertes precipitaciones, las cuales favorecen el desarrollo de pastizales naturales para la alimentación del ganado, así como también la proliferación de especies vegetales silvestres (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez, 2026).

Los pobladores de Plaza Gutiérrez dependen en gran medida de las actividades agropecuarias como principal sustento de recursos, dentro de una economía de subsistencia, lo que convierte a esta parroquia en una zona de potencial riesgo, dado que reúne condiciones que podrían favorecer problemas asociados con *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez, 2026). En 2023, Báez Gómez determinó que en la comunidad “Las Delicias” al menos el 38,43 % del área total se encuentra invadido por *P. aquilinum* (L.) Kuhn, el cual afecta gravemente la zona al inhibir el crecimiento de otras especies. Estos datos confirman que la parroquia presenta una invasión por *P. aquilinum* (L.) Kuhn, sin embargo, la información sobre la presencia de *P. aquilinum* (L.) Kuhn, la incidencia de HEB y la relación entre estas y cómo afectan a la población de la parroquia continúa siendo escasa. Esto evidencia la necesidad de estudiar la zona y generar información técnica sobre la presencia de compuestos tóxicos en *P. aquilinum* (L.) Kuhn y su posible relación con la incidencia de HEB en la zona, como base para futuras investigaciones en Plaza Gutiérrez.

Formulación del problema o pregunta de investigación

Con base en lo expuesto, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Se encuentran presentes compuestos tóxicos en ejemplares de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en distintos estados fenológicos, recolectados en fincas lecheras con incidencia de hematuria enzoótica bovina en la parroquia de Plaza Gutiérrez?

De esta se derivan las siguientes preguntas específicas:

- ¿Cuáles son las características botánicas del helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) presente en la zona de estudio?
- ¿Qué toxinas y compuestos relacionados se encuentran presentes en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en distintos estados fenológicos?
- ¿Qué relación existe entre la presencia de toxinas en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) y la incidencia de HEB reportada en fincas de la parroquia de Plaza Gutiérrez?

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar la presencia de toxinas, en distintos estados fenológicos de helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la Parroquia de Plaza Gutiérrez.

Objetivos específicos:

- Caracterizar botánicamente el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), en la zona de estudio.
- Evaluar la presencia de toxinas y compuestos relacionados en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn).

- Correlacionar la presencia de toxinas en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), con la incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la Parroquia de Plaza Gutiérrez.

Justificación

La presente investigación aporta información sobre la presencia o ausencia de toxinas y compuestos relacionados en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en fincas lecheras con alta incidencia de HEB en la parroquia de Plaza Gutiérrez, territorio que carece de información técnica y científica sobre esta especie, y cuenta únicamente con reportes que sustentan su prevalencia en zonas de la parroquia antes mencionada (Báez Gómez, 2023). Desde el punto de vista práctico, los resultados obtenidos permiten generar conocimiento para que los pobladores y autoridades locales puedan preparar buenas prácticas y decisiones al respecto, constituyendo así, la primera evidencia técnica sobre la evaluación de toxinas presentes en distintos estados fenológicos de *P. aquilinum* (L.) Kuhn recolectado en fincas de esta Parroquia Rural en Cotacachi.

Desde el punto de vista social, la economía de la parroquia Plaza Gutiérrez se basa principalmente en actividades vinculadas con el aprovechamiento de los recursos naturales entre ellas la agricultura y la ganadería (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez, 2026). Gran parte de las familias de esta parroquia desarrolla prácticas agropecuarias de subsistencia, por lo que la tenencia de una o varias cabezas de ganado bovino constituye una forma de ahorro y fuente de sustento. En este contexto, la presencia de *P. aquilinum* (L.) Kuhn en las zonas de pastoreo representa un riesgo significativo tanto para los bovinos, como para la estabilidad económica de los hogares que dependen de su producción. En los pastizales naturales con limitada disponibilidad de forraje o de fuentes alternativas de alimentación, los animales pueden consumir el helecho, lo que puede ocasionar pérdida de peso, disminución en la producción de leche, abortos e incluso la muerte de sus animales, afectando directamente a las familias que dependen económicamente de la actividad

ganadera (Borena et al., 2025). Por lo tanto, contar con información técnica y de base científica sobre la presencia de toxinas en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en fincas lecheras con incidencia de HEB en la parroquia de Plaza Gutiérrez, resulta fundamental para generar conocimiento en la población que permita evaluar soluciones para esta problemática e incluso solicitar fondos a instituciones gubernamentales y no gubernamentales para cubrir gastos necesarios en propuestas que determinen una solución a este problema de salud animal y ambiental.

Finalmente, esta investigación es la base para abrir campo a investigaciones futuras en la zona que permitan evaluar la presencia de toxinas no solo en el helecho macho, sino también en suelos y cuerpos de agua cercanos a las áreas invadidas, en la leche y carne de animales intoxicados e incluso en otras especies cercanas de helechos, contribuyendo a la protección de la salud animal y humana de las comunidades de Plaza Gutiérrez y de todo el Valle de Intag.

Capítulo II

Estado del arte

La presencia de compuestos tóxicos en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) se encuentra ampliamente documentada a nivel mundial (Kato-Noguchi & Kato, 2026). En Ecuador, se ha demostrado la presencia de niveles elevados de ptaquilósido (PTA) residual en muestras de leche comercial de vacas provenientes de zonas de pastoreo con una alta contaminación de *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon, anteriormente conocido como *Pteridium aquilinum* subespecie *arachnoideum*. Este hallazgo pone en evidencia la necesidad de realizar estudios en muestras vegetales y animales para descartar o confirmar que la aparición de HEB y cáncer en animales que conviven en áreas con una alta presencia de *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon se deba específicamente al consumo de este helecho (Calderón et al., 2011; Calderón et al., 2013).

Rincón Alarcón et al. (2016) reportan que la concentración de PTA presenta una correlación negativa respecto a su estado de crecimiento. Este hallazgo concuerda con estudios anteriores que mencionan que los niveles de PTA varían según el estado fenológico del helecho, siendo las etapas iniciales las que presentan mayores niveles de PTA. A medida que las frondas maduran, dichos niveles de toxina decrecen progresivamente hasta llegar a menos del 5 % de su valor inicial (Alonso-Amelot et al., 1992). Ambos estudios evidenciaron también que la concentración de PTA varía respecto a la localización geográfica, lo cual explicaría el hecho de que algunas zonas del mismo país, e incluso del mismo cantón, presenten una diferencia notable en la concentración de PTA e incluso una menor incidencia de HEB en vacas, pese a contar con una alta invasión de *P. arachnoideum* (Kaulf.) Maxon (Calderón et al., 2013).

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn se encuentra ampliamente distribuido en América del sur (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). En Brasil, el alto grado de invasión del helecho macho es asociado a la presencia de HEB en el ganado lechero, lo que ha causado grandes

pérdidas económicas de aproximadamente R\$ 30.000,00 (\$ 5 790 USD) por propietario al año (da Silva et al., 2009). En Costa Rica, Burgos-Álvarez et al. (2021) reportaron la presencia de PTA en muestras de helechos y de leche en fincas lecheras con diferentes niveles de invasión del helecho macho, siendo la finca con menor nivel de invasión la que presentó mayor concentración de PTA en leche. Además, demostraron que los animales tienen mayor selectividad por comer brotes jóvenes frente a las frondas maduras.

En Bolivia, Marrero et al. (2004) estudiaron muestras de helechos provenientes de zonas con alta incidencia de HEB, en donde observaron que el ganado se alimentaba con avidez de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn debido a su gran nivel de invasión en la zona; y demostraron la presencia de PTA en las muestras vegetales y de neoplasias en las vejigas de los animales. En Colombia, Rincón Alarcón et al. (2016) reportaron por primera vez la presencia y cuantificación de PTA en muestras vegetales recolectadas en zonas con altos niveles de invasión de *P. aquilinum* (L.) Kuhn donde se había reportado la incidencia de HEB, aunque no lograron detectar la presencia de PTA en muestras de leche de animales.

En Ecuador, se ha evidenciado la prevalencia de HEB en diferentes zonas del país. En el cantón de Chillas perteneciente a la provincia El Oro, Pacheco y Cevallos (2020) reportaron la presencia de animales con signos clínicos de HEB en todas las zonas de estudio infestadas con *P. arachnoideum* (Kaulf.) Maxon conocido como “Llashipa”. En el cantón San Miguel perteneciente a la provincia Bolívar, Calderón et al. (2011) reportaron por primera vez casos de HEB mediante el análisis de muestras biológicas del ganado perteneciente a las fincas lecheras invadidas por el helecho *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon. Dos años después, reportan por primera vez en el país la detección de altos niveles residuales de PTA en muestras de leche comercial de animales propensos a la ingesta de este helecho (Calderón et al., 2013). Para el 2014, amplían la zona de estudio hacia los cantones Chimbo y Echeandía, demostrando que la toxicidad de la leche varía según la zona, siendo el cantón Chimbo el más expuesto por sus altas concentraciones de PTA residual (Calderón et al., 2014).

En este contexto, los estudios realizados en el Ecuador respaldan la alta incidencia de HEB en animales de producción ganadera en diferentes zonas del país, lo que conlleva un alto riesgo, no solo para la salud animal, sino también para la salud pública de las zonas afectadas (Calderón et al., 2013). La presencia de compuestos glucósidos de tipo iludano como el PTA en leche de animales que pastan en áreas invadidas por helechos del género *Pteridium* representa grandes pérdidas económicas para los ganaderos y una vía de exposición significativa para los pobladores que consumen dicho producto (Calderón et al., 2014).

Sin embargo, hasta el momento los estudios realizados en el país se enfocan principalmente en la detección de HEB y PTA en animales, destacando que la presencia de HEB es directamente proporcional al grado de presencia de *P. arachnoideum* (Kaulf.) Maxon (Calderón et al., 2015). A nivel nacional, no hay estudios que hayan evaluado la presencia de PTA o algún compuesto análogo directamente en muestras del helecho macho pese a su alta invasión en zonas ganaderas con incidencia de HEB (Calderón et al., 2011; Pacheco & Cevallos, 2020).

En este sentido, nace la necesidad de realizar estudios para detectar la presencia de compuestos tóxicos en el helecho macho (*P. aquilinum* (L.) Kuhn), en muestras recolectadas en zonas infestadas por esta planta y con una incidencia reportada de HEB. Además, es importante analizar si las variables reportadas en otros estudios, como la zona geográfica o el estado fenológico, influyen en la aparición de dichos compuestos. Todo esto con el fin de contribuir al conocimiento científico del país y de las poblaciones afectadas, y de esta manera poder abrir paso a más investigaciones que permitan dar soluciones a una problemática de carácter ecotoxicológico. Es así como el presente trabajo propone detectar la presencia o ausencia de compuestos tóxicos en ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en distintos estados fenológicos, recolectados en fincas lecheras con incidencia de HEB en la parroquia de Plaza Gutiérrez, mediante Cromatografía de Capa Fina (TLC).

Marco teórico

Taxonomía y distribución de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Clasificación taxonómica

La familia de helechos terrestres *Dennstaedtiaceae*, anteriormente clasificada dentro de la familia *Polypodiaceae*, está conformada por una gran diversidad de especies que se encuentran ampliamente distribuidas a nivel mundial (Malík et al., 2024; Yañez, 2016). Uno de sus géneros más representativos es *Pteridium*, cuyos ejemplares se conocen de forma general como “helechos águila” (Gil da Costa et al., 2024). El origen de los helechos águila data desde hace aproximadamente 6 millones de años, siendo uno de los géneros más jóvenes de la familia *Dennstaedtiaceae* (Schwartzburd et al., 2020).

Las especies del género *Pteridium* pertenecen al filo *Pteridophyta*, el cual abarca a plantas vasculares primitivas que se reproducen por esporas como los helechos y plantas afines (Swain et al., 2025). Gracias a su amplia distribución ocupan el quinto lugar entre las plantas más comunes a nivel mundial (Gil da Costa et al., 2024). Sin embargo, la clasificación de sus especies se ha vuelto un problema debido a la alta plasticidad causada por factores ambientales y la falta de caracteres significativos que permitan la separación de taxones más allá de la subespecie (Marrs & Watt, 2006).

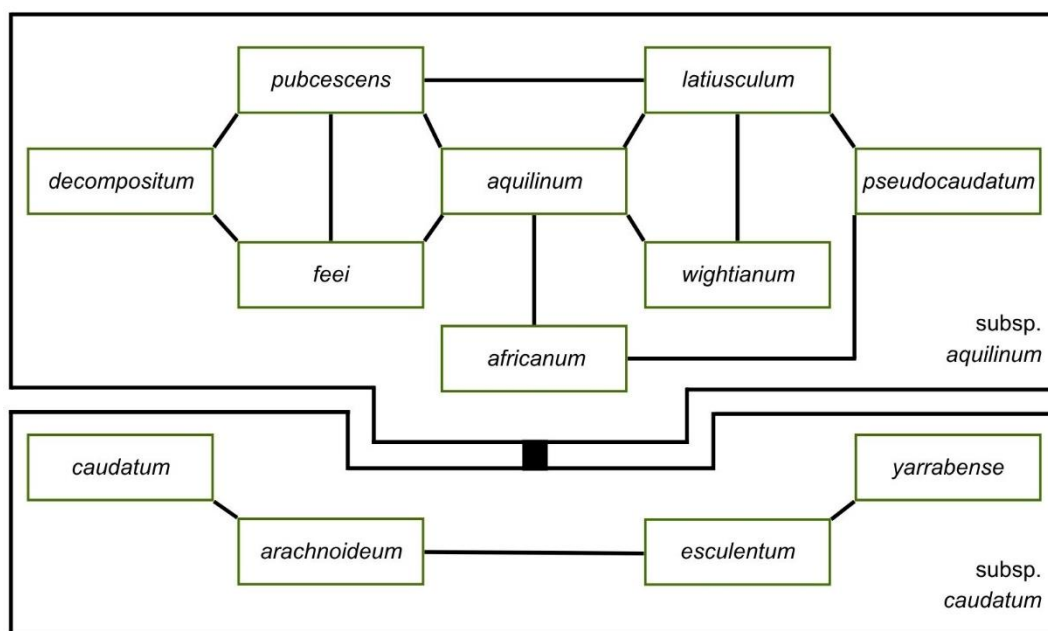
La invasión por especies del género *Pteridium* se reporta desde los comienzos del siglo pasado, siendo *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn la especie más representativa (Valdez-Ramírez et al., 2020). El nombre de la especie se debe a su apariencia de ala de águila: *Pteridium* deriva del griego “Pteridios” que significa emplumado y *aquilinum* proviene del latín “Aquila” cuyo significado es águila (Malík et al., 2024). La comparación con un águila se debe a que la disposición de los haces vasculares, al realizar un corte transversal en la base del tallo, asemejan la silueta de las alas extendidas de un águila (Marrs & Watt, 2006).

Los helechos del género *Pteridium* se caracterizan por ser uno de los grupos más complejos y polémicos respecto a su nomenclatura y clasificación (Marrs & Watt, 2006). En un

inicio, fue Tryon en 1941 quien realizó una revisión de 135 nombres científicos determinados por botánicos de todo el mundo para cada una de las variedades o subvariedades locales, concluyendo que no se trataban de especies distintas, sino de variaciones de una única especie cosmopolita llamada *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Figura 1). De esta manera, el género *Pteridium* era considerado como monotípico, contando únicamente con dos grandes subespecies: *P. aquilinum* subsp. *aquilinum* y *P. aquilinum* subsp. *caudatum*, las cuales a su vez se dividían en 12 variedades geográficas (Štefanić et al., 2022).

Figura 1

Variedades de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn y sus posibles interrelaciones



Nota. Figura adaptada de Page (1976).

Sin embargo, con el paso del tiempo se observó que esta clasificación simplificaba la diversidad biológica que existe entre poblaciones del mundo y, mediante nuevos estudios, se propone que muchas de las variedades estudiadas por Tryon deberían ser clasificadas como especies independientes (Marrs & Watt, 2006). En la tabla 1, se presenta una comparación entre los nombres antiguos para cada variedad de *P. aquilinum* (L.) Kuhn y la información actualizada según la base de datos global Plants of the World Online (2026).

Tabla 1

Actualización taxonómica de las variedades de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Clasificación histórica	Nombre aceptado actualmente (POWO)	Distribución geográfica general
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>pubescens</i>	<i>Pteridium pubescens</i>	Oeste de Norteamérica
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>decompositum</i>	<i>Pteridium decompositum</i>	Islas Hawái
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>feeii</i>	<i>Pteridium feeii</i>	Centro y Sur de América
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>africanum</i>	<i>Pteridium caudatum</i>	América tropical y subtropical
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>aquilinum</i>	<i>Pteridium aquilinum</i>	Europa, África y Asia
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i>	<i>Pteridium latiusculum</i>	Norteamérica y Asia oriental
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>pseudocaudatum</i>	<i>Pteridium pseudocaudatum</i>	Centroamérica y el Caribe
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>caudatum</i>	<i>Pteridium caudatum</i>	América tropical y subtropical
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>arachnoideum</i>	<i>Pteridium arachnoideum</i>	Centroamérica, el Caribe y Sudamérica
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>esculentum</i>	<i>Pteridium esculentum</i>	Asia, Australia y Oceanía
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>yarrabense</i>	<i>Pteridium rostratum</i>	Asia y Australia
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>wightianum</i>	<i>Pteridium revolutum</i>	Asia tropical y subtropical

Nota. Elaboración propia basada en Page (1976) y POWO (2026).

Actualmente se reconoce que el género está dividido en dos principales clados diploides, el clado Laurasia/África predominante en el hemisferio norte y el clado Gondwana, predominante en el hemisferio sur (Thomson, 2014). En el caso de América Central y del Sur,

se reconocen dos taxones antes considerados variedades de *P. aquilinum* (L.) Kuhn, los cuales son: *Pteridium esculentum* subsp. *arachnoideum* (antes *P. aquilinum* var. *arachnoideum*) y *Pteridium caudatum* (L.) Maxon (antes *P. aquilinum* subsp. *caudatum*), el cual es un híbrido que surgió de un cruce entre especies del norte y del sur (Marrs & Watt, 2006). A pesar de ello, Malík et al. (2024) mencionan que, aunque existen diversas subespecies y variedades, a nivel general *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn se continúa considerando como una sola especie con múltiples subespecies haciendo uso del nombre más antiguo y conocido a nivel mundial.

Descripción morfológica

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn es un geófito que cuenta con un sistema de tallos subterráneos ampliamente ramificados y de hábito rastrero, cubiertos de pelos (Štefanić et al., 2022). Este sistema de tallos subterráneos es conocido como rizoma, en el helecho macho se caracteriza por ser horizontalmente rastrero, con diámetros de entre 0,5 a 4 cm y que pueden llegar a extenderse hasta 5 metros de distancia (Kato-Noguchi & Kato, 2026). En algunas variedades genéticas, se ha visto que pueden llegar a extenderse hasta más de un kilómetro de longitud (Schwartzburd et al., 2020).

Los rizomas están compuestos por dos tipos de vástagos. Los vástagos largos, son los que conforman el eje principal del sistema de rizomas, tienen pocas yemas y no producen frondas puesto que su objetivo es extenderse gracias a su capacidad de alargarse rápidamente. Por otro lado, los vástagos cortos, se desarrollan a partir de los vástagos largos y son los encargados de producir las frondas anuales, por lo que crecen más lento (Marrs & Watt, 2006; Štefanić et al., 2022). Los rizomas son vellosos, pero carecen de escamas (Thomson, 2014), su sistema vascular presenta una forma de estela policíclica, en la que los anillos concéntricos del tejido vascular se encuentran separados en anillos más pequeños (Schwartzburd et al., 2020). Las raíces son delgadas, de un color negro y muy frágiles, las cuales salen del rizoma y se extienden profundamente hacia el suelo (Malík et al., 2024).

Figura 2

Morfología del sistema subterráneo de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



Nota. Se observa el sistema de rizomas conformado por vástagos largos y vástagos cortos. Así como las raíces adventicias y los cortes transversales del haz vascular del estipe (superior izquierdo) y del rizoma (inferior derecho). Imagen de Øllgaard (1993).

Las frondas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn presentan diferentes características morfológicas según su estado de desarrollo. Las hojas jóvenes se encuentran cubiertas de pelo gris plateado y muestran una forma enrollada como de cabeza de violín (Kato-Noguchi & Kato, 2026). Las hojas maduras son de gran tamaño, suelen ser tripinnadas, aunque varían entre bipinnadas y tetrapinnadas (Štefanić et al., 2022). La longitud de las frondas suele variar entre 0,3 y 1,8 metros, llegando a alcanzar alturas de hasta 4,4 metros (Marrs & Watt, 2006).

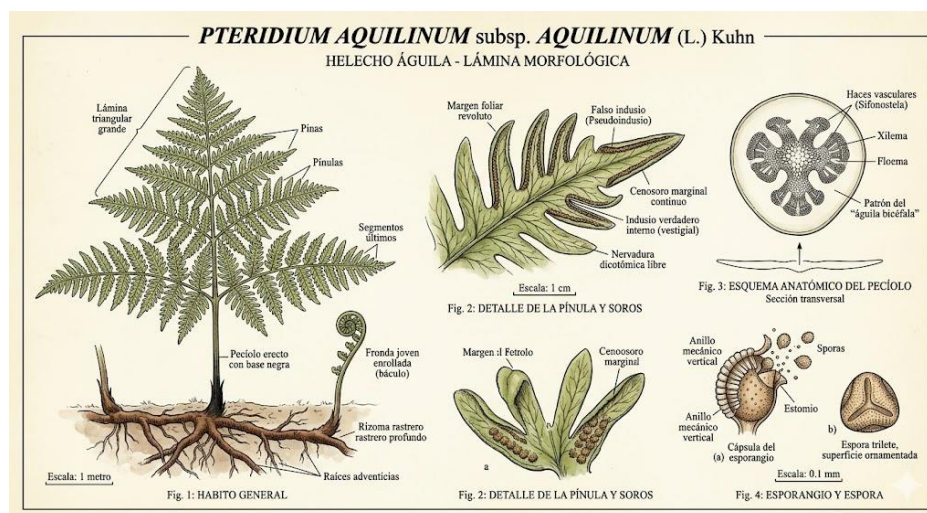
El contorno de la lámina presenta una forma más o menos triangular (Malík et al., 2024). El estipe es de color oscuro, presenta una superficie vellosa, un diámetro de hasta 0,1 cm y una longitud que es aproximadamente la misma que la de la lámina (Thomson, 2014). Las pinnas pueden presentar una forma oblonga o lanceolada, con el margen enrollado hacia abajo y las venas libres (Marrs & Watt, 2006). En las pinnas inferiores se encuentran los nectarios, lo

cuales presentan una superficie lisa, hinchada y de un color marrón oscuro; y son los encargados de secretar azúcares y atraer hormigas (Marrs & Watt, 2006; Thomson, 2014).

Respecto a sus estructuras reproductivas, los soros de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn se encuentran ubicados debajo del margen de los folíolos de las frondas fértiles (Štefanić et al., 2022). Están distribuidos alrededor de todo el borde, de manera que forman una línea casi continua y cuentan con un indusio doble que los protege: el indusio externo es el margen de la pínula doblado hacia adentro y el indusio interno, que es delgado y membranoso (Marrs & Watt, 2006; Thomson, 2014). Las esporas se caracterizan por ser espinescentes triletas, de un color marrón o marrón amarillento, con una forma casi redonda y tetraédrica, y abundantes, pues una sola fronda llega a producir entre 30 millones y 300 millones de esporas por año (Kato-Noguchi & Kato, 2026; Malík et al., 2024; Štefanić et al., 2022). Cuando las esporas germinan, se producen plantas bisexuales llamadas gametofitos, que presentan una forma de corazón, con una longitud de 0,6 cm aproximadamente y un ancho de 2-5 mm, no presentan un sistema vascular y necesitan de un ambiente muy húmedo para sobrevivir (Kato-Noguchi & Kato, 2026; Štefanić et al., 2022).

Figura 3

Características morfológicas y anatómicas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



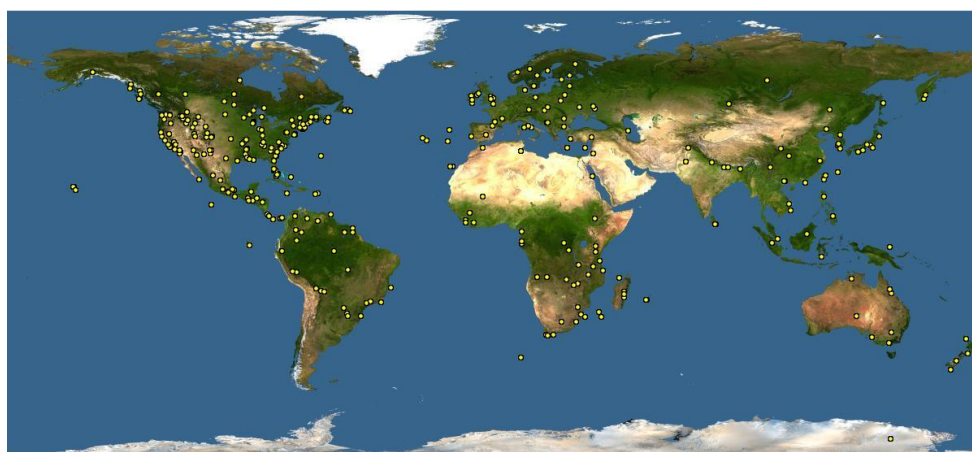
Nota. Imagen tomada de Hoseito (s. f.).

Distribución geográfica

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn es un helecho de distribución global que se encuentra ampliamente distribuido en todos los continentes con excepción de la Antártida (Valdez-Ramírez et al., 2020). Es una de las plantas vasculares con mayor extensión en el mundo, dejando de lado únicamente las altas montañas, regiones desérticas y ciertas áreas de los trópicos (Page, 1976). El helecho macho predomina en zonas templadas y subtropicales, aunque gracias a su plasticidad fenotípica, ha logrado adaptarse a diversos tipos de climas incluyendo: húmedos moderados, mediterráneos y semiáridos fríos (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Figura 4

Mapa de la distribución global de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. Los puntos amarillos indican que la especie *P. aquilinum* (L.) Kuhn ha sido reportada en el lugar. Imagen obtenida de la herramienta para visualización de mapas de distribución geográfica de especies al nivel mundial Discover Life Global Mapper (The Polistes Corporation, 2026).

La temperatura óptima para su desarrollo está entre 10 °C y 25 °C, pero es sumamente sensible a las heladas, ya que pueden llegar a matar hasta el 79 % de las yemas de las frondas y el 44 % de los ápices del rizoma (Marrs & Watt, 2006). También puede adaptarse sin

problemas a climas con una fuerte influencia del océano y zonas nubosas (Page, 1976). Sin embargo, las zonas con vientos intensos representan un gran problema para la supervivencia del helecho, puesto que su altura y densidad se ven afectados por daños mecánicos y fisiológicos en las frondas (Tillaguango-Pintado et al., 2023).

En cuanto a características del suelo, el helecho macho se encuentra más comúnmente en suelos moderadamente ácidos (Marrs & Watt, 2006), pero ha demostrado tener una amplia tolerancia al pH, logrando establecerse en suelos con un rango de pH de entre 2,8 hasta 8,6 (Tillaguango-Pintado et al., 2023). Se ha visto que esta tolerancia podría estar relacionada con la caída de sus propias frondas, pues al acumularse en el suelo y empezar a descomponerse ayudan a reducir la acidez del suelo y a la liberación de cationes (Valdez-Ramírez et al., 2020). Por otro lado, el helecho macho puede desarrollarse en una gran diversidad de sustratos desde suelos arenosos hasta suelos arcillosos (Saransig León et al., 2024). Además, la falta de nutrientes no representa un problema para su crecimiento, pues es capaz de modificar el ecosistema del suelo para promover el ciclo del nitrógeno y, de esta manera, aumentar las concentraciones de amonio y nitrificación, lo cual representa una ventaja frente a especies nativas (Malík et al., 2024).

El helecho macho crece de manera favorable en zonas con una alta humedad, incluyendo las orillas de arroyo, pero el estancamiento del agua y la falta de aireación en el suelo pueden limitar el crecimiento de sus rizomas (Page, 1976). Sin embargo, una vez que esté establecido, el helecho puede llegar a tolerar sequías gracias a su cutícula gruesa y a la rápida respuesta estomática (Malík et al., 2024). Es capaz de sobrevivir a incendios gracias a su profundo y resistente sistema de rizomas, el cual también le permite rebrotar de forma rápida en cuanto las especies competidoras han sido eliminadas (Tillaguango-Pintado et al., 2023). La composición de su sistema de rizomas le permite colonizar y expandirse de forma agresiva en terrenos libres como las áreas afectadas tras una deforestación, zonas agrícolas en desuso y pastizales (Marrs & Watt, 2006). Además, sus grandes frondas pueden llegar a

formar densos doseles que limitan la entrada de luz hacia otras especies, y esto sumado a la producción de compuestos químicos que inhiben la germinación de otras plantas, le otorgan una gran ventaja competitiva (Valdez-Ramírez et al., 2020).

En cuanto a la distribución, Thomson (2014) destaca que existen dos grandes linajes, un clado que predomina en el hemisferio norte (*P. aquilinum* (L.) Kuhn) y un clado que predomina en el hemisferio sur (*P. esculentum*). En Europa, se encuentra distribuida por casi todo el continente, siendo incluso considerada una especie omnipresente en las Islas Británicas. Se ha reportado que su extensión abarca hasta los 1800 m en los Alpes y en otras montañas del sur hasta los 3100 m. En África, se extiende por casi todas las regiones del continente, exceptuando las más secas. Su distribución asciende hasta más de 3000 m en regiones montañosas como el Monte Kenia y el Kilimanjaro (Marrs & Watt, 2006).

En Croacia hay una gran dominancia por parte del helecho, especialmente en zonas forestales de roble, donde incluso forma parte del estrato herbáceo (Štefanić et al., 2022). En Asia, específicamente en Irán, se ha reportado que zonas deforestadas, pastizales y tierras abandonadas se encuentran colonizadas por el helecho (Amouzgar et al., 2022). En el continente americano, *P. aquilinum* (L.) Kuhn invade y domina ampliamente áreas agrícolas y ganaderas en México (Valdez-Ramírez et al., 2020). En Colombia, es considerada una maleza con gran extensión en las praderas montañosas y en sitios entre los 1565-2950 m.s.n.m. (Rincón Alarcón et al., 2016).

En Ecuador, el helecho muestra una gran distribución y dominancia marcada en páramos antrópicos afectados por incendios forestales (Tillaguango-Pintado et al., 2023). En las provincias de Loja y Zamora aproximadamente un 40 % de la superficie deforestada del Valle de San Francisco se encontraba infestado por este helecho (Curatola Fernández et al., 2013). Recientemente, investigaciones en la Estación Experimental “La Favorita”, al occidente del Ecuador, registraron la presencia de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn incluso en bosques nativos (Saransig León et al., 2024).

Estadios fenológicos de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

La fenología puede ser definida como la medición de los eventos biológicos que ocurren en respuesta a ciertos factores ambientales (Mukwevho et al., 2025). En el caso de los helechos, la fenología estudia el cambio en la biomasa y la altura de la fronda durante su crecimiento, el cual inicia desde que emerge como báculo y llega hasta que alcanza un máximo (Amouzgar et al., 2022). Según Marrs y Watt (2006) el ciclo de crecimiento de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn es anual y se divide en cinco fases:

- **Fase 1:** se lleva a cabo durante el invierno mientras la biomasa se encuentra bajo tierra.
- **Fase 2:** inicia la expansión de la fronda, la cual se alimenta a partir de fotosintatos y las reservas del rizoma.
- **Fase 3:** la fronda se vuelve autosuficiente fotosintéticamente
- **Fase 4:** la fronda deja de crecer y los fotosintatos viajan hacia el rizoma
- **Fase 5:** se reponen las reservas de carbohidratos para la producción de nuevas raíces y rizomas.

Por otro lado, Rincón Alarcón et al. (2016) mencionan que el ciclo de la evolución morfológica y física de la fronda individual desde que brota hasta que madura ocurre en 4 estados. En el Estado I, la fronda se encuentra enrollada y recibe el nombre báculo, en el Estado II se define como helecho joven pero aún presenta vernación, por lo que ambos estados se encuentran en la categoría de estados fenológicos iniciales. El Estado III es una etapa intermedia entre el helecho joven y la fronda madura, ocurre durante el período de 35 a 45 días que la fronda necesita para alcanzar su máxima expansión (Alonso-Amelot et al., 2001). Finalmente, el Estado IV es técnicamente la fronda madura y representa el punto final del ciclo de desarrollo físico de la fronda (Rincón Alarcón et al., 2016).

Figura 5

Comparación del estado de madurez en frondas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. Frondas en estado inmaduro (I) brotes del suelo, (II) brotes laterales y (III) juveniles.

Fronchas en estado maduro (IV) adultos (Guaraca Medina, 2020). Imagen de Øllgaard (citado en Rincón Alarcón et al. (2016)).

Durante el primer estado, los báculos suelen ser recolectados gracias a su textura como una especialidad culinaria (Malík et al., 2024). Al llegar al siguiente estado, inicia la expansión de la fronda joven la cual se caracteriza por una constante elongación del peciolo y el raquis. Durante este período de inmadurez el helecho macho presenta un color verde amarillento y una textura suave (O'Brien, 1963). En el transcurso de la elongación, las frondas presentan un rápido crecimiento llegando a completar un 66-75 % de la altura final (Atkinson, 1989). Al llegar a la madurez presentan un color verde oscuro y una textura más resistente, y pueden aún presentar soros (Malík et al., 2024; O'Brien, 1963).

Tras alcanzar la madurez, Alonso-Amelot et al. (2001) mencionan que las frondas pasan por un quinto estado de endurecimiento de tejidos a causa del engrosamiento de las paredes celulares y la acumulación de lignina. Posteriormente, O'Brien en 1963, menciona que las frondas empiezan el período de senescencia y pasan a clasificarse como “maduras viejas”, las

cuales presentan una dura textura, pecíolos rojos y pinas de color verde oscuro. Finalmente, alcanzan el estado de dormancia, en el cual las frondas se encuentran muertas y en distintos estados de descomposición, pero los rizomas continúan activos, ampliando su extensión y acumulando nutrientes para el siguiente ciclo (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Se ha reportado ampliamente que el estado fenológico influye en la presencia de toxinas en el helecho macho (García-Jorgensen et al., 2021). Esto se confirma con los resultados de Rincón Alarcón et al. (2016) quienes reportaron que existe una correlación negativa entre el estado fenológico del helecho y los niveles de ptaquilósido, siendo las frondas en Estado I y II los que evidenciaron un mayor nivel de toxina. Mientras que conforme las frondas avanzan hacia la senescencia, los niveles de PTA se reducen hasta niveles insignificantes (García-Jorgensen et al., 2021).

Sin embargo, el estado fenológico se puede ver afectado por factores ambientales, pues Atkinson (1989) menciona que, en altitudes altas se retrasa la expansión de biomasa de las frondas y, por lo tanto, también una disminución de la altura del dosel. Por otra parte, Marrs y Watt (2006) mencionan que la temperatura es uno de los factores que controla el inicio de la fase 2 del ciclo de crecimiento anual de las frondas, dado que las heladas retrasan el crecimiento de los helechos al ocasionar la muerte de las frondas emergentes y la senescencia prematura. En cuanto a los niveles de precipitación, Mukwevho et al. (2025) reportan que la humedad ocasiona un adelanto en el inicio de la temporada de crecimiento. Por el contrario, en condiciones de sequía, Marrs y Watt (2006) sugieren que pueden provocar el desecamiento de las frondas emergentes e incluso Curatola Fernández et al. (2013) mencionan que pueden ser la principal razón de una dominancia por parte de frondas en estado muerto.

Perfil fitoquímico de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Los helechos del género *Pteridium* cuentan con una amplia variedad de principios activos como tiaminasas, cianogénicos, glucopiranosídeos, flavonoides, taninos, sesquiterpenos del tipo iludano y distintos tipos de ácido como el benzoico, cinámico y p-cumárico (Rodríguez-

Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Particularmente, *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn actúa como un rico almacén de metabolitos secundarios que le permiten una fuerte defensa contra patógenos y depredadores (Malík et al., 2024). Dentro de estos compuestos, se ha reportado la presencia de ptaquilósido, pterosinas, pterósidos y pterianósidos (Marrs & Watt, 2006). Sin embargo, el helecho macho no es rico únicamente en este tipo de metabolitos, pues presenta un amplio perfil nutritivo compuesto por carbohidratos, proteínas, vitaminas, fibra dietética y minerales (Li et al., 2023).

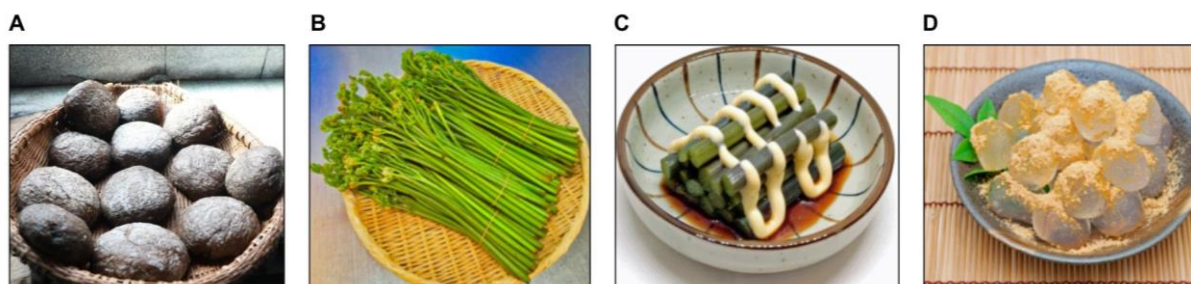
Contenido nutricional y aplicaciones alimenticias

Históricamente *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn ha sido utilizado como una principal fuente dietética para la obtención de almidón y fibras (Li et al., 2023). Es considerado un importante suministro de vitamina A, vitamina C, complejo B, fibra dietética y nutrientes como el potasio y manganeso (Malík et al., 2024). Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos (2023) reportan que, durante los estados fenológicos iniciales, las frondas evidencian una composición aproximada de 20,33 % de proteína; 7,07 % de lípidos; 9,25 % de cenizas y un 58,89 % de carbohidratos. El helecho representa también una rica fuente de almidón, pues se ha visto que, en sus rizomas, los gránulos de almidón alcanzan hasta un 45 % de contenido total (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

En regiones de Francia, los rizomas eran utilizados para la elaboración de jabón gracias a su capacidad de producir espuma al contacto con el agua (Marrs & Watt, 2006). En Asia y África, los brotes tiernos enrollados son consumidos hervidos como vegetales (Malík et al., 2024). El almidón ha sido aprovechado para la elaboración del “Jue Ba” un pastel tradicional consumido en el suroeste de China (Li et al., 2023). Aunque su uso no solo se limitó a pasteles, sino también a harinas para pan y la elaboración de cerveza (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Figura 6

Usos tradicionales de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



Nota. (A) Pasteles hechos a base de raíces de helechos (Foto de Wan Zhaochuan, Tomada de Xinhua Net Guizhou (2024)). (B) Brotes de helechos en mercados; (C) brotes de helechos hervidos con aderezo y (D) otro tipo de pastel dulce hecho a base de almidón de rizoma (Tomadas de Kato-Noguchi y Kato (2026)).

Glucósidos iludanos

Los glucósidos de tipo iludano corresponden a glucósidos norsesquiterpenoides altamente tóxicos. Dentro de este grupo los más conocidos son el ptaquilósido (PTA), caudatósido (CAU) y el ptesculentósido (PTE) (O'Connor et al., 2019). La fórmula molecular del ptaquilósido es $C_{20}H_{30}O_8$, y se caracteriza por ser amorfo e incoloro (Kato-Noguchi & Kato, 2026). Durante la etapa de brotación de la fronda, la concentración máxima del ptaquilósido puede llegar hasta los 37 mg/g en el tejido vegetal (Malík et al., 2024). Además, presenta otros análogos como el isoptaquilósido y la ptaquilosida Z (Aguirre et al., 2023).

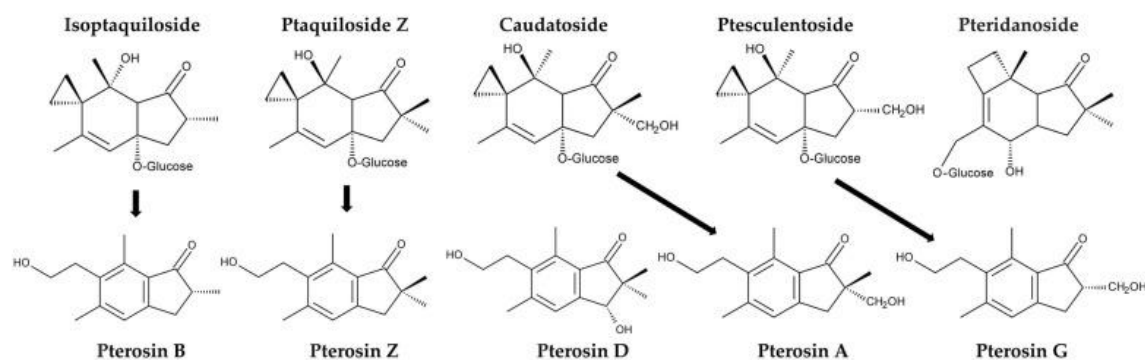
El ptaquilósido, caudatósido y ptesculentósido comparten una reactividad bioquímica parecida, aunque el CAU y el PTE han sido menos estudiados históricamente a causa de la limitada situación con los estándares analíticos (Kisielius et al., 2020). Estos tres compuestos representan la mayor parte de los glucósidos de tipo iludano en todo el género *Pteridium* (O'Connor et al., 2019). Aguirre et al. (2023) mencionan que el potencial carcinogénico del helecho macho se ve incrementado ante la presencia de estos tres análogos en sus tejidos vegetales. Esto debido al anillo de ciclopropano reactivo que comparten entre todos y que es el

responsable de la alquilación del ADN (Vetter, 2022). Las concentraciones de PTA, CAU y PTE varían notablemente según el estado del helecho, por ejemplo, en frondas secas los niveles de PTE y de CAU superan la concentración de PTA. Esto implica un grave problema debido a la mayor solubilidad de estos dos compuestos, lo que incrementa el riesgo de lixiviación hacia el suelo y aguas subterráneas de este tipo de toxinas (Kisielius et al., 2020).

Figura 7

Estructura química del ptaquilósido y sus análogos identificados en Pteridium aquilinum (L.)

Kuhn



Nota. Tomada de Kato-Noguchi y Kato (2026).

Pterosinas

Las pterosinas son el producto final de la degradación de los glucósidos de iludano, son compuestos de tipo indanona altamente estables (O'Connor et al., 2019). Durante la degradación de los glucósidos, el ptaquilósido se convierte en pterosina B, el caudatósido en pterosina A y el ptesculentósido en pterosina G (Figura 7) (Kisielius et al., 2020). A lo largo de la historia se han identificado más de 20 pterosinas y pterósidos diferentes en helechos (Potter & Baird, 2000). La pterosina B presenta grandes propiedades medicinales, entre ellas, ha demostrado su capacidad de protección del cartílago contra la osteoartritis mediante la inhibición de la hipertrofia de las células cartilaginosas (Yahara et al., 2016). Otras pterosinas

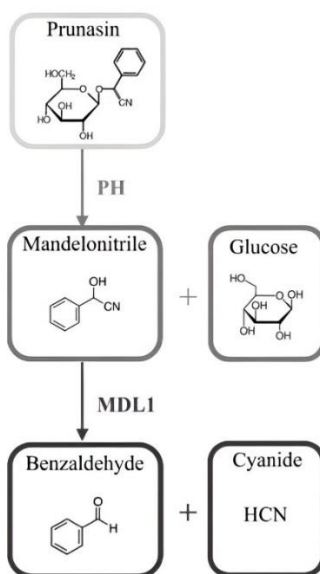
análogas también han presentado propiedades neuroprotectoras, de relajación del músculo liso, antidiabéticas e incluso efectos contra el Alzheimer (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Glucósidos cianogénicos

Se ha reportado la presencia de glucósidos cianogénicos en helechos del género *Pteridium*, en el helecho macho el principal compuesto cianogénico corresponde a la prunasina (Kato-Noguchi & Kato, 2026). La prunasina está compuesta por una glucosa (unidad de azúcar) y mandelonitrilo, su fórmula molecular es $C_{14}H_{17}O_6$ y es similar a la amigdalina (Malík et al., 2024). El mecanismo de acción ocurre por la enzima prunasina β -glucosidasa, la cual frente a un daño tisular rompe la prunasina liberando glucosa y mandelonitrilo. El mandelonitrilo finalmente libera cianuro de hidrógeno (HCN) y benzaldehído (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Esta estrategia le otorga al helecho una fuerte defensa contra depredadores (Sharma et al., 2024).

Figura 8

Ruta metabólica de la prunasina



Nota. Las enzimas β -glucosidasas son: PH – prunasina hidrolasa, MDL 1 – mandelonitrilo liasa.

Adaptada de Öztürk (2022).

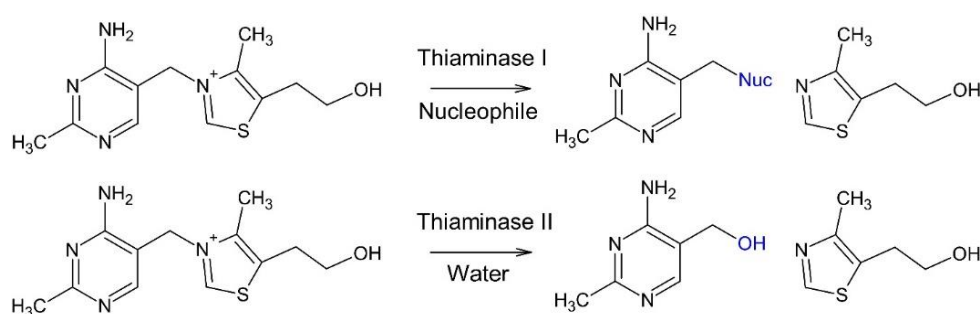
Tiaminasas y factores anti-tiamina

Las tiaminasas son enzimas que tienen la capacidad de degradar la vitamina B1 o tiamina (Kato-Noguchi & Kato, 2026). En el helecho macho se han identificado 2 tipos de tiaminasas, la tiaminasa tipo I y la tiaminasa tipo II, siendo la primera la enzima con más actividad en la planta (Malík et al., 2024). Además de las tiaminasas, se han reportado en el helecho factores anti-tiamina termoestables, como la astragalina, el ácido cafeico y la isoquercetina (Sharma et al., 2024). En animales monogástricos, el consumo de estos metabolitos causa deficiencias de vitamina B1, lo que les provoca una debilidad muscular, disfunción motora, convulsiones, parálisis y hemorragias (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Mientras que los rumiantes gracias a la síntesis de vitaminas del complejo B en el rumen, presentan una mayor resistencia a esta deficiencia (Karapinar et al., 2010).

La mayor actividad de las enzimas se ha reportado en los rizomas y en las frondas inmaduras, con concentraciones desde 10 hasta 30 veces más que en las frondas maduras (Kato-Noguchi & Kato, 2026). El mecanismo de acción de las tiaminasas de tipo I se da mediante la sustitución nucleofílica del anillo de pirimidina, mientras que las tiaminasas de tipo II hidrolizan la tiamina dando como resultado la separación de la pirimidina y el tiazol (Malík et al., 2024).

Figura 9

Mecanismo de acción de las tiaminasas tipo I y II



Nota. Imagen tomada de Department of Natural Resources and the Environment, Cornell University (2024).

Otros compuestos

Pteridium aquilinum (L.) Kuhn presenta taninos condensados que actúan como protectores contra depredadores gracias a su capacidad de causar la precipitación de proteínas y de limitar la síntesis de enzimas hidrolíticas (Malík et al., 2024). Generalmente, se encuentran acumulados en las frondas durante su crecimiento, una de las proantocianidinas más conocidas es la Selligueaina A, la cual se libera al suelo y actúa como fitotóxico (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Otro grupo de metabolitos importantes que posee el helecho son los flavonoides, entre ellos destacan la quercetina y kaempferol que le otorgan una protección antioxidante y frente a la radiación UV (Alonso-Amelot et al., 2001). También se ha reportado el distenin-7-O- β -D-glucósido, un flavonoide que posee propiedades antiinflamatorias (Kato-Noguchi & Kato, 2026). Malík et al. (2024) mencionan que el helecho cuenta con polisacáridos solubles en agua con actividad inmunomoduladora gracias a su propiedad de eliminar radicales libres y de inducir la proliferación de macrófagos.

Dentro de los esteroides, el helecho macho presenta ecdisteroides, hormonas que favorecen la muda en insectos, entre ellos la ponasterona, la α -ecdisona y β -ecdisona (Marrs & Watt, 2006). Asimismo, cuenta con ácidos fenólicos que le otorgan efectos alelopáticos y de defensa (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Finalmente, dentro del grupo de los terpenos, los aceites esenciales provenientes del helecho macho están compuestos por monoterpenos oxigenados que presentan un potencial antibacteriano contra patógenos vegetales (Malík et al., 2024).

Toxicidad y mecanismo de acción de los glucósidos de iludano

Los glucósidos iludanos son un tipo de norsesquiterpenos de tipo iludano, nombre que hace referencia a los organismos fúngicos donde fueron identificados por primera vez (Vetter, 2022). Dentro de los glucósidos iludanos del género *Pteridium*, el más estudiado y caracterizado hasta la fecha es el ptaquilósido (PTA) (Wu et al., 2021). El PTA ha sido

considerado como el principal carcinógeno en los helechos de este género, debido a su gran abundancia en el tejido vegetal (Feito et al., 2026). Sin embargo, Kisielius et al. (2020) mencionan que otros análogos como el caudatósido (CAU) y el ptesculentósido (PTE), presentan una reactividad similar a nivel bioquímico. Esta actividad similar está relacionada con la estructura de anillo de ciclopropano que comparten todos los glucósidos iludanos (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). O'Connor et al. (2019) manifiestan que el anillo de ciclo propano es el que le otorga a la molécula un carácter electrofílico y una actividad alquilante.

Estudios recientes demuestran que tanto el PTA como sus análogos (CAU y PTE) tienen mecanismos de acción similares y pueden inducir efectos adversos en los animales que consumen el helecho (Kisielius et al., 2020). En base a esto, el potencial carcinogénico de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn puede aumentar según el número de análogos de PTA presentes en la planta (Aguirre et al., 2023). El PTA se caracteriza por ser un glucósido norsesterpenoide muy inestable y que puede experimentar reacciones de aromatización y deglucosilación (Rincón Alarcón et al., 2016). Durante estas reacciones, el PTA forma un electrófilo altamente reactivo que es el responsable de la producción de aductos en el ADN (Keskin et al., 2025).

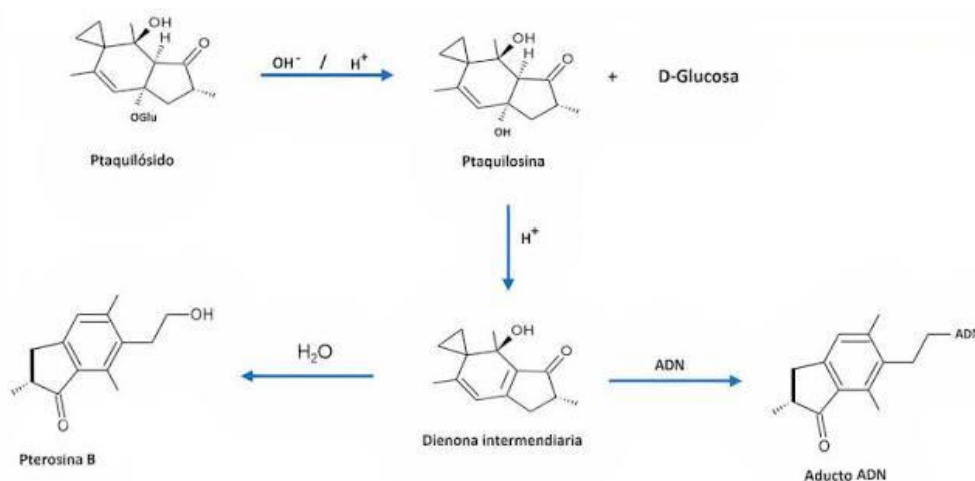
Activación y formación de la dienona

El proceso comienza en condiciones alcalinas ($\text{pH} > 8,5$), donde el PTA sufre una desprotonación, seguida de la eliminación de la unidad de azúcar (glucosa) para dar paso a la formación de una dienona (O'Connor et al., 2019). Durante la hidrólisis del glucósido se produce en primer lugar la ptaquilosina, que viene a ser la aglicona y es la que posteriormente se convertirá en una dienona altamente inestable conocida como ptaquilodienona (Figura 10) (Vetter, 2022). Esta dienona posee un centro activo que presenta una estructura similar a los análogos sintéticos citotóxicos de la familia duocarmicina (Marrs & Watt, 2006). La velocidad de formación de la ptaquilodienona depende exclusivamente del pH de reacción (Rodríguez-

Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). En condiciones ácidas, el proceso no forma una dienona sino que da paso a la formación de un carbocatión ciclopropilcarbinilo que mantiene la unidad de ciclopropano altamente electrofílica (Ríos-Gutiérrez et al., 2017).

Figura 10

Mecanismo de transformación del ptaquilósido



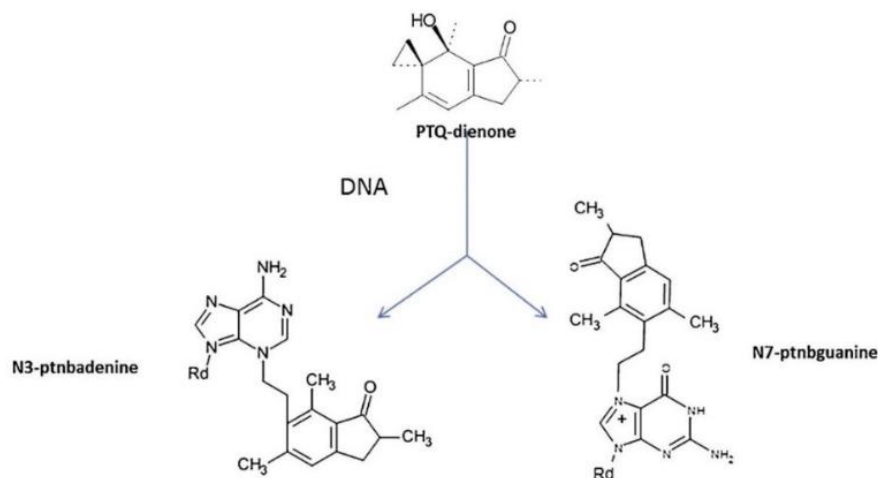
Nota. Imagen tomada de Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos (2023).

Alquilación de ADN y formación de aductos

La naturaleza electrófila de la dienona le permite reaccionar de forma inmediata con los nucleótidos del ADN (Vetter, 2022). Durante esta reacción, ocurre una alquilación en el nitrógeno N3 de la adenina y en el nitrógeno N7 de la guanina, que da paso a la formación de los aductos denominados 3-ptnbA y 7-ptnbG (O'Connor et al., 2019). Sin embargo, recientemente se ha reportado que la ptaquilodienona también puede formar aductos O6-alkilguanina en el ADN, el cual es más estable que los aductos de nitrógeno y produce mutaciones de transición por errores de apareamiento (Keskin et al., 2025). La formación de aductos de ADN ocasiona un daño genético que puede incluir la inducción de intercambio de cromátidas hermanas y actividades de aneuploidia y clastogénesis (Gil da Costa et al., 2012). La acumulación de este daño genético puede conllevar la falla de los sistemas de reparación y el desarrollo de cáncer (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Figura 11

Formación de aductos a partir de la ptaquilodienona



Nota. PTQ: Ptaquilósido. Adaptada de O'Connor et al. (2019).

Consecuencias en la salud humana y animal

Feito et al. (2026) reportan que las dienonas promueven daño al ADN y mutaciones que pueden detectarse tanto en líneas celulares como en modelos animales. Además de las mutaciones y la genotoxicidad, se ha visto que estos compuestos también atacan y reducen el potencial de los linfocitos T citotóxicos y las células NK (Kato-Noguchi & Kato, 2026). Al afectar el sistema inmune, el PTA favorece la persistencia de infecciones virales como el virus del papiloma bovino (BPV) y, de esta manera acelera la formación de carcinomas (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Sin embargo, frente a una catálisis protónica o el contacto con agua, la dienona puede descomponerse como paso final dando paso a la formación de las pterosinas (Figura 10) (O'Connor et al., 2019). Si la ruta de degradación del PTA deriva en síntesis de pterosinas las consecuencias como las mutaciones, inmunosupresión y genotoxicidad se ven evitadas (Vetter, 2022). Esto debido a que las pterosinas carecen de actividad carcinogénica y son mucho más estables, por lo que se consideran como un mecanismo de detoxificación (Kisielius et al., 2020). Incluso, se ha observado que algunas pterosinas presentan actividades biológicas

benéficas gracias a sus propiedades antidiabéticas, anti-osteoartríticas y neuroprotectoras (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Este complejo mecanismo de acción del ptaquilósido es la base de todas las patologías específicas observadas en animales y humanos (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). El consumo de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn produce una serie de patologías clínicas que van a depender de factores como condiciones específicas de la planta, la cantidad ingerida, la especie del animal, el sexo y la edad (Štefanić et al., 2022). En ovejas, ocasiona el síndrome de la ceguera brillante, que conlleva la atrofia y degeneración retiniana progresiva (O'Connor et al., 2019). En rumiantes, está relacionado con la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) (Aguirre et al., 2023). Mientras que en animales monogástricos, como las ratas, la administración de PTA ocasiona la formación de tumores en la vejiga, el íleon y las glándulas mamarias (Malík et al., 2024). Es así que la alta toxicidad del helecho macho representa un riesgo relevante para los ecosistemas, la salud animal y la salud humana (Feito et al., 2026).

Hematuria enzoótica bovina

La Hematuria enzoótica bovina (HEB) es una enfermedad crónica no infecciosa, causada por la intoxicación por *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (da Silva et al., 2009). Es una de las intoxicaciones más comunes en los bovinos y se caracteriza por el desarrollo de inflamaciones, neoplasmas y hemorragias en la vejiga urinaria (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). La HEB se ha reportado a nivel mundial en zonas con una alta invasión de helecho macho de diversos continentes como América Central, América del Sur, Asia y Europa (Vetter, 2022). Esta enfermedad representa un problema de gran importancia para la agricultura dependiente del ganado, pues ocasiona una serie de cuadros clínicos y sufrimiento a los animales (Štefanić et al., 2022).

La HEB es considerada un síndrome incurable, que afecta negativamente la economía de la industria pecuaria (Sharma et al., 2024). En Latinoamérica, la intoxicación por *P. aquilinum* (L.) Kuhn representa el factor de riesgo principal relacionado con la aparición de

lesiones en la vejiga urinaria y hematuria (Ramírez-Velázquez et al., 2019). La característica principal de esta enfermedad es la presencia de sangre en la orina del ganado, y se ha visto que produce un cuadro clínico prolongado que conlleva a la caquexia (Calderón et al., 2011). Pacheco y Cevallos (2020) mencionan que las zonas ganaderas en Ecuador son consideradas endémicas a la Hematuria Enzoótica Bovina.

Factores de exposición del ganado

La intoxicación por *P. aquilinum* (L.) Kuhn puede darse por diversas razones, generalmente en el ganado se da por habitar en zonas de pastoreo infestadas por helechos, lo cual disminuye la calidad de alimento, obligando a los animales a consumir el helecho debido al hambre y a la dificultad de poder discriminar el helecho del pasto (Marrs & Watt, 2006; da Silva et al., 2009). Sin embargo, en varias regiones se ha reportado que el ganado consume de manera voluntaria las frondas jóvenes debido a su palatabilidad (Pacheco & Cevallos, 2020). El riesgo de exposición incrementa también por factores como un manejo de pasturas ineficiente, contaminación del heno e incluso sobrepoblación animal (Borena et al., 2025). Según Ramírez-Velázquez et al. (2019) existe una relación entre la exposición al helecho y la incidencia de HEB, donde el riesgo en animales expuestos es hasta 33 veces mayor.

Sintomatología clínica

El consumo de *P. aquilinum* (L.) Kuhn tiene graves consecuencias en la salud animal y pública, en bovinos la ingesta a largo plazo provoca HEB, que puede presentarse como microhematuria (sin síntomas) o bien, como macrohematuria (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). La macrohematuria se caracteriza por la presencia de sangre en la orina, lo que deriva en anemia e incluso la muerte, aunque también se observan hemorragias subcutáneas, neoplasias, úlceras, tumores y mayor susceptibilidad al virus del papiloma bovino (Burgos-Álvarez et al., 2021).

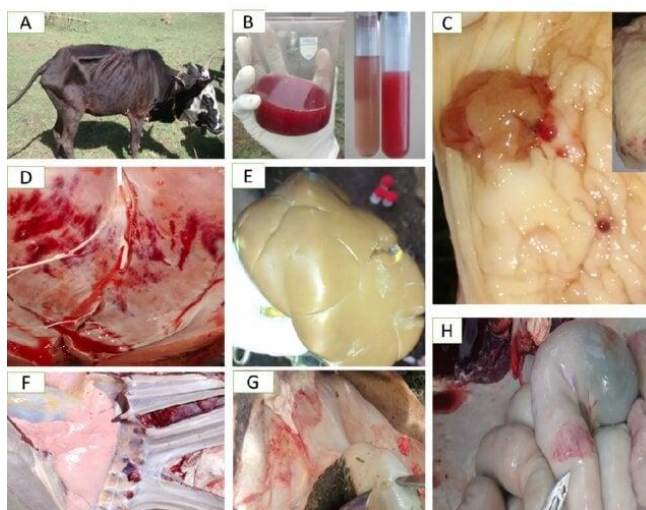
Los animales afectados por la enfermedad desarrollan una pérdida progresiva de peso, junto con cuadros de debilidad y anorexia (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). La

pérdida constante de sangre se evidencia por la palidez que presentan las mucosas conjuntivales (Borena et al., 2025). Conforme avanza la enfermedad también pueden llegar a desarrollar disfagia a causa de los tumores relacionados con el tracto alimentario (Marrero et al., 2004). En bovinos donde la enfermedad está muy avanzada, se ha reportado taquicardia, taquipnea, desórdenes en la actividad ruminal (Ramírez-Velázquez et al., 2019), convulsiones febriles, sangrado por el ano y epistaxis (Sharma et al., 2024).

A nivel bioquímico, el ganado enfermo se ve afectado por hipocalcemia, hipofosfatemia e hipoglucemia (Malík et al., 2024). Presentan un incremento de creatinina y urea en los niveles plasmáticos (Falbo et al., 2005). Así como también, una trombocitopenia y una reducción en la actividad hematopoyética (Sharma et al., 2024). La exposición a largo plazo al PTA puede alterar también la expresión de genes, por ejemplo, el gen p53 y de esta manera, causar problemas en la regulación de los procesos de apoptosis celular (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Además, puede afectar la mucosa gástrica, haciéndola más susceptible a otras enfermedades, al inducir una mayor expresión de mucinas ácidas (O'Connor et al., 2019).

Figura 12

Signos clínicos en órganos bovinos intoxicados por Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. (A) Pérdida de peso; (B) hematuria; (C) vejiga urinaria con petequias y nódulos rojos multifocales; (D) hemorragia endocárdica; (E) riñón pálido e inflamado; (F) carcasa y vísceras

pálidas; (G) mucosa ruminal con crecimiento papilar y (H) intestino con hemorragias subserosas. Tomada de Borena et al. (2025).

Pruebas de detección

Para el diagnóstico de la HEB, una de las pruebas principales es la detección mediante el uso de tiras reactivas urinarias (TRU), que permiten identificar la presencia de sangre oculta en la orina, incluso si el animal no presenta signos clínicos (Verde et al., 2017). Para cuantificar la intensidad de la HEB se utiliza el análisis microscópico de sedimento urinario (AMSU), gracias a su mayor sensibilidad para la detección de eritrocitos durante la fase subclínica (Pacheco & Cevallos, 2020). Otro análisis utilizado es el análisis hematológico, en el cual se evidencia la disminución de los niveles de hemoglobina, hematocrito y el conteo eritrocitario total en animales enfermos (Calderón et al., 2011). Para animales con HEB avanzada, Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos (2023) mencionan que lo más recomendable es realizar ecografías y exámenes rectales para evaluar el engrosamiento de la pared de la vejiga y la presencia de neoplasmas.

Gil da Costa et al. (2024) mencionan que se ha detectado la presencia de glucósidos de tipo iludano en la leche y carne de vacas que consumen helecho macho. Por lo que en análisis de inocuidad se utiliza la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para evaluar los niveles de PTA y pterosina B en muestras de plasma, orina y leche (Burgos-Álvarez et al., 2021). Sin embargo, el método de diagnóstico definitivo es la necropsia y el examen histopatológico para la identificación de lesiones, formación de adenocarcinomas, papilomatosas y hemangiosarcomas en la mucosa vesical (Ramírez-Velázquez et al., 2019).

Factores de incidencia

La incidencia de la HEB depende mucho de la variabilidad de la toxina en el helecho, pues el estado fenológico de la planta influye en la concentración del PTA, siendo mucho mayor en brotes tiernos en comparación con las frondas maduras (Burgos-Álvarez et al., 2021). Los factores geográficos también influyen, pues en Ecuador, *P. arachnoideum* (Kaulf.) Maxon

se presenta de manera invasiva en altitudes medias de 1698 m.s.n.m., lo que coincide con las áreas más afectadas por la enfermedad (Calderón et al., 2011). Sin embargo, a altitudes mayores de 1700 m.s.n.m. se ha visto que la producción de metabolitos secundarios sufre una disminución (Calderón et al., 2014). Otros factores importantes suelen ser la genética de la planta, la disponibilidad de nutrientes, el pH del suelo, entre otros (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Comportamiento ambiental del ptaquilósido

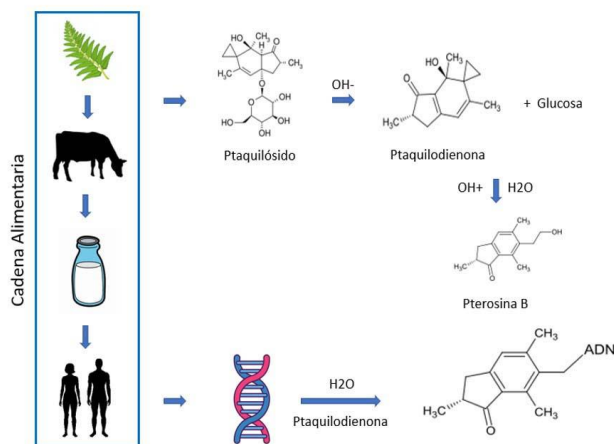
La naturaleza química del ptaquilósido le permite poder transferirse mediante lixiviación desde la planta al suelo y a su vez al agua (Rasmussen et al., 2003). Gracias a la alta solubilidad del PTA en agua, la lixiviación de esta toxina ocurre con el simple contacto de la planta con la lluvia (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Según García-Jorgensen et al. (2021) en promedio aproximadamente el 0,2 % del PTA presente en el helecho es lavado por cada milímetro de lluvia, lo que termina en la liberación de hasta 13,1 mg de PTA por metro cuadrado durante un único episodio de precipitación. En zonas con una alta invasión de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, la lixiviación de PTA puede incluso ocasionar la contaminación de aguas superficiales o subterráneas (Aguirre et al., 2023).

El PTA puede transferirse hacia el suelo tanto de las frondas vivas como de la hojarasca del helecho (frondas muertas) (Wu et al., 2021). El tiempo de vida media del PTA en el suelo suele estar dentro de un rango de 3,3 a 180 horas (García-Jorgensen et al., 2021). Sin embargo, el PTA no es el único compuesto que puede ser lixiviado por el agua de lluvia, pues O'Connor et al. (2019) mencionan que también se han detectado concentraciones relativamente altas de otros análogos como el CAU y PTE. Diversos países del mundo, como España, han reportado la presencia de estas toxinas en cuerpos de agua de ciertas localidades (Aguirre et al., 2023). Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos (2023) mencionan que la presencia de PTA y otras toxinas en el agua plantea la necesidad de monitorear los cuerpos de agua con mayor riesgo de exposición.

La degradación del ptaquilósido en el ambiente se ve influenciada por dos factores principales: el pH y la temperatura (Wu et al., 2021). En cuanto al pH, el PTA presenta una mejor estabilidad dentro de rangos de pH ácidos entre 4,5 a 6,5 (Skrbic et al., 2020). Mientras que para la temperatura, la menor tasa de degradación del PTA ocurre a temperaturas de 4 °C (Rasmussen et al., 2003). La prevalencia del PTA en cuerpos de agua representa una vía de exposición para el ser humano, junto con el consumo de alimentos provenientes de animales expuestos a la toxina, como la leche y carne de vacas (Gil da Costa et al., 2012). Dicha transferencia de la toxina a la cadena alimentaria humana (Figura 13) está relacionada con un mayor riesgo de carcinogénesis oral (Skrbic et al., 2020), y de cáncer en el tracto digestivo superior (Vetter, 2022).

Figura 13

Cadena alimentaria de helechos (Pteridium) y mecanismo de acción del PTA



Nota. Imagen tomada de Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos (2023).

Para intentar solucionar esta problemática, existen métodos de control para el helecho macho, aunque debido al extenso sistema de rizomas resulta complejo de llevar a cabo (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). Una de las estrategias es el control mecánico, que consiste en el corte total de la vegetación de una zona invadida por *Pteridium*, el cual puede llevarse a cabo mediante arado o quema controlada de los rizomas (Aguirre et al., 2023).

Por otro lado, se tiene el control químico, en el cual se emplean herbicidas generalmente cuando el helecho ha alcanzado su producción máxima (Vetter, 2022). Sin embargo, debido a la dificultad de la erradicación total del helecho macho, los productores suelen preferir abandonar sus terrenos infestados (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Marco conceptual

Aducto de ADN: subproducto obtenido tras la unión covalente entre un agente alquilante y las bases nitrogenadas del ADN (Vetter, 2022).

Caudatósido (CAU): análogo al ptaquilósido. Glucósido norsesquiterpénico de tipo iludano cuya hidrólisis produce pterosina A y posee un sistema de anillo de ciclopropano reactivo responsable de sus propiedades genotóxicas (O'Connor et al., 2019).

Cromatografía en capa fina (TLC): técnica analítica de separación que permite la determinación y purificación de compuestos presentes en una muestra de interés (Tabata, 2024).

Estado fenológico: hace referencia a las distintas etapas de desarrollo biológico y crecimiento de una planta (Aguirre et al., 2023).

Fase móvil: sistema de disolventes eluyentes que transporta la muestra analizada a través de la fase estacionaria para la separación de sus compuestos (Feito et al., 2026).

Fase estacionaria: sistema que permanece fijo dentro de la columna cromatográfica e interactúa con los compuestos de la muestra para su separación diferencial (Feito et al., 2026).

Factor de retención (Rf): parámetro numérico utilizado en la TLC para identificar sustancias según la relación entre la distancia recorrida por el compuesto y la distancia recorrida por el solvente (Calderón et al., 2014).

Carcinógeno / carcinogénesis: cualquier agente capaz de inducir neoplasmas malignos en organismos vivos (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Genotoxicidad: capacidad de una sustancia para ocasionar daño en el material genético dentro de las células, que puede derivar en aberraciones cromosómicas o mutaciones genéticas (Feito et al., 2026).

Glucósido iludano: es un tipo de norsesquiterpenoide caracterizado por su estructura de tipo iludano con un sistema de ciclopropano altamente reactivo (Vetter, 2022).

Hematuria Enzoótica Bovina (HEB): síndrome crónico y no infeccioso caracterizado por la presencia de hemorragias y tumores en la mucosa de la vejiga en bovinos, tras el consumo de helechos (da Silva et al., 2009).

Macrohematuria: fase clínica avanzada de la HEB en la que los síntomas, como sangre en la orina, se observan a simple vista (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Metabolito secundario: compuestos orgánicos sintetizados por los organismos vivos y que no participan directamente en procesos vitales básicos, sino que desempeñan funciones de defensa (Vetter, 2022).

Microhematuria: etapa inicial o fase subclínica de la HEB en la cual el animal no presenta síntomas o no son evidentes a simple vista (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Prunasina: glucósido cianogénico que funciona como mecanismo de defensa química para proteger los tejidos vegetales de la planta (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023).

Ptaquilósido (PTA): Principal glucósido norsesquiterpénico de tipo iludano que posee un sistema de anillo de ciclopropano reactivo que le confiere propiedades genotóxicas (Feito et al., 2026).

Pterosina A: compuesto aromático no tóxico obtenido al final de la degradación del caudatósido (Vetter, 2022).

Ptesculentósido (PTE): análogo al ptaquilósido recientemente identificado. Posee un sistema de anillo de ciclopropano reactivo responsable de sus propiedades genotóxicas y su hidrólisis produce Pterosina G (O'Connor et al., 2019).

Capítulo III

Metodología

Enfoque de investigación

El enfoque cuantitativo de esta investigación está basado en la recolección de datos medibles y verificables mediante técnicas analíticas y estadísticas, que permiten determinar la presencia o ausencia de compuestos de origen tóxico en ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y comparar los resultados entre las distintas variables definidas previamente.

Tipo y diseño de investigación

La investigación es de tipo descriptivo-correlacional con un diseño observacional de corte transversal, puesto que las variables del estudio no se manipulan, sino que son analizadas en su estado natural. Se describe la presencia o ausencia de compuestos tóxicos reportados en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, en muestras recolectadas de distintos estados fenológicos y correlacionados con la incidencia de HEB reportada en las fincas de estudio.

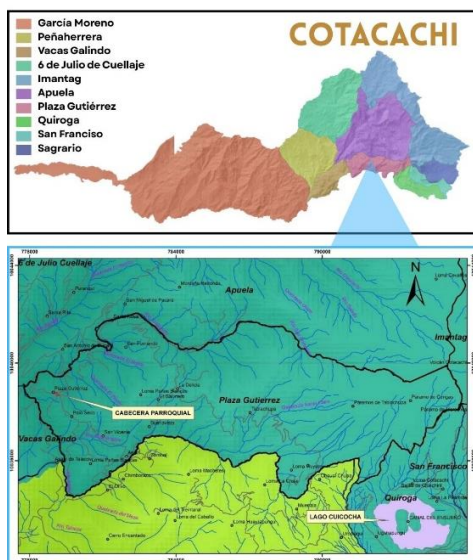
Población y muestra

La parroquia de Plaza Gutiérrez está ubicada en la zona de Intag del cantón Cotacachi, en la provincia de Imbabura (Figura 14). Plaza Gutiérrez se extiende sobre una superficie de 76 km², posee un clima subtropical y ecuatorial mesotérmico húmedo, con temperaturas que varían entre los 12 °C y 15 °C. La economía de la parroquia depende mayoritariamente de la agricultura y la ganadería, pues son el sustento económico de gran parte de sus pobladores y se desarrollan en aproximadamente 624,92 hectáreas de terreno. Los productores suelen acceder a préstamos de entre 1 000 y 5 000 USD para la adquisición de ganado bovino y poder participar activamente en ferias de animales clave para la comercialización, como las ferias de Otavalo e Ibarra (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez, 2026). Sin embargo, estas actividades pueden verse afectadas gravemente por la invasión del helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), una especie que compite de manera agresiva con los pastizales necesarios para la alimentación del ganado. Estudios realizados en la zona

evidencian una alta incidencia del helecho macho en fincas ganaderas, lo que representa un alto riesgo tanto para la salud animal como humana (Báez Gómez, 2023).

Figura 14

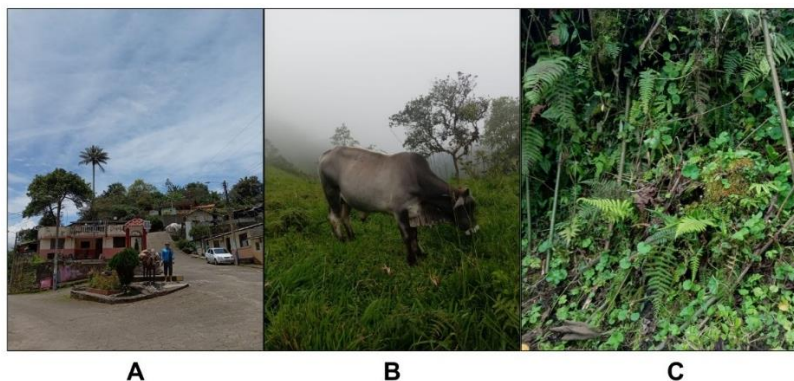
Ubicación geográfica de la parroquia Plaza Gutiérrez, cantón Cotacachi.



Nota. Elaboración propia a partir de Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Santa Ana de Cotacachi (2019) y Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez (2026).

Figura 15

Contexto general de la zona de estudio

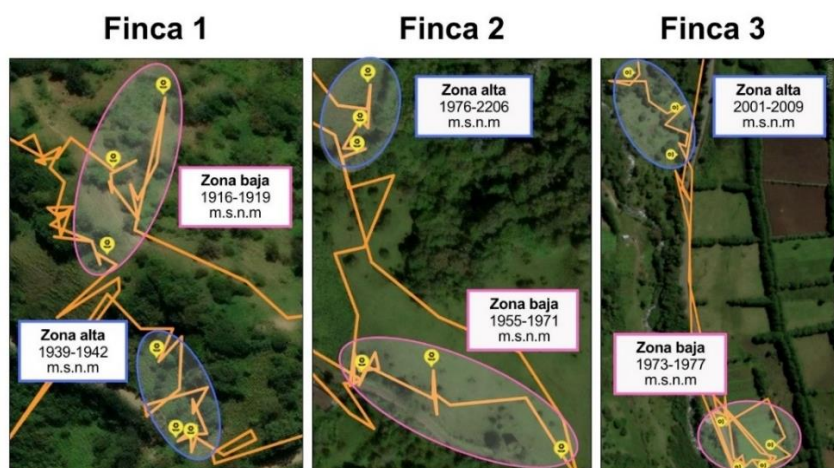


Nota. (A) Parroquia Plaza Gutiérrez; (B) actividad ganadera en fincas muestreadas y (C) diversidad de especies de helechos en la zona. Fotografías de autoría propia.

La población del estudio está conformada por todos los ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn presentes en las fincas ganaderas con incidencia de HEB en la parroquia Plaza Gutiérrez. La muestra consiste en un total de 24 ejemplares recolectados en 3 fincas de la parroquia de estudio. Cada finca se dividió en 2 zonas y en cada zona se realizaron 2 puntos de muestreo. Por cada punto de muestreo se recolectó un ejemplar maduro y un inmaduro, teniendo un total de 12 muestras de helecho maduro y 12 muestras de helecho inmaduro.

Figura 16

Rutas de recolección en fincas de estudio de la parroquia Plaza Gutiérrez



Nota. Elaboración propia a partir de rutas de recolección registradas en Wikiloc.

Técnica e instrumento

Recolección de muestras

Se recolectaron ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn según el diseño mencionado anteriormente, las rutas realizadas para las 3 fincas junto con cada punto de muestreo se encuentran georreferenciadas con GPS gracias a la aplicación Wikiloc (Datos geográficos en la Tabla 1A del Apéndice A). Para diferenciar los helechos maduros de los inmaduros, se tomaron en cuenta los criterios establecidos por Tryon (1941) los cuales se pueden observar en la Tabla 2. Las muestras fueron etiquetadas y almacenadas correctamente para asegurar su preservación hasta llegar al laboratorio para los procesos posteriores.

Figura 17

Recolección de ejemplares de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn en la parroquia Plaza Gutiérrez



Nota. Fotografía del proceso de recolección de muestras. Tomada por Tatiana Páez, 2026.

Tabla 2

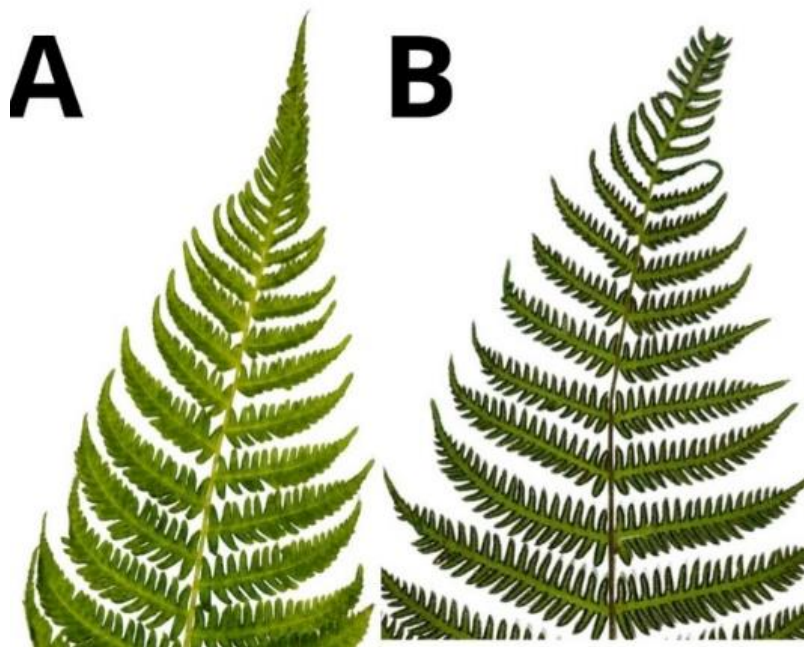
Criterios morfológicos y fenológicos para la diferenciación de ejemplares maduros e inmaduros de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn

Criterio	Inmaduro	Maduro
Vernación	Presente (fronda enrollada)	Ausente (fronda extendida completamente)
Color de raquis	Verde en tonos claros	Marrón en tonos oscuros
Pubescencia	Ausente o muy escasa	Presente
Soros	Ausente o con indusio verdoso/tierno	Presentes, con indusio marrón

Nota. Elaboración propia basada en Tryon (1941).

Figura 18

Muestras de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn recolectadas en la parroquia de Plaza Gutiérrez



Nota. (A) Helecho inmaduro y (B) helecho maduro. Fotografías de autoría propia.

Caracterización botánica

Para la caracterización botánica se tomaron los ejemplares que tuvieran menos daño y que tuvieran las características de los criterios establecidos más notables a simple vista. Se tomaron fotografías tanto a macroescala como a microescala con ayuda de microscopios y estereoscopios, de las hojas, tallos y soros para cada ejemplar escogido. Adicionalmente, se realizó una tinción de esporas usando azul de toluidina, un colorante metacromático que permite diferenciar entre paredes primarias y secundarias, núcleos celulares, esporopolenina e incluso fenoles (Rincón-Barón et al., 2020). Para lo cual, con ayuda de pinzas estériles, se raspó el envés de las hojas sobre un portaobjetos para hacer que los esporangios caigan sobre la superficie. A continuación, se añadieron unas gotas de azul de toluidina, se colocó un cubreobjetos para que el colorante se distribuya de forma uniforme y finalmente se observó bajo el microscopio.

Procesamiento de muestras

Al llegar al laboratorio, se pesaron las muestras para asegurar que todos los ejemplares tengan un peso de entre 15 a 45 gramos de material fresco. El material vegetal sobrante se conservó como un respaldo para pruebas y repeticiones de los métodos. Se optó por almacenar las muestras en bolsas de papel Kraft debido a sus propiedades de permeabilidad y capacidad de intercambio gaseoso, las cuales permiten que la muestra llegue a un equilibrio higroscópico en el ambiente y evite la acumulación de humedad y calor, asegurando que no haya una degradación del material vegetal (da Silva et al., 2024).

Posteriormente, las muestras se colocaron en una estufa (WiseVen Horizontal Flow Oven. WOF-50) a 35 °C. Las muestras se dejaron por aproximadamente 4 días hasta que se obtuvo un peso constante, es decir, que la diferencia de un día a otro en el peso tenga una variación menor al 0,05 % de peso. Con el fin de mejorar la superficie de contacto, se molieron las muestras con un molino de cuchillas (Thomas Wiley Mini Mill Knife Grinder Cutting Crusher Lab Scientific) con un Tamiz 20 mesh que deja un polvo fino con un tamaño de partícula aproximado de 0,85 mm.

El polvo obtenido se pesó y almacenó en tubos Falcon de polipropileno de 50 mL. Para el cálculo de la cantidad de pérdida de agua, únicamente se calculó la diferencia entre el peso fresco y el peso seco, para el porcentaje de humedad se empleó la ecuación mencionada en Sánchez et al. (2022) y para el cálculo del rendimiento de molienda se usó la ecuación usada en D'Emanuele Ares et al. (2017):

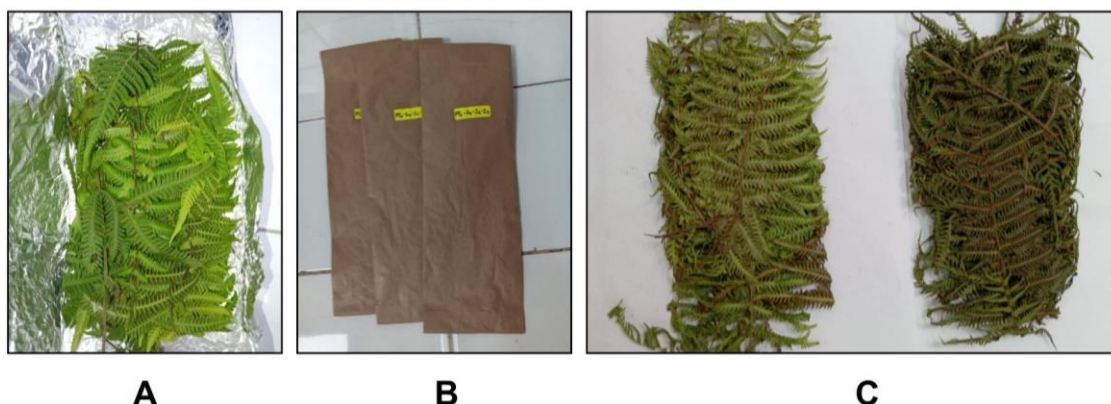
$$\text{Pérdida de agua} = \text{Peso fresco} - \text{Peso seco}$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso fresco}} * 100$$

$$\text{Rendimiento de molienda} = \frac{\text{Peso molido}}{\text{Peso seco}} * 100$$

Figura 19

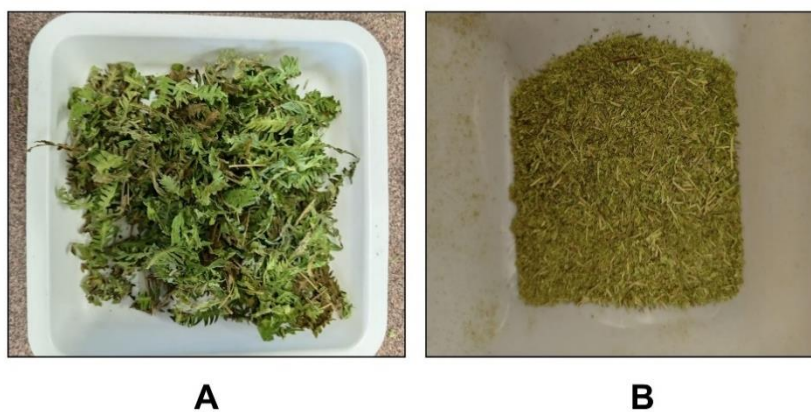
Proceso de secado de muestras



Nota. (A) muestras de helechos conservadas en buen estado hasta llegar al laboratorio; (B) muestras almacenadas en bolsas de papel Kraft y (C) muestras de helechos inmaduros (izquierda) y maduros (derecha) tras el proceso de secado. Fotografías de autoría propia.

Figura 20

Proceso de molienda de muestras



Nota. Muestra antes (A) y después (B) del proceso de molienda. Fotografías de autoría propia.

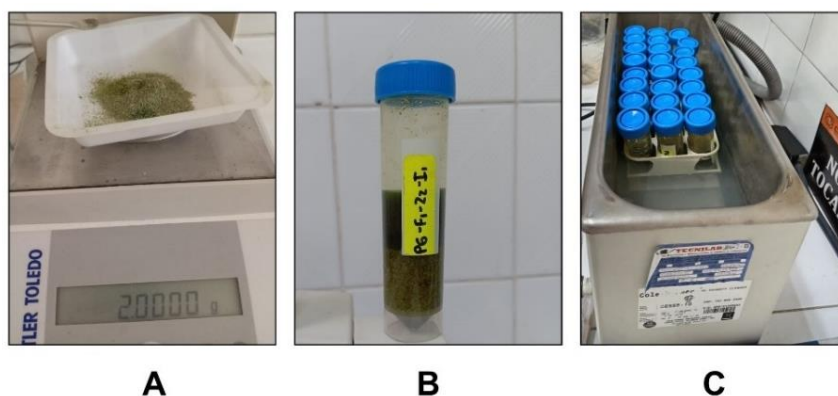
Extracción

Para la extracción de compuestos de interés se siguió un protocolo basado en los procedimientos de Otgonsugar et al. (2018) y Guo et al. (2025). Para lo cual, se pesaron 2 gramos de muestra molida y se añadió 20 mL de etanol absoluto en una relación 1:10 (m/v). La

muestra se dejó macerando durante 3 días en oscuridad y con agitación constante con ayuda de un agitador orbital (WiseShake SHO-2D WSO04012). Después, las muestras se llevaron a un ultrasonificador horizontal en baño (ColerParmer 08855-10, 140 W, 44 kHz $\pm$ 6 %) durante 30 minutos controlando que la temperatura no pase de los 30 °C. Luego, se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos con ayuda de una centrifuga para tubos Falcon (HERMLE Z 206 A), se guardó el sobrenadante en otro tubo Falcon de polipropileno de 50 mL y al residuo sólido se le añadió 20 mL de etanol acuoso al 70 %. Se dejó macerar nuevamente por 3 días más y se repitieron los mismos pasos, el sobrenadante obtenido se mezcló con el anterior y el residuo sólido se desechó.

Figura 21

Proceso de extracción de compuestos a partir de las muestras recolectadas



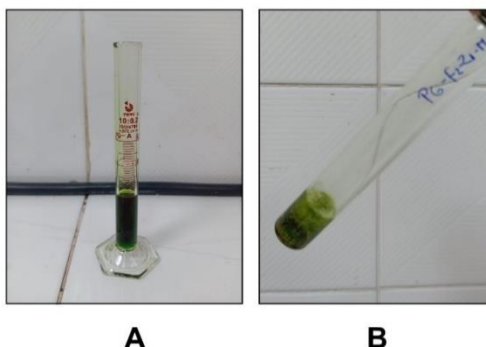
Nota. (A) Pesaje, (B) macerado y (C) ultrasonicación de muestras. Fotografías de autoría propia.

Concentración

Se tomó un volumen de 5 mL del macerado final obtenido y se pasó a tubos de ensayo de vidrio. Los tubos de ensayo se colocaron en un concentrador (ThermoScientific Reacti-Therm III #TS-18824) a una temperatura de 40 °C y con un flujo de gas nitrógeno (N_2) constante a 2 psi durante aproximadamente 90 minutos hasta llegar a sequedad.

Figura 22

Proceso de concentración del producto de maceración de las muestras



Nota. Macerado obtenido del proceso de extracción antes (A) y después (B) de concentrar.

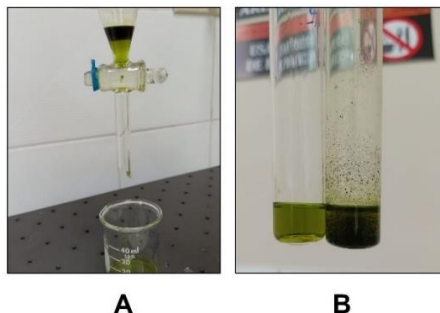
Fotografías de autoría propia.

Desengrasado

Para desengrasar y quitar clorofila de las muestras se realizó una extracción líquido-líquido con ayuda de un solvente orgánico como el heptano, siguiendo un protocolo modificado de los autores (Tzima et al., 2020). Las muestras concentradas fueron resuspendidas en 3 mL de metanol acuoso al 70 %, un alcohol acuoso para favorecer la separación de fases al añadir el solvente orgánico. El resuspendido se colocó en un embudo de decantación junto con heptano en una relación 1:1 (v/v), se llevó a agitar por 5 minutos a 130 rpm con un agitador orbital (WiseShake SHO-2D WSO04012) y se recuperó la fase acuosa desengrasada.

Figura 23

Proceso de desengrasado de muestras



Nota. (A) Proceso de extracción líquido-líquido, se observa la formación de la fase orgánica y la

fase acuosa de interés. (B) Comparación entre muestras con y sin el proceso de desengrasado.

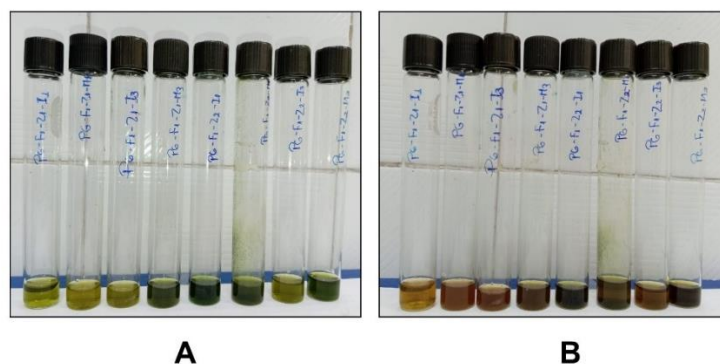
Fotografías de autoría propia.

Hidrólisis

Una vez desengrasadas las muestras, se realizó la hidrólisis básica con el fin de transformar todo el caudatósido presente en su forma más estable, es decir, la pterosina A. Para esto se siguió el protocolo modificado de Kisielius et al. (2020), para lo cual se añadió a cada muestra una solución de NaOH 1M hasta alcanzar un pH básico. En el protocolo no establecen un rango de pH específico, por lo que se decidió dejar el pH en un rango de 10-11, con el fin de no causar modificaciones graves en las estructuras de las moléculas presentes en la muestra, pues según bibliografía, condiciones de alcalinidad extrema (>12) promueven procesos de degradación como la formación de dienonas estables en lugar de pterosinas, o la formación masiva de enolatos que desencadenan reacciones irreversibles (Carey & Sundberg, 2007; Wu et al., 2021). Posteriormente se llevaron a incubar a 40 °C durante 1 hora en un baño María (Fisherbrand CPXH Series, FIS2019BU) y finalmente se neutralizaron con una solución de HCl 1M.

Figura 24

Proceso de hidrólisis de las muestras



Nota. Muestras antes (A) y después (B) del proceso de hidrólisis. Fotografías de autoría propia.

Cromatografía de capa fina (TLC)

La Cromatografía de Capa Fina (Thin Layer Chromatography – TLC) es una técnica analítica líquida, que permite el estudio de metabolitos secundarios mediante su separación e identificación (Kowalska & Sajewicz, 2022). Se caracteriza por su capacidad para generar huellas dactilares químicas, que permiten comparar entre muestras de diferentes taxones, estados de desarrollo de una planta, entre otros (Otgonsugar et al., 2018). Esta técnica se basa en la migración diferencial de los compuestos presentes en una muestra, impulsada por una fase móvil que asciende a través de una fase estacionaria (Bele & Khale, 2011).

Para la cromatografía se siguió el protocolo modificado de Otgonsugar et al. (2018), utilizando como fase estacionaria placas de sílica 60 de aluminio de 20X20 cm y como fase móvil, el sistema de elución consistió en una mezcla de Diclorometano:Metanol (9:1). Las muestras se distribuyeron en dos placas, una placa para todas las muestras inmaduras y otra para las muestras maduras, dejando en cada una un carril en el medio para el estándar de la Pterosina A. El tiempo de corrida fue de aproximadamente 90 minutos, una vez transcurrido el tiempo se dejó evaporar el solvente de las placas y se aplicó el revelador mediante un sistema de pulverización con bomba de aire. Para preparar el revelador se utilizó por cada 10 mL de solución: 375 µL de *p*-anisaldehído, 1 mL de ácido acético glacial, 8,5 mL de metanol y 500 µL de ácido sulfúrico. Tras aplicar el revelador, las placas se calentaron usando una Hot Plate a temperatura >100 °C hasta que las manchas se hicieran visibles y posteriormente se visualizó utilizando una cámara de luz ultravioleta bajo longitud de onda larga.

Estadística

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el software R. Las variables gravimétricas y cromatográficas se resumieron mediante estadística descriptiva utilizando media, mediana, desviación estándar, rango intercuartílico y valores mínimo y máximo, según correspondiera. Para el perfil cromatográfico se utilizó la suma del número de bandas detectadas en cada muestra y para la comparación entre ejemplares inmaduros y maduros se

utilizó una prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras pareadas, debido a que ambos estados fenológicos fueron recolectados de los mismos puntos de muestreo. Para la banda cromatográfica de interés los datos se registraron como una variable dicotómica (1=banda detectada; 0=banda no detectada) y se comparó para los estados fenológicos mediante la prueba exacta de McNemar y para asociación por finca y zona, la prueba exacta de Fisher. Los datos de la prevalencia de HEB se obtuvieron de estudios previos realizados por docentes de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, en este caso se utilizó el método de Wilson para estimar los intervalos de confianza, y para correlacionar la prevalencia de HEB con la frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés se utilizó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman, con valores de probabilidad obtenidos por permutaciones. Para todas las pruebas se estableció un nivel de significancia de $\alpha=0,05$.

Durante la planificación del análisis estadístico se utilizó una herramienta de Inteligencia Artificial como recurso de apoyo orientativo, su uso se limitó única y exclusivamente a consultar alternativas de análisis acordes con el tipo de variables y el reducido número de muestras.

Validación y confiabilidad del instrumento

Para asegurar que el método es válido se utilizó como control positivo el estándar de la Pterosina A (PtrA; CAS No. 35910-16-8), donado por el Laboratorio de Productos Naturales (LPN) de la Universidad Regional Amazónica IKIAM. Para escoger el método se realizaron pruebas hasta obtener la presencia de una única banda visible en la placa de silica en el carril del estándar, lo cual confirma la integridad del reactivo y que el método de revelado fue el adecuado. En el caso de la muestra, la presencia de una banda a la misma altura que la banda del estándar, confirma que el método de extracción es el adecuado y que el compuesto extraído es en efecto la pterosina A.

Como prueba confirmatoria adicional se realizó el análisis mediante espectrofotometría usando un espectrofluorómetro (DUETTA Horiba) de las muestras obtenidas y el estándar de Pterosina A. Posteriormente, los datos obtenidos fueron procesados con el software OriginPro,

aplicando un pretratamiento de los datos y el cálculo de la segunda derivada, con el fin de tener 3 pruebas confirmatorias para los resultados obtenidos: (1) coincidencia de banda visual en cromatografía de capa fina (TLC), (2) comparación de espectros de absorbancia y (3) aplicación de la segunda derivada a los datos espectrales obtenidos.

De esta manera, la metodología aplicada asegura que la presencia de una banda en un factor de retención aproximado de 0,82 o visualmente a la misma altura que el estándar, indica que el compuesto de interés se encuentra en el ejemplar de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Por otro lado, la ausencia de la banda puede indicar que el compuesto no se encontraba presente en el ejemplar de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn analizado o que no fue detectado bajo el método utilizado, lo cual es útil para poder correlacionar después si la incidencia de HEB en cada finca se debe o no al helecho.

Consideraciones éticas

El estudio fue realizado como parte de las actividades planificadas en el proyecto social de Vinculación con la Sociedad denominado “Apoyo Técnico para el Desarrollo de los sectores rurales del Ecuador mediante la participación de las Fuerzas Armadas y la Academia” de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, por lo que se contaba con el compromiso y la autorización del GAD parroquial de la parroquia de Plaza Gutiérrez quién coordinó con los diferentes actores la gestión necesaria para la toma de las muestras vegetales.

Sobre el manejo de residuos, como los solventes orgánicos y objetos cortopunzantes utilizados, fueron almacenados de manera adecuada en botes etiquetados con la codificación correspondiente para su disposición según los protocolos establecidos por el laboratorio para el manejo adecuado de desechos peligrosos. Además, durante la investigación se trabajó únicamente de material vegetal de una especie considerada maleza en el Ecuador, por lo que no fue necesario obtener una aprobación por parte de un comité de ética o permisos para el manejo de muestras biológicas de ADN.

Capítulo IV

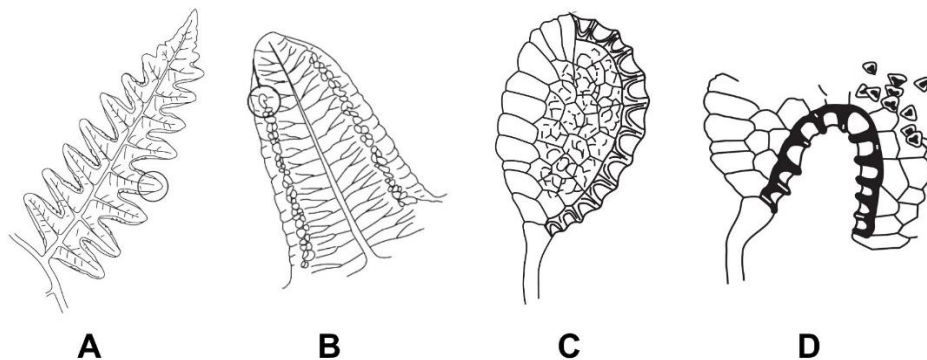
Análisis y discusión de los resultados

Caracterización botánica del helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

La caracterización botánica permite ir más allá de una simple descripción de las características visibles de una planta, sino que nos permite comprender a fondo la relación morfofisiológica de sus eventos vegetativos y reproductivos (Rincón-Barón et al., 2020). En el caso del género *Pteridium*, resulta de gran importancia pues su taxonomía es considerada una de las más complejas y controvertidas (Marrs & Watt, 2006). Esto debido a que presentan una notoria plasticidad fenotípica en respuesta a múltiples factores ambientales como el clima y el tipo de suelo (Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Figura 25

Ubicación y morfología de los esporangios en el género Pteridium



Nota. (A) Pinna, (B) superficie inferior de una pínula fértil que muestra el falso indusio y el cenosoro (soro marginal continuo), (C) esporangio maduro y (D) esporangio después de la liberación de esporas. Adaptada de Marrs y Watt (2006).

En los ejemplares recolectados de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en la parroquia de Plaza Gutiérrez se pudo realizar la caracterización botánica de las frondas tanto inmaduras como maduras tanto de forma macroscópica como microscópica, obteniendo rasgos claves para cada estado fenológico. En la figura 25, se presentan las características botánicas esperadas en base a la revisión de bibliografía realizada. En base a esto, en la Figura 26 se

puede observar a nivel macroscópico la fronda de un ejemplar inmaduro (A) y un ejemplar maduro (B), las cuales presentan una lámina pinnada con una silueta triangular o deltoide, lo cual coincide con la descripción botánica estándar de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Malík et al., 2024). Al llegar al estado de madurez, el helecho macho se caracteriza por presentar configuraciones que van desde bipinnadas hasta tetrapinnadas dependiendo del vigor de la planta y el hábitat (Štefanić et al., 2022). Sin embargo, para la caracterización se tomó únicamente una pinna primaria, es decir una parte representativa de la fronda completa debido a la facilidad de ser almacenada y transportada.

Por otro lado, en la Figura 26 también se puede observar a nivel macroscópico la superficie adaxial del ejemplar inmaduro (C) y el ejemplar maduro (D), en donde se evidencia que los márgenes se encuentran enrollados hacia abajo, lo cual es una característica botánica clave de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Marrs & Watt, 2006). Esta curvatura del margen hacia el envés actúa como un indusio falso para proteger a los esporangios durante su maduración, y suele verse más pronunciada en frondas maduras debido a cambios fisiológicos y mecánicos (Tryon, 1941).

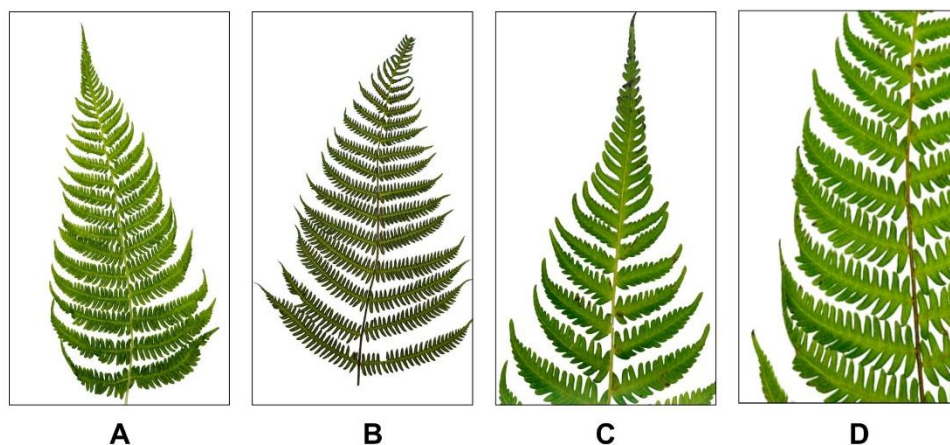
Respecto al color del estipe, se puede observar un cambio notorio entre el ejemplar inmaduro, que presenta un color claro, en comparación con el ejemplar maduro, que presenta un marcado color oscuro, lo cual coincide con los criterios establecidos en la Tabla 2. En cuanto a la morfología de las pinnas, se observa que presentan una disposición subopuesta en la base, que conforme avanza hacia el ápice cambia a una disposición alterna; su forma es lanceolada u oblonga y los segmentos secundarios presentan ápices obtusos o redondeados, características descritas por Tryon (1941).

Por otra parte, se pueden observar las estructuras reproductivas, las cuales se localizan en la superficie abaxial de las pinnas, distribuyéndose de forma continua alrededor de los bordes (Malík et al., 2024). Sin embargo, en el ejemplar inmaduro, se puede observar que los soros, si bien se encuentran bordeando el margen de las pínulas, parecen estar agrupados

dejando espacios entre cada agrupación. Sobre esto Page (1976) menciona que los soros siguen una sucesión basípeta inicial, lo cual explica que en frondas jóvenes se presenten como agrupaciones discretas antes de fusionarse en una línea continua. El sistema vascular se observa que presenta una venación libre y dicotómica, en donde las venas se dirigen sin cruzarse entre sí y de forma paralela hacia el margen, lo cual coincide con lo mencionado por (Marrs & Watt, 2006).

Figura 26

Vista macroscópica del haz y el envés de frondas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



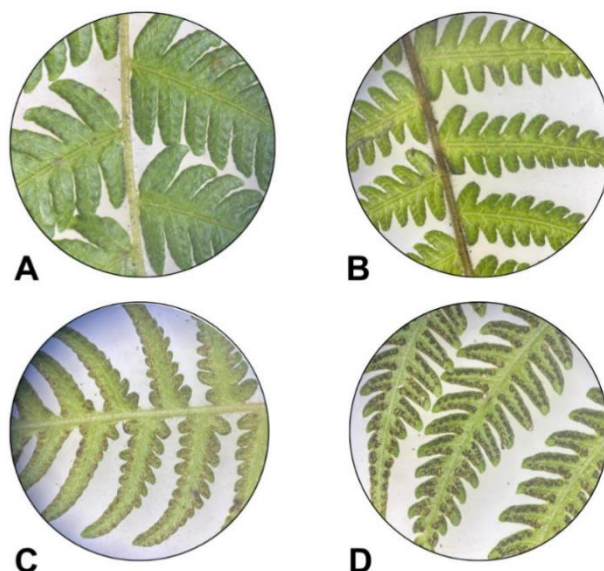
Nota. Se observa el envés de un ejemplar inmaduro (A) y uno maduro (B), así como el haz de un ejemplar inmaduro (C) y uno maduro (D). Fotografías de autoría propia.

En la figura 27, se puede observar de manera similar a la figura 26, el haz y el envés de los ejemplares maduros e inmaduros, pero ahora vistos desde un estereoscopio. En cuanto al haz del ejemplar inmaduro (A) y del ejemplar maduro (B), se puede confirmar las características antes mencionadas respecto a la distribución y forma de las pinnas, así como la diferencia en el color de los raquis entre ambos estados fenológicos. Adicionalmente, se puede observar que presentan glabrescencia en su superficie epidérmica, es decir, que carecen de pelos o escamas en la cara superior de las frondas (Tryon, 1941). En cuanto al envés del helecho inmaduro (C) y maduro (D), se puede observar de mejor manera como se distribuyen

los soros a lo largo de los bordes de cada pínula, y como se encuentran protegidos por el mismo, que forma el pseudoindusio el cual se ve más pronunciado en el ejemplar maduro, confirmando las características mencionadas por Štefanić et al. (2022).

Figura 27

Vista estereoscópica del haz y el envés de frondas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. Se observa el haz de un ejemplar inmaduro (A) y uno maduro (B), así como el envés de un ejemplar inmaduro (C) y uno maduro (D), vistas en un estereoscopio con un aumento de 2×. Fotografías de autoría propia.

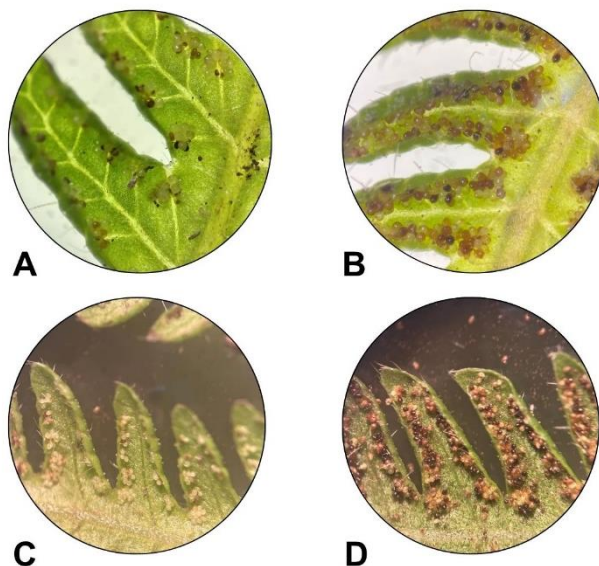
En la figura 28 se puede observar con más detalle las estructuras reproductivas de las frondas inmaduras y maduras del helecho macho. En las Figuras 28A y 28C se evidencia que el soro se organiza en agrupaciones de esporangios individuales, lo cual corresponde con la sucesión basípeta inicial de las estructuras reproductivas del género *Pteridium* (Marrs & Watt, 2006). Se puede visualizar también que presentan una coloración verde-amarilla de naturaleza translúcida, lo cual es una característica de frondas en las etapas iniciales de desarrollo previas a la finalización de la esporogénesis (Štefanić et al., 2022). Se distingue con claridad el sistema

de venación libre, confirmando que las venas secundarias no se cruzan entre sí y además, sirven como soporte vascular para cada agrupación de esporangios (Malík et al., 2024).

Por otro lado, en las figuras 28B y 28D se evidencia que durante el proceso de maduración ocurre una pérdida de translucidez de los esporangios, pasando de un color claro hacia una coloración marrón-rojiza, lo cual suele estar relacionado con la lignificación del anillo del esporangio (Rincón-Barón et al., 2020). A diferencia de la distribución en las frondas inmaduras, en las maduras se observa que el aumento del número de esporangios, es el responsable de la formación de un cenosoro marginal continuo (Thomson, 2014). Una de las características más importantes que se puede observar en la Figura 27, es la presencia de pelos blanquecinos y la ausencia de escamas en las muestras, características que permite diferenciar al género *Pteridium* de otros helechos (Thomson, 2014).

Figura 28

Vista estereoscópica de estructuras reproductivas de frondas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. Se observan los soros distribuidos alrededor de los márgenes de un ejemplar inmaduro (A) y uno maduro (B) usando luz transmitida y con un aumento de 4×. Así como los soros de un

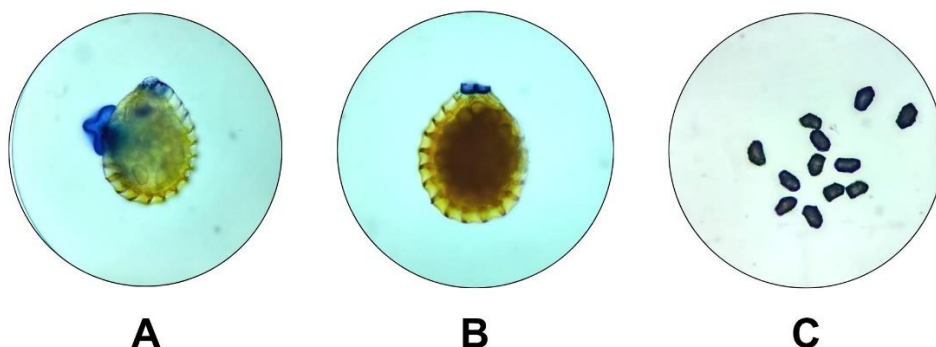
ejemplar inmaduro (C) y uno maduro (D) bajo iluminación incidente y con un aumento de 4×. Fotografías de autoría propia.

Finalmente, en la Figura 29 se visualizan la morfología de los esporangios inmaduros (A), maduros (B) y las esporas libres (C) teñidas con azul de toluidina. En ambos estados del esporangio se identifica la forma de un leptosporangio, pues presenta las estructuras mencionadas por Marrs y Watt (2006) y se puede observar en la Figura 30. El esporangio inmaduro (Figura 29A) presenta un color translúcido, debido a que se encuentra en una fase temprana de la esporogénesis, previo a la síntesis masiva de otros componentes del esporodermo (Rincón-Barón et al., 2020). En el esporangio maduro (Figura 29B) las características cambian completamente, pues se evidencia una coloración marrón oscura en la cápsula del esporangio, lo cual evidencia que ya ha ocurrido la saturación de esporas y otros posibles compuestos secretados por el tapete celular (capa interna que recubre y nutre a las esporas) (Yañez, 2016).

En la Figura 29C se pueden observar las esporas ya liberadas del esporangio, este proceso ocurre mediante un mecanismo de catapulta hidromecánica, en el cual, las células del anillo mecánico tras perder humedad generan una tensión necesaria para la apertura de la cápsula (Rincón-Barón et al., 2020). Esta apertura ocurre en la zona de debilidad mecánica del esporangio denominada estomio, la cual está conformada por células especializadas (Marrs & Watt, 2006). De esta manera, las esporas son eyectadas a una distancia de 1 a 2 cm aproximadamente fuera de la superficie de la fronda (Page, 1976), lo que les permite ser transportadas y dispersadas grandes distancias gracias a las corrientes de viento (Štefanić et al., 2022).

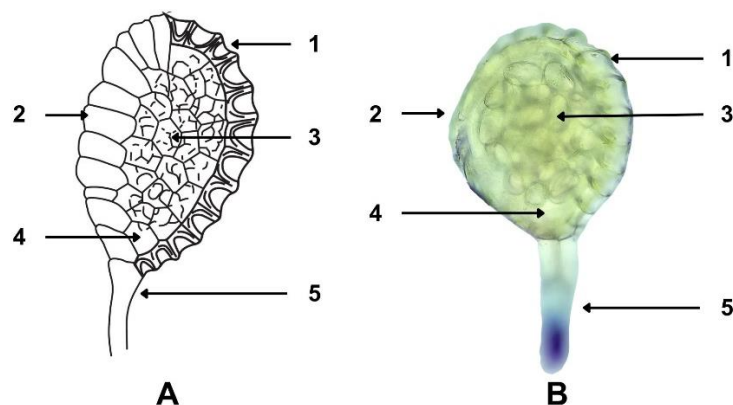
Figura 29

Vista microscópica de estructuras reproductivas de frondas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn



Nota. (A) esporangio inmaduro; (B) esporangio maduro y (C) esporas de los ejemplares de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn recolectados, visualizados bajo microscopio con un aumento de 40× y teñidas con azul de toluidina. Fotografías de autoría propia.

En la Figura 30 se puede observar una comparación entre una ilustración del esporangio (A) y el resultado obtenido en el laboratorio (B), en donde se puede identificar notablemente las diferentes partes del esporangio. El anillo mecánico (Elemento 1, Figura 30) presenta células de engrosamiento secundarios que tienen la forma de U y suelen estar altamente lignificados (Malík et al., 2024). El estomio (Elemento 2, Figura 30), como se mencionó anteriormente, es la zona de ruptura de la cápsula y permite la liberación de las esporas (Marrs & Watt, 2006). En el interior de la cápsula, se puede visualizar a las esporas (Elemento 3, Figura 30), que actúan como las unidades de dispersión del helecho, y se encuentran protegidas por la pared del esporangio (Elemento 4, Figura 30), ya que las rodea y nutre gracias a su capacidad de producción de sustancias de reserva y estructurales. Por último, el pedicelo (Elemento 5, Figura 30) es el encargado de dar soporte al esporangio y está compuesto por una o dos filas de células alargadas (Rincón-Barón et al., 2020).

Figura 30*Partes del esporangio*

Nota. (1) Anillo mecánico, (2) estomio, (3) esporas, (4) pared del esporangio y (5) pedicelo. (A) Ilustración tomada de Marrs y Watt (2006) y (B) Fotografía de autoría propia vista en microscopio con un aumento de 40x y mediante tinción con azul de toluidina.

Extracción y evaluación de compuestos

Procesamiento y análisis cromatográfico de muestras

Se realizó la extracción de un total de 24 muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, recolectadas en 3 fincas lecheras con alta incidencia de HEB en la parroquia Plaza Gutiérrez, ubicada en el cantón Cotacachi. De las 24 muestras totales, 12 correspondían a ejemplares inmaduros y 12 a ejemplares maduros. Previo a la extracción de compuestos, las muestras fueron procesadas mediante un proceso de secado y molienda, con el fin de mejorar el rendimiento de la extracción. Peternel et al. (2024) evidenciaron que el pretratamiento de muestras vegetales favorece una mejor extracción de compuestos bioactivos, pues el secado permite eliminar el agua para evitar daños causados por la humedad, y la molienda genera una superficie de contacto mayor entre la muestra y el solvente.

Con los datos de los pesos registrados durante el proceso se determinó la cantidad de agua perdida durante el proceso de secado, así como el porcentaje de humedad y el rendimiento del proceso de molienda, resultados que se evidencian en la Tabla 3 (En la Tabla

2A del Apéndice A se presenta la información completa por muestra). De manera general, se puede observar que las muestras de helechos inmaduros presentaron un mayor porcentaje de humedad ($63,4 \pm 6,9 \%$), en comparación con los helechos maduros ($57,7 \pm 4,4 \%$). Sin embargo, la cantidad de agua perdida durante el secado fue similar en ambos estados fenológicos, presentando valores de $20,5 \pm 6,7 \text{ g}$ y $20,8 \pm 4,9 \text{ g}$ respectivamente. Este resultado indica que si bien, tanto los ejemplares inmaduros como los maduros perdieron la misma cantidad de agua, los helechos maduros presentaron una mayor proporción de materia seca.

De igual forma, los ejemplares maduros evidenciaron un mayor peso seco ($15,6 \pm 2,0 \text{ g}$), peso molido ($7,99 \pm 1,42 \text{ g}$) y rendimiento de molienda ($50,0 \pm 4,7 \%$) frente a los ejemplares inmaduros. No obstante, el rendimiento de molienda indica la recuperación física del material, por lo cual, no debe interpretarse como un problema de la muestra, sino más bien a pérdidas operativas durante el proceso de molienda.

Tabla 3

*Parámetros del procesamiento de muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn*

Estado	n	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Peso molido (g)	Pérdida agua (g)	Humedad (%)	Rendimiento molido (%)
Inmaduro	12	$32,0 \pm 7,6$	$11,5 \pm 1,7$	$4,84 \pm 1,17$	$20,5 \pm 6,7$	$63,4 \pm 6,9$	$41,0 \pm 5,6$
Maduro	12	$36,4 \pm 5,8$	$15,6 \pm 2,0$	$7,99 \pm 1,42$	$20,8 \pm 4,9$	$57,7 \pm 4,4$	$50,0 \pm 4,7$

Nota. Los valores se expresan como promedio $\pm$ desviación estándar.

El método de extracción utilizando como solvente etanol, permitió la obtención de varios compuestos presentes en las muestras de helechos tanto inmaduros como maduros, como se puede observar en las Figuras 31 y 32. La metodología aplicada para la Cromatografía de Capa Fina (TLC) usando como fase móvil un sistema de DCM:MeOH en una proporción de 9:1

y como revelador *p*-anisaldehído, permitió la visualización del estándar de Pterosina A (CAS 35910-16-8) con un factor de retención de 0,82 y un color de banda azul bajo luz UV.

Posterior al revelado con *p*-anisaldehído y la observación bajo luz UV, los extractos de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn evidencian perfiles cromatográficos con una diversa composición de compuestos, debido a la presencia de múltiples bandas con características diferentes en su coloración, intensidad y distancia recorrida. En la región inferior de ambas placas se observa una predominancia de bandas con señales fluorescentes de colores entre verde y celeste, mientras que en las regiones superiores, predominan principalmente bandas de colores entre rojo, rosado y magenta. Se distingue también diferencias entre la intensidad y el número de las bandas entre carriles.

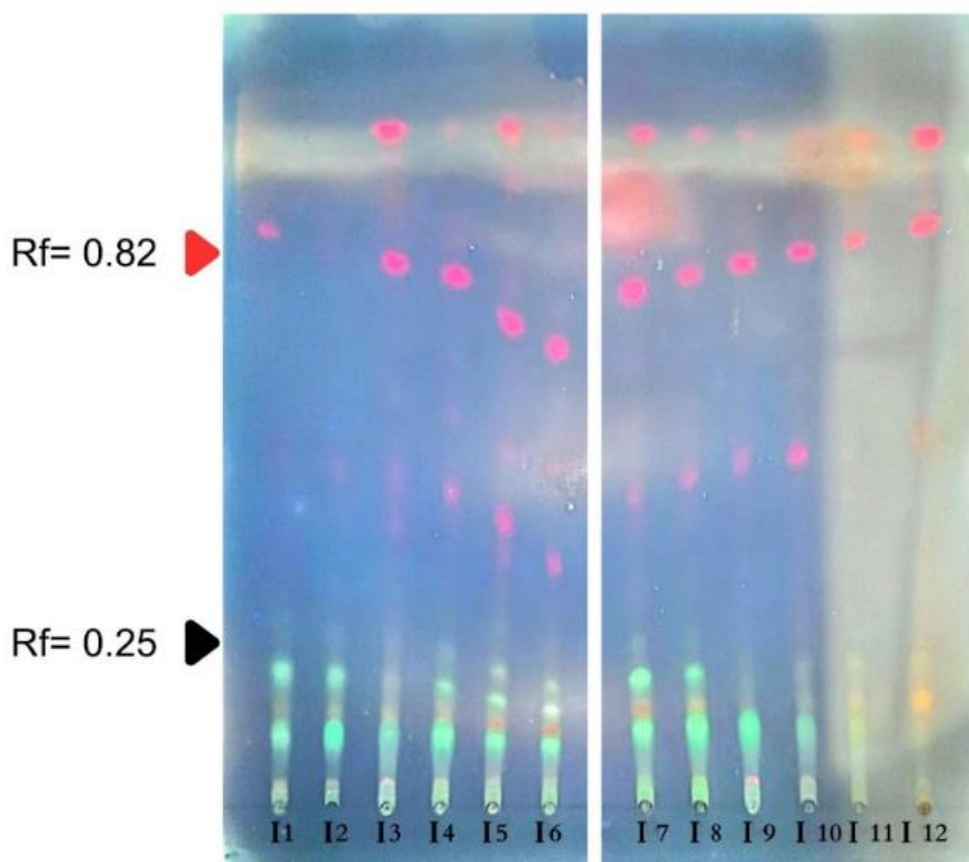
Durante las pruebas realizadas se pudo observar la presencia de bandas a la misma altura y con la misma coloración que el estándar de Pterosina A. Sin embargo, al momento de replicar el proceso con las muestras de estudio, no se logra visualizar una banda con las mismas características que las del estándar ni en las muestras de ejemplares inmaduros (Figura 31), ni de ejemplares maduros (Figura 32). Por lo tanto, no se obtuvo evidencia concluyente mediante la técnica utilizada respecto a la presencia del compuesto en los extractos. En base a esto, no se puede confirmar que la Pterosina A no se encuentra en las muestras analizadas, simplemente, no fue posible detectarla bajo las condiciones empleadas.

Por otro lado, se puede visualizar en algunos de los extractos una banda fluorescente en tonos de color celeste-verde con un R_f alrededor de 0,25; lo cual, coincide con lo encontrando en bibliografía sobre que la prunasina presenta un factor de retención de 0,25 bajo condiciones similares a las utilizadas en este estudio (SiO_2 , DCM:MeOH 9:1) (Santa Cruz Biotechnology, 2026). La coincidencia entre el factor de retención y el sistema utilizado, pueden sugerir la presencia del compuesto en las muestras analizadas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la TLC presenta una baja sensibilidad, cuyos resultados pueden variar por una amplia gama de factores como la saturación de la cámara, la humedad del ambiente, la

temperatura, el nivel del solvente, entre otros (Shah et al., 2026). Por lo que no se puede confirmar que la banda observada corresponda a la prunasina, pero si se puede considerar como una banda cromatográfica de potencial interés para los análisis posteriores, pues es un indicador de carácter exploratorio de la variación fitoquímica entre las muestras.

Figura 31

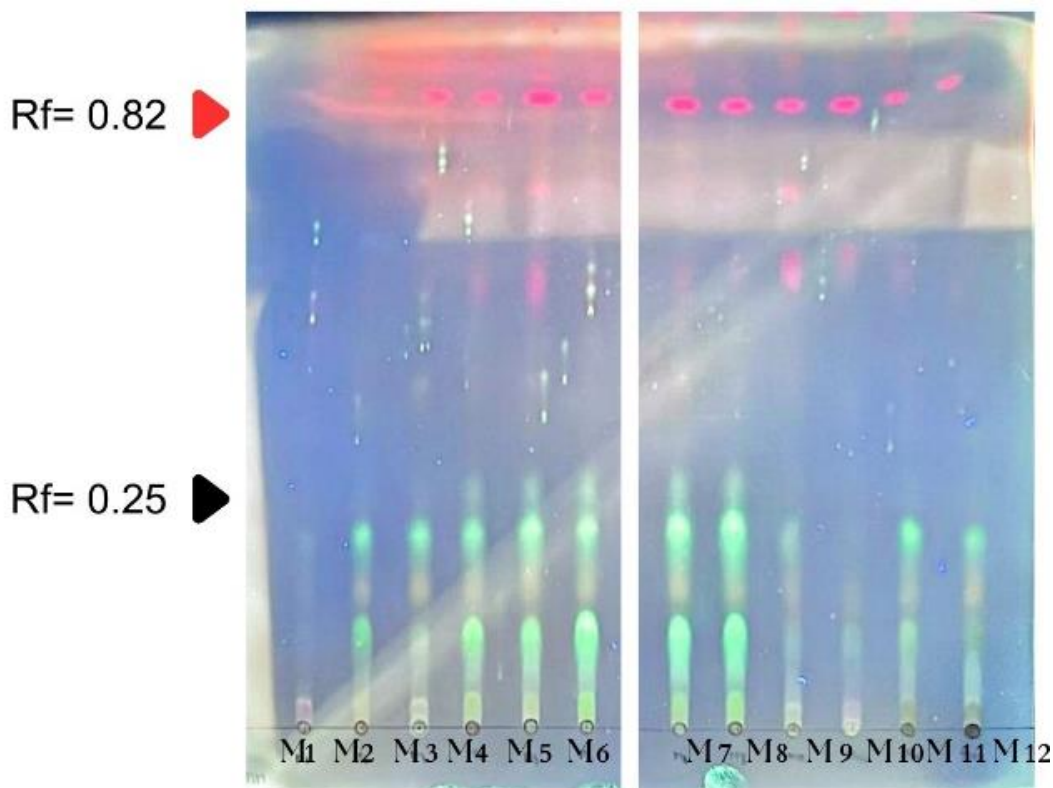
Resultados de la cromatografía de capa fina para muestras inmaduras



Nota. Las muestras se encuentran etiquetadas según como se indica en la Tabla 2A del Apéndice A. El valor de R_f de 0,25 corresponde al dato bibliográfico de la prunasina y el valor de R_f de 0,82 corresponde al dato obtenido mediante pruebas para la Pterosina A.

Figura 32

Resultados de la cromatografía de capa fina para muestras maduras



Nota. Las muestras se encuentran etiquetadas según como se indica en la Tabla 2A del Apéndice A. El valor de Rf de 0,25 corresponde al dato bibliográfico de la prunasina y el valor de Rf de 0,82 corresponde al dato obtenido mediante pruebas para la Pterosina A.

Evaluación del perfil cromatográfico

El perfil cromatográfico, también denominado huella dactilar en la cromatografía de capa fina representa la composición química de la muestra analizada mediante la visualización completa de las fracciones separadas en una sola placa, lo que permite la comparación entre distintas muestras a la vez (Kowalska & Sajewicz, 2022). En este caso, los perfiles cromatográficos obtenidos mediante TLC fueron evaluados considerando dos componentes principales: (1) la riqueza de bandas, que se expresa como el número total de bandas

detectadas en una muestra y (2) la frecuencia de visualización de una banda de interés con valores de R_f cercanos a 0,25.

De manera general en las Figuras 31 y 32, se observa una diferencia notoria entre los perfiles cromatográficos de los ejemplares maduros e inmaduros. En el caso de las muestras de helecho maduras (Figura 32) se puede observar que presentan perfiles más parecidos entre las muestras, a comparación de las muestras de helecho inmaduras (Figura 31), en donde se puede observar una cierta curvatura hacia el centro de la placa, lo cual es compatible con el efecto de borde o frente de disolvente curvo. Este fenómeno suele ocurrir cuando existe una fuga de gases en los bordes de la cámara de cromatografía y las diferencias entre bandas no deberían relacionarse con naturaleza química (World Health Organization, 2025). Por esta razón, la interpretación de las bandas no se basó únicamente en la coincidencia de los valores de R_f , sino que también se consideró la coloración, posición relativa y el patrón de las bandas.

De esta manera, para el análisis de la riqueza de bandas se realizó de manera individual para cada muestra, cuantificando el número de bandas visibles para cada carril sin tener en cuenta su factor de retención. En la Tabla 4 se puede observar una tabla resumen sobre los datos obtenidos del recuento de bandas y análisis de prueba pareada para cada muestra según su estado fenológico. Los resultados indican que las muestras de helechos inmaduros presentaron un promedio de $10,25 \pm 1,76$ bandas cromatográficas, mientras que las muestras de helechos maduros presentaron un promedio de $7,67 \pm 1,92$ bandas. La mediana de las muestras inmaduras fue mayor (10,5) que la mediana que presentaron las muestras maduras (8).

La prueba de pares realizada con Wilcoxon evidenció que en diez de las doce parejas hubo una disminución del número de bandas en los ejemplares maduros, mientras que dos parejas mantuvieron el mismo número de bandas. Ninguna de las parejas presentó un mayor número de bandas en los ejemplares maduros respecto a los ejemplares inmaduros. Con la prueba pareada de Wilcoxon se obtuvo que las diferencias son estadísticamente significativas

entre los estados fenológicos ($T = 0$; $p = 0,002$), con lo cual, se rechaza la hipótesis de igualdad y, por tanto, se evidencia que los ejemplares inmaduros presentan una mayor riqueza de bandas cromatográficas respecto a los maduros.

Tabla 4

*Riqueza de bandas cromatográficas según el estado fenológico de *Pteridium aquilinum* (L.)*

Kuhn

Estado fenológico	n	Media $\pm$ DE	Mediana	RIC	Min -Max
Inmaduro	12	10,25 $\pm$ 1,76	10,5	9,00-11,25	7-13
Maduro	12	7,67 $\pm$ 1,92	8,0	6,75-9,00	3-10

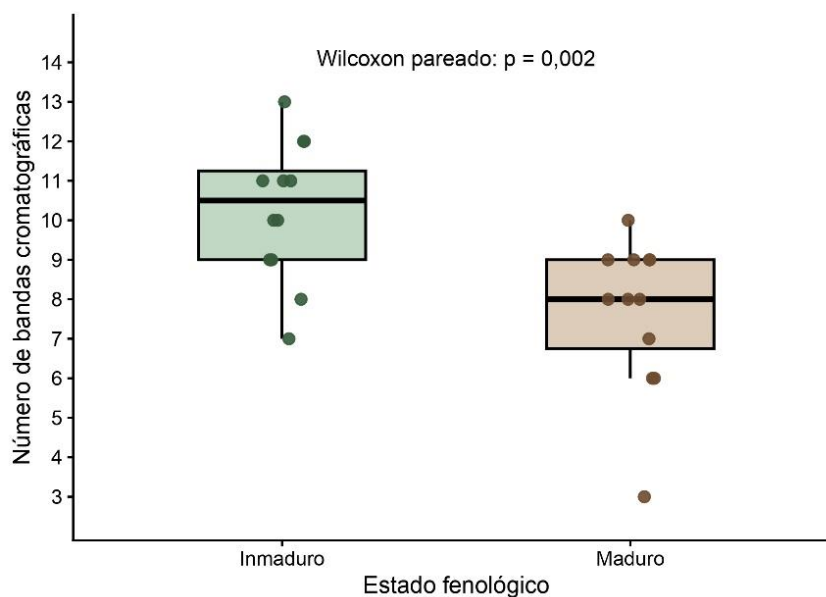
Nota. DE: desviación estándar y RIC: rango intercuartílico. La comparación se realizó mediante la prueba exacta de rangos con signo de Wilcoxon para muestras pareadas: $T = 0$ y $p = 0,002$.

Elaboración propia.

La presencia de un mayor número de bandas en los ejemplares inmaduros sugiere un perfil cromatográfico más complejo en comparación con los maduros. Este hallazgo puede estar relacionado con la diferencia de desarrollo vegetal, pues Kowalska y Sajewicz (2022) mencionan que diversos factores ambientales causan cambios ontogénicos en la composición química de los perfiles analíticos. Además, coincide con lo descrito por Malík et al. (2024) sobre las variaciones en la concentración de PTA, pterosinas y otros componentes de *P. aquilinum* (L.) Kuhn conforme se va desarrollando la fronda. Sin embargo, estos resultados solo sugieren un mayor número de compuestos, pero no confirma la presencia de un compuesto en particular o una mayor concentración de toxinas, pues únicamente se evidencia la diversidad de bandas detectables bajo las condiciones cromatográficas utilizadas en el proceso.

Figura 33

Distribución del número de bandas cromatográficas según el estado fenológico



Nota. Las cajas representan el RIC, la línea interna marca la mediana y los puntos representan a cada muestra analizada. La comparación se realizó mediante la prueba exacta de rangos con signo de Wilcoxon para muestras pareadas ($n = 12$; $T = 0$ y $p = 0,002$).

Además de la riqueza del perfil cromatográfico de las muestras, se evaluó la frecuencia de la banda cromatográfica de interés que presenta coincidencias con el Rf de 0,25 descrito por (Santa Cruz Biotechnology, 2026). En la tabla 5 se resume los datos recopilados sobre la presencia o ausencia de la banda de interés en las muestras, la cual se identificó en ocho de los doce ejemplares inmaduros (66,7 %) y en siete de los doce ejemplares maduros (58,3 %). En este caso, se empleó la prueba exacta de McNemar debido a que los datos respecto al estado fenológico son pareados (Sundjaja et al., 2023). La prueba no evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los estados fenológicos ($p=1,000$), por lo cual, aunque las muestras inmaduras presentaron una mayor riqueza total de bandas, la presencia de la banda de interés fue similar a la de las muestras maduras.

Tabla 5

Frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés bajo distintos parámetros

Factor	Categoría	Detectada n (%)	No detectada n (%)	Prueba estadística
Estado fenológico	Inmaduro	8 (66,7)	4 (33,3)	McNemar exacta
	Maduro	7 (58,3)	5 (41,7)	
	Finca 1	7 (87,5)	1 (12,5)	
Finca	Finca 2	8 (100,0)	0 (0,0)	Fisher exacta
	Finca 3	0 (0,0)	8 (100,0)	
Zona	Zona 1	7 (58,3)	5 (41,7)	Fisher exacta
	Zona 2	8 (66,7)	4 (33,3)	

Nota. Elaboración propia.

En cuanto a los resultados de la frecuencia de detección de la banda de interés por finca y zona, se empleó la prueba exacta de Fisher la cual es utilizada para variables nominales con datos binarios y muestras que no estén pareadas (Sundjaja et al., 2023). Respecto a la zona, la presencia de la banda se detectó en siete de las doce muestras de la zona 1 (58,3 %) y en ocho de las doce muestras de la zona 2 (66,7 %). La prueba exacta de Fisher no mostró una asociación estadísticamente significativa entre la zona y la detección de la banda de interés ($p = 0,001$).

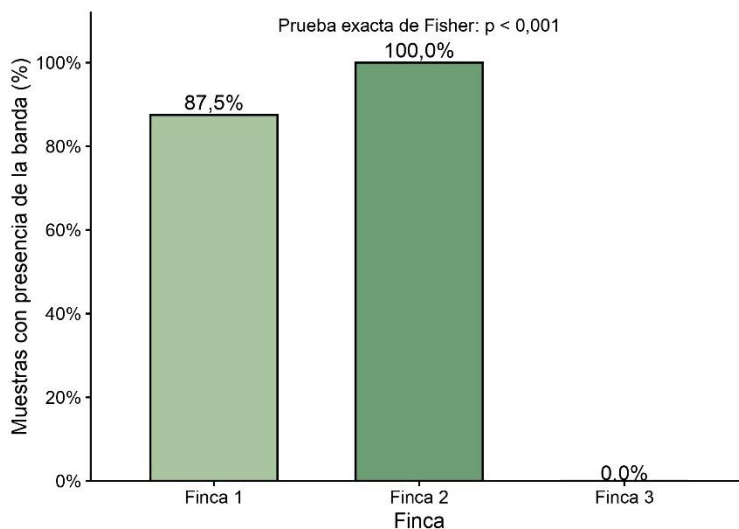
Los resultados del análisis según la finca evidencian que la presencia de la banda cromatográfica de interés sí presenta diferencias notables entre fincas. En la finca 1 se detectó la banda en siete de ocho muestras (87,5 %), en la finca 2 se detectó en todas las muestras (100 %), mientras que en la finca 3 ninguna de las ocho muestras presentó la banda (0 %) (Figura 34). La prueba exacta de Fisher resultó en una asociación estadísticamente significativa entre la finca de estudio y la detección de la banda ($p < 0,001$).

La diferencia observada entre fincas puede deberse tanto a variaciones biológicas como ambientales, pues, por un lado, la cromatografía es una técnica cuyos resultados dependen de

factores experimentales que son difíciles de controlar, como la saturación de la cámara y la viscosidad del solvente; por lo que es importante mencionar que el análisis del perfil cromatográfico es de carácter exploratorio (Poole & Poole, 2011). Dicho esto, la diferencia observada entre fincas puede deberse a varias razones, entre ellas está la influencia de factores ambientales y biológicos que influyen significativamente en la composición fitoquímica de la planta (Malík et al., 2024). Por otra parte, también podría deberse a factores experimentales como la ubicación en el borde de la placa de cromatografía (Broeckhoven & Desmet, 2007). Por lo que no podría afirmarse que el compuesto se encuentra ausente en la finca 3 únicamente por no visualizar la banda durante el proceso de revelado, pues esto puede ser muy subjetivo (Poole & Poole, 2011).

Figura 34

Frecuencia de la detección de la banda cromatográfica de interés según la finca de estudio



Nota. Las barras representan el porcentaje de muestras en las que se visualizó la banda cromatográfica de interés. La asociación se analizó usando la prueba exacta de Fisher ($p < 0,001$). Elaboración propia.

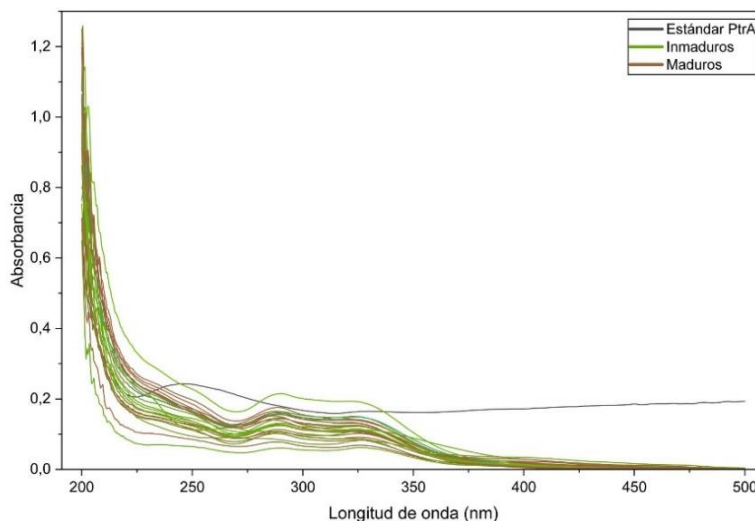
Evaluación espectral de los extractos

Con el fin de complementar los resultados obtenidos en la evaluación cromatográfica para la Pterosina A, se compararon los espectros de absorción UV de los extractos de *P. aquilinum* (L.) Kuhn con el espectro obtenido para el estándar. En la Figura 35 se puede observar que los espectros de absorción de las 24 muestras presentan una similitud entre sí, lo cual sugiere que los extractos comparten una composición química general, aunque presentan variaciones en la magnitud de la absorbancia, no se identifica una separación visual significativa entre ejemplares inmaduros y maduros. Este hallazgo sugiere que a pesar de que la bibliografía menciona que existen cambios ontogénicos en el contenido de toxinas según el estado fenológico (Malík et al., 2024), exhiben un espectro en el rango UV similar a lo largo del desarrollo de la fronda.

La diferencia en la intensidad de las curvas de las muestras puede deberse a variaciones en la concentración de los compuestos presentes, lo cual suele atribuirse a distintos factores como condiciones ambientales, geográficas y el estado fisiológico de la planta (Kisieliński et al., 2020). Respecto al estándar de la Pterosina A, se puede observar que presenta un espectro notablemente distinto, pues presenta una curva separada de las curvas obtenidas para los espectros. Esta diferencia sugiere que la respuesta UV de los extractos puede estar dominada por otros compuestos de la matriz vegetal, causando una superposición de las bandas en mezclas complejas. La superposición representa un problema para la identificación de señales individuales, es aquí donde entra la espectrofotometría derivativa, que según López-Martínez y López-de-Alba (2018) permite discriminar bandas ocultas en las anchas señales de la matriz y visualizar hombros espectrales que no se visualizan en un espectro de orden cero.

Figura 35

Espectros de absorción UV de los extractos de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn y el estándar de PtrA.



Nota. Espectros UV-Vis de los 24 extractos: estándar en negro, 12 extractos inmaduros en verde y 12 maduros en marrón, registrados entre 200 y 500 nm. Elaboración propia.

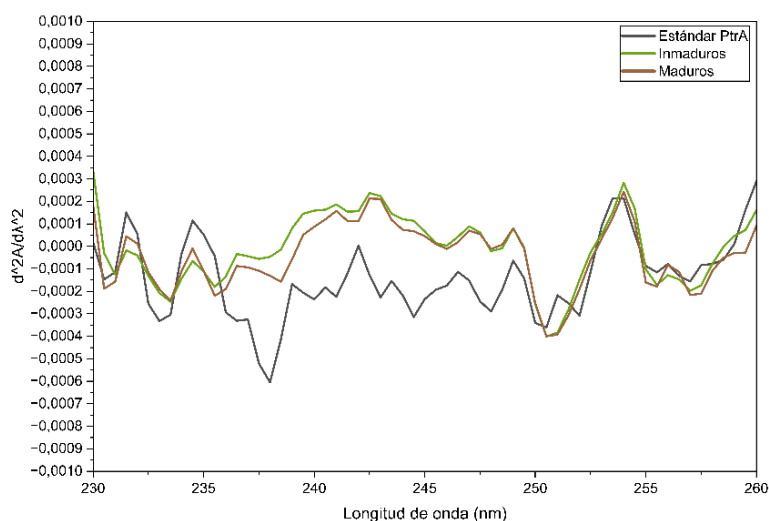
En base a esto, se calculó la segunda derivada de los espectros obtenidos para descartar que la diferencia entre los espectros de los extractos y el estándar se deba a bandas superpuestas debido a la compleja composición de metabolitos en los extractos (López-Martínez & López-de-Alba, 2018). Para la comparación de las curvas se utilizó un rango comprendido entre los 230 y 260 nm, que es donde se observó los mayores valores de absorbancia de los hombros espectrales en los extractos (236,5 nm aproximadamente) y el estándar (246,5 nm). En cuanto a las curvas de la segunda derivada promedio de las muestras inmaduras y maduras, se puede observar en la Figura 36 que presentan perfiles estrechamente parecidos, mostrando variaciones similares y una superposición durante gran parte del intervalo. Esto confirma lo ya mencionado anteriormente sobre que el estado fenológico de las muestras no produce una diferencia significativa en el espectro UV general de la matriz vegetal.

Por el contrario, cuando se compara las curvas obtenidas para las muestras analizadas frente a la curva del estándar, se observa una diferencia notoria en el patrón de las curvas, pues mientras las curvas de las muestras permanecen juntas a lo largo del intervalo, la curva del estándar se encuentra separada de estas. Aunque cerca de la zona de 250-255 nm parecen coincidir en una elevación positiva puntual, esta coincidencia puntual no puede interpretarse como una composición similar, pues el patrón de las curvas presenta más diferencias notorias que similitudes.

Es importante mencionar que, aunque los resultados obtenidos de los espectros UV de las muestras no evidenciaron una diferencia significativa entre los ejemplares maduros e inmaduros, esto no contradice los resultados obtenidos anteriormente sobre la riqueza de bandas identificadas mediante Cromatografía de Capa Fina (TLC). Pues, mientras que la TLC permite separar visualmente las fracciones individuales de la muestra vegetal (Kowalska & Sajewicz, 2022), la espectrofotometría muestra la respuesta combinada de todos los componentes presentes en dicha muestra (López-Martínez & López-de-Alba, 2018).

Figura 36

Gráfica de la segunda derivada promedio de los espectros UV de los extractos de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn y el estándar de PtrA.



Nota. En color negro se observa la curva del estándar, en verde el promedio de la segunda

derivada de las 12 muestras inmaduras y en marrón el promedio de las 12 muestras maduras.

Elaboración propia.

Los resultados obtenidos permiten asegurar que la indetectabilidad de bandas comparables con la banda de la Pterosina, en las muestras de los helechos de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn recolectados en Plaza Gutiérrez no estuvo relacionada con errores técnicos durante el proceso de la cromatografía de capa fina, pues se pudo verificar por dos métodos adicionales que en efecto no existe coincidencias entre las muestras y el estándar. Sin embargo, la ausencia de coincidencias no implica que la Pterosina no se encuentre presente en las muestras, sino que su concentración pudo estar por debajo de los límites de detección de la metodología aplicada (Shah et al., 2026), o verse afectada por diferentes factores durante todo el proceso de laboratorio llevado a cabo o incluso por el origen de las muestras (Aguirre et al., 2023).

Durante el procesamiento de las muestras, una de las etapas más críticas es el secado, pues O'Connor et al. (2019) mencionan que tras un proceso de secado se han visto pérdidas sustanciales de pterosinas y sus precursores. Aunque en el proceso se utilizó una temperatura controlada de 35 °C, la manipulación excesiva y el tiempo de secado son variables que pueden causar la degradación de la toxina (Rincón Alarcón et al., 2016). De igual forma, la detección indirecta de los glucósidos de iludano va a depender de su conversión total a pterosinas mediante el proceso de hidrólisis (Aguirre et al., 2023). Si bien se siguió un protocolo basado en Kisielius et al. (2020), los mismos autores mencionan que cualquier variación que haga que las condiciones de pH, temperatura o tiempo de incubación no sea óptimas, derivarán en la formación de otros productos de degradación en lugar de pterosinas.

Asimismo, la presencia de componentes como lípidos y clorofilas en la matriz vegetal pueden limitar el método analítico al enmascarar señales de interés (Poole & Poole, 2011). Por esta razón, se decidió implementar un proceso de desengrasado mediante extracción líquido-líquido con el objetivo de eliminar dichas interferencias, aunque es un método fácil de ejecutar,

Tzima et al. (2020) reportaron que su eficiencia es menor en comparación con otros métodos y que puede dejar residuos en la matriz vegetal, lo cual, pudo afectar los resultados obtenidos. Finalmente, a todas estas limitaciones se le suman los factores ambientales, pues está más que evidenciado que las condiciones ambientales y geográficas afectan en el contenido de toxinas en helechos del género *Pteridium*. De hecho, Marrs y Watt (2006) mencionan que la concentración del PTA es menor en helechos que se encuentran a alturas superiores a los 1700 m.s.n.m., y dado que los puntos de muestreo en Plaza Gutiérrez estuvieron entre los 1837 y 2206 m.s.n.m., es probable que el contenido de compuestos de iludano en los ejemplares recolectados fuera bajo inicialmente.

Correlación de la presencia de toxinas con la incidencia de HEB

Los resultados obtenidos sobre la presencia de la banda cromatográfica de interés en las muestras de helechos maduros e inmaduros obtenidos anteriormente se utilizaron para evaluar la relación entre la frecuencia de detección de la banda de interés y la prevalencia clínica de HEB a nivel de finca en la parroquia de Plaza Gutiérrez. Cabe recalcar que la banda cromatográfica de interés se utilizó únicamente como un indicador exploratorio de la variación en el perfil fitoquímico de los extractos. Su uso en el análisis de correlación no implica que el compuesto responsable de la señal correspondiera a prunasina, ni que esté relacionado con el desarrollo de HEB. Simplemente se usa como un indicador del posible potencial tóxico del helecho muestreado, por lo que su interpretación fue completamente indirecta, descriptiva y no causal.

Para esto, se utilizó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman, una prueba estadística que permite cuantificar la asociación entre variables según los rangos de cada grupo de sujetos y es útil para casos en los que se trabaja con un tamaño de muestra pequeño (Ortega et al., 2009). Dado que la HEB es una enfermedad relacionada con la exposición del ganado a toxinas del helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, la frecuencia de señales químicas asociadas con la posible presencia de toxinas en la planta sugiere que los animales de la zona

de estudio probablemente tengan una disponibilidad constante a dichas toxinas y, asimismo, de acumularlas en su organismo para posteriormente desarrollar la enfermedad (Feito et al., 2026). En la Tabla 6 la prevalencia clínica de HEB se observa únicamente en las fincas 1 y 2 con valores del 25,0 %, lo cual puede relacionarse con estudios previos en regiones andinas del Ecuador, que reportan incidencias variables de la enfermedad en áreas infestadas por helechos del género *Pteridium* (Calderón et al., 2011).

Por otro lado, en la finca 3 no se registraron animales positivos para la HEB (0,0 %), y es aquí donde el empleo del método de Wilson para el cálculo del intervalo de confianza en muestras pequeñas es de gran utilidad para expresar qué tan confiable son los resultados obtenidos (Cepeda Cuervo et al., 2008). De esta manera, el límite superior del 43,4 % obtenido para la finca 3 demuestra que no es posible afirmar que la enfermedad está ausente en la zona, sino que los casos positivos para la HEB pudieron no haber sido capturados dentro del pequeño grupo de estudio. Una de las razones por las cuales puede ser que no se haya detectado la enfermedad, es que probablemente los animales se encontraban en la fase inicial, conocida como microhematuria, la cual se caracteriza por no presentar síntomas lo que representa una limitación para la detección de la enfermedad en etapas tempranas (Calderón et al., 2014).

En cuanto a la correlación de la frecuencia de la banda cromatográfica de interés y la incidencia de HEB en las fincas de estudio, se puede observar que muestran un patrón similar, con frecuencias del 87,5 % (Finca 1) al 100 % (Finca 2) en fincas positivas a HEB y la ausencia total de la señal en la finca 3. Esta distribución dio como resultado una correlación de dirección positiva, lo que coincide con la bibliografía sobre que el consumo constante del helecho abre paso al desarrollo de lesiones neoplásicas en la vejiga (Rodríguez-Salazar & Chacón-Villalobos, 2023). De igual forma, O'Connor et al. (2019) mencionan que el tiempo de inicio y la gravedad de la HEB están relacionados con el grado de exposición a los compuestos bioactivos del helecho. Por lo tanto, los resultados sugieren que existe una concordancia entre

la posible presencia de compuestos tóxicos en el helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y la incidencia de HEB en la zona de estudio.

Tabla 6

Prevalencia clínica de HEB y frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés

Finca	Bovinos evaluados con HEB	Porcentaje de HEB, % (IC 95 %)	Inmaduros con banda n/N (%)	Maduros con banda n/N (%)	Total con banda n/N (%)
Finca 1	2/8	25,0 (7,1- 59,1)	4/4 (100,0)	3/4 (75,0)	7/8 (87,5)
Finca 2	2/8	25,0 (7,1- 59,1)	4/4 (100,0)	4/4 (100,0)	8/8 (100,0)
Finca 3	0/5	0,0 (0,0-43,4)	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	0/8 (0,0)

Nota. HEB: Hematuria Enzoótica Bovina; IC 95 %: intervalo de confianza del 95 % calculado mediante el método de Wilson.

Para la correlación entre la frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés y la prevalencia clínica de HEB en fincas de la parroquia Plaza Gutiérrez, se utilizó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman (ρ_s). Este método es recomendado cuando los datos presentan una distribución no normal o cuando el tamaño de muestra es reducido. Dado que las unidades de estudio son solo tres (número de fincas), es decir una muestra pequeña, el cálculo de los valores de p se obtuvo mediante permutaciones para obtener una estimación fiable de la probabilidad (Ortega et al., 2009).

En la Tabla 7, se puede observar que los ejemplares inmaduros presentan una correlación positiva perfecta ($\rho_s=1,000$), lo que se interpreta como una concordancia total, es decir, el comportamiento de ambas variables sigue el mismo orden: las fincas con mayor frecuencia en la detección de la banda cromatográfica de interés fueron también las mismas fincas que presentan animales con HEB. Este resultado coincide con lo mencionado por Rincón Alarcón et al. (2016) sobre que los helechos jóvenes suelen presentar mayores niveles de PTA

y otros compuestos tóxicos, además de que presentan mayor palatabilidad para el ganado (Pacheco & Cevallos, 2020).

Por otro lado, tanto los ejemplares maduros como el conjunto total de muestras se obtuvo una correlación positiva elevada ($\rho_s = 0,866$), lo cual sugiere que existe una relación la frecuencia de la detección de la banda de interés y la incidencia de HEB en las fincas de estudio. Este hallazgo es consistente con lo ya antes mencionado sobre la correlación inequívoca entre el contenido de toxinas en el hebrecho y la prevalencia de HEB en áreas de pastoreo (Vetter, 2022). Sin embargo, la falta de significancia estadística ($p = 0,333$ y $p = 0,667$) indica que, utilizando un nivel de confianza del 95 %, no es posible asegurar que dichas concordancias no hayan sido al azar debido al número pequeño de datos analizados (Ortega et al., 2009).

Tabla 7

Correlación entre la detección de la banda cromatográfica de interés y la prevalencia de HEB

Categoría	ρ_s	p exacto	Interpretación
Ejemplares inmaduros	1,000	0,333	Positiva perfecta; no significativa
Ejemplares maduros	0,866	0,667	Positiva elevada; no significativa
Total de ejemplares	0,866	0,667	Positiva elevada; no significativa

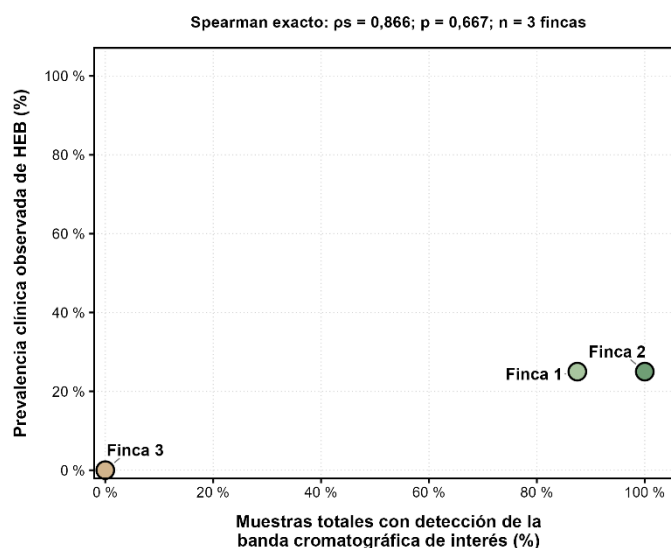
Nota. HEB: Hematuria Enzoótica Bovina; ρ_s : coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Los valores de p fueron calculados mediante las seis permutaciones posibles para tres fincas. Se consideró un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

En la Figura 37, se puede observar de manera gráfica la correlación entre ambas variables de estudio: frecuencia de detección de banda cromatográfica de interés y prevalencia clínica de HEB. Específicamente, la finca 3 se puede observar que se encuentra ubicada en el punto de origen (0;0), es decir, donde la ausencia de bandas de interés coincide con la

ausencia de casos de HEB. Sin embargo, aunque los resultados obtenidos sugieren que existe una correlación positiva entre las variables analizadas, se debe tener en cuenta que el coeficiente de Spearman es meramente matemático y libre de relaciones causa-efecto, por lo tanto, los resultados deben ser considerados estrictamente como exploratorios (Ortega et al., 2009). A esto se suma la baja sensibilidad de la Cromatografía de Capa Fina (TLC), donde la detección de bandas es subjetiva y depende de los límites de detección de concentración, por lo que no se puede asegurar la presencia o ausencia de un compuesto en las muestras analizadas sin utilizar algún otro método analítico más especializado (Poole & Poole, 2011).

Figura 37

Relación entre la frecuencia total de detección de banda de interés y la prevalencia de HEB



Nota. HEB: Hematuria Enzoótica Bovina; evaluada mediante el coeficiente exacto de correlación de rangos de Spearman ($\rho_s = 0,866$; $p = 0,667$; $n = 3$). Cada punto representa una finca: verde claro (Finca 1), verde oscuro (Finca 2) y amarillo (Finca 3). Elaboración propia.

Capítulo V

Conclusiones

La caracterización macroscópica y microscópica de los ejemplares muestreados de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en la parroquia de Plaza Gutiérrez confirmó la presencia de rasgos morfológicos característicos de la especie y permitió diferenciar las frondas maduras de las inmaduras. Las frondas presentaron una lámina dividida en pinnas y pínulas, con un contorno marcadamente deltoide, además de un indumento compuesto por pelos simples y ausencia de escamas. En cuanto al estado fenológico, las frondas inmaduras presentaron una coloración verde brillante, mientras que las frondas maduras una tonalidad más oscura. En el margen de las pínulas se identificó la formación de un cenosoro continuo protegido por un falso indusio originado por el repliegue del margen de la lámina. Gracias al análisis microscópico de las estructuras reproductivas mediante tinción con azul de toluidina se reconocieron esporangios de tipo leptosporangiado, constituidos por una cápsula con un anillo mecánico, cuya coloración varió de color claro a oscuro según el grado de maduración, además del estomio, la pared de la cápsula y las esporas. En conjunto, estas estructuras reproductivas presentaron características compatibles con el género *Pteridium* y respaldaron la identificación botánica de las muestras analizadas.

No se detectó la presencia de Pterosina A en ninguna de las 24 muestras analizadas mediante la cromatografía de capa fina, resultado que fue respaldado mediante espectrofotometría derivativa, descartando que el resultado obtenido haya sido causado por errores técnicos. Este hallazgo no confirma que la Pterosina A no esté presente en las muestras, sino simplemente que no fue posible detectarla probablemente porque se encuentra fuera del límite de detección, lo cual puede estar relacionado con diferentes factores tanto de laboratorio, como las condiciones naturales de la muestra en sí. Sin embargo, el método de extracción realizado resultó en la obtención de un perfil fitoquímico complejo para las muestras,

el cual permitió detectar la presencia de una banda con un factor de retención cercano a 0,25; lo cual coincide con valores bibliográficos sobre la prunasina, un compuesto tóxico característico del helecho macho. Aunque no se pudo confirmar la presencia de ninguna toxina en las muestras, las evidencias sugieren que las muestras presentan una diversa composición química con una probable relevancia toxicológica.

Se correlacionó la frecuencia de detección de la banda cromatográfica de interés y la prevalencia clínica de HEB en las fincas de estudio de Plaza Gutiérrez, lo cual evidenció una asociación positiva, aunque no estadísticamente significativa debido al número reducido de datos. En base a esto, no se puede establecer que exista una relación de causalidad, sin embargo, sí resulta consistente con la hipótesis exploratoria de una posible relación entre la exposición a compuestos del helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y el desarrollo de la HEB en animales de la zona de estudio.

Recomendaciones

Se recomienda evaluar tiempos y temperaturas de secado, o alternativas como la liofilización, con el fin de minimizar la posible degradación de compuestos de interés durante el procesamiento de las muestras. Así como también, probar diferentes condiciones de protocolos como la hidrólisis, macerado y desengrasado con el objetivo de optimizar la conversión de glucósidos iludanos a sus productos de degradación detectables y evitar la formación de productos no deseados.

Se recomienda confirmar la identidad de la banda cromatográfica compatible con prunasina, así como también la ausencia o presencia de la Pterosina A, mediante técnicas analíticas más específicas como HPLC o espectrometría de masas, que permitan la detección de compuestos a bajas concentraciones y una identificación inequívoca del compuesto.

Se recomienda ampliar el número de fincas y puntos de muestreo en estudios futuros, con el fin de mejorar la precisión y reducir la incertidumbre de las pruebas estadísticas para el análisis de la correlación entre presencia de toxinas en muestras vegetales y la incidencia de

HEB en el ganado de la zona de estudio. Se recomienda también evaluar otras variables respecto a las muestras vegetales, como muestreos en distintas épocas del año, rangos altitudinales más amplios, diferentes partes de la planta, entre otros; con el fin de evaluar a mayor profundidad la influencia de diferentes factores sobre la concentración de compuestos tóxicos en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

Referencias

- Aguilar Dorantes, K. M. (2014). *Manejo del helecho Pteridium arachnoideum y susceptibilidad de helechos al herbicida glifosato* [Tesis de doctorado, Instituto de Ecología, A.C.]. <http://inecol.edu.mx>
- Aguirre, L. S., Martínez, O. G., Gardner, D. R., Barbeito, C. G., & Micheloud, J. F. (2023). Determination of ptaquiloside in ten species of *Pteris* in northwestern Argentina. *Toxicon*, 233, 107260. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107260>
- Alonso-Amelot, M. E., Oliveros, A., Calcagno, M. P., & Arellano, E. (2001). Bracken adaptation mechanisms and xenobiotic chemistry. *Pure and Applied Chemistry*. <https://doi.org/10.1351/pac200173030549>
- Alonso-Amelot, M. E., Pérez-Mena, M., Calcagno, M. P., Jaimes-Espinoza, R., & Castillo, U. (1992). Ontogenic variation of biologically active metabolites of *Pteridium aquilinum* (L. Kuhn) pterosins A and B, and ptaquiloside in a bracken population of the tropical andes. *Journal of Chemical Ecology*, 18(8), 1405-1420. <https://doi.org/10.1007/BF00994365>
- Amouzgar, L., Ghorbani, J., Shokri, M., Marrs, R. H., & Alday, J. G. (2022). A regional assessment of the *Pteridium aquilinum* growth and phenology: A case study in Southwestern Asia. *Landscape and Ecological Engineering*, 19(1), 137-150. <https://doi.org/10.1007/s11355-022-00528-4>
- Atkinson, T. P. (1989). Seasonal and altitudinal variation in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn: Frond and stand types. *New Phytologist*, 113(3), 359-365. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb02414.x>
- Báez Gómez, A. S. (2023). *Detección del área de invasión del helecho haza Pteridium aquilinum (L.) Kuhn mediante el uso de drones por técnicas de fotometría y propuesta de prevención y corrección en los sectores delimitados con maleza en la zona de Intag "Las Delicias"*. <https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/42802>

- Bele, A., & Khale, A. (2011). An overview on thin layer chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 256–267.
- Borena, B. M., Sarba, E. J., Eteya, W. T., Feyissa, N., Bayu, M. D., Kebede, B., & Tola, G. K. (2025). Assessment of the occurrence of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle and management practices in Cheliya, Jibat, and Dire Inchini districts of West Shewa Zone, Oromia, Ethiopia. *Ethiopian Veterinary Journal*, 29(1), 91-115.
<https://doi.org/10.4314/evj.v29i1.6>
- Broeckhoven, K., & Desmet, G. (2007). Approximate transient and long time limit solutions for the band broadening induced by the thin sidewall-layer in liquid chromatography columns. *Journal of Chromatography A*, 1172(1), 25-39.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.09.052>
- Burgos-Álvarez, D., Chacon, A., & Villalobos Villalobos, L. (2021). Consumo de Helecho Macho (*Pteridium caudatum*) e inocuidad láctea en bovinos de Coto-Brus, Puntarenas. *Nutrición Animal Tropical*, 15, 42-68. <https://doi.org/10.15517/nat.v15i2.48299>
- Calderón, Á. A., Mancebo, B., Sánchez, L. M., Chiriboga, X., Lucero, D. C., & Marrero, E. (2013). Niveles de ptaquilósido en muestras de leche bovina en granjas de San Miguel de Bolívar, provincia Bolívar, Ecuador.
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:128384272>
- Calderón, Á., Marrero, E., Bulnes, C., & Silva, J. (2015). Diagnóstico epidemiológico y clínico de la hematuria enzoótica bovina en la provincia Bolívar, Ecuador. *Revista de Investigación Talentos*, 2(1), 1-12.
- Calderón, Á., 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 de Salud Animal*, 33(3), 197-202.

- Calderón, Á., 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), 19-19.
- Cañarte Bermúdez, E., Peñaherrera Colina, L. A., Navia Santillán, D., Vera Coello, D. I., Macas Guamán, L., Paz Carrasco, L., Duchicela Escobar, J., & Garcés, S. (2020). *Catálogo de organismos asociados a especies agrícolas en la Provincia de Galápagos Ecuador*. Quito, EC: INIAP, Estación Experimental Litoral Sur 2020.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5532>
- Carey, F. A., & Sundberg, R. J. (2007). Addition, Condensation and Substitution Reactions of Carbonyl Compounds. En *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms* (pp. 629-711). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-44899-2_7
- Cepeda Cuervo, E., Aguilar, W., Cervantes, V., Corrales Bossio, M., Díaz, I., & Rodríguez, D. (2008). Intervalos de confianza e intervalos de credibilidad para una proporción. *Revista Colombiana de Estadística*, 31(2), 211-228.
- Coffey, E. E. D., Froyd, C. A., & Willis, K. J. (2011). When is an invasive not an invasive? Macrofossil evidence of doubtful native plant species in the Galápagos Islands. *Ecology*, 92(4), 805-812. <https://doi.org/10.1890/10-1290.1>
- Curatola Fernández, G. F., Silva, B., Gawlik, J., Thies, B., & Bendix, J. (2013). Bracken fern frond status classification in the Andes of southern Ecuador: Combining multispectral satellite data and field spectroscopy. *International Journal of Remote Sensing*, 34(20), 7020-7037. <https://doi.org/10.1080/01431161.2013.813091>
- D'Emanuele Ares, C., Accoroni, C., Ferigutti, L., Godoy, E., & Reinheimer, M. A. (2017). Análisis de la molienda de expeller de soja evaluando la performance de diferentes tipos de molinos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16(2), 415-424.
<http://hdl.handle.net/20.500.12123/7414>

- Department of Natural Resources and the Environment, Cornell University. (2024). *Causes of thiamine deficiency*. http://thiamine.dnr.cornell.edu/Thiamine_causes.html
- Falbo, M. K., Reis, A. C. F. dos, Balarin, M. R. S., Bracarense, A. P. F. R. L., Jr, J. P. A., Okano, W., & Sandini, I. E. (2005). Alterações hematológicas, bioquímicas, urinárias e histopatológicas na intoxicação natural em bovinos pela samambaia *Pteridium aquilinum* (L.) Kühn. *Semina: Ciências Agrárias*, 26(4), 547-558. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2005v26n4p547>
- Feito, I., Peña, A. E., Sierra, L. M., Alvarez, J. M., Lucía Rodríguez, M., Barredo, B., Iglesias, I., Velázquez, A., Bartolomé, A., Díaz, D., Hernández, R. K., Majada, J., Canga, E., & Fernández, H. (2026). Environmental exposure to bracken-derived carcinogenic compounds: A multidisciplinary assessment in northern Spain. *Environmental Research*, 305, 124917. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2026.124917>
- García-Jorgensen, D., Diamantopoulos, E., Kisielius, V., Rosenfeld, M., Rasmussen, L., Strobel, B., & Hansen, H. (2021). Bracken growth, toxin production and transfer from plant to soil: A 2-year monitoring study. *Environmental Sciences Europe*, 33. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00484-0>
- 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., Povey, A., Medeiros-Fonseca, B., Ramwell, C., O'Driscoll, C., Williams, D., Hansen, H. C. B., Rasmussen, L. H., Fletcher, M. T., O'Connor, P., Bradshaw, R. H. W., Robinson, R., & Mason, J. (2024). Sixty years of research on bracken fern (*Pteridium* spp.) toxins: Environmental exposure, health risks and recommendations for bracken fern control. *Environmental Research*, 257, 119274. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119274>

Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Santa Ana de Cotacachi. (2019, octubre).

Mapa de parroquias de Cotacachi.

Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Plaza Gutiérrez. (2026). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial—PARROQUIA PLAZA GUTIÉRREZ 2023-2037.*
<https://gadplazagutierrez.gob.ec/>

Guaraca Medina, T. A. (2020). *Identificación de Ptaquilósido y Pterosina A en el helecho Hypolepis parallelogramma (Kuntze) C. Presl, una especie consumida en Napo, Ecuador* [Thesis, Universidad Regional Amazónica IKIAM].
http://repositorio.ikiam.edu.ec/jspui/handle/RD_IKIAM/556

Guo, J., Ma, Y., Huang, H., Liu, J., Peng, C., & Shu, J. (2025). Establishment and application of a rapid identification strategy for Pterosins using UPLC-QTOF-MS/MS techniques. *Journal of Chromatography A*, 1758, 466169.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2025.466169>

Karapinar, T., Dabak, M., & Kizil, O. (2010). Thiamine status of feedlot cattle fed a high-concentrate diet. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(11), 1251-1253.

Kato-Noguchi, H., & Kato, M. (2026). *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn—A review of its toxicology, pharmacology, and phytochemistry. *Plants*, 15(3), 469.
<https://doi.org/10.3390/plants15030469>

Keskin, F., Noone, H., Dickman, M. J., Allen, E., Mulcrone, W. D., Rasmussen, L. H., Bruun Hansen, H. C., O'Connor, P. J., Povey, A. C., Margison, G. P., & Williams, D. M. (2025). Bracken fern carcinogen, ptaquiloside, forms a guanine O6-adduct in DNA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(2), 1053-1061.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c07187>

Kisielius, V., Lindqvist, D. N., Thygesen, M. B., Rodamer, M., Hansen, H. C. B., & Rasmussen, L. H. (2020). Fast LC-MS quantification of ptesculentoside, caudatoside, ptaquiloside

- and corresponding pterosins in bracken ferns. *Journal of Chromatography B*, 1138, 121966. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121966>
- Kowalska, T., & Sajewicz, M. (2022). Thin-Layer Chromatography (TLC) in the screening of botanicals—Its versatile potential and selected applications. *Molecules*, 27(19), 6607. <https://doi.org/10.3390/molecules27196607>
- Li, K., Zhang, T., Ren, H., Zhao, W., Hong, S., Ge, Y., Li, X., & Corke, H. (2023). Structural and physicochemical properties of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) starch. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1201357>
- López-Martínez, L., & López-de-Alba, P. (2018). Una introducción a la espectrometría de derivadas. *Educación Química*, 4, 160-170. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.1993.3.66813>
- Malík, M., Mika, O. J., Navrátilová, Z., Killi, U. K., Tlustoš, P., & Patočka, J. (2024). Health and environmental hazards of the toxic *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (bracken fern). *Plants*, 13(1), 18. <https://doi.org/10.3390/plants13010018>
- Marrero, E., Bulnes, C., Sánchez, L. M., Palenzuela, I., Stuart, R., Jacobs, F., & Romero, J. (2004). Chronic toxicity in cattle due to *Pteridium aquilinum* (bracken fern) in Tarija Department, Bolivia: An interdisciplinary investigation. En *Poisonous plants and related toxins* (pp. 248-252). <https://doi.org/10.1079/9780851996141.0248>
- 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>
- Mukwevho, R., Adelabu, S. A., Van Der Walt, A., Jackson, C. M., & Durowoju, O. S. (2025). Uncovering critical windows: Phenological monitoring of *Pteridium aquilinum* for early detection and management in the Drakensberg. *Geomatica*, 77(2), 100073. <https://doi.org/10.1016/j.geomat.2025.100073>

- O'Brien, T. P. (1963). The morphology and growth of *Pteridium aquilinum* var. *esculentum* (Forst.) Kuhn. *Annals of Botany*, 27(2), 253-267.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083843>
- O'Connor, P. J., Alonso-Amelot, M. E., Roberts, S. A., & Povey, A. C. (2019). The role of bracken fern illudanes in bracken fern-induced toxicities. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.05.001>
- Øllgaard, B. (1993). *Scandinavian Ferns: A Natural History of the Ferns, Clubmosses, Quillworts, and Horsetails of Denmark, Norway and Sweden* (1st ed.). Rhodos.
- Ortega, R. M. M., Pendás, L. C. T., Ortega, M. M., Abreu, A. P., & Cánovas, A. M. (2009). El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman caracterización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 8(2).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180414044017>
- Otgonsugar, P., Undrakhbayar, T., & Byambajav, T. (2018). Determination of ptaquiloside in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Mongolian Journal of Agricultural Sciences*, 25(03), 37-42.
<https://doi.org/10.5564/mjas.v25i03.1169>
- Öztürk, Ş. (2022). *What is Stevia rebaudiana: Only a Sweetener or More?* (pp. 61-89), https://www.researchgate.net/publication/360915204_What_is_Stevia_rebaudiana_Only_a_Sweetener_or_More.
- Pacheco, L. M. M., & Cevallos, I. P. M. (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.
- Page, C. N. (1976). The taxonomy and phytogeography of bracken—A review. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 73(1-3), 1-34. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1976.tb02010.x>
- Peternel, L., Sokač Cvetnić, T., Gajdoš Kljusurić, J., Jurina, T., Benković, M., Radojčić Redovniković, I., Jurinjak Tušek, A., & Valinger, D. (2024). The effects of drying and

- grinding on the extraction efficiency of polyphenols from grape skin: Process optimization. *Processes*, 12(6), 1100. <https://doi.org/10.3390/pr12061100>
- Plants of the World Online | Kew Science*. (2026). [Base de datos]. Plants of the World Online. <https://powo.science.kew.org/results?q=pteridium>
- Poole, S. K., & Poole, C. F. (2011). High performance stationary phases for planar chromatography. *Journal of Chromatography A, Planar Chromatography*, 1218(19), 2648-2660. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.10.072>
- Potter, D. M., & Baird, M. S. (2000). Carcinogenic effects of ptaquiloside in bracken fern and related compounds. *British Journal of Cancer*, 83(7), 914-920. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2000.1368>
- Pteridium aquilinum* subsp. *aquilinum* (L.) Kuhn. (s. f.). *Plantas Silvestres de España*. Recuperado 14 de julio de 2026, de <https://hoseito.com/producto/pteridium-aquilinum-subsp-aquilinum-l-kuhn-in-kerst/>
- Ramírez-Velázquez, R., Abarca-Acero, M. A., Contreras-Magallanes, Y. G., Arieta-Román, R., & Sánchez-Salcedo, J. A. (2019). Physicochemical and phytochemical analysis of *Pteridium aquilinum* and its relationship with Bovine Enzootic Hematuria (BEH). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.e361909>
- 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)
- Rincón Alarcón, D., Díaz, G., & Gardner, D. (2016). Detección de ptaquilósido en diferentes estados fenológicos de «helecho macho» (*Pteridium aquilinum*) y análisis de muestras de leche en granjas con hematuria en Tolima, Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 11, 72-77. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.11.1.7>

- Rincón-Barón, E.-J., Guerra, B.-E., Sandoval-Meza, A.-X., & Espinosa-Matías, S. (2020).
Ontogenia de los esporangios y esporogénesis del helecho *Phymatosorus scolopendria*
(Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 68(2), 655-668.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v68i2.39676>
- Ríos-Gutiérrez, M., Domingo, L. R., & Alonso-Amelot, M. E. (2017). A DFT Study of the
Conversion of Ptaquiloside, a Bracken Fern Carcinogen, to Pterosin B in Neutral and
Acidic Aqueous Medium. *ChemistrySelect*, 2(26), 8178-8186.
<https://doi.org/10.1002/slct.201701409>
- Robles Santi, E. I. (2023). *Revisión de la información sobre estudios biológicos del helecho*
Pteridium aquilinum en las Islas Galápagos. <https://hdl.handle.net/20.500.14809/5501>
- Rodríguez-Salazar, M., & Chacón-Villalobos, A. (2023). La biotoxina ptaquilósido en helechos
del género *Pteridium*. *Agronomía Mesoamericana*, 49755-49755.
<https://doi.org/10.15517/am.v34i1.49755>
- Romero Solano, C. R. (2008). *Efectos de algunas prácticas, solas y combinadas, para el control*
de Helechos Pteridium aquilinum en potreros [Tesis de Grado, Escuela Superior
Politécnica del Litoral]. <http://espol.edu.ec>
- Sánchez, C. A., Carvajal Perdomo, S. A., Monroy Garzón, J. A., & Bohórquez Garzón, A. J.
(2022). *Guía para la determinación de contenido de humedad en granos y cereales*.
Instituto Nacional de Metrología de Colombia (INM). [https://inm.gov.co/wp-](https://inm.gov.co/wp-content/uploads/2022/11/17_2022_GUIA-DETERMINACION-CONTENIDO-DE-HUMEDAD.pdf)
[content/uploads/2022/11/17_2022_GUIA-DETERMINACION-CONTENIDO-DE-](https://inm.gov.co/wp-content/uploads/2022/11/17_2022_GUIA-DETERMINACION-CONTENIDO-DE-HUMEDAD.pdf)
[HUMEDAD.pdf](https://inm.gov.co/wp-content/uploads/2022/11/17_2022_GUIA-DETERMINACION-CONTENIDO-DE-HUMEDAD.pdf)
- Santa Cruz Biotechnology. (2026). (S)-Prunasin | CAS 99-19-4. [https://www.scbt.com/p/s-](https://www.scbt.com/p/s-prunasin-99-19-4)
[prunasin-99-19-4](https://www.scbt.com/p/s-prunasin-99-19-4)
- Saransig León, H. I., Chiriboga-Ortega, R. D., Velarde-Cruz, E., & Oña-Rocha, T. (2024).
Estado de conservación de helechos y licofitas en los andes occidentales del Ecuador.
Acta Biológica Colombiana, 29(3), 14-23. <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.91406>

- Schwartsburd, P. B., Perrie, L. R., Brownsey, P., Shepherd, L. D., Shang, H., Barrington, D. S., & Sundue, M. A. (2020). New insights into the evolution of the fern family *Dennstaedtiaceae* from an expanded molecular phylogeny and morphological analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 150, 106881. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106881>
- Shah, D. J., Singh, A., Yadav, M. K., Mahto, I. K., Roy, A., Kumari, S., Gorai, N. K., Bara, A., Kumari, N., Marandi, R. M., Prasad, A., & Neshab, A. (2026). Thin Layer Chromatography: A comprehensive review. *International Journal Research Publication Analysis*, 2(1), 1-12. <https://doi.org/10.1555/ijrpa.2520>
- Sharma, S., Dahiya, D. prashad, Sharma, A., Rana, P., & Bharti, S. (2024). Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) -Toxic and carcinogenic effects on human and animals. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(04), 340-347. (World). <https://doi.org/10.5281/zenodo.10932874>
- Silva, E. C. da, Villa, F., Silva, D. F. da S., Possenti, J. C. P., Masiero, M. A. M., & Cruz, M. S. F. V. (2024). How to store araticum seeds and maintain their physiological quality: Storage periods and packaging of araticum. *Comunicata Scientiae*, 15, e4231-e4231. <https://doi.org/10.14295/cs.v15.4231>
- Silva, M. A. da, Scárdua, C. M., Dórea, M. D., Nunes, L. de C., Martins, I. V. F., & Donatele, D. M. (2009). Prevalência de hematúria enzoótica bovina em rebanhos leiteiros na microrregião do Caparaó, Sul do Espírito Santo, entre 2007 e 2008. *Ciência Rural*, 39(6), 1847-1850. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000121>
- Skrbic, N., Pedersen, A.-K., Christensen, S. C. B., Hansen, H. C. B., & Rasmussen, L. H. (2020). A novel method for determination of the natural toxin ptaquiloside in ground and drinking Water. *Water*, 12(10), 2852. <https://doi.org/10.3390/w12102852>

- Štefanić, E., Zima, D., Gantner, V., Antunović, S., & Japundžić-Palenkić, B. (2022). Botanical characteristics, toxicity and control of bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn). *Zbornik Veleučilišta u Rijeci*, 10(1), 467-478. <https://doi.org/10.31784/zvr.10.1.26>
- Sundjaja, J. H., Shrestha, R., & Krishan, K. (2023). McNemar and Mann-Whitney U tests. En *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560699/>
- Swain, S. S., Nayak, S., Mishra, S., Ghana, M., & Dash, D. (2025). Exploring the plant growth promoting attributes of pteridophyte-associated microbiome for agricultural sustainability. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 31(2), 211. <https://doi.org/10.1007/s12298-025-01553-x>
- Tabata, R. C. (2024). *Thin-layer chromatography (TLC)*. EBSCO Information Services, Inc. <https://www.ebsco.com/research-starters/chemistry/thin-layer-chromatography-tlc>
- The Polistes Corporation. (2026). *Map of Pteridium aquilinum*. Discover Life. https://www.discoverlife.org/mp/20m?r=.5&t_la=-10.5&t_lo=53.5&kind=Pteridium+aquilinum&flags=col3:&place=target
- Thomson, J. (2014). Taxonomic status of diploid southern hemisphere brackens (*Pteridium: Dennstaedtiaceae*). *Telopea*. <https://openjournals.library.sydney.edu.au/TEL/article/view/5774>
- Tillaguango-Pintado, J., Muñoz-Chamba, L., Muñoz, J., & Aguirre, Z. (2023). Caracterización poblacional de *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon y su vegetación asociada al páramo antrópico del sur del Ecuador. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 20(47), 40-57. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v20i47.6820>
- Tryon, R. M. (1941). A revision of the genus *Pteridium*. *Rhodora*, 43, 1-31, 37-67.
- Tzima, K., Brunton, N. P., & Rai, D. K. (2020). Evaluation of the impact of chlorophyll removal techniques on polyphenols in rosemary and thyme by-products. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3), e13148. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13148>

- Valdez-Ramírez, C., Levy-Tacher, S. I., León-Martínez, N. S., Navarrete-Gutiérrez, D. A., & Ortiz-Ceballos, Á. 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(2), 289-300.
<https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.464>
- Verde, G., García, M., Chavera, A., Gonzáles, C., & Falcón, N. (2017). Diagnóstico Clínico de la Hematuria Vesical Enzoótica Bovina por Urianálisis de la Provincia de Oxapampa, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(3), 522-529.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v28i3.13286>
- Vetter, J. (2022). The norsesquiterpene glycoside ptaquiloside as a poisonous, carcinogenic component of certain ferns. *Molecules*, 27(19), 6662.
<https://doi.org/10.3390/molecules27196662>
- World Health Organization. (2025). *1.18 High Performance Thin-Layer Chromatography* (Working document QAS/25.984). World Health Organization.
<https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/current-projects/2025-07-15-hptlc-qas25-984-fpc.pdf>
- Wu, J. S., Clauson-Kaas, F., Lindqvist, D. N., Rasmussen, L. H., Strobel, B. W., & Hansen, H. C. B. (2021). Does the natural carcinogen ptaquiloside degrade readily in groundwater? *Environmental Sciences Europe*, 33(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00468-0>
- Xinhua Net Guizhou. (2024, enero). 贵州岑巩：藏在蕨粑里的乡愁记忆 (Guizhou Cengong: *Hidden Memories of Nostalgia in Bracken Rice Cakes*).
<http://gz.news.cn/20240130/97db69319b9b435d883b16f4d15f1423/c.html>
- Yahara, Y., Takemori, H., Okada, M., Kosai, A., Yamashita, A., Kobayashi, T., Fujita, K., Itoh, Y., Nakamura, M., Fuchino, H., Kawahara, N., Fukui, N., Watanabe, A., Kimura, T., & Tsumaki, N. (2016). Pterisin B prevents chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis in

mice by inhibiting Sik3. *Nature Communications*, 7(1), 10959.

<https://doi.org/10.1038/ncomms10959>

Yañez, A. (2016). *Estudios morfológicos y ultraestructurales en esporas de Dennstaedtiaceae de la Provincia Fitogeográfica Paranaense* [Tesis, Universidad Nacional de La Plata].

<https://doi.org/10.35537/10915/51669>

Apéndices

Apéndice A

Tabla 1A

Coordenadas geográficas y altitudes de los puntos de muestreo en la parroquia Plaza Gutiérrez

Punto de muestreo	Coordenadas	Altitud
PG-F1-Z1-M1	0,350217; -78,495127	1916
PG-F1-Z1-M2	0,350587; -78,495278	1919
PG-F1-Z2-M1	0,351052; -78,4955	1941
PG-F1-Z2-M2	0,351768; -78,495248	1939
PG-F2-Z1-M1	0,342928; -78,488377	2176
PG-F2-Z1-M2	0,342952; -78,488067	2197
PG-F2-Z2-M1	0,34422; -78,48835	2155
PG-F2-Z2-M3	0,343902; -78,488398	2171
PG-F3-Z1-M1	0,377483; -78,46914	1973
PG-F3-Z1-M2	0,377387; -78,468875	1976
PG-F3-Z2-M1	0,378598; -78,464597	2005
PG-F3-Z2-M2	0,379195; -78,464152	2009

Nota. Elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la aplicación Wikiloc.

Tabla 2A*Resultados del procesamiento de muestras de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn*

Código	Muestra	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Peso molido (g)	Pérdida agua (g)	Humedad (%)	Rendimiento molido (%)
PG-F1-Z1-M1	M1	33,05	14,50	7,0620	18,55	56,13	48,70
PG-F1-Z1-I1	I1	21,95	9,87	3,3939	12,08	55,03	34,39
PG-F1-Z1-M2	M2	34,54	14,95	7,6812	19,59	56,72	51,38
PG-F1-Z1-I2	I2	25,07	10,80	4,3003	14,27	56,92	39,82
PG-F1-Z2-M1	M3	40,60	15,79	8,1372	24,81	61,11	51,53
PG-F1-Z2-I1	I3	22,38	9,90	3,5100	12,48	55,76	35,45
PG-F1-Z2-M2	M4	23,14	11,04	4,5598	12,10	52,29	41,30
PG-F1-Z2-I2	I4	35,97	13,66	5,7076	22,31	62,02	41,78
PG-F2-Z1-M1	M5	32,90	14,30	6,7690	18,60	56,53	47,34
PG-F2-Z1-I1	I5	34,17	12,00	5,3998	22,17	64,88	44,99
PG-F2-Z1-M2	M6	38,43	16,55	8,9351	21,88	56,93	53,99

Código	Muestra	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Peso molido (g)	Pérdida agua (g)	Humedad (%)	Rendimiento molido (%)
PG-F2-Z1-I2	I6	38,40	13,65	6,4663	24,75	64,45	47,37
PG-F2-Z2-M1	M7	40,50	17,39	7,4513	23,11	57,06	42,85
PG-F2-Z2-I1	I7	20,18	9,92	4,0030	10,26	50,84	40,35
PG-F2-Z2-M2	M8	39,74	16,13	8,5493	23,61	59,41	53,00
PG-F2-Z2-I2	I8	32,85	12,02	4,8241	20,83	63,41	40,13
PG-F3-Z1-M1	M9	40,36	15,35	8,2608	25,01	61,97	53,82
PG-F3-Z1-I1	I9	40,80	9,84	3,4525	30,96	75,88	35,09
PG-F3-Z1-M2	M10	41,95	15,58	8,2211	26,37	62,86	52,77
PG-F3-Z1-I2	I10	31,84	9,51	3,0703	22,33	70,13	32,28
PG-F3-Z2-M1	M11	38,88	19,56	9,0775	19,32	49,69	46,41
PG-F3-Z2-I1	I11	40,37	13,78	6,6391	26,59	65,87	48,18
PG-F3-Z2-M2	M12	44,12	16,02	9,1758	28,10	63,69	57,28

Código	Muestra	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Peso molido (g)	Pérdida agua (g)	Humedad (%)	Rendimiento molido (%)
PG-F3-Z2-I2	I12	40,00	12,96	5,3626	27,04	67,60	41,38

Nota. Los valores de humedad y rendimiento de molienda se determinaron a partir de los cálculos de los pesos que se registraron durante el procesamiento de muestras.