# 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 Vacas Galindo

Villarroel Palacios Cielle Berenisse

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




Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
GRACE TATIANA PAEZ BARRERA

**Grace Tatiana Páez Barrera, Mgtr.**

**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 Vacas Galindo**" fue realizado por la señorita **Villarroel Palacios, Cielle Berenisse,** 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 revisado 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, 19 de agosto de 2026.**

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
GRACE TATIANA PAEZ BARRERA

**Tatiana Páez Barrera, Mgtr.**

**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, **Villarroel Palacios, Cielle Berenisse**, con cédula de ciudadanía Nro. 1725198186, 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 Vacas Galindo**", 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, 19 de agosto de 2026.**

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
CIELLE BERENISSE
VILLARROEL PALACIOS

**Villarroel Palacios, Cielle Berenisse**

**C.C.: 1725198186**

**Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura**

**Carrera de Biotecnología**

## Autorización de Publicación

Yo **Villarroel Palacios, Cielle Berenisse**, con cédula/cédulas de ciudadanía Nro. 1725198186, 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 Vacas Galindo**", en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

**Sangolquí, 19 de agosto de 2026.**

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
CIELLE BERENISSE VILLARROEL PALACIOS

**Villarroel Palacios, Cielle Berenisse**

**C.C.: 1725198186**

## Dedicatoria

A mi valiente mamá Elizabeth. Este trabajo es el resultado de tu amor, crianza, apoyo y sacrificio que has hecho por mí, gracias por ser un hombro y sostén cuando más lo he necesito. Asimismo, agradezco tu perseverancia y constancia. Admiro la mujer que eres y como me has inspirado en este largo camino. Agradezco profundamente el cariño y el trabajo que día a día hiciste para que nunca me faltara nada.

A mi papá Holguer. Te dedico este trabajo en agradecimiento al apoyo y educación que me has brindado. Gracias por tu amor y consejos que han sido importantes en mi vida. Agradezco tú sacrificio y luz que han guiado mi camino para poder llegar hasta donde estoy. Mi amor y gratitud siempre estarán contigo. Este trabajo es un reflejo de la guía, enseñanza y amor que has sido para mí.

Para mi hermana Pame, que es uno de los mejores regalos que la vida me ha dado. Me ha enseñado y acompañado en cada paso importante que he dado. Gracias por hacer mi vida más divertida, y por sobre todo ser mi guía. Eres una mujer inspiradora, gracias por creer en mí y siempre hacerme reír cuando más lo he necesitado.

A mis abuelitos y a mí tío que siempre me han acompañado y han estado para mí, gracias por su esfuerzo y amor que me han brindado a lo largo de mi vida. Gracias por estar presente en cada logro y siempre sacarme delante de cualquier adversidad, hoy en día soy los valores, crianza y amor que me han inculcado desde pequeña.

Este logro es para ustedes, los amo y atesoro con todo mi corazón.

## Agradecimiento

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Mgtr.Tatiana Páez, directora de este proyecto, gracias por su guía, apoyo y cariño que me ha brindado a lo largo de este camino. Su dedicación es digna de admirar y respetar, estoy feliz de haya formado parte de esta aventura. Esta investigación no hubiera sido posible sin su apoyo.

De igual forma agradezco a la Doctora Blanca Naranjo, por su apoyo, paciencia y la dedicación durante este trayecto. Su acompañamiento fue esencial en el desarrollo de este proceso, gracias por aportarme conocimientos y consejos, que sin duda fueron recibidos con mucho cariño.

Agradezco a mi mamá, papá y hermana. Por siempre estar pendiente de mí.  Gracias por su apoyo, constancia y amor. Gracias a cada uno de ustedes soy la mujer que hoy día lucha por sus metas y sueños, soy el relejo de la fuerza y amor del cual me han rodeado a lo largo de mi vida.

Quiero, asimismo, expresar mi agradecimiento a mi mejor amiga Allison, que siempre ha estado apoyándome he inspirándome. Su amistad ha sido fundamental para mí, estoy agradecida por la persona tan buena y honesta que es. Quien ha estado presente desde la infancia, y compartido muchos recuerdos. Esta nueva etapa la comparto contigo, gracias por las aventuras vividas.

Por último, a todos mis queridos amigos, que siempre me han sacado una risa cuando más lo he necesitado. Gracias, por ser buenos amigos y compañeros, son increíbles personas.

Con todo mi cariño y gratitud a cada uno de ustedes.

# Índice de contenidos

Certificación ....3
Responsabilidad de Autoría ....4
Dedicatoria....6
Agradecimiento ....7
Resumen ....15
Abstract....16
Capítulo I ....17
Introducción ....17
Antecedentes....17
Planteamiento del problema....18
Formulación del problema o pregunta de investigación....19
Objetivos....20
Objetivo general: ....20
Objetivos específicos:....20
Justificación ....20
Capítulo II ....21
Estado del arte....21
Marco teórico ....29
Pteridium aquilinum (L.) Kuhn (Helecho Macho)....29
Origen y distribución botánica ....30
Descripción botánica ....32
Crecimiento del rizoma y de las raíces ....34
Esporulación....35
Reproducción del esporofito ....36

Germinación de esporas de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn .....38
Composición fitoquímica y toxicidad .....39
Toxinas en el Helecho Macho .....40
Tipo de Toxinas Presentes .....40
Ptaquilósido (Características y estructura química) .....41
Otros compuestos tóxicos obtenidos de la degradación del ptaquilósido .....42
Mecanismos de Acción de las Toxinas .....44
Hidrolisis del ptaquilósido .....44
Formación de la dienona .....44
Caudatósido y pterosina A .....45
Toxicidad y manifestaciones clínicas .....46
Papilomavirus bovino (BPV) .....46
Síndrome hemorrágico agudo .....46
Toxicidad en equinos, ovinos y caprinos .....46
Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) .....47
Marco conceptual .....48
Helecho macho Pteridium aquilinum (L.) Kuhn .....48
Finca lechera y áreas de pastoreo .....49
Hematuria Enzoótica Bovina .....49
Toxicidad vegetal .....50
Metabolitos secundarios .....50
Glucósidos iludanos .....51
Ptaquilósido .....51
Caudatósido .....51
Ptesculentósido .....52
Pterosinas .....52

Estado fenológico ..... 53
Helecho inmaduro ..... 53
Helecho maduro ..... 54
Muestras Vegetales ..... 54
Extracto vegetal ..... 55
Cromatografía de capa fina ..... 55
Parámetros básicos Rf ..... 55
Capítulo III ..... 56
Metodología ..... 56
Enfoque de investigación ..... 56
Tipo y diseño de investigación ..... 56
Población y muestra ..... 57
Técnica e instrumento ..... 57
Validación y confiabilidad del instrumento ..... 58
Consideraciones éticas ..... 59
Recolección de muestras vegetales y macerado ..... 59
Caracterización Botánica ..... 68
Metodología para la correlación de la presencia de toxinas en el helecho macho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn con la incidencia de (HEB) ..... 68
Capítulo IV ..... 68
Análisis y discusión de los resultados ..... 68
Caracterización botánica del helecho macho ..... 68
Porcentaje de masa vegetal seca ..... 74
Cromatografía de capa fina TLC ..... 78
Análisis Estadístico ..... 88

Correlacionar la presencia de toxinas en el helecho macho (Pteridium aquilinum (L.) Kuhn) con la incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB).....93
Prevalencia clínica observada de HEB.....94
Diferencias de HEB entre fincas.....95
Correlación con pterosina en helechos inmaduros.....97
Correlación con pterosina en helechos maduros.....98
Positividad total de pterosina A con HEB.....98
Capítulo V.....102
Conclusiones.....102
Recomendaciones.....103
Referencias:.....104

# Índice de tablas

**Tabla 1** Clasificación taxonómica de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....31

**Tabla 2** 24 muestras codificadas.....61

**Tabla 3** Porcentaje de humedad y materia seca .....75

**Tabla 4** Promedio por finca .....76

**Tabla 5** Promedio 24 muestras .....76

**Tabla 6** Valores de Rf estado fenológico maduro.....81

**Tabla 7** Valores de Rf estado fenológico inmaduro .....82

**Tabla 8** Presencia de la toxina en las veinticuatro muestras .....83

**Tabla 9** Frecuencia general de presencia Pterosina A .....88

**Tabla 10** Frecuencia de presencia Pterosina A por estado fenológico .....90

**Tabla 11** Coordenadas de las 24 muestras.....93

**Tabla 12** Prevalencia clínica observada de HEB por finca .....94

# Índice de figuras

**Figura 1** Cromatografía de capa fina (TLC).....23

**Figura 2** HPLC.....24

**Figura 3** LC-MS .....26

**Figura 4** *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....30

**Figura 5** Distribución geográfica a nivel mundial de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....31

**Figura 6** Partes de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....33

**Figura 7** Partes de brotes y hojas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....34

**Figura 8** Rizoma y raíces de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....35

**Figura 9** Esporangio de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn .....36

**Figura 10** Ciclo de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn .....37

**Figura 11** Estructura del ptaquilósido (PTA) .....42

**Figura 12** Mecanismo de acción del ptaquilósido y formación de dienona intermediaria .....45

**Figura 13** Ptaquilósido, pterosina y sus derivados .....45

**Figura 14** Ceguera causada en ovejas por consumo de en *Pteridium aquilinum* .....47

**Figura 15** Manifestación de signos clínicos ante HEB.....48

**Figura 16** Frondes con estado fenológico maduro e inmaduro de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....60

**Figura 17** Esquema de recolección de muestras .....60

**Figura 18** Recolección de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.....61

**Figura 19** Secado de las muestras vegetales en estufa.....63

**Figura 20** Proceso de la maceración de muestras vegetales .....64

**Figura 21** Proceso de concentrado con nitrógeno gaseoso de muestras vegetales.....65

**Figura 22** Proceso de colocación de etanol acuoso en las 24 muestras .....65

**Figura 23** Proceso de colocación de n-heptano en las 24 muestras .....66

**Figura 24** Veinticuatro muestras después de la hidrolisis básica .....67

**Figura 25** Corrida de las placas en fase móvil diclorometano etanol 9:1.....67

**Figura 26** Caracterización botánica de fronde maduro haz.....69

**Figura 27** Caracterización botánica de fronde maduro envés .....69

**Figura 28** Espora madura caracterización .....70

**Figura 29** Caracterización botánica de fronde inmaduro haz .....70

**Figura 30** Caracterización botánica de fronde inmaduro envés .....71

**Figura 31** Espora inmadura caracterización.....71

**Figura 32** Estándar de pterosina A .....79

**Figura 33** Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho maduro.....80

**Figura 34** Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho maduro bajo luz UV .....80

**Figura 35** Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho inmaduro.....81

**Figura 36** Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho inmaduro bajo luz UV .....82

**Figura 37** Frecuencia general de Pterosina .....89

**Figura 38** Frecuencia de Pterosina A según estado fenológico.....90

**Figura 39** Frecuencia de Pterosina A por finca .....92

**Figura 40** Prevalencia clínica de HEB por finca .....95

**Figura 41** Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A en helechos inmaduros .99

**Figura 42** Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A en helechos maduros....99

**Figura 43** Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A total.....100

## Resumen

El Ecuador debido a su ubicación geográfica, es uno de los países con mayor biodiversidad contando con el 10% de plantas descritas en el planeta, con alrededor de dieciocho mil especies identificadas, de las cuales mil cuatrocientos veinte y dos especies pertenecen a las pteridofitas o helechos. El helecho macho *Pteridium aquilinum (L.) Kuhn* de la familia Dennstaedtiaceae es una planta herbácea, raramente arbustiva distribuido a nivel mundial. A este helecho se le atribuye propiedades tóxicas, específicamente para los animales que lo consumen. Actualmente, en Ecuador se han detectado problemas en el área de sanidad de ganado bovino, ya que, su consumo como alimento puede causar diversas enfermedades, de las cuales en el país no se dispone de suficiente información y estudios científicos.

*P. aquilinum* es una planta que puede llegar a ser mortal, posee compuestos como; glucósidos illudanos, ptaquilósidos, caudatósidos, ptesculentósidos, metabolitos dienónicos inestables y pterosinas, que causan enfermedades urinarias, hematuria y cáncer en vejiga del ganado bovino. Este estudio determinó la presencia de toxinas en el helecho macho *P. aquilinum*, en dos estados fenológicos de la planta, en brotes maduros como brotes inmaduros. Se colectaron muestras de helecho en varias fincas con antecedentes de presencia de hematuria en su ganado bovino, en la parroquia de Vacas Galindo, cantón Cotacachi, Imbabura. Estas muestras vegetales fueron conservadas, posteriormente secadas y molidas, para la extracción y detección de los compuestos tóxicos mediante la técnica de cromatografía de capa fina, tomando como respaldo el uso del estándar de este compuesto tóxico, así la fase móvil de diclorometano: metanol (9:1) para la identificación de las toxinas presentes, se identificó la presencia de pterosina A en 9 de 12 muestras inmaduras (75 %) y en 8 de 12 muestras maduras (66,67 %). Estos resultados obtenidos en la cromatografía de capa fina fueron correlacionados con los resultados de los análisis de sanidad animal previamente realizados en las fincas de esta zona de estudio.


*Palabras clave:* helechos, toxinas, hematuria, cromatografía de capa fina.

## Abstract

Due to its geographical location, Ecuador is one of the most biodiverse countries in the world, boasting 10% of the planet's described plant species, with approximately eighteen thousand identified species, of which one thousand four hundred and twenty-two belong to the pteridophytes, or ferns. The bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), from the Dennstaedtiaceae family, is a herbaceous plant, rarely shrubby, distributed worldwide. This fern is attributed with toxic properties, specifically for animals that consume it. Currently, in Ecuador, problems have been detected in the area of bovine health, since its consumption as food can cause various diseases, about which there is insufficient information and scientific studies in the country.

*P. aquilinum* is a plant that can be deadly; it contains compounds such as; Illudan glycosides, ptaquilosides, caudatosides, ptesculentosides, unstable dieneone metabolites, and pterosines, which cause urinary tract diseases, hematuria, and bladder cancer in cattle, were studied. This study determined the presence of these toxins in bracken fern (*P. aquilinum*) at two phenological stages of the plant: mature and immature shoots. Fern samples were collected from several farms with a history of hematuria in their cattle, located in the parish of Vacas Galindo, Cotacachi canton, Imbabura province. These plant samples were preserved, subsequently dried and ground, for the extraction and detection of toxic compounds using thin-layer chromatography. The standard for this toxic compound was used as a buffer, and the mobile phase was dichloromethane:methanol (9:1). Pterosin A was identified in 9 of 12 immature samples (75%) and in 8 of 12 mature samples (66.67%). These results obtained from thin-layer chromatography were correlated with the results of animal health analyses previously performed on farms in this study area.


*Keywords:* ferns, toxins, hematuria, thin-layer chromatography.

# Capítulo I

# Introducción

## Antecedentes

*Los helechos y sus generalidades:*

Los helechos son ejemplo de uno de los linajes vegetales con mayor antigüedad, a causa de que poseen más de 400 millones de años de evolución. Esto explica la capacidad de adaptación y diversificación a lo largo del tiempo (Marrs & Watt, 2006; Sanz, 2024). A diferencia de las plantas que poseen flores, los helechos tiene una distribución global más amplia y una tasa de extinción menor en comparación con otras especies.

El ciclo de vida de un helecho tiene dos fases: gametofito y esporofito, la primera etapa es haploide y sexual, mientras que la segunda es diploide y asexual. La fase gametofito consiste en varias etapas, desde la formación de las esporas producto de la meiosis, hasta la formación de gametos maduros (Matongera et al., 2021). La fase esporofita inicia con la formación del embrión producto de la fecundación, continuando hasta la formación de las esporas (Seral, 2022).

El esporofito es la etapa fundamental del ciclo de vida, conocido comúnmente como helecho, este posee una estructura conformada por brotes. Que crecen de manera directa desde los rizomas subterráneos y se desarrolla en hojas, denominado como fronda. Las frondas se encuentran unidas a los rizomas por medio de largos estipes que son denominados peciolos (Marrs & Watt, 2006). Estas frondas suelen crecer entre 0,3 y 3 m de largo. Caracterizándose por ser bipinnadas y se dividen en pinnas que son foliolos (Delgadillo et al., 2022). Las pinnas se dividen en pínulas. Las frondas son fértiles y producen esporas en los soros (esporangios), que se encuentran localizadas en el envés de las pínulas. Una sola fronda logra producir cerca de 300 millones de esporas por año (Seral, 2022).

Ecuador es considerado uno de los países con mayor diversidad biológica por espacio geográfico, debido a que posee una flora vascular alrededor de 18 mil especies, en donde 1.422 corresponden a pteridofitas o helechos, 18 a gimnospermas y 16.308 angiospermas, entre ellos se encuentra el helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Castro, 2013; Guala et al., 2022).

*Pteridium aquilinum (*L.) Kuhn, es conocido de manera común como helecho águila en Sudamérica por la forma de sus frondas, y en el norte de Ecuador se lo conoce como helecho macho, esta especie pertenece a la familia Dennstaedtiaceae. El género *Pteridium*, posee alrededor de 20 especies diferentes, incluido *P*. *aquilinum*, Que representa a uno de los géneros más antiguos. Es una especie diploide 2n = 108 cromosomas (Guala et al., 2022; Salazar & Villalobos, 2023).

Asimismo, existen poblaciones que son citotipo triploide, es decir, 2n = 162 cromosomas, en diferentes partes del mundo. Esta especie tiene diversidad genética y plasticidad fenotípica en el mundo. Se debe a su capacidad de adaptación ante las condiciones ambientales como lo es temperaturas extremas, precipitación, humedad, tipo de suelo y pH (Salazar & Villalobos, 2023; Seral, 2022).

Debido a esta diversidad genética y su capacidad de adaptación *P. aquilinum* está ampliamente distribuido en Europa, África del Norte, Asia Oriental y América del Norte y Central (Salazar & Villalobos, 2023). Esta especie se caracteriza por habitar en sitios como campos agrícolas, áreas quemadas, pastizales y bosques(Calderón et al., 2015).

## Planteamiento del problema

La prevalencia de la hematuria enzoótica bovina (HEB), como una enfermedad que provoca que las vacas orinen sangre, disminuyan su peso y vitalidad, en las fincas lecheras y de producción de carne de la parroquia rural de Vacas Galindo, no ha sido diagnosticada y estudiada de manera científica y técnica, a pesar que dentro de esta parroquia, la ganadería es una de sus principales fuentes de ingreso económico, siendo así una actividad de sustento

para las familias locales (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Vacas Galindo, 2023).

La parroquia de Vacas Galindo carece de acceso a centros de salud veterinaria, se registra además una deficiencia del manejo sanitario en los hatos ganaderos y falta de infraestructura adecuada, haciendo de estos factores la causa conflicto para el control adecuado de esta enfermedad. Asimismo, la falta de estudios del helecho *P. aquilinum* y su toxicidad causan dificultades para poder implementar, en definitiva, medidas preventivas ante esta problemática.

La presencia de este helecho macho, en las zonas de pastoreo en la parroquia de Vacas Galindo representa sin lugar a duda un riesgo para la salud del animal (Silva et al., 2023). *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, es una especie vegetal con una alta concentración de toxinas, y el consumo prolongado del helecho puede llegar a generar daños hepáticos, vesicales y problemas graves y hasta la muerte del animal (Salazar & Villalobos, 2023).

Esta especie es considerada la única planta que puede causar a nivel directo cáncer en los animales (Potter & Baird, 2000). De igual forma, se ha convertido en una de las malezas con gran importancia a nivel mundial, a causa de que aparte de ser tóxica, se adapta a diversos factores ambientales, por eso, se dificulta su erradicación (Yoplac, 2024).

## Formulación del problema o pregunta de investigación

¿Cúales son las carácteriscticas morfológicas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn*,* en los diferentes estados fenológicos evaluado en la parroquia de Vacas Galindo?

¿Los helechos *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en su estado fenológico inmaduro poseen una mayor positividad a pterosina A que los helechos *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en su estado fenológico maduro?

¿Hay relación entre la posible presencia de pterosina A y la incidencia de Hematuria enzoótica bovina*?*

## 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 Vacas Galindo.

### *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 Vacas Galindo.

## Justificación

En América Latina, se ha identificado la presencia de helechos del género *Pteridium*, este es consumido por los animales causando enfermedades graves (Potter & Baird, 2000) . A causa de su consumo, los animales se exponen a un cuadro crónico de intoxicación, y en casos más graves el desarrollo de Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) (Yoplac, 2024).

Este helecho contiene toxinas que, al ser consumida por el ganado, provoca hemorragias a nivel interno y daños en los órganos (Salazar & Villalobos, 2023). La prevalencia de HEB se da en las regiones ganaderas como lo es la parroquia de Vacas Galindo. Por ello, la enfermedad causa preocupación en los ganaderos, dado a las pérdidas económicas que surgen, ante la disminución de la producción de leche en los animales afectados, perjudicando de forma directa, a las familias que se viven de esta actividad (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Vacas Galindo, 2023).

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, contiene propiedades tóxicas. El nivel de toxicidad varía a lo largo de su ciclo, la toxicidad es mayor en el estado inmaduro (Ribeiro et al., 2020). Lo cual representa un riesgo para el animal que lo consume (Salazar & Villalobos, 2023).

Se ha identificado al glucósido norsesquiterpeno; ptaquilósido (PT), este es un metabolito secundario, responsable de la toxicidad de esta planta. Este compuesto y sus análogos son los causantes de la carcinogénesis (Potter & Baird, 2000). Tal como, la degeneración de la retina en ovinos y en bovinos aplasia mieloide (Rincón et al., 2016).

El control de la HEB es fundamental para asegurar la salud del animal y mejorar la calidad de vida de los ganadores. Por consiguiente, se busca evaluar la presencia de toxinas en estado fenológico maduro e inmaduro, del helecho macho para comprender la variabilidad y los riesgos ante la intoxicación en el ganado bovino.

## Capítulo II

## Estado del arte

Hoy en día, existen varias investigaciones que han permitido identificar el potencial tóxico de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y su relación con la Hematuria enzoótica boniva (HEB), en diferentes partes del mundo.

El ptaquilósido es un metabolito secundario norsesquiterpeno, que está relacionado con la toxicología del helecho (Vetter, 2022). Este compuesto causa modificaciones genéticas, carcinogénesis, y daño severo en los animales. Al mismo tiempo, se menciona que la concentración de este compuesto varía, sus niveles oscilan de 13,000 µg$g^{-1}$(ppm), hasta 14,703 µg$g^{-1}$(ppm)l, se verá influenciado por factores ambientales. Ante condiciones de alcalinidad esta molécula pierde su glucosa y forma una dienona que tiene un anillo ciclopropilo, es reactivo y capaz de interactuar con macromoléculas a nivel celular (Marrero & Calderón, 2012).

Otros autores como, Kushida et al. (1994), mencionan que estos compuestos tóxicos pueden llegar a causar la alquilación de las adeninas del ADN, en el surco menor secuencia 5'-

TAG y 3'-A en 5'-AA-3'. De la misma forma, afecta a las guaninas alquilándolas en N7 del surco mayor del ADN en dirección 5'-TG. Estas alquilaciones pueden generar mutaciones de tipo protooncogénicas.

Potter y Baird (2000), indican que esta toxina, provoca carcinogénesis, como consecuencia cáncer mamario. En un modelo experimental aplicado en ratas hembra, se administró por vía oral el ptaquilósido, generando cáncer en los mismos. Por ello, el consumo directo de este helecho puede causar intoxicación en los animales, llegando hasta perfiles de tipo carcinogénicos.

Ante estos efectos carcinogénicos y mutagénicos causador por el consumo del helecho, los investigadores han desarrollado metodologías que ayudan a la detección e identificar, por medio de diversos protocolos para las toxinas. Los métodos más destacados para *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, son técnicas cromatográficas, reacciones de coloración de perfil fitoquímico, y cuantificación por métodos como HPLC (Rincón et al., 2016).

Los estudios iniciales sobre la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) se enfocaron en el análisis a muestras clínicas de bovinos con síntomas de hematuria crónica como; pérdida de peso, anemia y lesiones en la vejiga (Potter & Baird, 2000). Luego, la investigación se enfocó en el análisis de compuestos fitoquímicos presentes en la especie de *Pteridium,* especialmente en los glucósidos de tipo illudano, responsables de causar efectos genotóxicos y carcinogénicos (Gil da Costa et al., 2024).

Gil da Costa et al. (2024), mencionan que la toxina más estudiada de este helecho es el ptaquilosido, sin embargo, hay otras toxinas presentes importantes, como ptaquilósido, caudatoside, ptesculentoside y pterosina, por esta razón, la importancia de estudiar esta especie.

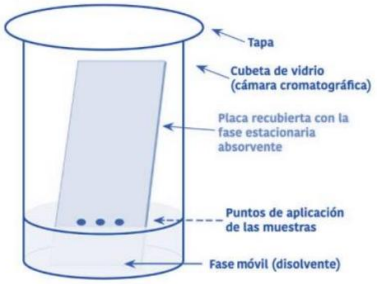
Otgonsugar et al. (2018), identificaron las toxinas presentes en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, por medio de una cromatografía de capa fina (TLC) y HPLC, donde evaluaron diferentes muestras: procesadas, sin procesar y con esporas. Para así poder evaluar la cantidad de

toxinas presentes según el tratamiento aplicado. Primero realizaron una cromatografía de capa fina para identificar los metabolitos presentes, después se desarrolló una cromatografía liquida de alta resolución para cuantificar ptaquilósido. El análisis se complementó con pruebas de perfil fitoquímico para evaluar presencia/ usencia de: saponinas, flavonoides y proteínas totales.

La técnica de cromatografía de capa fina TLC se basa en la separación de compuestos basada en la diferencia de afinidad de los metabolitos o moléculas ante una fase estacionaria sólida y una fase móvil liquida, los compuestos se distribuyen a lo largo de la placa en función a sus propiedades químicas y físicas, como lo es la polaridad y solubilidad (Kowalska & Sajewicz, 2022).

**Figura 1**

*Cromatografía de capa fina (TLC)*



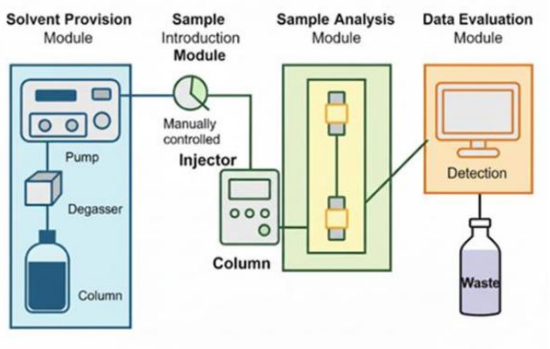

*Nota.* Esquema representativo de cómo funciona la cromatografía de capa fina ascendentemente. Tomado de *Cromatografía en capa fina y columna* (Figura 2, p. 3), por A. M. Méndez, J. G. Penieres Carrillo y F. Ortega Jiménez, 2023, Universidad Nacional Autónoma de México (CC BY-NC-ND 4.0).

A diferencia de la técnica de cromatografía de alta resolución HPLC. Se basa en la separación, identificación y cuantificación de compuestos, su principio es la diferencia de afinidad de los analitos ante la fase estacionaria y la fase móvil, según las interacciones especificas entre las dos fases se da la separación de los compuestos químicos, los componentes con mayor afinidad por la fase estacionaria corren lentamente por la columna

(Quintela et al., 2005). La fase estacionaria está constituida por matrices especiales, y la fase móvil es acuosa (Shaikh & Uzgare, 2025).

**Figura 2**

*HPLC*




*Nota.* Esquema gráfico del funcionamiento de una cromatografía de alta resolución (HPLC). Tomado de “High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): Principle, Applications, and the Role of Artificial Intelligence—A Review” (Figura 1, p. 2), por F. M. R. Shaikh y A. S. Uzgare, 2026, Journal of Microbiology.

Estudios científicos identificaron la presencia de una toxina en específico, el ptaquilósido, mediante HPLC (Quintela et al., 2005). Este compuesto se encontró en todas las muestras evaluadas, pero su concentración varió ante cada tratamiento, las muestras con espora alcanzaron valores de 49,68 µg/g, mientras que las muestras procesadas indicaron valores más inferiores de 0,41 µg/g.(Otgonsugar et al, 2018).

Asimismo, los autores indican que las técnicas de cromatografía son las más efectivas para detectar la presencia de toxinas en las muestras, este estudio indica que es importante evaluar diferentes tejidos de la planta, ya que algunos brotes presentan mayor potencial toxicológico.

Mientras que, Rincón et al. (2016), desarrollaron una investigación enfocada en detectar la presencia de ptaquilósido en diferentes estados fenológicos de *Pteridium aquilinum* mediante cromatografía. Los autores analizaron muestras en fincas con precedentes de Hematuria

enzoótica bovina, para determinar qué estado fenológico presenta mayor cantidad de toxinas, por otra parte, evaluaron muestras de leche procedentes de estos animales.

Se aplicó métodos de extracción química para las muestras recolectas en diferentes estados fenológicos frondas maduras e inmaduras, y con estos extractos, se empleó una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), mediante la misma técnica cromatográfica se analizaron las muestras de leche bovina.

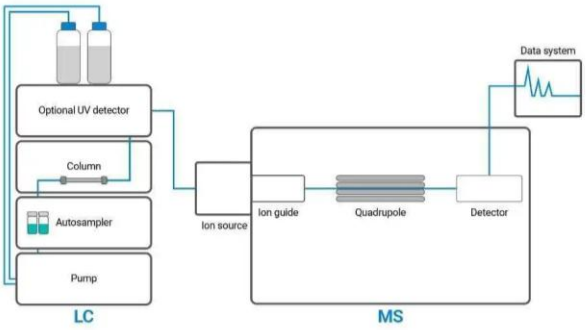
Los resultados indicaron que la mayor presencia de toxina se observa en los estados fenológicos tempranos de la planta, con valores de concentraciones 1 mg/g en relación con materia seca, indicando que los brotes tiernos son aquellos que poseen un mayor potencial toxicológico. A diferencia de los resultados con las muestras de leche, que no cuantificaron ptaquilósido, posiblemente por efectos adversos como mala manipulación de la muestra previo el análisis.

Kisielius et al. (2024), emplearon un método basado en la cuantificación de los compuestos tóxicos: ptaquilósido, caudatoside, ptesculentoside y pterosina, del helecho de género *Pteridium aquilinum*, para así identificar la importancia toxicología y el efecto que causa en los animales que lo consumen. Por lo tantol, recolectaron muestras de diferentes regiones geográficas, y así realizar extracción química para aislar los metabolitos, una vez obtenido el extracto, se aplicaron técnicas de cromatografía liquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS).

La técnica LC-MS permite la identificación y cuantificación. Ya que, separa los compuestos mediante una cromatografía liquida, es usado en análisis de toxicología. Se basa en la separación de los metabolitos según la afinidad química con la columna cromatográfica, y se identifica mediante información espectral, que permiten los análisis cuantitativos (Quintela et al., 2005).

**Figura 3**

*LC-MS*




*Nota*. La figura representa un esquema de los componentes principales de un sistema LC-MS. Tomado de “Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (LC-MS): A Powerful Tool for Unlocking the Secrets of Molecules” (Figura 1), por PharmaCores Scientific Team, 2025.

En metodología aplicada por los autores, realizaron el análisis de muestras mediante LC-MS. Una técnica que permitió identificar y cuantificar las toxinas ptaquilósido, caudatósido, ptesculentósido y pterosina. Donde señalaron que el análisis con ptaquilósido es complejo ya que esta molécula presenta una inestabilidad química, y se degrada rápidamente dificultando su análisis.

Los resultados que obtuvieron identificaron que las concentraciones de cada uno de estos compuestos varia significativamente. El que mayor abundancia presento fue el ptaquilósido con un valor superior a los 2000 µg/g este valor vario según la procedencia geográfica, mientras que el caudatósido presentó concentraciones de aproximadamente 1700 µg/g, el ptesculentósido alcanzó valores de 1100 µg/g. De la misma forma, se detectó pterosinas, que es generado por la degradación del ptaquilósido, los valores encontrados oscilaron entre los 10 y 400 µg/g según la muestra.

A su vez Kisielius et al. (2023), señalaron que esta metodología puede emplearse en análisis de leche bovina, plasma, orina y agua. Ya que esta metodología permite cuantificar los compuestos carcinogénicos presentes en el helecho.

Guaraca (2020), establece que la toxicidad de este helecho varía y se ve influenciada ante las diferentes etapas de crecimiento y las condiciones ambientales. Las frondas más jóvenes son aquellos en los que se concentra más la cantidad de toxinas, entre ellos los compuestos glucósidos de tipo illudano. Otras partes de la planta como rizomas y raíces poseen una menor concentración.

Otros autores como dos Reis et al. (2019), evaluaron el perfil toxicológico y la excreción urinaria enfocada en el ptaquilósido (PTA), en bovinos. Mediante administración intravenosa y oral obtenida por medio de los extractos de *P. aquilinum* y helecho seco. Los resultados indicaron que la administración por medio intravenosa de PTA con un volumen de 1,3 L/Kg por 4 horas, gran parte se convirtió en pterosina B, y fue excretado en conjunto con el PTA mediante la orina.

Mientras que los resultados con los extractos de helecho seco, el PTA no fue identificado en el plasma, indicando que ocurre una glicosilación en el rumen, a diferencia del PTB, este fue identificado en el plasma y orina, indicando que compuestos tóxicos como el PTA es absorbido por medio de la mucosa ruminal de la vaca, por ende, los metabolitos derivados contribuyen en la toxicidad del animal.

Este estudio fue replicado durante siete días, por medio de una administración diaria de PTA, lo que provocó lesiones en la mucosa y la vejiga urinaria, acompañado con daños en el hígado, confirmando que una exposición continua ante el PTA y sus metabolitos causan un daño con efectos genotóxicos y carcinogénicos en los bovinos.

Además, se complementó con análisis enfocados en la identificación de enzimas plasmáticas como lo es la AST, GD y OCT. La enzima AST (aspartato aminotransferasa) está involucrada en el metabolismo de los aminoácidos, por ende, relaciona con el daño hepático y muscular. Presentó un aumento significativo en el tiempo de exposición, por otra parte, la GD (glutamato deshidrogenasa), está enfocado con lesiones hepáticas y la OCT (ornitina carbamoiltransferasa), es relacionada con la función de los hepatocitos. Los resultados indican

que la ingestión de PTA causa daño hepático y cambios metabólicos, con lesiones asociadas a la vejiga y el hígado.

Mientras que Kisielius et al. (2024), estudiaron la distribución geográfica de tres glucósidos de tipo illudano, que se encuentran presentes en *Pteridium aquilinum,* en el norte Europa, ptaquilósido (PTA), Ptesculentósido (PTE) y Caudatósido (CAU). Se incluyeron alrededor de 66 localidades en Suecia, Finlandia y Dinamarca, se realizaron análisis en las frondas (punta y pinna inferior), por medio, de la técnica LC-MS. Para la identificación de las concentraciones de las toxinas anteriormente mencionadas, según su región geografía.

Los autores observaron que el PTA representa alrededor de aproximadamente dos tercios totales de los glucósidos illudanos. El CAU constituye casi un tercio y el PTE una menor proporción, por tal motivo no solo debe evaluarse el PTA. Los análisis indicaron que el CAU aumenta en el noreste, mientras que el PTA presenta valores más altos en las regiones de Dinamarca y disminuye alrededor de 3 veces en los países del noreste, mientras que el PTE fue detectado de manera más limitada, solo en 21 de los 66 sitios evaluados, con concentraciones más bajas de aproximadamente 0,015 a 0,29 mg/g.

De la misma manera, los autores identificaron que las frondas poseen mayor concentración de PTA al inicio del verano en los meses de junio, julio y agosto. A diferencia de las concentraciones más bajas que se producían en el otoño entre septiembre y noviembre. El CAU indicaba valores promedios en septiembre y noviembre, mientras que el PTE evidencio una pequeña disminución entre junio a octubre.

La literatura, demuestra que la toxicidad de esta especie *Pteridium aquilinum*, no solo esta influenciada por un compuesto, sino por la interacción entre múltiples toxinas, las cuales actúan de manera directa en los animales, especialmente en los bovinos. Los estudios experimentales demuestran que la exposición prolongada causa lesiones en el hígado, vejiga y alteraciones metabólicas.

## Marco teórico

### *Pteridium aquilinum (L.) Kuhn (Helecho Macho)*

*P. aquilinum* es un helecho considerado ancestral, ya que es ampliamente distribuido, lo reconocen como una de las cinco plantas más comunes del mundo (Senyanzobe et al., 2020). Se encuentra en todos los continentes con excepción de la Antártida, pero es distribuido en América del sur. Se considera la única planta superior causante del cáncer en animales de granja de manera directa. Esta planta está catalogada como una maleza a nivel mundial, no solo por estar distribuida ampliamente, sino también porque es difícil de erradicar en los cultivos y pastizales (Marrero & Calderón, 2012).

Este género llega a ser dominante ante otras especies, debido a sus características de dispersión elevada, ya que tienen reproducción por rizomas y esporas, de igual forma poseen alta producción de esporas viables por mucho tiempo, propagación subterránea y resistencia a metales pesados (Baptiste et al., 2017). Genera follajes densos que son resistentes a patógenos, plagas y condiciones climáticas variables (Senyanzobe et al., 2020).

La presencia del helecho macho causa la disminución en la biodiversidad de los ecosistemas, debido a la competitividad de las especies vegetales por agua y nutrientes del suelo (Valdez et al., 2020).

Un fenómeno de dominancia que poseen estos helechos es la alelopatía. Se caracteriza por la liberación de compuestos químicos como un mecanismo de defensa de las plantas para inhibir en la supervivencia de organismos cercanos, característica importante de los helechos *Pteridium* (Sampietro, 2003). Por otra parte, algunos autores señalan que la colonización de los helechos ha mejorado la respiración microbiana de los suelos, mientras que otros mencionan, la reducción de la podzolización y el efecto estabilizador de la acidez (Valdez et al., 2020).

**Figura 4**

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



*Nota.* La imagen representa al helecho *Pteridium aquilinum,* se observa como crece en forma de maleza. Tomado de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn [Fotografía], por Wiktrop, 2025.

***Origen y distribución botánica***

La especie del género *Pteridium*, es una planta invasora, que se distribuye en zonas templadas y tropicales (Baptiste et al., 2017). Este helecho crece en diferentes climas, y tipos de suelos, esto se debe a su capacidad de adaptación. Crece en sitios drenados, suelos profundos y ácidos, no obstante, es difícil encontrarla en terrenos calcáreos (Valdez et al., 2020).

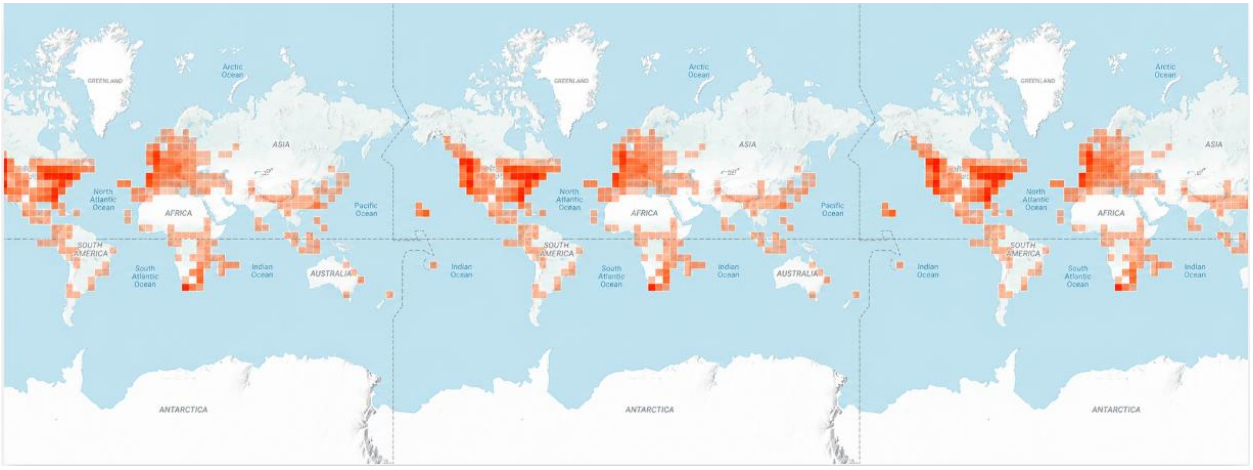
En suelos profundos los rizomas de esta planta se extienden a una profundidad más de un metro. Algunos elementos son esenciales para su desarrollo como el nitrógeno, potasio, fósforo y calcio (Baptiste et al., 2017).

Este género comprende una solo especie, *Pteridium aquilinum*, encontrada en el hemisferio norte la subespecie *aquilinum* posee las siguientes variedades: *aquilinum*, *decompositum*, *pubescens*, *feei*, *latiusculum*, *wrightianum*, *pseudocaudatum* y *africanum* (Trejo, 2012). Mientras que en el hemisferio sur la subespecie predomina la especie *caudatum* que posee las variedades: *caudatum*, *esculetum*, *arachnoideum*, *revolutum* y *yarrabense*. Esta planta se considera una maleza, a causa de que invade varias zonas de pastoreo, además de

áreas taladas o quemadas. Se caracteriza por tener un crecimiento abundante en espacios abiertos y soleados (Marín, 2006).

**Figura 5**

*Distribución geográfica a nivel mundial de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn




*Nota.* Mapa de registro de distribución del helecho macho a nivel mundial. Adaptado de *Pteridium aquilinum* [Mapa de distribución], por iNaturalist. (s. f).

*Pteridium aquilinum* es considerado un taxon variable y complejo. Tiene dos subespecies: *P. aquilinum aquilinum*, predominante en el hemisferio norte, y *P. aquilinum caudatum* representante del hemisferio sur y 12 variedades, posee una alta plasticidad ecológica, debido a su amplia distribución mundial (Baptiste et al., 2017).

**Tabla 1**

*Clasificación taxonómica de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

| Clasificación | Descripción |
|---|---|
| Reino | Plantae |
| Filo | Tracheophyta |
| División | Pteridophyta |
| Clase | Pteridopsida |
| Subclase | Polypodiidae |
| Familia | Dennstaedtiaceae |
| Género | *Pteridium* |

| Clasificación | Descripción |
|---|---|
| Especie | *Aquilinum* |
| Nombre Científico | *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn |
| Nombre común | Helecho macho, helecho águila, helecho espada amarilla. |

***Nota.*** Adaptado de (Baptiste et al., 2017).

***Descripción botánica***

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, es un planta erecta y perenne, que pertenece al género *Pteridium*. Tiene esporas con viabilidad por un largo periodo de tiempo después de ser dispersadas, de igual forma, las hojas jóvenes de este helecho son ricas en sustancias carcinogénicas, mientras que sus hojas maduras poseen tejido rígido y duro (Atkinson, 1989). Suele alcanzar hasta dos metros de altura (Baptiste et al., 2017).

Este helecho es considerado una planta terrestre, crece formando colonias y suele alcanzar hasta los 4,5 m de altura, mide entre 1.0 y 1.5 m (Baptiste et al., 2017). Posee un tallo subterráneo delgado, sus hojas son de forma alargada separadas entre sí y llega hasta los 4,5 m de longitud. La base de los peciolos es similar a la del tallo, puede poseer algunos pelos y carece de espinas en forma de corte transversal, sus haces vasculares suelen poseer forma de U (Castro, 2013).

También, posee una lámina foliar con contornos que se encuentran divididos de dos a cuatro veces, sus márgenes son recurvados sobre una membrana continua que recorre todo el borde además de las esporas. La cara inferior de los segmentos tiene pelos (Trejo, 2012). Esta especie no posee flores, debido a que carece de inflorescencia, por ende, el sitio de producción de esporas es en los soros, el cual está localizado al largo del margen de las hojas. No produce frutos ni semillas, ya que su reproducción se da por medio de sus pequeñas esporas (Varela, 2018).

**Figura 6**

*Partes de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



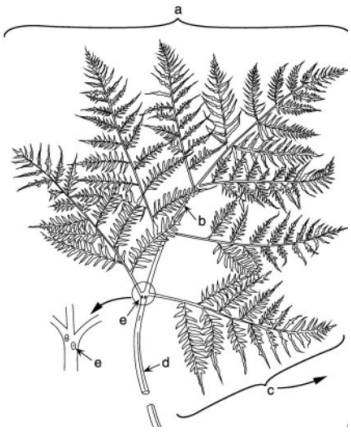

*Nota.* La figura esquematiza las partes del helecho *P. aquilinum,* se identifica las raíces, hojas, tallo, esporangios y otras estructuras. Tomado de *Pteridium aquilinum*: características, hábitat, ciclo biológico y propiedades, por Lifeder, 2020.

En Ecuador, el desarrollo de las frondas del género *Pteridium*, no se da por estaciones climáticas, debido a que, estas no se encuentran debidamente definidas, ya que existen variaciones locales(Castro, 2013). La influencia se base en la precipitación, humedad del suelo, y temperatura. Se ha identificado que, en los Andes del sur del país, las frondas mantienen su crecimiento de una manera estable aproximadamente en todo el año, sin embargo, se ha evidenciado que los periodos secos, logran incrementar la mortalidad de estas (Roos et al., 2010). De igual forma, la disponibilidad de ciertos recursos, como; el agua y la exposición lumínica son factores que influyen en estas poblaciones (Marrs & Watt, 2006).

El desarrollo de las frondas no suele ocurrir de una manera uniforme. Generalmente este proceso se basa en una curva sigmoidal, es decir que ocurre de una manera lenta y va aumentando de manera progresiva y rápida hasta estabilizarse (Marrs & Watt, 2006). Sin embargo, este proceso puede ser afectado por factores ambientales, como las sequias y heladas (Malík et al., 2024).

**Figura 7**

*Partes de brotes y hojas de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn




*Nota.* Identificación de partes: a) lámina de lana (hoja); (b) raquis; (c) pinna; (d) estipa; (e) nectarios. Tomado de *Marrs & Watt* (2006).

***Crecimiento del rizoma y de las raíces***

El crecimiento de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn esta influenciado por su sistema subterráneo de crecimiento en los rizomas, ya que este le permite los rebrotes, colonización de más áreas y el mantenimiento de las frondas (Castro, 2013). Los rizomas suelen ser largos y rastreros, permitiendo la expansión lateral o corta de donde emergen las nuevas frondas. Además, estos suelen originarse de raíces finas que son las responsables de la absorción de nutrientes (Baptiste et al., 2017).

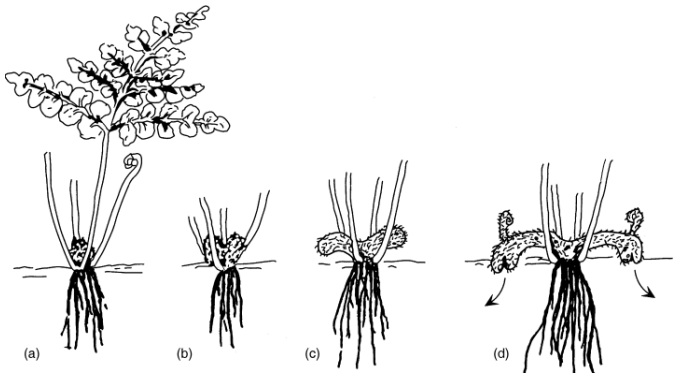
El crecimiento de los rizomas es dominante, cuando existe condiciones óptimas de temperatura, humedad y disponibilidad de luz (Guala et al., 2022). La capacidad subterránea de este helecho explica porque es una especie invasiva, ya que además de formar poblaciones densas y difíciles de controlar, el rizoma funciona como reserva, almacena carbohidratos que puede usar a futuro (Castro, 2013).

Las raíces y los rizomas se caracterizan porque también causan modificaciones en el suelo, se ha demostrado que la invasión de este helecho genera alteración de nutrientes, en

especial el fosforo que suele afectar la composición de otras especies vegetales, favoreciendo a la supervivencia del helecho (Guala et al., 2022; Valdez et al., 2020).

**Figura 8**

*Rizoma y raíces de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn




*Nota.* Crecimiento del rizoma; a) Fase inicial: Antes de la formación de las hojas 7-9. (b) Bifurcación: El ápice del brote se divide. (c) y (d) Crecimiento lateral: El rizoma se expande de manera horizontal. Tomado de *Marrs & Watt* (2006).

***Esporulación***

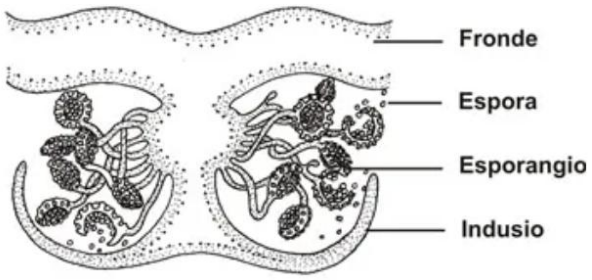
La esporulación es la fase de reproducción del helecho. En esta especie las esporas se desarrollan en los soros, que se encuentran ubicados en la parte del borde inferior de la fronda fértil (Marrs & Watt, 2006). La maduración no sucede igual en todas las frondas, ya que la liberación de las esporas puede variar entre helechos durando incluso semanas (Trejo, 2012)

La esporulación sucede cuando las frondas alcanzan su madures, por lo general esto ocurre en la segunda mitad de su crecimiento (Matongera et al., 2021). La producción y dispersión de las esporas es influenciada por factores ambientales como la temperatura, altitud y humedad (Trejo, 2012).

Las esporas suelen ser dispersadas por el viento. Que favorece a la expansión de la especia en nuevas áreas, pero su viabilidad dependerá más del crecimiento del rizoma que su reproducción sexual por medio de esporas (Naugolnykh, 2017; Trejo, 2012).

**Figura 9**

*Esporangio de Pteridium aquilinum (L.) Kuhn*




*Nota.* En la figura se observa la estructura del esporangio, esta delimitada por cuatro partes principales; fronda, espora, esporangio e inducio.Tomadode Morfología [Imagen], por J. L. Menéndez Valderrey, 2005, Asturnatura

***Reproducción del esporofito***

La reproducción de *Pteridium* se da de forma vegetativa, es decir que, aunque la planta produzca gran cantidad de esporas, la expansión en diferentes ambientes se verá influenciado por el crecimiento vegetativo que la germinación de esporas (Eslava et al., 2020; Trejo, 2012).

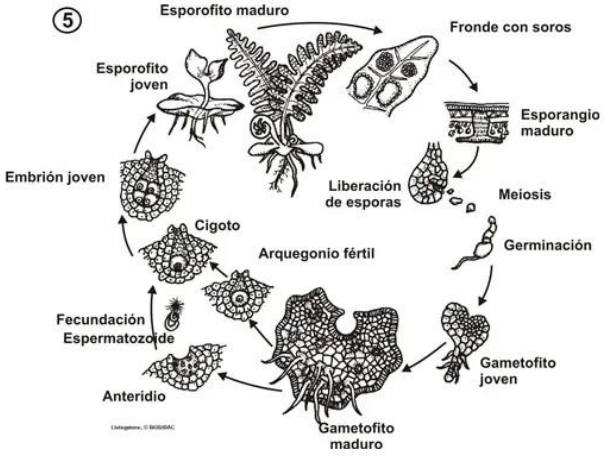
Los esporofitos, generan una gran cantidad de esporas al final del segundo año, a pesar de que, en condiciones de campo, esto ocurre al final del tercer y cuarto año (Trejo, 2012). Todas las frondas tienen un alto potencial reproductivo, dado que no existe una gran diferencia de morfología entre las frondas fértiles con las infértiles (Senyanzobe et al., 2020).

En plantas que han alcanzado su maduración, las pinnas basales son las que tienen mayor fertilidad, y son las primeras en producir esporas. Mientras las pinnas superiores se desarrollan completamente, la fertilidad va disminuyendo y retrasa la aparición de las esporas (Mira et al., 2021). Cada esporangio contiene alrededor de 19 células madre de esporas, la producción oscila de $2 \times 10^4$ esporas en una sola fronda con aproximadamente 173 cm de altura, suele llegar a producir alrededor de 9000 soros, por tal motivo, una sola fronda puede producir hasta 150 mg de esporas (Marrs et al., 2006).

La esporulación es influenciada por factores como: edad de la planta, genotipo, clima, factores ambientales, suelo, sombra y el viento (Trejo, 2012). También, hay años donde la producción de esporas es alta y se denomina años másticos (mast). Se da, debido a primaveras soleadas y alta disponibilidad de luz que ayuda a la producción (Malík et al., 2024).

**Figura 10**

*Ciclo de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn




*Nota.* La figura esquematiza, el ciclo biológico del helecho, se observa la fase esporofíticay gametofítica.Tomado de Morfología [Imagen], por J. L. Menéndez Valderrey, 2005, Asturnatura Descarga y dispersión de esporas

Las esporas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn son liberadas desde los esporangios, cuando se rompe el anillo (annulus), una estructura que abre el esporangio permite que las esporas sean liberadas para que continúen su ciclo de dispersión por el viento (Malík et al., 2024; Trejo, 2012).

La dispersión por viento es una de las principales vías, ya que, las esporas son ligeras y pequeñas, facilitando su movilidad (Trejo, 2012). La cantidad de esporas transportadas disminuye a medida que aumenta la distancia con la planta, se estima que las esporas pueden reducir cerca del 50 % a una distancia de 0,15 km de la planta (Marrs & Watt 2006).

En los suelos donde se encuentran la especie *Pteridium,* se suelen acumular las esporas, se estima que hay 2,8 × $10^6$ esporas en 1 g de suelo con una profundidad de 2,5 cm (Varela, 2018). La cantidad disminuye a medida que el suelo tiene una profundidad de 5 a 7,5 cm, con un alrededor de 0,2 × $10^6$ esporas. Las esporas se almacenan en las primeras capas del suelo (Marrs & Watt 2006).

Otro medio de dispersión es el agua, pero en una baja cantidad, esto ocurre cuando hay inundaciones o lluvias muy fuertes, causando que el agua arrastre hacia zonas alejadas (Varela, 2018).

No todas las esporas dispersadas logran germinar. Dado que pueden perder la viabilidad, causada por factores ambientales y falta de luz (Trejo, 2012). Por ende, aunque exista una alta dispersión de esporas, que estas germinen es limitado (Vazquez, 2023).

De la misma manera, suelen ser consumidos por pequeños invertebrados como los colémbolos, especies como *Isotoma viridis* y *Lepidocyrtus cyaneus* afectan al desarrollo de la planta. También se han reportado algunas algas y hongos que reducen la viabilidad en etapas jóvenes del helecho (Nicholls, 2008). Las esporas son sensibles. Si caen en sitios donde la luz no es suficiente, sus posibilidades de germinar son bajas, por ende, su dispersión no siempre asegura la germinación (Vazquez, 2023).

### *Germinación de esporas de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Las esporas de ese helecho germinan de manera rápida y no tienen un periodo de latencia establecido (Trejo, 2012). Las esporas pueden conservar su viabilidad a un periodo de tiempo largo, suelen germinar lento, permitiendo que la viabilidad se mantenga (Eslava et al., 2020).

La temperatura afecta directamente en la germinación (Trejo, 2012). Su temperatura óptima es de 10 °C a 16 °C, pero a temperaturas muy elevadas como 35°C la germinación es afectada. A diferencia de, temperaturas bajas (1 a 2°C) que permiten la germinación de algunas esporas, ya que pueden soportar estos niveles de frio (Valdez et al., 2020).

La luz no es esencial para la germinación de esta especie (Trejo, 2012). Pero si es importante para otros helechos, *Pteridium aquilinum* puede germinar en la luz y oscuridad, aunque la luz favorece a la germinación (Eslava et al., 2020).

***Composición fitoquímica y toxicidad***

Los compuestos taninos, sesquiterpenos, polifenoles y flavonoides son potenciales aleloquímicos capaces de llegar afectar a las malezas (Salazar & Villalobos, 2023). Los taninos se caracterizan por su capacidad de secuestrar moléculas, disminuir el proceso biosintético de enzimas hidrolíticas, y precipita proteínas (Leonora & Figueroa, 2023). Los polifenoles afectan al crecimiento radical de la planta, y los flavonoides son aquellos compuestos que dañan al cloroplasto, ya que afectan su producción de ATP mitocondrial (Salazar & Villalobos, 2023).

En estado fenológico joven de *Pteridium aquilinum*, se ha determinado que la composición bioquímica está conformada de: lípidos 7,07 ± 0,41 (%), carbohidratos 58,89 ± 0,2 (%), carbohidratos solubles 0,54 ± 0,021 (%), compuestos de alta importancia (Salazar & Villalobos, 2023).

Hay factores que afectan la capacidad de síntesis de estos compuestos, entre ellos; la altura, densidad, exposición al viento y altitud. Esto varía en cada helecho según su localidad, esta variable ha permitido identificar que existe una menor concentración de sustancias toxicas en alturas mayores a 1700 m s.n.m (Kato-Noguchi & Kato, 2026; Malík et al., 2024).

Estas variaciones también pueden ser afectados por la variedad genética, que poseen estos helechos, así como la traslocación de los nutrientes entre fronda y rizoma. Las concentraciones de toxinas varia, en especial del ptaquilósido que suele oscilar entre 1000 y 5000 µg. La concentración de esta toxina es mayor en brotes jóvenes y está presente en el rizoma en valores de 5 a 7050 µg (Castillo, 2024; Kato-Noguchi & Kato, 2026).

Este helecho posee otros compuestos como lo es la tiaminasa, específicamente dos tipos: tiaminasa I y tiaminasa II. El tipo I es más activa en comparación que el tipo II. La tiaminasa I es denominada tiamina piridinilasa, es la encargada de catalizar la reacción de:

tiamina + piridina → heteropiritiamina + 5-(2-hidroxietil)-4-metiltiazol (Castillo, 2024; Kato et al., 2026).

Mientras que, la tiaminasa II es conocida como: aminopirimidina aminohidrolasa, encargada de catalizar la reacción: tiamina + $H_2O$ → 5-(2-hidroxietil)-4-metiltiazol + 4-amino-2-metil-5-pirimidinmetanol + $H^+$. El consumo de este helecho macho causa un nivel reducido de la tiamina (Castillo, 2024). Dado que, se degrada por la presencia de la tiaminasa I y II, causando deficiencias de tiamina. El ácido 5-O-cafeoilshikímico presente en la planta puede ser el responsable de la reducción de tiamina, principalmente cuando es consumida por el animal (Kato et al., 2026).

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn posee compuestos cianogénicos como la prunasina. Un glicósido cianogénico toxico (Malík et al., 2024). El consumo de este, esta relaciona con la presencia de diversas enfermedades por la producción de cianuro de hidrogeno (HCN), que afecta al intestino del animal (Salazar & Villalobos, 2023).

### *Toxinas en el Helecho Macho*

El helecho macho *P. aquilinum*, tiene compuestos tóxicos, entre ellos; ptaquilosido, pterosina y la tiaminasa. El ptaquilósido es uno de los principales metabolitos con actividad carcinogénica, porque posee una capacidad generar compuestos reactivos que dañan el ADN (Kim et al., 2023). En bovinos, el consumo de este helecho causa hematuria. Esta toxina se puede movilizar hacia el suelo, agua, leche y carne del animal, causando un riesgo para la salud humana (Malik et al., 2024).

El consumo prolongado de *P. aquilinum*, causa intoxicación. Ya que, reduce la vitamina B1 conocida como la tiamina, a su vez, causa envenenamiento por cianuro, atrofia que genera una ceguera, hematuria enzoótica bovina y carcinoma (Kato et al., 2026; Malík et al., 2024).

### *Tipo de Toxinas Presentes*

En *P. aquilinum* se han identificado: ácido dihidrofólico, acido p-cumárico, glucósidos, tiaminasas, cianogénicos (Malík et al., 2023). Algunos compuestos tienen toxicidad. También

posee compuestos como; quercetina, ácido shikimico, taninos, y glucósidos ilúdanos (Rodríguez et al., 2021).

Un compuesto de gran importancia es el ptaquilósido. Identificado por primera vez en 1983, como un glicósido inestable, soluble en agua y con un anillo de ciclopropano reactivo (Vetter, 2022). Es incoloro con una formula molecular de $C_{20}\ H_{30}\ O_8$ , con una masa molecular de 398,45 g/mol, su punto de fusión oscila entre los 85 y 89 °C, absorbe radiación ultravioleta entre los 214 y 220 nm (Kato et al., 2026).

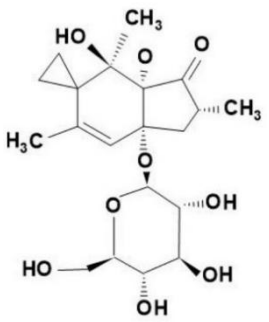
Además, uno de los principales compuestos presentes, es la prunasina(Malík et al., 2024). Este compuesto es absorbido mediante transportadores de monosacáridos que son dependientes de sodio. La prunasina (β-glucosidasa), se descompone en D-glucosa y mandelonitrilo. Catalizado por mandelonitrilo liasa, que produce benzaldehído y cianuro de hidrogeno. Lo que causa envenenamiento en los animales, los síntomas son presión arterial baja, pulso rápido, respiración agua, y convulsiones (Malík et al., 2023).

***Ptaquilósido (Características y estructura química)***

El ptaquilósido (PTA), es uno de los principales componentes tóxicos que se encuentran presentes en los helechos del género *Pteridium*, en la especie *Pteridium aquilinum*(Vetter, 2022). Este es considerado un glucósido de tipo iludano. Posee una parte terpénica y una parte glucosídica (Salazar & Villalobos, 2023).

**Figura 11**

*Estructura del* ptaquilósido (PTA)




*Nota.* La figura representa la estructura molecular del PTA, el cual es, un glucósido sesquiterpénico presente en los helechos del género *Pteridium*, está constituida por un sesquiterpeno glicósido de tipo iludano.. Tomado de Vetter, 2022, Molecules*, 27*(19), 6662.

El ptaquilósido se encuentra en la planta en concentraciones de aproximadamente 45.000 ug/g, este compuesto es un precarcinógeno, dado que posee una dienona conjugada altamente reactiva que se forma como resultado de la hidrolisis de PTA (Potter & Baird, 2000). El contenido del ptaquilósido es influenciado por ciertos factores; como los puntos calientes, estos puntos se relacionan con enfermedades crónicas en los animales de granja (Vetter, 2022).

El contenido de PTA en los helechos varía en función de ciertos factores; época del año y zona geográfica. Se ha identificado su presencia en hojas, rizomas, raíces, esporas, frondas y brotes jóvenes (Baptiste et al., 2017). Los brotes son aquellos que suelen presentar mayor cantidad de ptaquilósido en comparación con otras estructuras de la planta (Guaraca, 2020).

Asimismo, puede disminuir por procesos naturales, el consumo de las plantas por los animales, descomposición de material vegetal, temperaturas bajas y lluvias intensas (Baghour, 2001; Potter & Baird, 2000).

***Otros compuestos tóxicos obtenidos de la degradación del ptaquilósido***

El PTA es una molécula que puede degradarse por varios factores como; pH, temperatura y humedad (Baghour, 2001). En ambientes neutros esta molécula se conservar

por más tiempo. En condiciones ácidas o alcalinas su degradación es más rápida (Vetter, 2022).

A temperaturas más altas suele aumentar la velocidad de la hidrólisis, lo que provoca la degradación del PTA, generando como producto final la pterosina B (Rodríguez, 2021). Además de la pterosina B, en *Pteridium aquilinum* también se han identificar otras pterosinas, como lo es la pterosina A (Vetter, 2022).

En condiciones alcalinas, el ptaquilósido al perder su grupo de glucosa y se convierte en ptaquilosina, que es la forma aglicona del compuesto (Baghour, 2001). Esta estructura es conocida como ptaquiloedienona, la dienona posee una alta capacidad de reconocer moléculas biologías como el ADN (Wu et al., 2021).

La ptaquilodienona, tiene dos rutas principales. La primera es capaz de reaccionar con agua y formar pterosina B (dos Reis Aranha et al., 2019). Un compuesto más estable y menos reactivo. En la segunda ruta la ptaquilodienona, se une al ADN, mediante, reacciones de alquilación (Guaraca, 2020).

Esta unión puede producir alteraciones en el ADN, causando mutaciones y cáncer (Ribeiro et al., 2020). Por ello, la ptaquilodienona es responsable de la carcinogenicidad dada por el consumo del helecho (Vetter, 2022).

La pterosina A es un compuesto sesquiterpeno indanónico, cuya formula molecular es; $C_{15}H_{20}O_{3}$(Ribeiro et al., 2020). La diferencia entre la pterosina A y B, es que la B se obtiene mediante la hidrolisis del ptaquilósido, y la pterosina A, aparece como un metabolito natural del helecho. Producto por la degradación de otros glucósidos ilúdanos análogos del PTA (Guaraca, 2020).

La presencia de la pterosina A y otros compuestos análogos permiten comprender el metabolismo de los helechos *Pteridium* y la relación de los efectos toxicológicos (Mohammad et al., 2016; Vetter, 2022).

### *Mecanismos de Acción de las Toxinas*

El mecanismo de acción del ptaquilósido (PTA), se caracteriza con la capacidad que posee para transformarse en intermediarios reactivos (Vetter, 2022). Este compuesto no actúa como una molécula estable, puede sufrir hidrolisis y formar compuestos que son capaces de reaccionar con afinidad a biomoléculas importantes como el ADN (Rincón et al., 2016). Por tal motivo, su toxicidad es asociada a genotoxicidad, carcinogenicidad y mutagenicidad.

### *Hidrolisis del ptaquilósido*

PTA sufre hidrólisis en medios ácidos o alcalinos, durante esta reacción, se rompe el enlace glucósido y libera D-glucosa, formando ptaquilosina (Rodríguez, 2021). La hidrolisis del PTA es influenciada por el pH. La velocidad de hidrolisis presenta un pH 5,5, a diferencia de una hidrólisis lenta que va entre pH 4,5 y 6,5. En medios muy ácidos o alcalinos, el PTA se descompone más rápido (Wu et al., 2021).

### *Formación de la dienona*

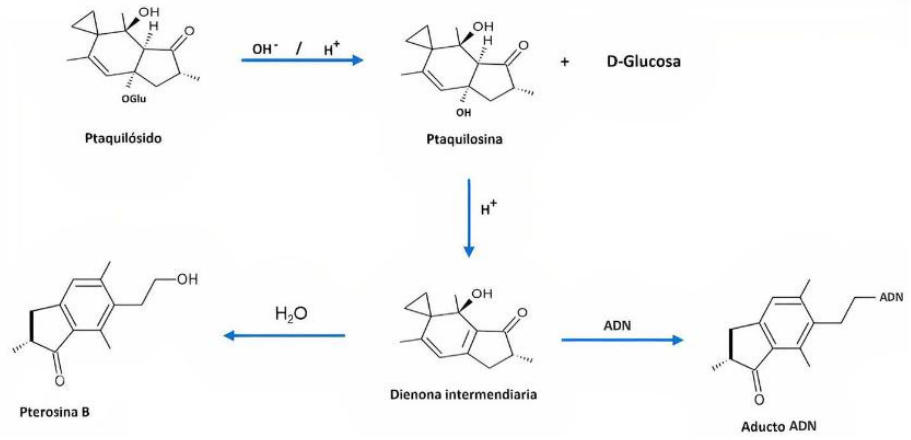
Después de la hidrólisis, la ptaquilosina se transforma en una dienona intermediaria (Vetter, 2022). Esta molécula posee una estructura química reactiva, que actúa como un electrófilo, con una capacidad alquilante, es decir, que se une químicamente a moléculas biológicas por enlaces covalentes (Salazar & Villalobos, 2023).

La dienona reacciona con el ADN y provoca que se formen aductos ADN/toxina (Vetter, 2022). Un aducto es la unión química entre una molécula extraña y el ADN. Esta unión causa alteraciones en la estructura del material genético (Wu et al., 2021).

La formación de estos aductos causa daños genéticos y mutaciones (Vetter, 2022). El PTA tiene efectos genotóxicos a nivel del tejido del tracto gastrointestinal de los animales que consumen estos helechos (Rodríguez, 2021).

**Figura 12**

*Mecanismo de acción del ptaquilósido y formación de dienona intermediaria*



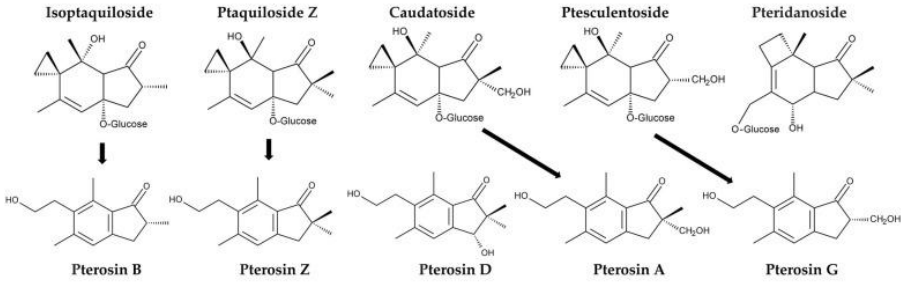

*Nota.* La figura representa la vía de transformación del ptaquilósido y la formación de sus intermediarios, se da inicialmente por la pérdida de la D-glucosa que origina a la ptaquilosina. Tomado de Rodríguez, (2021).

***Caudatósido y pterosina A***

El caudatósido es un glucósido illudano, que está relacionado con el ptaquilósido, ambos compuestos comparten un esqueleto químico similar (Kisielius et al., 2022). El caudatósido posee un producto de su degradación que es la pterosina A, al igual que otros glucósidos iludanos (Kato et al., 2026).

**Figura 13**

*Ptaquilósido, pterosina y sus derivados*




*Nota.* En la figura se aprecia los derivadores de los compuestos; se especifica que compuesto forma los diferentes tipos de pterosina (B, Z, D, A y G). Tomado de Kato et al., (2026).

***Toxicidad y manifestaciones clínicas***

La intoxicación ocurre cuando el animal tiene escasez de alimento, esto surge en temporadas de sequía, ya que esto ocasiona, un sobrepastoreo y daño en la vegetación, representando un riesgo directo al animal signos clínicos suelen ser dificultad respiratoria y pérdida de peso (Marrero & Calderón, 2012; Silva et al., 2023).

Los animales consumen gran cantidad de esta especie cuando no tienen una fuente de alimentación adecuada. Presentan preferencia en los brotes tiernos o jóvenes de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Por ende, el aumento de este consumo se da cuando los animales se encuentran en potreros que poseen alta incidencia de esta especie y baja del forraje (Marrero et al., 2012; Silva et al., 2023)).

***Papilomavirus bovino (BPV)***

Es un virus que afecta al ganado, causa lesiones benignas como; tumores en la vejiga urinaria y carcinomas. Los genes que participan en esto es E5, E6, y E7, involucrados en la transformación celular (Rodríguez, 2017). E5 se encarga de la proliferación de células infectadas, E6 favorece al daño del ADN y E7 altera los ciclos celulares en el que intervienen las proteínas de la retinoblastoma. En los bovinos se han detectado los genes BPV-1 y BPV-2 asociados a tumores de vejiga (Medeiros et al., 2021).

***Síndrome hemorrágico agudo***

Se produce cuando hay un efecto del ptaquilósido en la medula ósea, aumentando la toxicidad en las células madre, y como consecuencia se reduce la producción de plaquetas, leucocitos y eritrocitos. Lo que provoca leucopenia, anemia e inmunosupresión (Plessers et al., 2013). Los signos clínicos en bovinos es debilidad, hemorragias (nasal y vaginal), edemas y diarrea (Silva et al., 2023).

***Toxicidad en equinos, ovinos y caprinos***

En caballos la intoxicación se observa más en las hembras y los efectos se debe a la deficiencia de tiamina, se presentan a los tres meses de consumo. Por su parte, en ratas el

consumo de esta especie genera hígados agrandados, anemia renal, hemorragias y tumores (Medeiros et al., 2021). De igual forma que en cerdos y conejos el envenenamiento puede causar edemas en el cerebro y secreciones intestinales (Kim et al., 2023).

Por otro lado, los síntomas en cada animal son diferentes. En el ganado causa síntomas de envenenamiento a partir de los tres meses de consumo, estos síntomas incluyen hematuria, tumores en vejiga, hemorragia en riñones e inflación de mucosa (Rodríguez, 2017). A diferencia de las ovejas, ya que, el consumo de *P. aquilinum* genera atrofia retiniana, causando degeneración en los conos y capa nuclear externa de la retina. Genera supresión de médula ósea, inmunosupresión y deficiencia de tiamina (Kim et al., 2023).

**Figura 14**

Ceguera causada en ovejas por consumo de en *Pteridium aquilinum*



*Nota.* La figura indica la consecuencia de consumo excesivo de *P. aquilinum* en las ovejas. Produce atrofia retiniana dejando ciega al animal. Tomado de Silva et al., (2023).

***Hematuria Enzoótica Bovina (HEB)***

La hematuria enzoótica bovina (HEB) es una enfermedad crónica, que afecta al ganado, los signos característicos es presencia de sangre en la orina y aparecimiento de tumores en la vejiga (Blanco, 2012; Calderón et al., 2015).

La HEB, es identificada a nivel mundial. Afecta a varios países de Latinoamérica especialmente a las regiones ganaderas con geografía montañosa, del sur y centro América. Causa impactos económicos, ya que, una de las medidas preventivas ante esta enfermedad es

el sacrificio de los animales (Calderón et al., 2015). Para así, evitar que sus síntomas empeoren (Marrero et al., 2012).

La principal causa ante esta enfermedad es el consumo prolongado del helecho *Pteridium aquilinum,* debido a los compuestos tóxicos que tiene (Marrero et al., 2012; Silva et al., 2023).

Los síntomas más comunes que se presentan es hematuria en la orina de color rojo o marrón característico. Así mismo, la exposición continua causa; anemia crónica, encías pálidas, fatiga del animal, pérdida de peso y disminución de leche y carne (Cope, 2025).

**Figura 15**

Manifestación de signos clínicos ante HEB



*Nota.* Se observa en la figura, hematuria del bovino, causada por el consumo excesivo del helecho. Tomado de Calderón et al., (2015).

## Marco conceptual

### *Helecho macho Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

El helecho macho, identificado como *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, es de la familia Dennstaedtiaceae (Vetter, 2022). Es distinguida por tener rizomas rastreros de longitud larga, hojas grandes, y su capacidad de adaptarse a distintos tipos de suelo. Por ello, pueden crecer y se adaptarse a diferentes condiciones ambientales (Salazar & Villalobos, 2023).

*P. aquilinum*, es una planta que cuenta con una grande distribución. Está presente en praderas y zonas de cordillera, por lo que, se comporte como una maleza (Vetter, 2022). Por ende, su consumo en animales de pastoreo es relevante, ya que esta planta representa un

riesgo para la salud de los animales, porque tiene un perfil toxicológico, y puede llegar a causar la hematuria bovina, asimismo, problemas carcinogénicos (Rincón et al., 2016).

### *Finca lechera y áreas de pastoreo*

Las fincas lecheras son unidades productivas enfocadas en la producción de leche. En donde predominan ciertos recursos como; el área de ganadería, maquinaria y otros elementos que permiten mejorar este sistema (Rodríguez et al., 2015).

Palacios et al. (2023), indican que los sistemas productivos de leche en Ecuador representan una actividad productiva importante. Se clasifican como extensivos, semiintensivos e intensivos. También, a estos sistemas de producción están integrados tecnologías importantes para la obtención de este producto.

Vázquez et al. (2023), afirman que las áreas de pastoreo o potreros están destinadas a la alimentación del ganado. A su vez, explican que el tamaño del potrero está relacionado a la capacidad del alimento a ofrecer y la calidad. Por ello, los potreros pequeños permiten un forraje controlado, y ayudan al manejo de plantas que no son deseadas.

De igual modo, Vázquez et al. (2023), establecen que existe un periodo denominado ocupación. Es el tiempo donde el animal permanece de manera determinada en un área consumiendo el forraje disponible. Por tal motivo, este tiempo debe ser corto para evitar que el ganado consuma alimento no deseado.

### *Hematuria Enzoótica Bovina*

La Hematuria Enzoótica Bovina (HEB), es una enfermedad crónica que causa efectos en la salud de los animales, especialmente los bovinos. Se caracteriza por la presencia de sangre en orina, pérdida de peso, anemia, e inclusive la muerte. Esta enfermedad es causada por el consumo de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, que causa una intoxicación crónica (Calderón et al., 2015).

Rodríguez (2017), describe que la hematuria es una manifestación clínica que se da antes de que se generen los tumores en la vejiga. En las fases más tardías se observa las alteraciones leucocitarias. La hematuria enzoótica bovina, es una enfermedad progresiva.

El diagnóstico de la Hematuria Enzoótica Bovina, se basa en una evaluación de antecedentes epidemiológicos de los animales (Cope, 2025). Para lo que, se hace una prueba de orina mediante tiras reactivas y observación microscópica del sedimento. Así se evalúa, la presencia de hemoglobina en la sangre (Sánchez et al., 2006).

***Toxicidad vegetal***

Es la capacidad que poseen algunas plantas para causar efectos dañinos en los seres vivos, debido a la presencia de sustancias de manera natural en la planta (Olivera & Marín, 2016). Estas sustancias, suelen encontrarse en hojas, raíces, tallos, flores y frutos. Las plantas producen ciertos compuestos como los aceites esenciales, alcaloides, taninos y resinas, que se acumulan en diferentes partes de la planta (Villalta, 2015).

Las plantas pueden tener propiedades medicinales, pero también pueden generar daños toxicológicos. Por ello, las plantas llegan a causar efectos biológicos en los organismos, lo cual, dependerá de varios factores como; dosis, tiempo de exposición, frecuencia de consumo, estado de madurez, cantidad ingerida, exposición, susceptibilidad y condiciones ambientales (Olivera & Marín, 2016). En las plantas varía la concentración toxicológica según el momento en el que es consumida (Villalta, 2015).

***Metabolitos secundarios***

Los metabolitos secundarios son compuestos producidos por las plantas, mediante su metabolismo secundario (Lustre, 2022). Están asociados a sustancias que producen las plantas ante amenazas externas que pueden ser de origen biótico (insectos, bacterias, hongos) y abiótico (radiación ultravioleta, sequía, inundaciones). Estos compuestos son de gran importancia para la planta. A diferencia de los metabolitos primarios que participan de una manera directa en funciones básicas de crecimiento, desarrollo y reproducción (Lustre, 2022).

Una característica importante es que estos metabolitos no se encuentran igual en todas las plantas. Dado que algunos pueden estar presentes solo en ciertas especies, género o familia. Su presencia suele ser baja. Los más representativos son los terpenos, fenoles y alcaloides (Lustre, 2022).

***Glucósidos iludanos***

El termino illudano proviene de dos compuestos que fueron identificados en hongos venenosos del género *Omphalotus*(Vetter, 2022). Estos compuestos se destacan por su actividad genotóxica, que afectan a diversos organismos (Pomilio et al., 2019).

Los glucósidos iludanos son compuestos norsesquiterpénico que tienen una estructura con esqueleto iludano (Vetter, 2022). Algunos compuestos iludianos se encuentran en forma de glucósidos sesquiterpénicos, ya que, poseen una azúcar unida a la estructura del iludano. Dentro de este grupo se encuentran: ptaquilósidos, caudatósidos, ptesculentósido y ptaquilósido Z (Salazar & Villalobos, 2023).

***Ptaquilósido***

El ptaquilósido (PTA), es una toxina producida por plantas del género *Pteridium*. Se encuentra presente en frondas, rizomas, raíces y otras estructuras importantes del helecho (Vetter, 2022). Es una de las principales toxinas de la planta debido a su abundancia, ya que, a partir de este se derivan otras toxinas (Salazar & Villalobos, 2023).

Este compuesto es identificado por ser; toxico, genotóxico y con alto potencial cancerígeno. Su hidrolisis produce compuestos de tipo reactivo, como las dienonas conjugadas (Vetter, 2022). Las cuales se caracterizan por su capacidad de interactuar con el ADN, causando daños graves y favoreciendo al desarrollo de tumores en los animales (Guaraca, 2020).

***Caudatósido***

El caudatósido, es uno de los compuestos presentes de manera natural en los helechos del género *Pteridium* y es clasificado como un iludano sesquiterpénico. Tiene un alto nivel de

toxicidad con un anillo de ciclopropano reactivo que está asociada a la actividad toxicológica de los glucósidos (Guaraca, 2020). Este compuesto tiene un potencial alto de riesgo biológico. Está asociada al daño celular y genético, siendo peligroso para los animales que consumen el helecho (Salazar & Villalobos, 2023).

El caudatósido, se caracteriza por su capacidad de transformarse en pterosina A. La pterosina A, actúa como un derivado más estable y fácil de detectar en el análisis químico (Guaraca, 2020).

***Ptesculentósido***

El ptesculentósido (PTE), es un glucósido de tipo iludano, se caracteriza por ser un análogo del ptaquilósido,y del caudatósido (Vetter, 2022). Posee una estructura química similar a la de los glucósidos norsesquiterpénicos (Salazar & Villalobos, 2023).

El ptesculentósido (PTE), ptaquilósido, y caudatósido, son moléculas inestables (Vetter, 2022). Suele analizarse los derivados de los productos obtenidos de: ptaquilósido (pterosina B), caudatósido (pterosina A), ptesculentósido (pterosina G), que se estudian para comprender la toxicología del helecho (Salazar & Villalobos, 2023).

***Pterosinas***

Las pterosinas son considerados productos de degradación del glucósido iludano (Ribeiro et al.,2020). Estas pterosinas son generadas a partir de, la transformación química de moléculas inestables como lo es el ptaquilósido (Guaraca, 2020).

Son derivados de la 1-indanona y es clasificada en base a los sustituyentes del C-2 de dos grupos: pterosina tipo Z con quince carbonos, y pterosinas tipo B con catorce carbonos (Guaraca, 2020; Ribeiro et al., 2020).

Las pterosinas pueden ser generadas por medio de la degradación de los glucósidos iludanos (Ribeiro et al., 2020). La pterosina B es producto de la hidrólisis del ptaquilósido, mientras que la pterosina A es obtenida de la degradación del caudatósidio (Salazar & Villalobos, 2023).

### *Estado fenológico*

El estado fenológico es la fase de desarrollo que posee una planta a lo largo de su ciclo de vida. Es esencial para identificar en qué estado se encuentra la planta, desde el inicio de su crecimiento hasta la senescencia (Rincón et al., 2016). Además, permite conocer características como la fase en la que comienza su actividad biológica (Mira et al., 2021).

*Pteridium aquilinum,* tiene un ciclo de vida constituido por cuatro fases: brotación, madurez, senescencia y dormancia (Rincón et al., 2016). La fase de brotación se da en finales de octubre, la madurez en finales de febrero, la senescencia surge a mediados de abril, mientras que la dormancia ocurre aproximadamente en julio. Estas fechas pueden variar en base a localización geográfica de la planta (Matongera et al., 2021).

El estado fenológico del helecho permite evaluar el momento, por ende, es más fácil controlar esta especie invasora (Matongera et al., 2021). Dado que, permite a los agricultores aplicar métodos de control adecuados para evitar la dispersión de las esporas y su rebrote. La fase de senescencia es óptima para medidas químicas y la de brotación para medidas mecánicas (Trejo, 2012),

### *Helecho inmaduro*

El helecho inmaduro, es un estado fenológico de la planta, se da cuando surge el brote de nuevas frondas (Matongera et al., 2021). En los helechos *Pteridium aquilinum*, se observa la presencia de frondas de color verde claro. El aparecimiento indica la fase de inicio de crecimiento y permite diferenciar que el helecho se encuentra en este estadio (Trejo, 2012).

Una de las características más destacadas del helecho inmaduro, es que los brotes jóvenes se enrollan antes de desplegarse adecuadamente. Los brotes y hojas jóvenes que se encuentran enrolladas son conocidas como fiddleheads (Ribeiro et al., 2020). Su forma es característica de la etapa inmadura, a causa de que, la fronda no alcanza su capacidad de desarrollo completo y no puede extenderse de manera total. La forma enrollada permite identificar esta etapa de manera visual (Matongera et al., 2021).

El estado inmaduro se conoce como una fase de cambio entre el brote inicial y las frondas desplegadas, porque, en esta etapa la planta aun no consigue su desarrollo por completo, de tal forma que no alcanza su máximo estado adulto (Marrs & Watt, 2006; Ribeiro et al., 2020).

En *Pteridium aquilinum* los brotes inmaduros son aquellos que poseen mayor importancia toxicológica, ya que estas sustancias suelen concentrarse en la parte joven de la planta, y en concentraciones altas, especialmente en los frondes y rizomas (Malík et al., 2024).

***Helecho maduro***

El helecho maduro, es un estado fenológico donde las frondas se encuentran ya extendidas y desarrollados (Ribeiro et al., 2020). En esta etapa la planta ya tiene mayor volumen vegetal y presenta una estructura más frondosa (Matongera et al., 2021).

*Pteridium aquilinum* posee frondas de gran tamaño, que pueden variar de longitud (Ribeiro et al., 2020). Es, por ende, que el helecho puede formar poblaciones abundantes en condiciones favorables como adecuada luz, humedad y temperatura (Marrs & Watt, 2006).

Esta etapa de desarrollo puede afectar a otras especies. A causa de que, al ser una especie invasora, prevalece su; dominancia, vigor y cobertura densa de la misma (Marrs & Watt, 2006).

***Muestras Vegetales***

Una muestra vegetal es una porción de una población vegetal, y puede clasificarse en base a su estado fenológico;

Muestras completas: Se denomina muestra completa aquella que presenta toda la estructura vegetativa como; hojas, ramas, inflorescencia, fruta y pedúnculo floral (Benítez et al., 2006).

### *Extracto vegetal*

Son aquellas preparaciones de origen líquido o en polvo obtenidas por medio de la extracción de los principios activos de origen vegetal (Cáceres-Peña et al., 2013; Mesa et al., 2019).

Las plantas tienen la capacidad de sintetizar compuestos denominados metabolitos secundarios. Que están relacionados con diferentes mecanismos de defensa, intervienen compuestos como; terpenos, fenoles, alcaloides, entre otros. Estos metabolitos tienen la función de protección a la planta ante depredadores, patógenos externos, animales herbívoros, asimismo, diferentes tipos de estrés abiótico (Cáceres et al., 2013; Mesa et al., 2019).

### *Cromatografía de capa fina*

La cromatografía de capa fina es una técnica que permite realizar análisis químicos. Fue descubierta en el año 1906 por el botánico Mikhail Tswett. Se usa para separar compuestos y/o analitos que se encuentran presentes en mezclas. Asimismo, permite evaluar las propiedades fisicoquímicas de componentes aislados por medio de su solubilidad, diferencia de carga, tamaño, y pureza (Quiroga, 2013). Tiene dos fases; la primera denomina estacionaria; que es usada para retener compuestos de la mezcla y la segunda es conocida como fase móvil; usada para arrastras los compuestos presentes en la muestra (Ruiz, 2020).

La TLC, es una cromatografía basada en capilaridad, por medio de la fase estacionaria. Es aplicada en una capa fina sobre un soporte que puede ser; aluminio, plástico y vidrio. Esta cromatografía es considerada de lecho abierto (Kowalska & Sajewicz, 2022). Tiene un mecanismo de separación basado en la adsorción y depende de la fase móvil usada (Quiroga, 2013).

### *Parámetros básicos Rf*

Rf es un parámetro que permite relacionar la distancia recorrida por la sustancia y la distancia de la fase móvil (Kowalska & Sajewicz, 2022). Ambas son medidas, desde el punto de

colocación (2cm del extremo inferior) hacia el centro de la mancha. Los valores del Rf oscilan entre 0 y 1 (Quiroga, 2013).

# Capítulo III

# Metodología

## Enfoque de investigación

El enfoque de la investigación se desarrolló bajo un enfoque de tipo cuantitativo descriptivo correlacional, ya que conlleva la identificación, caracterización y evaluación de la presencia o ausencia de toxinas en *Pteridium aquilinu*m (L.) Kuhn, mediante técnicas cromatografías de capa fina y la correlación de los datos obtenidos con la información epidemiológica recopilada en las fincas con incidencia de hematuria en la parroquia de Vacas Galindo**.**

## Tipo y diseño de investigación

El proyecto realizado, de acuerdo con el propósito del estudio, se basó en una investigación de tipo descriptivo correlacional, dado que se realiza una caracterización del helecho en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh. Asimismo, se realizó una identificación de las toxinas presentes por medio de una cromatografía de capa fina. Estos resultados fueron correlacionados con la información obtenida de las fincas ganaderas de la parroquia de Vacas Galindo, para relacionar la incidencia.

El diseño de la investigación fue de tipo no experimental, ya que las variables fueron analizadas sin manipulación, las muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh fueron recolectadas en tres fincas ganaderas, con dos puntos de recolección por zona y dos estados fenológicos: maduro e inmaduro.

El proyecto fue de tipo transversal, ya que, la recolección de muestras y correlación fue realizada en un periódo de tiempo determinado, asimismo, la fuente de información de la investigación es de campo ya que los datos fueron obtenidos de las fincas analizadas.

**Población y muestra**

La investigación fue desarrollada en la parroquia de Vacas Galindo, en donde la población estuvo conformada por fincas con incidencia de hematuria bovina enzoótica y muestras vegetales de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh recolectadas en las fincas.

La muestra se basó en la selección de tres fincas mediante un muestreo no probabilístico, ya que fueron escogidas por criterios como la presencia del helecho, incidencia de animales con hematuria y acceso a las fincas para recolección.

En cada finca se estableció dos zonas de muestreo, dentro de cada zona dos puntos de recolección, en donde fue tomado una muestra de helecho maduro e inmaduro por cada punto. Obteniendo como resultado un total de 24 muestras vegetales, considerando tres factores importantes: finca, zona, punto de recolección y estado fenológico del helecho.

Se excluyeron fincas en las cuales no se evidencio incidencia de hematuria, y ausencia de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh, así como fincas con difícil acceso**.**

**Técnica e instrumento**

Para la recolección se empleó observación sistemática, debido a que esta técnica permite obtener los datos de una manera ordenada y detallada del objeto de estudio en este caso sobre *Pteridium aquilinum* (L.) Khun en su hábitat natural. Para la recolección de las muestras vegetales se hizo uso de una técnica de muestreo aleatoria estratificado, ya que se dividió a la población en subgrupos homogéneos (fincas y zonas), para posteriormente muestrear de manera aleatoria en cada estrato (Mostacedo & Fredericksen, 2000).

Como instrumento se realizó una identificación botánica en el campo usando la aplicación Wikiloc, para tener georreferencias y marcar la ruta de las muestras en las tres fincas de la parroquia de Vacas Galindo. Las muestras que se recolectaron fueron frondes maduros e inmaduros, que fueron etiquetadas y almacenadas respectivamente para el traslado al laboratorio.

Como instrumento se usó cromatografía de capa fina en placas de silica gel. Se prepararon extractos con metanol absoluto en las veinticuatro muestras, usando una fase móvil de diclorometano: acetona (9:1). Se revelaron con anisaldehído para posteriormente ser observadas en luz ultravioleta, y registrar los valores de Rf de los metabolitos observados.

Ahora bien, para la identificación de las toxinas se hizo uso de cromatografía de capa fina, puesto que es una técnica rápida y eficaz para separar e identificar metabolitos de interés, en este caso las toxinas presentes en *Pteridium aquilinum* (L). Khun, especialmente las pterosinas (Vallejo et al., 2021).

Por último, para la correlación de los resultados obtenidos en laboratorio, se usó técnicas estadísticas con información complementada de encuestas previamente realizadas en las fincas con incidencia de hematuria, porque, permiten relacionar los hallazgos obtenidos en la investigación con las variables ambientales de datos previamente obtenidos en las tres fincas.

Para la correlación de incidencia clínica y positivo a pterosina A, se calculó, la porción de vacas positivas a HEB respecto al total de animales examinado por finca, con sus intervalos de confianza al 95%, estimado mediante método Wilson, que permite tener una mayor precisión en muestras pequeñas. Para evaluar la relación de prevalencia de HEB y positividad a pterosina A con los helechos maduros, inmaduro y total, se evaluó por medio del coeficiente de correlación de Spearman, usando a cada afinca como un análisis, con un nivel de $\alpha = 0{,}05$.

**Validación y confiabilidad del instrumento**

La validación de los procedimientos e instrumentos usados en la presente investigación fue basada mediante una revisión estructurada de protocolo de estudios similares, los cuales fueron adaptados a las condiciones específicas de la investigación, especialmente los procesos de cromatografía de capa fina, para la detección de toxinas.

## Consideraciones éticas

El presente proyecto, fue desarrollado respetando los principios éticos en la investigación, como el respeto a las personas, y el manejo adecuado de información. La recolección de muestras y datos fueron realizados bajo el consentimiento previo de los propietarios, que fueron informados del proceso y objeto de estudio de la investigación.

En el campo y laboratorio se siguieron normas y protocolos establecidos. Se minimizó el impacto ambiental durante la recolección de las muestras. La investigación no generó ningún daño en los participantes o en actividades productivas de los mismos.

El helecho macho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh, al ser considerado como una arvense o maleza con componentes tóxicos y una rápida propagación en las áreas agrícolas y ganaderas, no requiere permiso de recolección de muestras para fines de investigación, al contario su estudio aportará a la conservación de la biodiversidad y salud animal.

## Recolección de muestras vegetales y macerado

Para la recolección de las muestras vegetales de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, se realizó primero una observación sistemática, que permitió el reconocimiento de ejemplares de este helecho, esta técnica facilito la posterior identificación de campo de las muestras. Se clasificaron según el lugar de procedencia y estado fenológico (maduro e inmaduro) (Trejo, 2012).

**Figura 16**

*Frondes con estado fenológico maduro e inmaduro de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

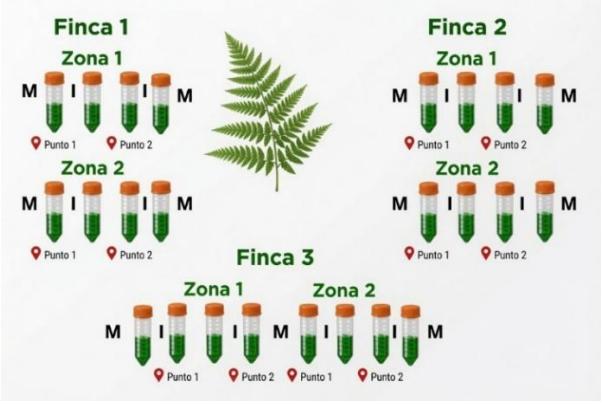


*Nota.* La imagen representa al helecho Pteridium aquilinum, en la parroquia de Vacas Galinfo, se observa al mismo en el estado fenológico maduro e inmaduro. Elaboración propia.

La recolección se llevó a cabo en tres fincas de la parroquia de Vacas Galindo, cada una de estas finas fue delimitada por dos zonas de muestreo (Zona 1 y Zona 2). Cada zona fue definida en dos puntos de recolección (Punto 1 y Punto 2), con una distancia significativa para representatividad. Cada uno de estos puntos fue clasificado en muestras de frondes maduros e inmaduros, obteniendo un total de veinticuatro muestras (3 fincas x 2 zonas x 2 puntos x 2 estados fenológicos).

**Figura 17**

*Esquema de recolección de muestras*




*Nota.* Elaboración propia. M= estado fenológico maduro, I= estado fenológico inmaduro. El esquema se realizó en Canva, se separó por finca y zona cada muestra.

En el proceso de la recolección se registró información importante de cada sitio, como las coordenadas geográficas por medio de WikiLoc. Cada una de estas muestras fue posteriormente codificada mediante la siguiente estructura: F-Z-P-M o I (donde F= finca, Z= zona, P= punto y M= Maduro, I= Inmaduro). Las muestras recolectadas se guardaron en papel aluminio y fueron selladas en fundas ziploc para preservar el material vegetal hasta el laboratorio.

**Figura 18**

*Recolección de Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



*Nota.* La imagen representa la recolección de las muestras en campo, se seleccionó, dos estados fenológicos, estado maduro e inmaduro. Elaboración propia.

Una vez transportadas las muestras al laboratorio de la universidad, el material vegetal fue colocado en fundas de papel Kraft para evitar la proliferación de hongos. Cada una de las veinticuatro muestras fue pesada en la balanza analítica para registrar su peso fresco inicial.

**Tabla 2**

*24 muestras codificadas*

| Finca | Zona | N° | Codificación |
|---|---|---|---|
| **Finca 1** | **Zona 1** | 1 | VG-F1-Z1-M1 |
| | | 2 | VG-F1-Z1-M2 |
| | | 3 | VG-F1-Z1-I1 |
| | | 4 | VG-F1-Z1-I2 |
| | **Zona 2** | 5 | VG-F1-Z2-M1 |

| Finca | Zona | N° | Codificación |
|---|---|---|---|
| | | 6 | VG-F1-Z2-M2 |
| | | 7 | VG-F1-Z2-I1 |
| | | 8 | VG-F1-Z2-I2 |
| **Finca 2** | **Zona 1** | 9 | VG-F2-Z1-M1 |
| | | 10 | VG-F2-Z1-M2 |
| | | 11 | VG-F2-Z1-I1 |
| | | 12 | VG-F2-Z1-I2 |
| | **Zona 2** | 13 | VG-F2-Z2-M1 |
| | | 14 | VG-F2-Z2-M2 |
| | | 15 | VG-F2-Z2-I1 |
| | | 16 | VG-F2-Z2-I2 |
| **Finca 3** | **Zona 1** | 17 | VG-F3-Z1-M1 |
| | | 18 | VG-F3-Z1-M2 |
| | | 19 | VG-F3-Z1-I1 |
| | | 20 | VG-F3-Z1-I2 |
| | | 21 | VG-F3-Z2-M1 |
| | **Zona 2** | 22 | VG-F3-Z2-M2 |
| | | 23 | VG-F3-Z2-I1 |
| | | 24 | VG-F3-Z2-I2 |

*Nota.* Elaboración propia. VG = Vacas Galindo; F= Finca 1,2,3; Z1/2= Zona 1 o 2; M1/2= Maduro 1 o 2; I1/2= Inmaduro 1 o 2.

Luego se procedió a secar estas muestras en la marca ESCO, a una temperatura de 35 °C durante 5 días. Esta temperatura se seleccionó con el objetivo de preservar los compuestos de interés del helecho. En este caso las toxinas, para evitar que estas se degraden. El secado fue controlado diariamente, volteando las muestras para así garantizar un secado uniforme. Una vez concluido este paso, las muestras se pesaron en la balanza analítica marca RADWAG, para evaluar la pérdida de peso de estas.

**Figura 19**

*Secado de las muestras vegetales en estufa*




*Nota.* Las muestras fueron colocadas en la estufa, de manera apilada. Elaboración propia.

Después del secado, las veinticuatro muestras fueron trituradas en un molino de café estéril, obteniendo un polvo fino y homogéneo. Este material fue almacenado en un tubo Eppendorf de 45mL, etiquetado con el mismo código establecido en la recolección. Los tubos fueron cerrados y almacenados en espacios sin humedad, hasta su uso para la preparación de los extractos.

Después del triturado se obtuvieron las 24 muestras, estas fueron dispensadas individualmente en tubos Falcon. De cada una de estas muestras, se pesó 2 gramos por cada muestra.

Con los dos gramos pesados de cada muestra, se adiciono 20 mL de etanol absoluto a cada una de las 24 muestras, se elegio este solvente debido a la afinidad que presenta con la molécula de interés (Upadhyaya et al., 2013). Las muestras fueron colocadas en agitación constante durante tres días a 90 rpm.

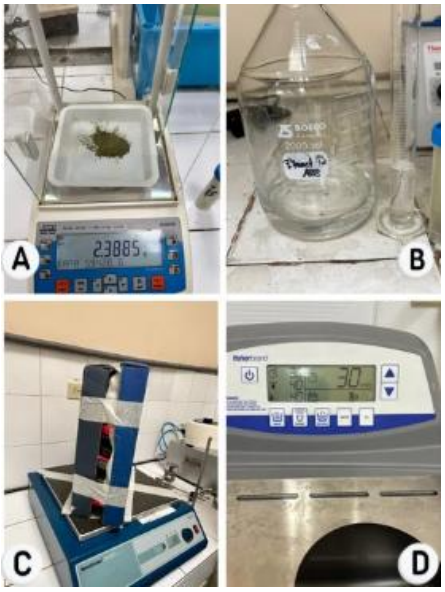
Al concluir los tres días, cada muestra, fue sonicada en un sonicador Fisherbranddurante 30 minutos a 40 °C. Posteriormente el sobrenadante obtenido fue transferido a nuevos tubos Falcon.

A la muestra vegetal restante se añadió una solución de etanol acuoso. Con ello, se preparó 480 mL de solución, que estaba compuesta por 336 mL de etanol y 144 mL de agua, acto seguido, se colocó 20 mL en cada una de las 24 muestras. Estas muestras se maceraron durante tres días.

Una vez finalizado el tiempo de macerado, se repitió el proceso de la sonicación durante 30 minutos, se recuperó el sobrenadante y se mezcló con el obtenido anteriormente.

**Figura 20**

*Proceso de la maceración de muestras vegetales*




*Nota.* Elaboración propia. A= Pesaje de la muestra; B= Etanol absoluto; C= Agitación de las muestras y D= Sonicado horizontal de las muestras durante 30 minutos.

A continuación, se tomó 5 mL del sobrenadante obtenido por cada una de las 24 muestras, se transfirió a un tubo de ensayo. Estas muestras vegetales fueron concentradas con nitrógeno gaseoso y a una temperatura de 40 °C durante 1 hora y 30 minutos (Clarke & Porter, 2025). Debido a la cantidad de muestras, el procedimiento se repitió en tres rondas hasta completar la concentración de las 24 muestras.

**Figura 21**

*Proceso de concentrado con nitrógeno gaseoso de muestras vegetales*




*Nota.* Elaboración propia. A= Concentrado de las muestras con nitrógeno; B= Aplicación de etanol acuoso en las muestras concentradas.

Tras el concentrado de las muestras, se recuperaron con una mezcla 2,1 mL de metanol y 0,9 mL de agua por cada uno de los 24 tubos. Posteriormente, se ultrasónico, sin temperatura durante 1 minuto, con el objetivo de recuperar completamente, la muestra vegetal.

**Figura 22**

*Proceso de colocación de etanol acuoso en las 24 muestras*



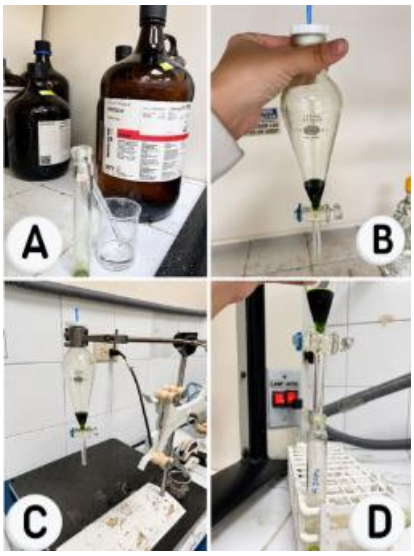

*Nota.* Elaboración propia. A= Colocación de etanol acuoso; B= sonicado horizontal de las muestras.

Luego, se procedió a eliminar la clorofila de las 24 muestras con n-heptano. Se transfirió la muestra a un embudo de decantación y se añadió 3 mL de n-heptano.

Para la eliminación de clorofila se aplicó un método liquido-liquido, usando n-heptano, ya que al ser apolar favorece a la solubilización de los componentes lipofílicos como es la clorofila (Kim et al., 2020). La mezcla fue colocada en agitación a 120 rpm durante 2 minutos. Una vez concluido el tiempo se recuperó la fase inferior, que corresponde al extracto libre de clorofila.

**Figura 23**

*Proceso de colocación de n-heptano en las 24 muestras*

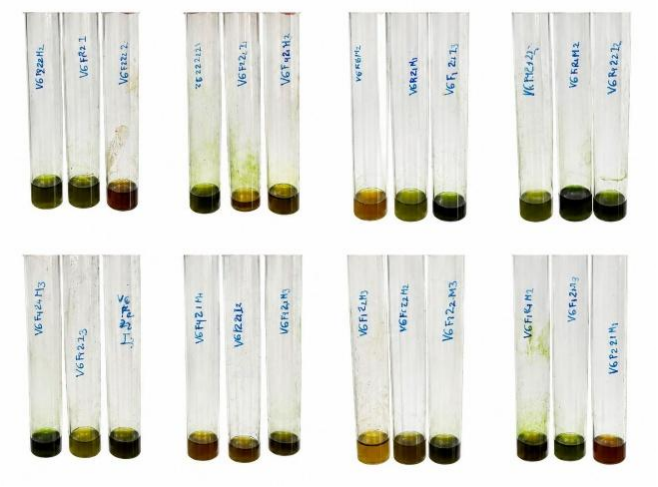



*Nota.* Elaboración propia. A= Colocación de n-heptano; B= Colocación de la muestra en el embudo de decantación; C= Agitación de las muestras; D= Recuperación de la muestra sin clorofila.

Una vez concluido este paso, se realizó una hidrolisis básica en las 24 muestras, primero se determinó el pH inicial de las muestras y se ajustó a un rango de 10-11, posteriormente se llevó a baño maría por una hora, para finalmente reajustar el pH, hasta alcanzar un valor entre 6,5 y 7.0, para esta metodología se ajustó el protocolo de (Cáceres et al., 2013; Guo et al., 2021).

**Figura 24**

*Veinticuatro muestras después de la hidrolisis básica*

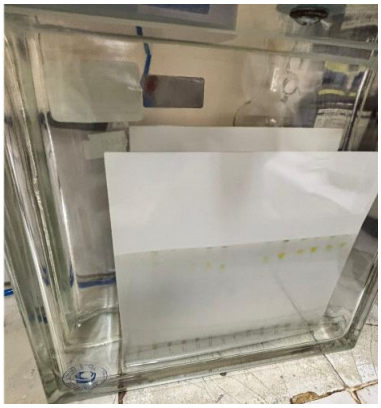


***Nota.*** Se observan las veinticutro muestras, después de su hidrólisis. Elaboración propia

Tras esto se preparó la fase móvil diclorometano y etanol en proporción 9:1. Las 24 muestras hidrolizadas, fueron aplicadas en la placa de cromatografía, 0.5 µl durante 6 veces para cada muestra. Posteriormente se dejó correr por aproximadamente 1 hora, para una adecuada separación de los compuestos presentes en el extracto.

**Figura 25**

*Corrida de las placas en fase móvil diclorometano etanol (9:1)*



*Nota.* Se observa que la fase móvil diclorometano: metanol (9:1), favoreció la separación de los metabolitos secundarios de interés. Elaboración propia.

### Caracterización Botánica

Para la caracterización se observaron las frondas maduras e inmaduras en el estereoscopio, para identificar sus estructuras. Se escogieron las frondas más frescas. Posteriormente para la caracterización del esporangio se usó azul de toluidina, para diferenciar el esporangio, el pedicelo y el anillo mecánico.

### Metodología para la correlación de la presencia de toxinas en el helecho macho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn con la incidencia de (HEB)

Para la correlación se hizo un análisis estadístico entre la prevalencia de HEB y la positividad de pterosina A, se utilizó a la finca como unidad. Además, se calculó para la finca 1, 2 y 3, la prevalencia con HEB con la positividad en los helechos inmaduros, maduros y con la positividad total. Se empleo coeficiente de rangos de Spearman con un nivel de significación de $\alpha = 0{,}05$.

## Capítulo IV

## Análisis y discusión de los resultados

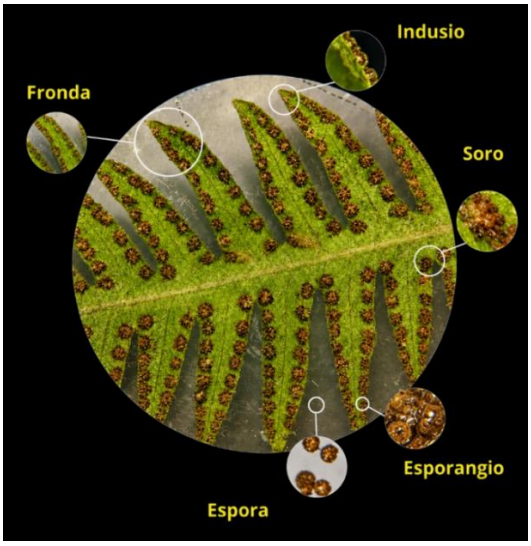
### Caracterización botánica del helecho macho

Para la caracterización botánica se observaron las muestras de las frondas maduro e inmaduro del helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en el microscopio óptico.

Asimismo, se visualizaron las esporas maduras e inmaduras del helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

**Figura 26**

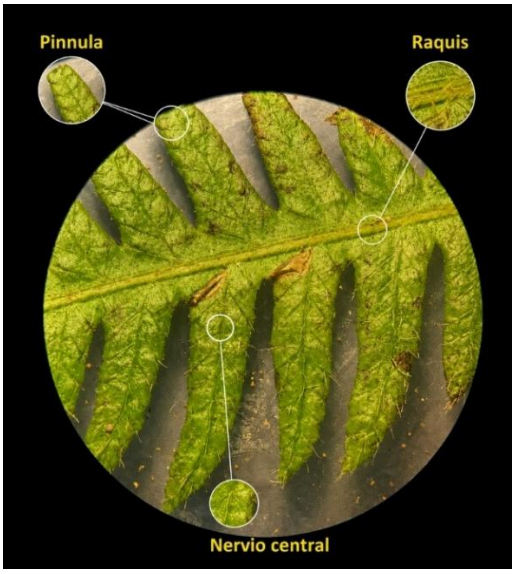
*Caracterización botánica de fronda maduro envés*




*Nota.* Se observa las estructuras identificadas en la fronda madura; espora, esporangio, soro, fronda e inducio. Muestras observadas en estereomicroscopio. Elaboración propia.

**Figura 27**

*Caracterización botánica de fronda maduro haz*




*Nota.* Se observa en la imagen; al nervio central, pinnula y raquis. Muestras observadas en estereomicroscopio. Elaboración propia.

**Figura 28**

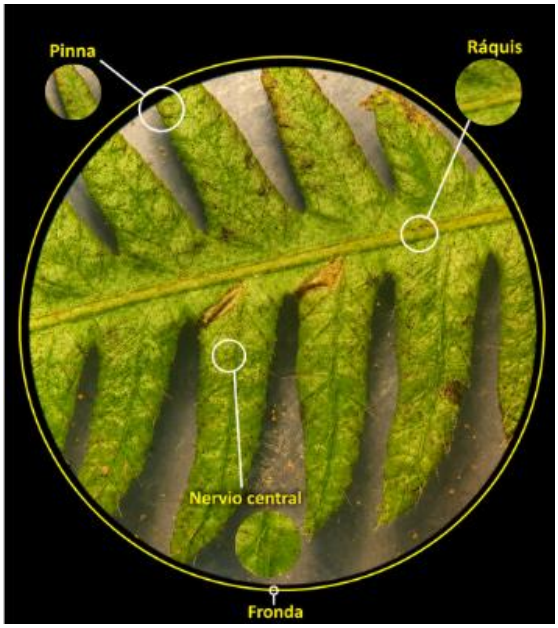
*Espora madura caracterización*




*Nota.* Se observa en la imagen la estructura del esporangio, anillo mecánico y pédicelo. Muestra observada en 40X. Elaboración propia.

**Figura 29**

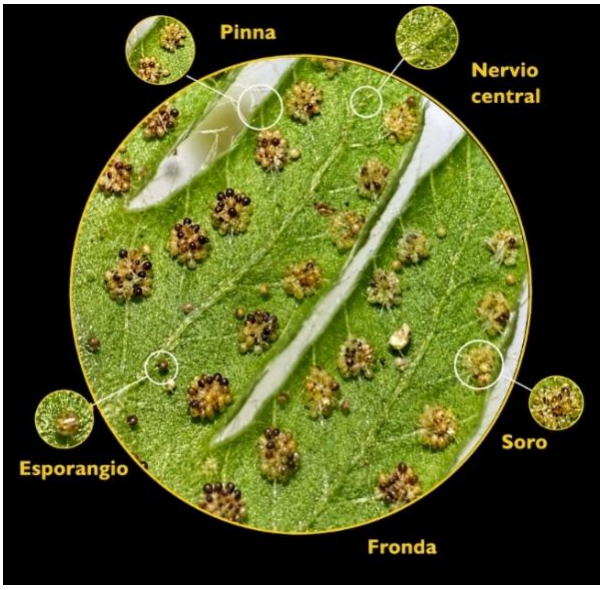
*Caracterización botánica de fronda inmaduro haz*




*Nota.* Se observa en la imagen; al nervio central, pinnula y raquis. Muestras observadas en estereomicroscopio 2X. Elaboración propia.

**Figura 30**

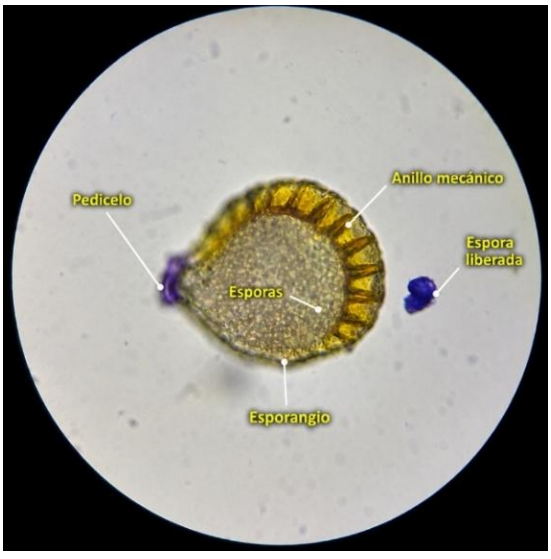
*Caracterización botánica de fronda inmaduro envés*




*Nota.* Se observa las estructuras identificadas en la fronda inmadura; esporangio, soro, fronda y pinna. Muestras observadas en estereomicroscopio 2X. Elaboración propia.

**Figura 31**

*Espora inmadura caracterización*




*Nota.* Se observa en la imagen la estructura del esporangio, anillo mecánico y pédicelo. Muestra observada en 40X. Elaboración propia.

La caracterización botánica de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, permitió la identificación de las estructuras morfológicas y anatómicas de este helecho. Las frondas maduras tienen una morfología más completa, ya que; poseen pínulas definidas, cantidad abundante de soros y esporangios en el envés (Eslava et al., 2020). A diferencia, de las frondas inmaduras, que poseen; pinnas compactas, menor desarrollo de las subdivisiones y de las estructuras. Estas diferencias son característica de los helechos, ya que su fase reproductiva, suele activarse después de que la lámina foliar complete su expansión y diferenciación (Marrs & Watt, 2006).

En *Pteridium aquilinum* el esporofito es una fase dominante del ciclo de vida, en esta etapa se producen las frondas, las cuales emergen del rizoma, aportando al crecimiento vegetativo y reproducción sexual (Eslava et al., 2020; Marrs & Watt, 2006).

En las frondas maduras se identificaron estructuras como; indusio, soro, fronda, y esporangio, mientras que en el envés; pínula, raquis y nervio central. Estas estructuras indican que las frondas han alcanzado la madurez reproductiva. Los soros se encuentran a lo largo de la pínula de manera continua. Característico de la familia Dennstaedtiaceae, se forma una densidad de esporangios en el margen foliar de la planta, lo cual ayuda a una adecuada dispersión de las esporas, una vez que el indusio se retrae (Marrs & Watt, 2006; Trejo, 2012).

El indusio tiene una función protectora, en las etapas de desarrollo de los esporangios. En *Pteridium aquilinum* esta estructura en conjunto con el margen foliar, se enrollan formando una protección para los soros hasta que alcancen la madurez, retrayéndose hasta permitir la liberación de los esporangios (Díaz et al., 2019; Eslava et al., 2020).

Los soros en las frondas maduras indican que el proceso reproductivo se encuentra completo, a simple vista se ven como manchas o “bolitas” oscuras. Las agrupaciones de los esporangios que se observan en la imagen 36 son los sitios, donde ocurre la meiosis y la formación de las esporas haploides (Rocha & Montoya, 2021).

El raquis es el eje principal de la fronda. Es importante, dado que, proporciona soporte mecánico a las pinnas y pínulas. Asimismo, esta estructura contiene los haces vasculares que

son esenciales para el transporte del agua y minerales. Por otro lado, el nervio central permite que estos elementos se distribuyan a los tejidos laminares (Díaz et al., 2019; Eslava et al., 2020).

Las pínulas son las subdivisiones de la fronda, suelen ser oblongas y lanceoladas, dispuestas a lo largo de la pinna. En las frondas maduras o fértiles, los soros se localizan en el margen de las pínulas (Eslava et al., 2020; Marrs & Watt, 2006).

Las frondas inmaduras presentaron las estructuras (pinna, raquis, nervio central y frondas), además de soros y esporangios en menor cantidad que el estado fenológico maduro. Esta diferencia es característico de los helechos, ya que, las frondas jóvenes se centran en el crecimiento vegetativo y no en la producción de estructuras reproductivas. En *Pteridium aquilinum*, los soros y esporangios se observan en mayor dominancia en las frondas maduras (Eslava et al., 2020; Marrs & Watt, 2006).

De la misma manera, se observa la ausencia del indusio desarrollado en el estado fenológico inmaduro, esta estructura se diferencia en estados fenológicos más avanzados (Eslava et al., 2020). La función protectora del indusio surge cuando los esporangios contienen esporas en proceso de maduración, por lo cual, las frondas jóvenes no requieren que esté presente. La maduración de las estructuras reproductivas se da de manera sincronizada con el desarrollo foliar (Trejo, 2012).

La caracterización de los esporangios de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuh permitió la identificación de estructuras como; esporangio, pedicelo, anillo mecánico y esporas, en los diferentes estados fenológicos. Este helecho es de tipo leptosporangiado, es decir, que se desarrolla por medio de una sola célula inicial, dando lugar a la formación de un pedicelo y anillo mecánico que permite la apertura del esporangio para la liberación de las esporas (Eslava et al., 2020;Trejo, 2012).

El pedicelo es una estructura que sostiene el esporangio, ya que da soporte y actúa como un medio de transporte de agua y nutrientes necesarios. Además, en la figura 38 y 41, se aprecia de color azul, por la presencia de celulosa (Eslava et al., 2020; Trejo, 2012).

El anillo mecánico está formado por células epidérmicas. Cuando existe una disminución en la humedad ambiental, estas células pierden agua y provocan la apertura del estomio del esporangio. Para luego retornar a su posición original, causa que las esporas se liberen, este mecanismo se llama higroscópico el cual es una de las características más importantes del helecho leptosporangiado, favoreciendo a la liberación de esporas con condiciones ambientales que ayuden a su transporte por viento (Rincón et al., 2025; Trejo, 2012).

Las esporas almacenadas en el esporangio y las esporas ya liberadas son indicativos de los diferentes procesos reproductivos. En los helechos, esporas originadas por meiosis en el interior de los esporangios (Trejo, 2012). Que al germinar dan lugar a la formación del gametófito (prótalo), que representa el inicio de la fase gametofítica, y que al llegar a su madurez origina gametangios masculinos (anteridios) y femeninos (arquegonios), que dan paso a su ciclo biológico (Rincón et al., 2025).

Como se aprecia en las imágenes 38 y 41, existe una diferencia visible en las estructuras de los esporangios maduros e inmaduros, aunque ambas presenten estructuras de pedicelo, capsula y anillo mecánico, solo en el estado maduro se evidencio un pedicelo completamente diferenciado. Mientras que, en el inmaduro esta estructura es menos evidente, lo que indica que su desarrollo aún no se ha complementado (Rincón et al., 2019: Trejo, 2012).

**Porcentaje de masa vegetal seca**

A partir de los datos que se presentan en la tabla 3, obtenidos antes y después del secado, se calculó la pérdida de masa vegetal

Se basó en la formula:

$$\%H = \frac{PMH - PMD}{PMH} \times 100 \qquad (1)$$

$$\%MS = 100 - \%H \quad (2)$$

Como se observa en la ecuación (1) y (2), se calcula el porcentaje de humedad y materia seca. Donde:

**PMH** = Peso de Muestra Húmeda (peso antes del secado)

**PMD** = Peso de Muestra Desecada (peso después del secado)

**MS** = Materia seca

**Tabla 3**

*Porcentaje de humedad y materia seca*

| Código | PMH (g) | PMD (g) | %H | %MS |
|---|---|---|---|---|
| VG-F1-Z1-M1 | 47,79 | 14,04 | 70,62 | 29,38 |
| VG-F1-Z1-M2 | 39,11 | 15,11 | 61,36 | 38,64 |
| VG-F1-Z1-I1 | 31,23 | 10,14 | 67,53 | 32,47 |
| VG-F1-Z1-I2 | 34,35 | 10,39 | 69,75 | 30,25 |
| VG-F1-Z2-M1 | 30,50 | 12,05 | 60,49 | 39,51 |
| VG-F1-Z2-M2 | 38,29 | 14,62 | 61,82 | 38,18 |
| VG-F1-Z2-I1 | 19,42 | 8,77 | 54,84 | 45,16 |
| VG-F1-Z2-I2 | 28,86 | 9,38 | 67,50 | 32,50 |
| VG-F2-Z1-M1 | 44,08 | 19,19 | 56,47 | 43,53 |
| VG-F2-Z1-M2 | 44,61 | 17,27 | 61,29 | 38,71 |
| VG-F2-Z1-I1 | 43,77 | 14,48 | 66,92 | 33,08 |
| VG-F2-Z1-I2 | 47,35 | 15,58 | 67,10 | 32,90 |
| VG-F2-Z2-M1 | 35,81 | 12,53 | 65,01 | 34,99 |
| VG-F2-Z2-M2 | 42,68 | 15,89 | 62,77 | 37,23 |
| VG-F2-Z2-I1 | 31,02 | 10,15 | 67,28 | 32,72 |
| VG-F2-Z2-I2 | 33,69 | 10,22 | 69,67 | 30,33 |
| VG-F3-Z1-M1 | 43,23 | 14,56 | 66,32 | 33,68 |
| VG-F3-Z1-M2 | 28,28 | 10,37 | 63,33 | 36,67 |

| Código | PMH (g) | PMD (g) | %H | %MS |
|---|---|---|---|---|
| VG-F3-Z1-I1 | 51,23 | 18,14 | 64,59 | 35,41 |
| VG-F3-Z1-I2 | 37,79 | 10,15 | 73,14 | 26,86 |
| VG-F3-Z1-M1 | 41,67 | 11,92 | 71,39 | 28,61 |
| VG-F3-Z2-M2 | 40,23 | 13,77 | 65,77 | 34,23 |
| VG-F3-Z2-I1 | 23,14 | 9,10 | 60,67 | 39,33 |
| VG-F3-Z2-I2 | 14,82 | 6,89 | 53,51 | 46,49 |

*Nota.* Elaboración propia. PMH = Peso antes del secado; PMD = Peso después del secado; % H= Porcentaje de humedad y %MS = Porcentaje materia seca.

**Tabla 4**

*Promedio por finca*

| Finca | %H promedio | %MS promedio |
|---|---|---|
| F1 | 64,24 | 35,76 |
| F2 | 64,56 | 35,44 |
| F3 | 64,84 | 35,16 |

*Nota.* Elaboración propia. F= Finca 1,2 o 3; % H= Porcentaje de humedad y %MS = Porcentaje materia seca.

**Tabla 5**

*Promedio 24 muestras*

| Parámetro | Valor (%) |
|---|---|
| Humedad (%H) | **64,55** |
| Materia seca (%MS) | **35,45** |

*Nota.* Elaboración propia. Se hizo un promedio entre las tres fincas para obtener el % de humedad y materia seca.

Los resultados indican que el promedio de humedad (%H) obtenido en las muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn fue de 64,55%, y el de materia seca (%MS) de 35,45%.

También, los valores promedio de humedad y materia seca a nivel de las tres fincas; son similares con promedios de %H (64,24; 64,56 y 64,84 %), y %MS (35,76, 35,44 y 35,16), con una baja variabilidad entre muestras. Esta similitud indica que las poblaciones analizadas, crecen bajo condiciones ambientales homogéneas, por ende, las frondas recolectadas presentan un estado fisiológico semejante.

Marrs & Watt (2006) mencionan que; las características de las frondas de *Pteridium aquilinum* se ven influenciadas por las condiciones ambientales del sitio, cuando estas condiciones son similares, se observa que las poblaciones tienen respuestas más uniformes, pero cuando las condiciones varían entre los sitios, se logra observar mayores variaciones.

El agua es uno de los principales componentes de los tejidos vegetales, ya que desempeña funciones esenciales para la vida de las plantas, es necesario para; expansión y crecimiento celular, mantenimiento de la turgencia, transporte de solutos y nutrientes, fotosíntesis y perdida de calor por medio de la transpiración (Lambers et al., 2008). Los helechos, poseen un órgano fotosintético principal, denominado fronda. Es indispensable tener un adecuado equilibrio hídrico para un correcto funcionamiento en los procesos fisiológicos del helecho; como la fotosíntesis y transporte de agua (Pittermann et al., 2013).

Se observa que las frondas de *Pteridium aquilinum* tiene un promedio de

64,55 % de humedad. Esto es congruente con la información reportada de los helechos. Se menciona que dependen de un adecuado suministro de agua para tener una actividad fotosintética y transporte vascular adecuado de las frondas (Marrs & Watt, 200; Pittermann et al., 2013).

*P. aquilinum*, tiene adaptaciones que le permiten sobrevivir a condiciones de campo que poseen elevadas demandas transpirativas. Esto destaca; control estomático eficiente, cutícula

desarrollada que reduce la perdida excesiva del agua, lo que le confiere una mayor plasticidad frente a variaciones de la disponibilidad hídrica (Marrs & Watt, 2006; Pittermann et al., 2013).

La cutícula actúa como una barrera principal para la pérdida de agua no estomática, la cual está compuesta por una matriz de cutina (Guo et al., 2018). En un estudio sobre helechos, se identificaron que las frondas de Pteridium *aquilinum* están conformadas por ceras, esteres alifáticos de cadena larga, acido grasos, alcoholes primarios y aldehídos. La cobertura cerosa en esta especie tiene un valor aproximado de 9,6 μg $cm^{-2}$, que ayuda a mantener un equilibrio hídrico, por ende, se puede observar variabilidades bajas entre las fincas (Guo et al., 2018).

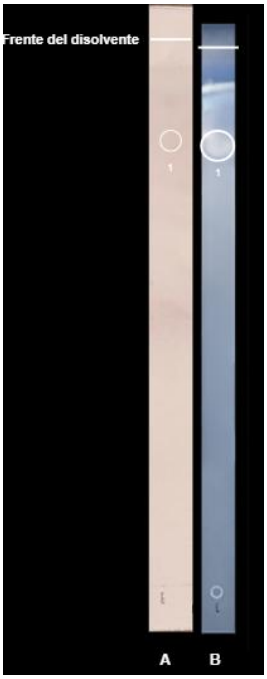
Sin embargo, la variabilidad que se observa en la tabla 3 de las muestras individuales, está relacionado con el estado de desarrollo de las frondas. Dado que, a medida que las frondas maduran, surgen cambios estructurales y químicos que influyen en el contenido de agua (Atkinson 1989; Marrs & Watt, 2006).

Las frondas de este helecho muestran que existen variaciones en el tamaño, densidad y la biomasa, según la etapa en el cual se encuentre de desarrollo, al igual que, las condiciones ambientales (Atkinson,1989). Los tejidos jóvenes poseen una actividad metabólica, mayor que, los tejidos maduros. Estos cambios influyen en la biomasa seca, ya que, hay mayor cantidad en las frondas maduras. Que contribuye a una reducción del contenido de agua (Marrs & Watt, 2006).

**Cromatografía de capa fina TLC**

**Figura 32**

*Estándar de pterosina A*




*Nota.* Elaboración propia. A) representa el estándar de pterosina A revelado con anisaldehído en fase móvil diclorometano metanol 9:1; B) representa el estándar de la pterosina A observado bajo luz UV cercana.

El valor del RF se calculó bajo la siguiente formula:

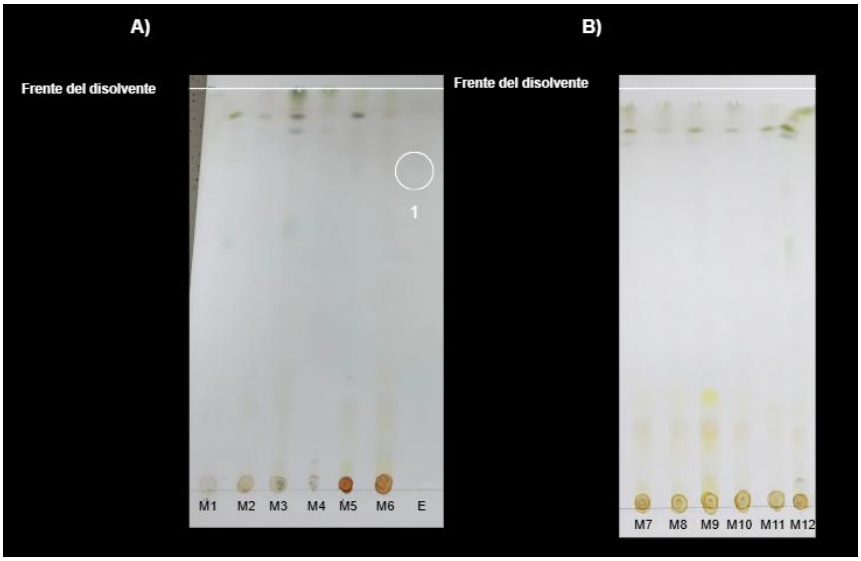
$$Rf = \frac{Distancia\ recorrida\ por\ el\ compuesto\ desde\ la\ línea\ base}{Distancia\ recorrida\ por\ el\ frente\ del\ solvente\ desde\ la\ línea\ base} \quad (3)$$

A partir de la ecuación (3), se calculó cada uno de los Rf presente, empezando por el estándar de pterosina A:

$$RF = \frac{13{,}9}{17} = 0{,}817$$

**Figura 33**

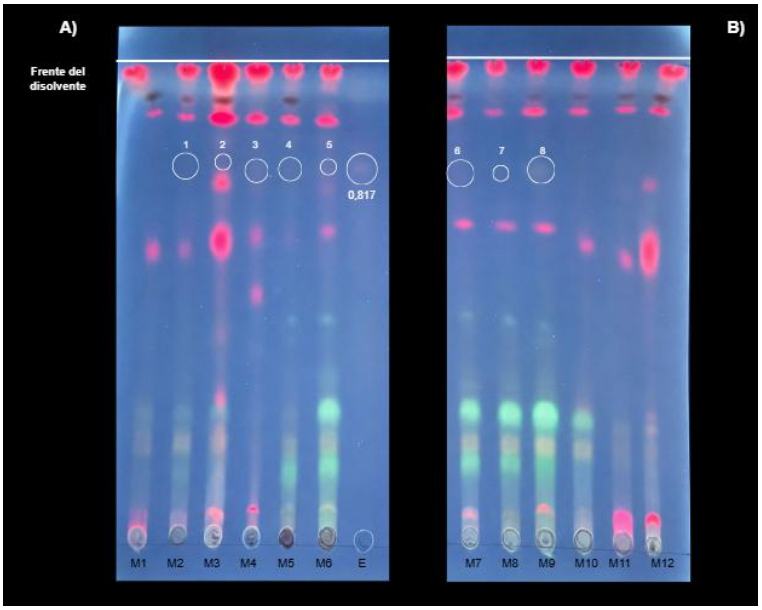
*Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho maduro*




*Nota.* Elaboración propia. En la figura A se aprecia el estándar de la pterosina A con un valor de Rf= 0,817.

**Figura 34**

*Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho maduro bajo luz UV*




*Nota.* Elaboración propia. Se aprecia las 12 muestras de *Pteridium aquilinum* L (Khun) en el estado fenológico maduro.

**Tabla 6**

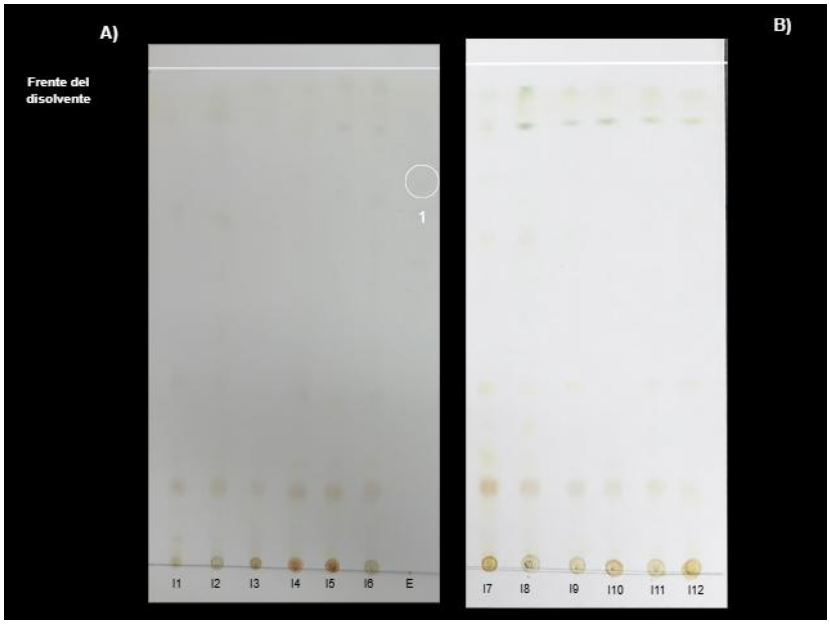
*Valores de Rf estado fenológico maduro*

| Muestra | Valor (Rf) |
|---|---|
| 1 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 2 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |
| 3 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 4 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 5 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |
| 6 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |
| 7 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |
| 8 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |

*Nota.* Elaboración propia.

**Figura 35**

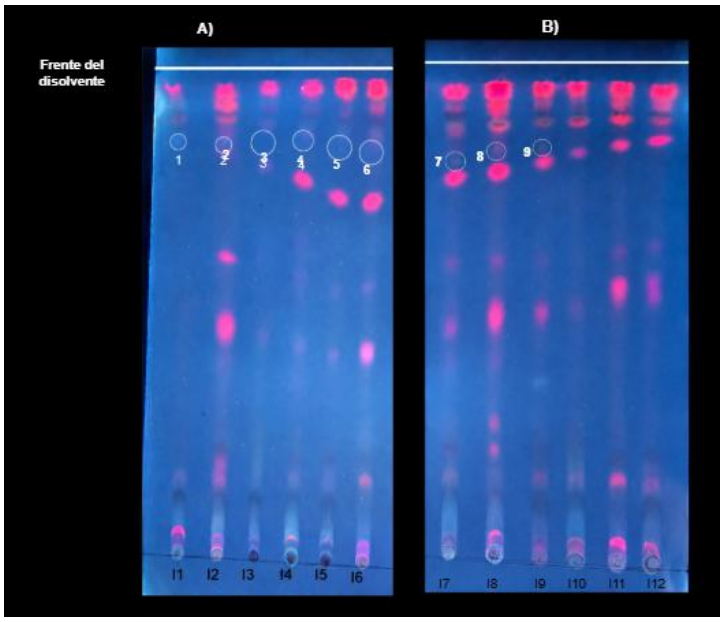
*Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho inmaduro*



*Nota.* Elaboración propia. Se aprecia las 12 muestras de *Pteridium aquilinum* L (Khun) en el estado fenológico inmaduro. En la figura A se observa el estándar de la pterosina A con un Rf= 0,817.

**Figura 36**

*Placa de TLC correspondiente a las muestras de helecho inmaduro bajo luz UV*




*Nota.* Elaboración propia. Se aprecia las 12 muestras de *Pteridium aquilinum* L (Khun) en el estado fenológico inmaduro.

**Tabla 7**

*Valores de Rf estado fenológico inmaduro*

| Muestra | Valor (Rf) |
|---|---|
| 1 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 2 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 3 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 4 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |

| Muestra | Valor (Rf) |
|---|---|
| 5 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 6 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 7 | $\frac{13,8}{17} = 0,811$ |
| 8 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |
| 9 | $\frac{13,9}{17} = 0,817$ |

*Nota.* Elaboración propia.

**Tabla 8**

*Presencia de la toxina en las veinticuatro muestras*

| Finca | Zona | N.° | Codificación | Estado fenológico | Toxina |
|---|---|---|---|---|---|
| Finca 1 | 1 | 1 | VG-F1-Z1-M1 | Maduro | No |
| | | 2 | VG-F1-Z1-M2 | Maduro | Sí |
| | | 3 | VG-F1-Z1-I1 | Inmaduro | Sí |
| | | 4 | VG-F1-Z1-I2 | Inmaduro | Sí |
| | 2 | 5 | VG-F1-Z2-M1 | Maduro | Sí |
| | | 6 | VG-F1-Z2-M2 | Maduro | Sí |
| | | 7 | VG-F1-Z2-I1 | Inmaduro | Sí |
| | | 8 | VG-F1-Z2-I2 | Inmaduro | Sí |
| Finca 2 | 1 | 9 | VG-F2-Z1-M1 | Maduro | Sí |
| | | 10 | VG-F2-Z1-M2 | Maduro | Sí |
| | | 11 | VG-F2-Z1-I1 | Inmaduro | Sí |
| | | 12 | VG-F2-Z1-I2 | Inmaduro | Sí |
| | 2 | 13 | VG-F2-Z2-M1 | Maduro | Sí |
| | | 14 | VG-F2-Z2-M2 | Maduro | Sí |
| | | 15 | VG-F2-Z2-I1 | Inmaduro | Sí |
| | | 16 | VG-F2-Z2-I2 | Inmaduro | Sí |

| Finca | Zona | N.° | Codificación | Estado fenológico | Toxina |
|---|---|---|---|---|---|
| Finca 3 | 1 | 17 | VG-F3-Z1-M1 | Maduro | Sí |
| | | 18 | VG-F3-Z1-M2 | Maduro | No |
| | | 19 | VG-F3-Z1-I1 | Inmaduro | SÍ |
| | | 20 | VG-F3-Z1-I2 | Inmaduro | No |
| | 2 | 21 | VG-F3-Z2-M1 | Maduro | No |
| | | 22 | VG-F3-Z2-M2 | Maduro | No |
| | | 23 | VG-F3-Z2-I1 | Inmaduro | No |
| | | 24 | VG-F3-Z2-I2 | Inmaduro | No |

*Nota.* Sí = presencia de la toxina; No = ausencia de la toxina. M = maduro; I = inmaduro; F = finca; Z = zona.

Los resultados evidenciados mediante la cromatografía de capa fina (TLC) en la placa de sílica gel, con una fase móvil de diclorometano: metanol (9:1), permitió la posible identificación de la pterosina A, en los extractos etanólicos de *Pteridium aquilinum* L (Khun), con valor del estándar (Rf = 0,817). Las muestras analizadas en el estado fenológico maduro e inmaduro evidenciaron un valor Rf comprendido entre 0.811 y 0,817, con una diferencia de (ΔRf) de 0,006 unidades.

El factor de retención (Rf), es un parámetro que indica la afinidad del analito ante la fase estacionaria, en este caso de la sílica gel, frente a la fase móvil diclorometano: metanol (9:1). De tal forma, permite evidenciar de manera indirecta la polaridad del compuesto migrado. El valor del Rf del estándar de la pterosina A y el que se observó en las bandas de las muestras en el estado fenológico maduro e inmaduro, contrastan que, bajo un mismo sistema de fases en condiciones experimentales iguales, los compuestos que poseen la misma naturaleza química se desplazan a una distancia relativamente similar (López et al., 2005; Kowalska & Sajewicz, 2022).

Se observó que el factor de retardo (Rf), en algunas muestras hay una magnitud de discrepancia de (ΔRf) de 0,006 unidades, que es considerado aceptable en el margen de

variabilidad experimental de las TLC convencionales. Ya que, la identificación mediante la TLC, se basa en la comparación visual del color, tamaño y factor de retención Rf de las manchas del extracto frente a una referencia, siempre y cuando sea desarrollado bajo las mismas condiciones no se exige una coincidencia numérica exacta en el Rf.

La variabilidad del parámetro Rf en TLC, se da debido a varios factores experimentales, como el grado de saturación de la cámara cromatográfica con los vapores de la fase móvil, espesor, humedad relativa del ambiente que puede afectar a la silica, temperatura, volumen y la concentración de la muestra aplicada. Estos factores explican porque incluso compuestos idénticos que se han desarrollado en placas iguales o distintas pueden presentar algunas variaciones del Rf (Kowalska & Sajewicz, 2022).

Por ende, la variabilidad de 0,006 que se obtuvo en los resultados es congruente con las fluctuaciones del sistema y no con alguna diferencia estructural del compuesto. Además, Rf es un parámetro empírico que depende del sistema, no es una propiedad propia de la molécula (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare [EDQM], 2023).

La cromatografía de capa fina en silica gel, es uno de los métodos más empleados, para el análisis fitoquímico de compuestos, la fase estacionaria polar y la fase móvil interactúan por la retención de los solutos presentes en los extractos (Rivera et al., 2024). La silica gel posee una estructura polar dado a sus grupos silanol (Si-OH), que actúan como sitios activos de absorción. Los grupos silanol poseen tres tipos de interacciones intermoleculares, que permiten que se dé la migración de los componentes; mediante los puentes de hidrogeno que se establecen entre el hidrogeno del silanol y los átomos electronegativos (oxígeno y nitrógeno) de los solutos, interacciones dipolo dipolo; que surge mediante los grupos funcionales oxigenados de los analitos y los grupos del silanol (Si-OH) presentes en la sílica, dado a las regiones con cargas positivas y negativas de las moléculas haciendo que se atraigan; las fuerzas de Van der Wals,  que causan la retención de ciertas partes apolares de la molécula (Chaudhary, 2024).

Por ende, los compuestos que tienen mayor polaridad tienen una mayor afinidad ante la silica y migran menores distancias, a diferencia de los compuestos con menor polaridad (Quiroga, 2013). estos, se transportan con una mayor facilidad por la fase móvil, obteniendo así valores de Rf más altos (Nichols, 2022).

La posible detección a pterosina A, sin la observación del caudatósido, indica que previamente hubo la presencia de este compuesto en la planta, ya que, la pterosina A es un producto de la hidrólisis de dicho compuesto. El caudatósido es un compuesto inestable que puede degradarse durante el desarrollo de la fronda, por este motivo suele ser estudiado sus productos como la pterosina A, este compuesto es un glucósido tóxico y carcinogénico presente en el helecho *Pteridium aquilinum* (Kisielius et al., 2022).

La pterosina A que proviene de la familia de los sesquiterpenos derivado de un esqueleto de 1-indanona, presente en los metabolitos de los helechos del género *Pteridium*(Guaraca, 2020). Son estructuralmente, moléculas formadas por un anillo aromático fusionado a un anillo ciclopentanónico, que posee un grupo carbonilo (cetona), que es característico del núcleo 1-indanona. Presenta dos grupos metilo (-$CH_3$), un grupo hidroximetilo ($CH_2OH$) y un grupo hidroxietilo ($CH_2CH_2OH$), estos sustituyentes varían entre las diferentes pterosinas de la especie (Lee et al., 2012).

La estructura de la pterosina A, le da una polaridad intermedia; el núcleo indanónico y los grupos metilos le dan un carácter lipofílico, mientras que el grupo cetónico y los grupos hidroxilados pueden formar puentes de hidrogeno con los silanoles de la sílice (Guaraca, 2020; Kuroyanagi et al., 1978). Por lo que, el valor experimental de Rf= 0,817, refleja que la parte hidrofóbica de la molécula domina en el comportamiento cromatográfico, por ende, bajo las condiciones cromatográficas empleadas, se obtuvo una interacción con la fase diclorometano:metanol (9:1) permitiendo la migración de la molécula, con un desplazamiento cercano a las regiones del frente del solvente.

La selección de la fase diclorometano: metanol (9:1), se basa en que el diclorometano, es un disolvente de polaridad morada y con una baja capacidad de formar puentes de hidrógeno (Pailakian, 2026). A diferencia del metanol, el cual cumple con una función polar; ya que al tener un grupo hidroxilo es capaz de interactuar con los grupos silanol de la sílice para formar puentes de hidrógeno (Schaller, 2022).

Se uso anisaldehído para revelar las placas, este reactivo es universal y contiene en su formulación; ácido sulfúrico que favorece a las reacciones de condensación y deshidratación con los compuestos que tienen grupos funcionales de tipo nucleofílicos, y se generan productos coloreados después de que la placa es calentada. Es sensible a casi todos los grupos funcionales, especialmente a los que poseen núcleofilicidad fuerte y débil (Nahata, 2014).

Este reactivo permite visualizar terpenos, compuesto fenólicos y otros metabolitos secundarios, mediante la coloración en diferentes tonalidades, no obstante, los colores que se obtiene no suelen ser específicos a una clase determinada, dado que, depende de la estructura molecular del analito, concentración, condición de revelado y temperatura del calentamiento de la placa (Agatonovic et al., 2021).

La interpretación de las manchas obtenidas en la cromatografía debe ser analizada bajo ciertos aspectos, el revelador anisaldehído, genera una amplia gama de coloraciones en los metabolitos presentes en las plantas, puede variar desde azul grisáceo, violeta, purpura e inclusive verde, esto depende exclusivamente de la estructura química del compuesto y las condiciones empleadas (Nahata, 2014). Usualmente, las tonalidades azulades se relacionan con los monoterpenos y alcoholes monoterpénicos, a diferencia de las coloraciones púrpuras que suelen relacionarse con triterpenos y fitoesteroles. De la misma manera, las tonalidades grises pueden estar relacionadas con esteroides y esteres de terpenos, en cambio, los diterpenos suelen generar machas de color marrón. Por último, colores verdes, rojos y amarillos suelen están asociados a otro tipo de metabolitos (Agatonovic et al., 2021).

*Pteridium aquilinum*, es una especie que posee una diversidad de compuestos, entre ellos, pterosinas, flavonoides, ácidos fenólicos, polisacáridos y norsesquiterpenos (Agatonovic et al., 2021). Por lo cual, la presencia de diferentes bandas en el extracto evidencia que posee un amplio perfil fitoquímico Rodríguez et al., 2017).

Es por ello, que la visualización bajo luz UV, permite la detección de compuestos que son capaces de absorber radiación ultravioleta, entre la longitud de onda de 254 nm, la cual es absorbida por la mayoría de los compuestos orgánicos(HealthCare, 2023). Especialmente las moléculas que posee un sistema π conjugado, anillo aromático, grupos funcionales que permiten la dislocación electrónica o compuestos con grupos cromóforos (Nichols, 2022).

Estos sistemas permiten que se dé transiciones electrónicas π→π*, y n→π, permitiendo que las moléculas puedan ser observadas como manchas de color fluorescente en la placa de cromatografía (Harvey, 2022). La intensidad del color depende de los compuestos como; estructuras moleculares, conjugación y la presencia de grupos funcionales (Harvey, 2022).

Por lo cual, la aparición de diferentes tonalidades de fluorescencia está relacionadas a características de las propiedades electrónicas de las moléculas (Harvey, 2022). En los compuestos fenólicos y flavonoides, la presencia del anillo aromático conjugado causa que se observen diferentes tonalidades fluorescentes, como el azul, azul-verdoso, amarillo y verde, lo cual dependerá del grado de conjugación de la molécula (Vielman, 2004).

**Análisis Estadístico**

**Tabla 9**

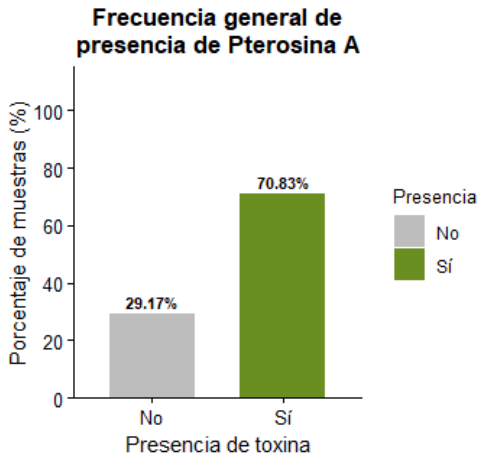
*Frecuencia general de presencia Pterosina A*

| Presencia | Número de muestras (n) | Porcentaje (%) |
|---|---|---|
| No | 7 | 29,17 |
| Sí | 17 | 70,83 |
| Total | 24 | 100 |

*Nota.* Elaboración propia. Presencia y ausencia de Pterosina A en *Pteridium aquilinum* (n = 24).

**Figura 37**

*Frecuencia general de Pterosina*




*Nota.* Frecuencia porcentual de presencia y ausencia de Pterosina A en *Pteridium aquilinum* (n = 24).

La detección de la Pterosina A en las muestras estudiades (n=24), se obtuvo que aproximadamente el 70,83% evidenciaron la posible presencia de la toxina, lo cual, indica que este metabolito se encuentra en una amplia distribución vegetal. A diferencia del 29,17% de las muestras que no poseen presencia o evidencia de toxinas. Cabe destacar que la pterosina es producto de degradación del caudatósido, compuesto relacionado con la toxicidad que puede afectar a los animales de granja (Cope, 2025).

La pterosina A es un compuesto que depende de la actividad microbiana del suelo, y de las condiciones ambientales, se ha demostrado que las pterosinas no se acumulan en los suelos ácidos y con actividad microbiana, ya que tienen a degradarse rápidamente (Guaraca, 2020). Este compuesto varía según pH y temperatura, causando así, que algunas muestras vegetales no tengan la presencia de esta toxina (Ribeiro et al., 2020; Zaccone et al., 2014).

También se conoce los compuestos toxicológicos presentes en los helechos del género *Pteridium* suelen concentrarse en los rizomas, y frondas jóvenes o en el estado fenológico inmaduro (Ribeiro et al., 2020; Zaccone et al., 2014).

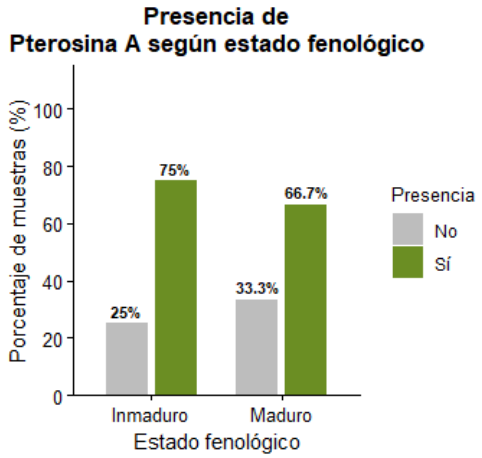
**Tabla 10**

| Estado fenológico | No | SÍ |
|---|---|---|
| Inmaduro | 3 | 9 |
| Maduro | 4 | 8 |

*Nota.* Elaboración propia. Frecuencia de la presencia de Pterosina A en estado fenológico maduros e inmaduros (n = 12 por estado fenológico).

**Figura 38**

*Frecuencia de Pterosina A según estado fenológico*




*Nota.* Elaboración propia. Elaboración propia. Porcentaje de la presencia de Pterosina A en estado fenológico maduros e inmaduros (n = 12 por estado fenológico). La Se realizó Fisher y se obtuvo (p = 1,000).

Se aplicó la prueba exacta de Fisher (α = 0,05), obteniendo p = 1,000.

Como p > α (1,000 > 0,05), no existe evidencia estadística suficiente para afirmar una relación entre el estado fenológico y la presencia de pterosina A. Los helechos en estado fenológico inmaduros tienen una frecuencia del (75 %) a diferencia de los maduros con (66,67 %).

La fisiología de *Pteridium aquilinum*, indica que esta especie suele concentrar la mayor cantidad de compuestos químicos en los tejidos jóvenes, especialmente en, los báculos,

estructuras que emergen y aún no se lignifica (Kato-Noguchi & Kato, 2026). Estudios realizados, compararon la actividad del ptaquilósido y la pterosina, en variedades neotropicales de *Pteridium aquilinum*, donde identificaron que estos dos compuestos alcanzaron sus concentraciones máximas en los báculos que emergen primeros, y la disminución de estos compuestos disminuye a medida que, las frondas se despliegan y maduran (Alonso et al., 1995).

La reducción de toxinas va incrementando a medida se acerque al estado de madurez en el que se encuentre la planta. Cuando la planta tiene sus brotes más jóvenes, se ha identificado que las frondas presentan concentraciones altas hasta 3612 µg/g. Conforme avanza su madurez, la concentración de ciertas toxinas van disminuyendo, hasta casi alcanzar valores no detectables en el estadio de senescencia. En este estudio se analizó estructuras como (frondas, rizomas y raíces), evidenciando que la mayor cantidad fue presente en las frondas y los rizomas. Identificando que la toxina depende de la estructura vegetal y estado fenológico (Rasmussen & Hansen, 1995).

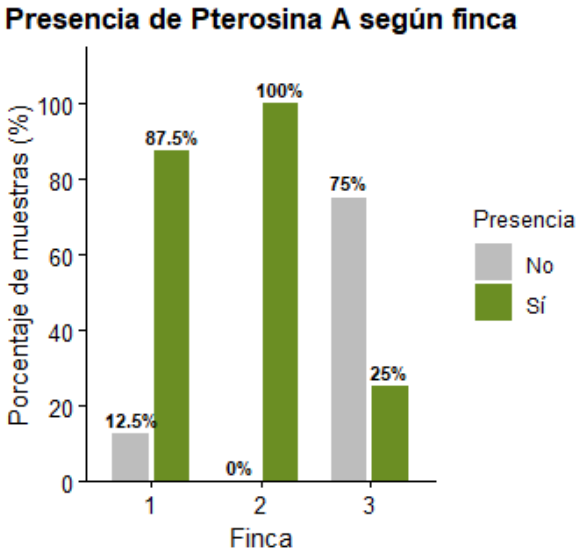
La diferencia observada entre los estados fenológicos inmaduro (75 %) y maduro (66,67 %) podría explicarse por la transformación del ptaquilósido en pterosinas. La formación de este compuesto está influenciada por; condiciones de hidrólisis del ptaquilósido, el pH, la temperatura y la actividad enzimática de la muestra vegetal. Estos factores permiten determinar la velocidad y grado de conversión del compuesto. Por lo cual, estos factores pueden están involucrados en la cantidad de pterosinas presentes en los estados fenológicos (Rasmussen, 2021).

La insuficiente información estadística para afirmar una relación entre el estado fenológico y la presencia de pterosina A. Se puede deber a que el análisis que se realizó fue en base a presencia/ausencia y no en una concentración cuantificada de la toxina. En estudios realizados en plantas del género *Pteridium,* se determinó que los brotes en estado fenológico

joven poseen una cantidad entre cinco y diez veces superior que las frondas jóvenes en cuanto a ptaquilósido y pterosinas (Ribeiro et al., 2020).

**Figura 39**

*Frecuencia de Pterosina A por finca*




*Nota.* Elaboración propia. Porcentaje de la presencia de Pterosina A en las tres fincas evaluadas (n = 8 muestras por finca), evaluada mediante Fisher (p = 0,003953).

Como la variable finca presentó tres categorías y la variable presencia solo dos (presencia o ausencia), se aplicó la prueba Fisher;

Como $p < \alpha$ (0,003953 < 0,05),

Se concluye que existe una relación estadísticamente significativa entre la finca y la presencia de pterosina A. La finca 2 obtuvo (100 %) de muestras vegetales con posible toxina, la finca 1 (87,50 %), y la finca 3 presento el valor más bajo de concentración (25 %).

La variabilidad presentada entre fincas se debe a que la disponibilidad de nutrientes en los suelos es diferente. En algunas fincas, puede predominar el fósforo y pH, los cuales son competentes que interactúan con la biosíntesis del ptaquilósido en la planta (Zaccone et al.,

2014). En estudios actuales, se ha determinado que la concentración de toxinas en este helecho se ve afectado por la falta del fósforo en el suelo (Kato Noguchi & Kato, 2026).

Asimismo, hay otros factores que suelen influenciar en la presencia de estas toxinas, uno de ellos la quema. Se han realizado estudios donde se ha comprobado que el fósforo puede aumentar en el suelo hasta 10 veces más después de la quema (Schaller et al., 2015).

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

**Tabla 11**

*Coordenadas de las 24 muestras*

| Finca | Zona | N.° | Codificación | Altitud (m) | Coordenadas (Latitud, Longitud) |
|---|---|---|---|---|---|
| Finca 1 | 1 | 1 | VG-F1-Z1-M1 | 1725 | 0,325377; -78,533670 |
| | 1 | 2 | VG-F1-Z1-M2 | 1717 | 0,325248; -78,533810 |
| | 1 | 3 | VG-F1-Z1-I1 | 1725 | 0,325377; -78,533670 |
| | 1 | 4 | VG-F1-Z1-I2 | 1717 | 0,325248; -78,533810 |
| | 2 | 5 | VG-F1-Z2-M1 | 1695 | 0,325533; -78,534555 |
| | 2 | 6 | VG-F1-Z2-M2 | 1675 | 0,325173; -78,534328 |
| | 2 | 7 | VG-F1-Z2-I1 | 1695 | 0,325533; -78,534555 |
| | 2 | 8 | VG-F1-Z2-I2 | 1675 | 0,325173; -78,534328 |
| Finca 2 | 1 | 9 | VG-F2-Z1-M1 | 2169 | 0,310572; -78,533997 |
| | 1 | 10 | VG-F2-Z1-M2 | 2201 | 0,309787; -78,532963 |
| | 1 | 11 | VG-F2-Z1-I1 | 2169 | 0,310572; -78,533997 |
| | 1 | 12 | VG-F2-Z1-I2 | 2201 | 0,309787; -78,532963 |
| | 2 | 13 | VG-F2-Z2-M1 | 2157 | 0,310903; -78,534578 |
| | 2 | 14 | VG-F2-Z2-M2 | 2153 | 0,310275; -78,534612 |
| | 2 | 15 | VG-F2-Z2-I1 | 2157 | 0,310903; -78,534578 |
| | 2 | 16 | VG-F2-Z2-I2 | 2153 | 0,310275; -78,534612 |
| | 1 | 17 | VG-F3-Z1-M1 | 1832 | 0,326000; -78,529017 |
| | 1 | 18 | VG-F3-Z1-M2 | 1833 | 0,326085; -78,528853 |

| Finca | Zona | N.° | Codificación | Altitud (m) | Coordenadas (Latitud, Longitud) |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 19 | VG-F3-Z1-I1 | 1832 | 0,326000; -78,529017 |
| Finca 3 | 1 | 20 | VG-F3-Z1-I2 | 1833 | 0,326085; -78,528853 |
| | 2 | 21 | VG-F3-Z2-M1 | 1834 | 0,326340; -78,528900 |
| | 2 | 22 | VG-F3-Z2-M2 | 1820 | 0,326557; -78,528823 |
| | 2 | 23 | VG-F3-Z2-I1 | 1834 | 0,326340; -78,528900 |
| | 2 | 24 | VG-F3-Z2-I2 | 1820 | 0,326557; -78,528823 |

*Nota.* Elaboración propia. Las coordenadas de georreferencia fueron obtenidas del trayecto georeferencido con la aplicación Wikiloc.

Para el análisis estadístico se evaluó tres fincas de la parroquia Vacas Galindo. Se obtuvo datos previamente recolectados de 36 vacas y las 24 muestras de helecho previamente analizadas, de los cuales 12 son inmaduros y 12 maduros.

***Prevalencia clínica observada de HEB***

De las 36 vacas que fueron examinadas, solo 10 de ellas clasificaron como positivas para Hematuria enzoótica Bovina (HEB):

$$\hat{p} = \frac{10}{36} = 0{,}2778$$

$$\hat{p} = 27{,}78\%$$

El intervalo de confianza de Wilson del 95 % fue; de 5,85 % a 43,99 %:

**Tabla 12**

*Prevalencia clínica observada de HEB por finca*

| Finca | Vacas examinadas | Vacas positivas a HEB | Prevalencia observada | IC de Wilson 95 % |
|---|---|---|---|---|
| Finca 1 | 17 | 3 | 17,65% | 6,19 - 41,03% |
| Finca 2 | 14 | 3 | 21,43% | 7,57- 47,59% |
| Finca 3 | 5 | 4 | 80,00% | 37,55 – 96,38% |
| Total | 36 | 10 | 27,78% | 15,85 - 43,99% |

*Nota.* Elaboración propia. Los intervalos de confianza del 95% fueron estimados con el método Wilson.

Las fincas 1 y 2, poseen una prevalencia similar de 17,65 % y 21,43 % respectivamente. A diferencia de la finca 3, la cual posee una prevalencia del 80%, dado que en esta finca cuatro de cinco vacas examinadas, dieron positivo.

***Diferencias de HEB entre fincas***

Se realizo la prueba de Fisher Fremman, donde se obtuvo:

$$p = 0{,}0261$$

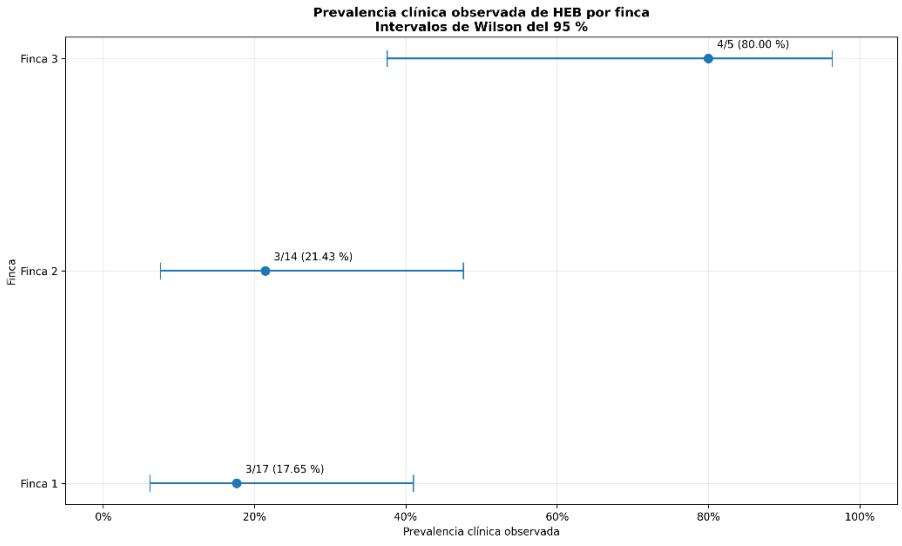
Se aplicó la prueba de Fisher (α = 0,05), obteniendo p = $10{,}0261$

Se obtuvo que; $0{,}0261 < 0{,}05$, por lo cual se rechaza a la hipótesis nula

Se concluye que; la prevalencia clínica observada de HEB no es homogénea entre la finca 1,2 y 3.

**Figura 40**

*Prevalencia clínica de HEB por finca*




*Nota.* Elaboración propia. Gráfica de prevalencia clínica, con un intervalo de confianza del 95%. La finca 3, presenta una prevalencia más elevada.

En el gráfico forestal se observa, que las estimaciones en la finca 1 y 2, se encuentran cerca del 20%. A diferencia de la finca 3, la cual se encuentra en un nivel superior con una estimación del 80%. Se aprecia que, la barra de incertidumbre es extensa, lo cual indica, que la prevalencia en esta finca no puede estimarse de manera precisa.

Como se observa, algunos resultados presentan heterogeneidad, lo cual se ha encontrado en otros estudios sobre HEB en Ecuador. En el cantón Chilla se hizo un estudio estratificado de las zonas ganaderas y se las clasificó en tres grupos, basado en altitud, la zona A (300-999msnm), zona B (1000-1999msnm), y la zona C (2000-3300 msnm), identificaron que existe prevalencia en la enfermedad con un resultado de 36,1% en orina y 5,28% en tiras reactivas (Mejía & Malo, 2020). El chi cuadrado de este estudio sobre la relación entre este indicador y la zona de ganadería dio un valor p menor a 0,005, estableciendo una relación significative entre la ubicación altitudinal y la presencia de enfermedad, donde concluyeron que los sectores ganaderos situados en altitudes determinadas poseen una mayor frecuencia en hematuria enzoótica bovina (Mejía & Malo, 2020).

Asimismo, se ha realizado otros estudios donde encontraron que, la edad del animal y la zona geográfica presentaron una respuesta significativa ante la presencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) (Sánchez et al., 1999). Estos autores, encontraron que, en su estudio, no existió una relación significativa entre la enfermedad y la cantidad de los helechos presentes en los potreros, por lo cual se sugiere que factores ambientales, tienen una mayor influencia en la (HEB), que en la cantidad de helechos observados en el potrero (Sánchez et al., 1999).

De igual forma, se menciona que se debe evaluar la variabilidad de prevalencia entre fincas, dado que esta enfermedad no depende solo de la cantidad de presencia del helecho, la literatura menciona que la HEB se presenta en sectores ubicados entre 1000 y 2500 msnm, en suelos húmedos, ácidos y donde existe poca fertilidad (Sánchez et al., 1999).

Además, como se aprecia en la tabla 16, las tres fincas se encuentran ubicadas entre los 1675 y 2201 msnm, el cual es un intervalo en comprendido entre los 1000 a 2500 msnm,

que es descrito como un nivel que es factible para la presencia de esta enfermedad (Sánchez et al., 1999). No se encontró una relación entre la altitud y la prevalencia, como se observa la finca 2, es la que se encuentra a una mayor altitud, (2153–2201 msnm), pero obtuvo una menor prevalencia (21,43 %), mientras que la finca 3 a una altitud intermedia de (1820–1834 msnm), evidencio la mayor prevalencia (80,00 %). Se observa que la altitud no es el único factor que predomina, puede verse influenciado por otros aspectos como; tiempo de exposición al helecho, intensidad de pastoreo, características ambientales de las fincas, u otros factos que hacen que exista una mayor prevalencia (Sánchez et al., 1999).

***Correlación con pterosina en helechos inmaduros***

Para determinar si la positividad de la pterosina A en el estado fenológico inmaduro, tiene una correlación, se planteó la siguiente hipótesis:

- $H_0$: La positividad a pterosina Aen los helechos inmaduros no presenta correlación
- $H_1$: La positividad a pterosina A en los helechos inmaduros sí presenta correlación

Se aplicó la correlación de Spearman con (α = 0,05), obteniendo;

$$p_s = -0{,}866$$

$$p_{\text{exacto}} = 0{,}667$$

Como: 0,667>0,05 no se rechaza la hipótesis nula.

La correlación de Spearman con la positividad a la pterosina A en los helechos con estado fenológico inmaduro con la correlación no permitió rechazar H0, dado que, la evidencia estadística no es suficiente para afirmar que hay una correlación.

Además, como se observa en la figura 48, la Finca 1 y 2, poseen 100% de positividad en los helechos inmaduros, el coeficiente de Spearman, se basa en asociar rangos entre dos variables (Martínez, 2009).

***Correlación con pterosina en helechos maduros***

Para determinar si la positividad de la pterosina A en el estado fenológico maduro, tiene una correlación, se planteó la siguiente hipótesis:

- $H_0$: La positividad a pterosina Aen los helechos maduros no tienen correlación
- $H_1$: La positividad a pterosina A en los helechos maduros sí tienen correlación

Se aplicó la correlación de Spearman con (α = 0,05), obteniendo;

$$p_s = -0{,}500$$

$$p_{\text{exacto}} = 1$$

Como: 1> 0,05 no se rechaza la hipótesis nula.

La correlación de Spearman con la positividad a la pterosina A en los helechos con estado fenológico maduro con la correlación no permitió rechazar H0, dado que, no existe suficiente evidencia estadística. El valor p= 1,00 establece que este criterio es correcto ante la ausencia de correlación de los datos.

**Positividad total de pterosina A con HEB**

Para determinar si la positividad de la pterosina A, esta correlacionada con la prevalencia clínica de HEB, se plantearon las siguientes hipótesis;

- $H_0$: La positividad total de pterosina A no tienen correlación con la prevalencia de HEB.
- $H_1$: La positividad total de pterosina A sí tiene prevalencia de HEb

Se aplicó la correlación de Spearman con (α = 0,05), obteniendo;

$$p_s = -0{,}500$$

$$p_{\text{exacto}} = 1$$

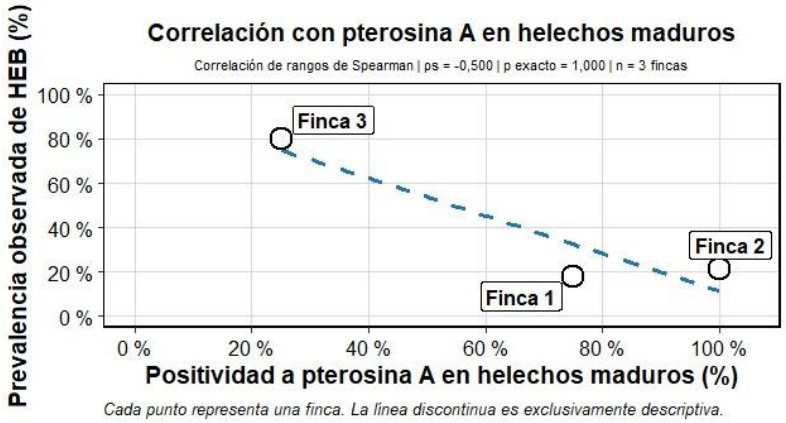
Como: 1> 0,05 no se rechaza la hipótesis nula.

No se observó evidencia estadística suficiente, para definir si existe una correlación total entre la pterosina A y la prevalencia con la HEB.

El valor negativo, indica que las fincas con mayor positividad vegetal presentaron menor proporción de HEB, y la finca 3 obtuvo una menor positividad, pero mayor prevalencia clínica, no obstante, este resultado no fue estadísticamente significativo.

**Figura 41**

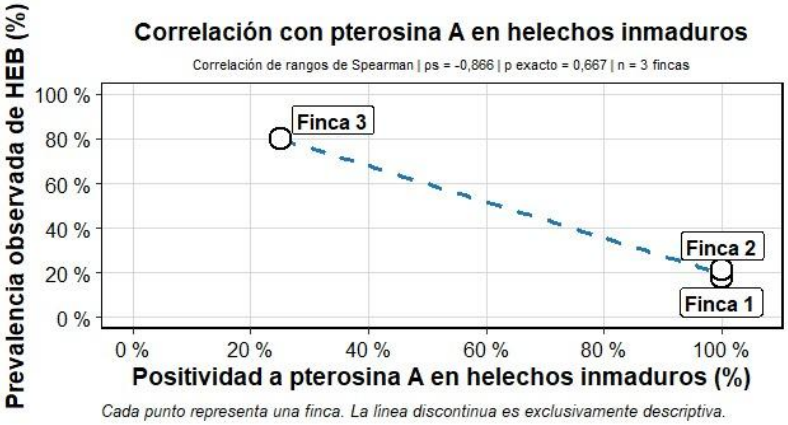
*Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A en helechos inmaduros*




*Nota.* Elaboración propia. Cada punto representa una finca, la correlación se calculó a nivel de finca mediante correlación Spearman Se obtuvo $\rho_s = -0{,}866$y $p_{\text{exacto}} = 0{,}667$, con $n = 3$ fincas.

**Figura 42**

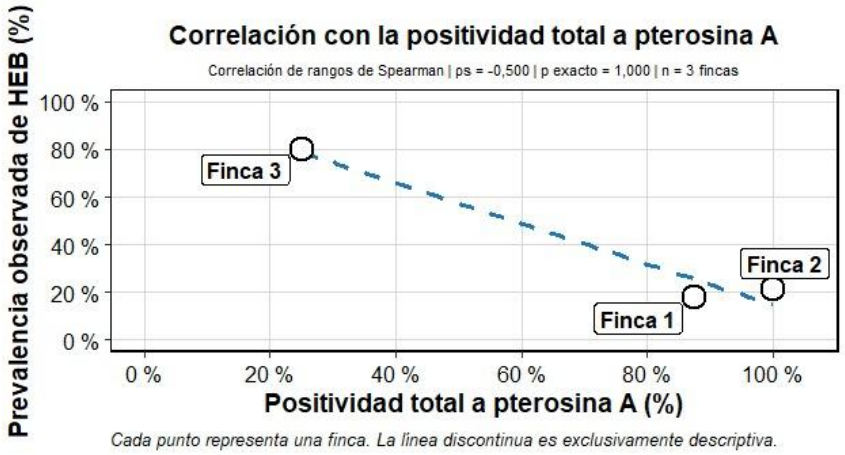
*Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A en helechos maduros.*




*Nota.* Elaboración propia. Cada punto representa una finca, la correlación se calculó a nivel de finca mediante correlación Spearman. Se calculó $\rho_s = -0{,}500$y $p_{\text{exacto}} = 1{,}000$, con $n = 3$fincas.

**Figura 43**

*Correlación de Spearman entre HEB y pterosina A total.*




*Nota.* Elaboración propia. Cada punto representa una finca, la correlación se calculó a nivel de finca mediante correlación Spearman. Se calculó *Se obtuvo* $\rho_s = -0{,}500$ *y* $p_{exacto} = 1{,}000$, *con* $n = 3$ Fincas.

Las correlaciones del rango de Spearman indican que existe una relación inversa entre la prevalencia clínica de HEB y la positividad de pterosina A en *Pteridium aquilinum,* la relación en los helechos inmaduros fue de $p_s = -0{,}866; p_{exacto} = -0{,}667$ , a diferencia de los helechos maduros y la positivad total los cuales tuvieron coeficientes iguales $p_s = -0{,}500; p_{exacto} = 1.$

En los tres análisis, el p exacto fue mayor al nivel de significancia 0,05; lo cual no proporciona suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula, por lo cual no se puede demostrar si existe una correlación entre la positividad de pterosina A y la prevalencia de HEB.

El valor negativo obtenido en los coeficientes fue en base a cada una de las tres fincas, donde para la finca 1 y 2 se obtuvieron prevalencias clínicas de HEB bajas, mientras que en la finca 3, se evidencio una presencia mayor de HEB, pero la positividad en esta finca fue baja.

La falta de relación positiva con la pterosina A y la prevalencia clínica se puede deber a ciertos factores con la naturaleza crónica de la enfermedad. La ingestión de especies del

género *Pteridium* está relacionado de manera directa a lesiones inflamatorias en el animal, además de alteraciones epitelial, y neoplasias en la vejiga, estas manifestaciones se observan cuando los animales bovinos tienen una exposición durante meses o años (Gabriel et al., 2009).

Por ende, las diferencias de HEB, en las fincas no solo esta influenciado por los compuestos vegetales, sino que también interactúa otros factores como; edad del animal, manejo del alimento y duración de pastoreo (Gabriel et al., 2009).

Mediante la cromatografía de capa fina (TLC), permitió clasificar a las muestras como positivas o negativas, pero esta técnica, no permite la cuantificación de la pterosina A. Por ende, no se puede saber si las dos fincas que dieron el mismo porcentaje de positividad presentan cantidades diferentes del compuesto (Salazar & Villalobos, 2023).

La positividad porcentual indica la frecuencia en la que se detectó, pero no la intensidad química, esto puede explicar porque la finca 1 y 2, indicaron una positividad alta pero una prevalencia ante la HEB baja.

La correlación con mayor negatividad se observó, en las muestras inmaduras, en donde la finca 1 y 2 presentaron 100% de positividad, a diferencia de la finca 3 que obtuvo un 25%. Se menciona que la concentración de toxina puede variar según el estado fenológico de la fronda (Salazar & Villalobos, 2023). Se ha identificado que las toxinas pueden presentar una disminución en las frondas maduras (Salazar & Villalobos, 2023).

Desde la literatura, pueden existir, factores que afecten esta relación ya que, la hidrólisis del ptaquiósido para convertirse en pterosina se base en factores como pH y temperatura (Rasmussen, 2021).

Otros autores, han establecido que, si existe una mayor cantidad de toxinas en los helechos inmaduros y a diferencia del estado fenológico maduro, pero para obtener esta relación, se necesitan datos cuantificables con métodos como cromatografía liquida acoplada a masas (Rincón et al., 2016).

# Capítulo V

## Conclusiones

La caracterización botánica permitió identificar las características morfológicas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, mediante la observación de las veinticuatro muestras vegetales, en las tres fincas de la parroquia de Vacas Galindo, Selogró la identificación de estructuras esenciales de esta especie, como; las frondas, pinnas, pínulas, esporangios y esporas. De la misma, manera se pudo determinar la principal diferencia entre el estado fenológico maduro e inmaduro, el cual fue los soros, dado que, las frondas inmaduras presentaron una menor cantidad y una tonalidad de color verde claro, en algunos casos amarillo, a diferencia de las frondas maduras que en cambio presentaron unos soros más oscuros y desarrollados. Por último, la observación en el microscopio a 40x, permitió la identificación de la morfología de las estructuras; esporangios y esporas presentes en el helecho.

La cromatografía de capa fina permitió que se identificaran bandas compatibles con el estándar de pterosina A. La cual, se encontró en 17 de las 24 muestras, con un rango de positivad del 70,83% en comparación con las muestras que no tenían incidencia. El valor del estándar fue un factor de retención de 0.817, el cual coincidió con la mayoría de las muestras. Sugiriendo, que hubo una amplia distribución en las zonas recolectadas en la parroquia de Vacas Galindo.No se logró evidenciar una correlación estadísticamente significativa con la positividad de la pterosina A y la prevalencia clínica de HEB en las tres fincas estudiadas, debido a que, se obtuvieron valores p superiores a 0.05, por lo que no se pudieron rechazar las hipótesis nulas. Aun así, se logró demostrar, que existe una alta frecuencia de distribución de las muestras vegetales en las fincas.

## Recomendaciones

Se recomienda para futuras investigaciones, realizar mediciones de las muestras en estado fenológico maduro e inmaduro, para ver como varía su longitud, número de pinnas y la cantidad de soros presentes, para una mejor caracterización-Se sugiere, optimizar nuevos protocolos de extracción, evaluando diferentes solventes, mayores tiempos de maceración y métodos de extracción, con el objetivo de obtener un mejor rendimiento en la extracción.

Asimismo, se recomiendo mejorar la eficiencia de secado y molienda ya que estos procesos pueden influir en la obtención de los metabolitos secundarios.

Se recomienda complementar las futuras investigaciones con técnicas cuantitativas como HPLC-MS/MS o LC-MS/MS, las cuales puedan determinar si el compuesto identificado corresponde a pterosina A y relacionados. Además, estos análisis permitirían determinar la concentración presente en las muestras de *Pteridium aquilinum*

En el estudio se analizó dos estados fenológicos; estado maduro e inmaduro, pero es esencial incluir otros estadios como; brotes emergentes y frondas senescentes, ya que se podría evaluar la concentración de toxinas en un ciclo más completo del desarrollo de la especie.

También se sugiere, análisis fitoquímicos para suelo, ya que se podría tener una mejor comparación con la acumulación de estos metabolitos tóxicos de la especie, ya que suelen a tener afinidad por el fosforo, humedad y pH, del mismo.

.

**Referencias:**

Agatonovic-Kustrin, S., Balyklova, K. S., Gegechkori, V., & Morton, D. W. (2021). HPTLC and ATR/FTIR characterization of antioxidants in different rosemary extracts. *Molecules, 26*(19), 6064. https://doi.org/10.3390/molecules26196064

Alonso-Amelot, M. E., Rodulfo-Baechler, S., & Jaimes-Espinoza, R.. (1995). Comparative dynamics of ptaquiloside and pterosin B in the two varieties (caudatum and arachnoideum) of neotropical bracken fern (*Pteridium aquilinum* L. Kuhn). *Biochemical Systematics and Ecology*, 23(7–8), 709–716.

Atkinson, T. P. (1989). Seasonal and altitudinal variation in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn: frond and stand types. *The New Phytologist,*, 113(3), 359–365.

Baghour, M. (2001). Influencia de la temperatura radicular sobre la fitoacumulación en diferentes órganos de patata (*solanum tuberosum* L. var.*Spunta*) *(Doctoral dissertation)*.

Baptiste, A. J., Macario, P., & & Martínez, J. O. (2017). Efecto de la invasión de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (helecho), sobre las propiedades físico-químicas del suelo y la diversidad vegetal en el estado de Quintana Roo. *Colegio de la Frontera Sur. Quintana Roo, México.*

Benítez de Rojas, C., Cardozo L., A., Hernández Ch., L., Lapp, M., Rodríguez, H., Ruiz Z., T., & Torrecilla, P. (2006). Botánica sistemática: Fundamentos para su estudio. *Cátedra de Botánica Sistemática, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.*

Blanco, M. F. (2012). Valores analíticos de ganado vacuno en régimen extensivo expuesto al consumo de helechos.

Cáceres-Peña, Y. C., Naya, M., Calcagno-Pissarelli, M. P., & Alonso-Amelot, M. E. (2013). fluence of bracken fern (*Pteridium caudatum* L. Maxon) pre-treatment on extraction yield of illudane glycosides and pterosins. *Phytochemical Analysis*, 24(4), 290–295.

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.

Castillo, A. L. (2024). Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro. *(Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO)*.

Castro, H. J. (2013). Impacto de la especie invasora *Pteridium arachnoideum* (Kaulf.) Maxon sobre la composición, la germinación y el establecimiento de plántulas en un bosque montano bajo.

Chaudhary, A. (2024). *Veeprho*. Obtenido de https://veeprho.com/es/fases-quimicamente-enlazadas-en-silices-cromatograficas/.

Cope, R. B. (2025). Intoxicación por helecho común y otras plantas similares en animales. *Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority*.

Delgadillo-Moya, C., Escolástico, D. A., Hernández-Rodríguez, E., Herrera-Paniagua, P., Peña-Retes, P., & Juárez-Martínez, C. (2022). *Manual de briofitas. Universidad.*

Díaz López, L., Domínguez Vázquez, G., Fuentes Chávez, R. I., Hernández Valencia, F., Montero Castro, J. C., Ortega Rodríguez, J. M., Reyes Martínez, N. P., & Silva Sáenz, P. (2019). Pteridofitas y gimnospermas: Manual de prácticas de laboratorio “Helechos y gimnospermas”. *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Biología.*

dos Reis Aranha, P. C., Rasmussen, L. H., Wolf-Jäckel, G. A., Jensen, H. M. E., Hansen, H. C. B., & Friis, C. (2019). Fate of ptaquiloside—A bracken fern toxin—in cattle. *PLOS ONE, 14*(6), e0218628. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218628

Eslava-Silva, F.-J., Jiménez-Durán, K., Jiménez-Estrada, M., & Muñiz-Díaz-de-León, M.-E.. (2020). Morfo-anatomía del ciclo de vida del helecho Pteridium aquilinum en cultivo in vitro. *Revista de Biología Tropical*, 68(1), 12–22. .

Gabriel, A. L. (2009). Aspectos clínico-hematológicos e lesões vesicais na intoxicação crônica espontânea por *Pteridium aquilinum* en bovinos. Pesquisa veterinaria brasileira . *[Brazilian Journal of Veterinary Research]*, 29(7), 515–525.

Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial Rural de Vacas Galindo. (2023). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la parroquia Vacas Galindo.*

Guala, Paola, Monar, Richard, Mestanza-Ramón, & Carlos. (2022). Diversidad alfa de pteridofitas en el bosque siempre verde de tierra bajas de la Reserva Ecológica Cofán Bermejo, Sucumbíos – Ecuador. *Green World Journal*, 17.

Guaraca, M. T. (2020). Identificación de Ptaquilósido y Pterosina A en el helecho . *Doctoral dissertation)*.

Guo, J., Ma, Y., Huang, H., Liu, J., Peng, C., & Shu, J. (2021). Establishment and application of a rapid identification strategy for pterosins using UPLC-QTOF-MS/MS techniques. *Journal of Chromatography A*, 1758, 466169.

Guo, Y., Li, J. J., Busta, L., & Jetter, R. (2018). overage and composition of cuticular waxes on the fronds of the temperate ferns Pteridium aquilinum, Cryptogramma crispa, Polypodium glycyrrhiza, Polystichum munitum and Gymnocarpium dryopteris. *Annals of Botany*, 122(4), 555–568.

Harvey, D. (2022). *Espectroscopia fotoluminiscente.* Obtenido de Libretexts: https://espanol.libretexts.org/@go/page/75927

HealthCare, E. D. (2023). *2.2.27 Thin-Layer Chromatography (TLC.* In European Pharmacopoeia: https://es.scribd.com/document/760218681/2-2-27-Thin-layer-chromatography.

iNaturalist. (s.f). *Pteridium aquilinum [Mapa de distribución].* Obtenido de https://www.inaturalist.org/guide_taxa/2505873

Kato-Noguchi, H., & Kato, M. (2026). *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn—A Review of Its Toxicology, *Plants*, 15(3).

Kim, M. K., Kang, J. S., Kundu, A., Kim, H. S., & Lee, B.M. (2023). Evaluación de Riesgos y Reducción de Riesgos de Ptaquiloside en Bracken Fern. Tóxicos. 11(2), 115.

Kim, S. B., Bisson, J., Friesen, J. B., Pauli, G. F., & Simmler, C. (2020). Selective chlorophyll removal method to “degreen” botanical extracts. *Journal of Natural Products*, 83(6), 1846–1858.

Kisielius, V., Drejer, M., Dornhoff, J. K., Mrkajic, N. S., Lindqvist, D. N., Hansen, H. C. B., & Rasmussen, L. H. (2022). Occurrence and stability of ptesculentoside, caudatoside and ptaquiloside in surface waters. Environmental Science: Processes & Impacts, 24(2),. 277–289. .

Kisielius, V., Markussen, B., Hansen, H. C. B., & Rasmussen, L. H. (2024). Geographical distribution of caudatoside and ptaquiloside in bracken ferns in Northern Europe. *Environmental Sciences Europe, 36*, Article 186.

Kowalska, T., & Sajewicz, M. (2022). Cromatografía de capa fina (TLC) en el cribado de productos botánicos: su potencial versátil y aplicaciones seleccionadas. *Molecules*, 27 (19), 6607.

Kuroyanagi, M., Fukuoka, M., Yoshihira, K., & Natori, S. (1978). ircular dichroism and conformations of pterosins, sesquiterpenes having 1-indanone skeleton. *Symposium Papers*.

Kushida, T., Uesugi, M., Sugiura, Y., Kigoshi, H., Tanaka, H., Hirokawa, J., Ojika, M., & Yamada, K. (1994). DNA damage by ptaquiloside, a potent bracken carcinogen: Detection of selective strand breaks and identification of DNA cleavage products. *Journal of the American Chemical Society*, 116(2), 479–486.

Lambers, H., Chapin, F. S., III, & Pons, T. L. (2008). Plant physiological ecology. En Springer, *Plant Physiological Ecology* (pág. 622).

Lee, Y. P., Hsu, F. L., Kang, J. J., & Chen, C. K. (2012). Metabolism of (2S)-pterosin A: Identification of the phase I and phase II metabolites in rat urine2. *Drug Metabolism and Disposition, 40(8)*, 1566–1574.

Leonora, F., & Figueroa, G. (2023). Fitoquímica. *Universidad Nacional Autónoma de México: Ciudad de México.*

Lifeder. (2020). *Pteridium aquilinum: características, hábitat, ciclo biológico, propiedades*. Obtenido de https://www.lifeder.com/pteridium-aquilinum/

López Sánchez, M., Triana Méndez, J., Pérez Galván, F. J., & Torres Padrón, M. E.(2005). *Métodos físicos de separación y purificación de sustancias orgánicas.*

Lowday, J. E. (1987). The effects of cutting and asulam on numbers of frond buds and biomass of fronds and rhizomes of bracken *Pteridium aquilinum. The Annals of Applied Biology*, 110(1), 175–184.

Lustre, S. H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23 (2).

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.

Marin, R. E. (2006). Caracterización clínica y patológica de la intoxicación con Pteridium aquilinum en bovinos en la provincia de Jujuy . *Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. Magister Scientie Thesis*.

Marrero, F. E., & Calderón, T. Á. (2012). Plantas tóxicas e inocuidad alimentaria: Hematuria Enzoótica Bovina por *Pteridium* spp. un problema relevante de salud. *Revista de Salud Animal*, 34(3), 137-143.

Marrs, R., & Watt, A. (2006). Biological Flora of the British Isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Journal of Ecology,. 94: 1272-1321.

Martínez, O. R. (2009). El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman. Caracterización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 8(2).

Matongera, T. N., Mutanga, O., & Sibanda, M. (2021). Characterizing bracken fern phenological cycle using time series data derived from Sentinel-2 satellite sensor. *PLOS ONE*, 16(10).

Medeiros-Fonseca, B., Abreu-Silva, A. L., Medeiros, R., Oliveira, P. A., & Gil da Costa, R. M. (2021). Pteridium spp. and Bovine Papillomavirus: Partners in Cancer. . *Front. Vet. Sci.*, 8:758720.

Mejía, P. L., & Malo, C. I. (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.

Méndez, A. M. (2023). Cromatografía en capa fina y columna (monografía). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán,. *Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).*

Méndez, A. M., Penieres Carrillo, J. G., & Ortega Jiménez, F. (2005). *Los helechos. Morfología*. Obtenido de asturnatura: https://www.asturnatura.com/temarios/biologia/helechos/helechos-morfologia

Mesa, A. M., Marín, D. A., Ocampo, O., Calle, J. de J., & Monsalve, Z. I (2019). Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. . *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1), 23-30.

Mira, Y. D., Ramírez, L. A., Londoño, L. F., & Castañeda, D. A. (2021). ALLELOPATHIC EFFECTS OF COMMON BRACKEN (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) ON GERMINATION AND GROWTH OF ECONOMICALLY IMPORTANT WEEDS. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 37(3), 290–301.

Mohammad, R. H., Nur-E-Alam, M., Lahmann, M., Parveen, I., Tizzard, G. J., Coles, S. J., Fowler, M., Drake, A. F., Heyes, D., & Thoss, V. (2016). Isolation and characterisation of 13 pterosins and pterosides from bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) rhizome. *Phytochemistry,* , 128, 82–94. .

Mostacedo, B., & Fredericksen, T. (2000). Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en ecología vegetal . *Santa Cruz, Bolivia: Proyecto de Manejo Froestal Sostenible (BOLFOR).* , (Vol. 87, pp. 1-92).

Nahata, A. (2014). *How does anisaldehyde sulphuric acid reagent yield different colours in TLC during derivatisation?*

Naugolnykh, S. (2017). Spores of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn and methodical aspectsof comparative analysis of recent and fossil plants. . *Environment and human*, 9-26.

Nicholls, C. I. (2008). Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico . *(Vol. 2). Universidad de Antioquia.* .

Nichols, L. (2022). *Teoría General de Separación*. Obtenido de LibreTexts: https://espanol.libretexts.org/@go/page/74038

O'Driscoll, C., Ramwell, C., Harhen, B., Morrison, L., Clauson F., Hansen, H. C. B., Campbell, G., Sheahan, J., Misstear, B., & Xiao, L (2016). Ptaquilósido en helechos águila irlandeses y aguas receptoras, con implicaciones para los gestores de tierras. *Molecules*, 21 (5), 543. .

Olivera, V. I., & Marín, A. A. (2016). Plantas Tóxicas que afectan a Pequeños Animales en Colombia Monografía.

Otgonsugar, P., Undrakhbayar, Ts., & Byambajav, Ts. (2018). Determination of ptaquiloside in *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. Mongolian Journal of Agricultural . *Sciences*, 25(3), 37–42.

Pailakian, A. (2026). *The chemistry behind dichloromethane: Unveiling its properties and molecular interactions.* Obtenido de Labproinc: https://labproinc.com/blogs/chemicals-and-solvents/the-chemistry-behind-dichloromethane-unveiling-its-properties-and-molecular-interactions

Palacios Villacrés, A., Guilcapi Carrillo, C., Toscano Alcoser, L., & Vayas Castillo, G. (2023). Caracterización de sistemas productivos lecheros en la parroquia Juan Benigno Vela, Tungurahua, Ecuador. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*, 5(4), 147–157. .

PharmaCores Scientific Team. (2025). . *Liquid chromatography-Mass spectrometry (LC-MS): A powerful tool for unlocking the secrets of molecules*. Obtenido de PharmaCores. : https://pharmacores.com/liquid-chromatography-mass-spectrometry-lc-ms/

Pittermann, J., Brodersen, C., & Watkins, J. E., Jr. (2013). The physiological resilience of fern sporophytes and gametophytes: dvances in water relations offer new insights into an old lineage. *Frontiers in Plant Science*, 4, 285.

Plessers, E., Pardon, B., Deprez, P., De Backer, P., & Croubels, S. (2023). Síndrome hemorrágico agudo por intoxicación con helecho en bovinos en Bélgica [Acute hemorrhagic syndrome by bracken poisoning in cattle in Belgium]. Vlaams . *Diergeneeskundig Tijdschrift*, 82(1), 31–37.

Pomilio, A. B., Battista, S. M., & Alonso, A (2019). Micetismos: Parte 3: Síndromes tempranos gastrointestinales. . *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 53(2), 217-244.

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. .

Quintela, O., Cruz, A., Concheiro, M., De Castro, A., & López-Rivadulla, M (2005). Metodología LC-MS. Aspectos generales de la técnica y sus aplicaciones en el campo de la toxicología. *Revista de toxicología*, 22(1), 7-14. .

Quiroga, P. (2013). Cromatografía en capa fina (tlc). *Libros de Cátedra.* .

Rasmussen, L. H. (2021). Presence of the carcinogen ptaquiloside in fern-based food products and traditional medicine: Four cases of human exposure. *Current Research in Food Science*, 4, 557–564.

Rasmussen, L. H., & Hansen, H. C. (1995). Growth of bracken fern in Denmark and content of ptaquiloside in fronds, rhizomes and roots. *En T. Acamovic, C. S. Stewart, & T. W. Pennycott (Eds.), Poisonous Plants and Related Toxins*, (pp. 354–360).

Ribeiro, D. da S. F., Keller, K. M., & Soto-Blanco, B. (2020). Ptaquiloside and pterosin B levels in mature green fronds and sprouts of *Pteridium arachnoideum. Toxins*, 12(5), Article 288.

Rincón Barón, E. J., Guerra Sierra, B. E., Restrepo Zuluaga, D. E., & Espinosa Matías, S. (2019). Ontogenia e histoquímica de los esporangios y escamas receptaculares del helecho epífito Pleopeltis macrocarpa (Polypodiaceae). *. Revista de Biología Tropical*, 67(6), 1292-1312.

Rincón, D. F., J. Díaz, G., & Gardner, D. R. (2016). Detection of Ptaquilosides in different phenologic stages of Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and analysis of mik samples in farms with hematuria in Tolima, Colombia. *CES*.

Rincón-Barón, E. J., Santos-Heredia, C., Torres-Rodríguez, G. A., & Passarelli, L. M (2025). Esporogénesis y ultraestructura de las esporas del helecho Anemia hirsuta (Anemiaceae). *Revista de Biología Tropical, 73(1).*

Rivera-Dávila, O. L., González-Gaona, E., De Lira-Ramos, K. V., Perales-Aguilar, L., Velarde-Martínez, A., & Miranda-Ramírez, J. M (2024). *Cromatografía: Una técnica esencial en la biotecnología agropecuaria.* Azizoglu (Eds.), Biotecnología agropecuaria aplicada (pp. 152–190).

Rocha, L. A., & Montoya, L. E. (2021). ¡Hablando de helechos! *Instituto De Ciencias Biologicas*.

Rodríguez. (2017). Identificación y genotipificación de los tipos de virus de papiloma bovino en sangre periférica u orina de animales afectados por Hematuria vesical enzoótica bovina.

Rodríguez, H., Ramirez, C. J., & Restrepo, F. (2015). Factores que influencian la adopción de tecnología de gestión en producción lechera. *Temas Agrarios*, 20(1), 34–44.

Rodríguez, S. M. (2021). Estudio de la estabilidad y prevalencia de la biotoxina ptaquilósido en leche bovina y subproductos lácteos.Roos, K., Rollenbeck, R., Peters, T., Bendix, J., & Beck, E. (2010). Growth of tropical bracken (Pteridium arachnoideum): Response to weather variations and burning. Invasive Plant Science and Management, 3(4), 402–411. https://doi.org/10.1614/IPSM-D-09-00031.1

Ruiz, B. M. (2020). Cromatografía en capa fina y en columna. .

Salazar, M., & Villalobos, A. (2023). La biotoxina ptaquilósido en helechos del género *Pteridium*. *Scielo*, 22.

Sampietro, D. A. (2003). *Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. linea). Fac. de Bioquím., Quím. y Farm. Un. Nac. de Tucumán, Arg.* Obtenido de http://www. mdp. edu. ar/illia/nueva/Alelopatia/Alelopatía.

Sánchez, A., García, D., de Alvarado, C. M., Villegas, M., Villarroel, R., & Jiménez, U. (1999). Factores de riesgo asociados con hematuria enzoótica bovina en el Municipio Campo Elías, Estado Mérida, Venezuela. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 9 (5).

Sánchez-Villalobos, A., Árraga de Alvarado, C. M., Villarroel-Neri, R., Pino-Ramírez, D., García-Bracho, D., & Sánchez-Cómbita, G.. (2006). alValidez, seguridad y cociente de verosimilitud de los métodos tiras reactivas para orina y examen microscópico del sedimento urinario en el diagnóstico de hematuria enzoótica bovina. *Revista Científica*, 16(6), 604–612.

Sanz, E. (2024). Memorias de la tierra: La sorprendente historia de nuestro planeta. *Shackleton books*.

Schaller, C. (2022). *Enlace de hidrógeno.* Obtenido de Libretexts: https://espanol.libretexts.org/@go/page/80707

Schaller, J., Tischer, A., Struyf, E., Bremer, M., Unzué Belmonte, D., & Potthast, K. (2015). El fuego aumenta la disponibilidad de fósforo en los suelos superficiales según sus propiedades de unión. *Ecology*, 96: 1598-1606.

Senyanzobe, J. M. V., Mulei, J. M., Bizuru, E., & Nsengimuremyi, C. (2020). Impact of Pteridium aquilinum on vegetation in Nyungwe Forest, . *Rwanda. Heliyon,*, 6 (9).

Seral, A. P. (2022). *Ecología de la fase gametofítica y esporofítica de especies templadas de helechos rupícolas del género Asplenium L.* Obtenido de Dialnet: https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=306577

Shaikh, F., & Uzgare, A. (2025). CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO (HPLC): PRINCIPIO, APLICACIONES Y EL PAPEL DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL – UNA REVISIÓN. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*, 15(4), e13541.

Silva, F., Garcês, A., Magalhães, C., & Pires, I. (2023). Diseases in Ruminants Associated with *Pteridium aquilinum* Ingestion. *Biology and Life Sciences Forum*, 24(1), 8.

Trejo, M. D. (2012). Doctor en Ciencias Biológicas (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA). .

Kardong, D., Upadhyaya, S., & Saikia, L. R (2013). Screening of phytochemicals, antioxidant and antibacterial activity of crude extract of *Pteridium aquilinum* Kuhn. *Journal of Pharmacy Research*, 6(1), 179–182.

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.

Vallejo-Rosero, Y. J., Barrios-Correa, L., & Anaya-Gil, J. (2021). .La cromatografía en capa fina: una alternativa vigente en la industria farmacéutica. *Revista de química*, 35(2), 19-25. .

Varela, B. A. (2018). Banco de esporas de pteridofitas del Parque Ecológico el Ajusco de la Ciudad de México (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Metropolitana). .

Anzola Vásquez, H., Durán Muriel, H., Rincón Solano, J. C., Martínez Román, J. L., & Restrepo Vélez, J. (2014). El uso eficiente de los forrajes tropicales en la alimentación de los bovinos. . *Federación Colombiana de Ganaderos-Fedegán.* .

Vazquez, V. S. (2023). Efecto de la luz sobre la germinación de helechos con .

Vetter, J. (2022). The norsesquiterpene glycoside ptaquiloside as a poisonous, carcinogenic component of certain ferns. . *Molecules,*, 27(19), 6662.

Vielman Cuyún, N. J. (2004). *Estudio farmacológico de los extractos etanólico, hexánico, clorofórmico, acetato de etilo y acuoso de las hojas de Catopheria chiapensis (Linimento) como analgésico. Fase II*. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2272.pdf

Villalta, I. I. (2015). Toxicidad vegetal. *La Universidad*, (25).

WikTrop. (2025). *Pteridium aquilinum (L.) Kuhn [Fotografía].* Obtenido de https://portal.wiktrop.org/files-api/api/get/crop/observations/b945c155-0421-4e1a-bf27-d0e580ed1e3d/f203f42e0af346dd966277d0114a1762.JPG

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.

Yoplac, J. L. (2024). *Helechos influyentes en la enfermedad hematuria vesical enzoótica de ganado bovino.* Obtenido de ALICIA: https://hdl.handle.net/20.500.14077/3924

Zaccone, C., Cavoski, I., Costi, R., Sarais, G., Caboni, P., Traversa, A., & Miano, T. M. (2014). Ptaquiloside in P*teridium aquilinum* subsp. *aquilinum* and corresponding soils from the South of Italy: influence of physical and chemical features of soils on its occurrence. *The Science of the Total Environment,*, 496, 365–372.