UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

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

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 Cuellaje.

Elaborado por: Esmeda Teodora Hernández Landazuri

Directora: Ing. Agr. Páez Barrera Grace Tatiana M Sc.

Sangolquí, 05 de agosto de 2026



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

CONTENIDO

01 | Introducción

02 | Objetivos

03 | Pregunta de investigación

04 | Metodología

05 | Resultados y discusión

06 | Conclusiones y recomendaciones

07 | Agradecimientos

01. Introducción

***Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn**





Distribución mundial

Presente en regiones templadas, tropicales y subtropicales



Propagación por rizomas

Rebrota y se expande mediante una red súbterránea



Alta adaptación

Coloniza diferentes tipos de suelo



Riesgo toxicológico

Contiene compuestos tóxicos

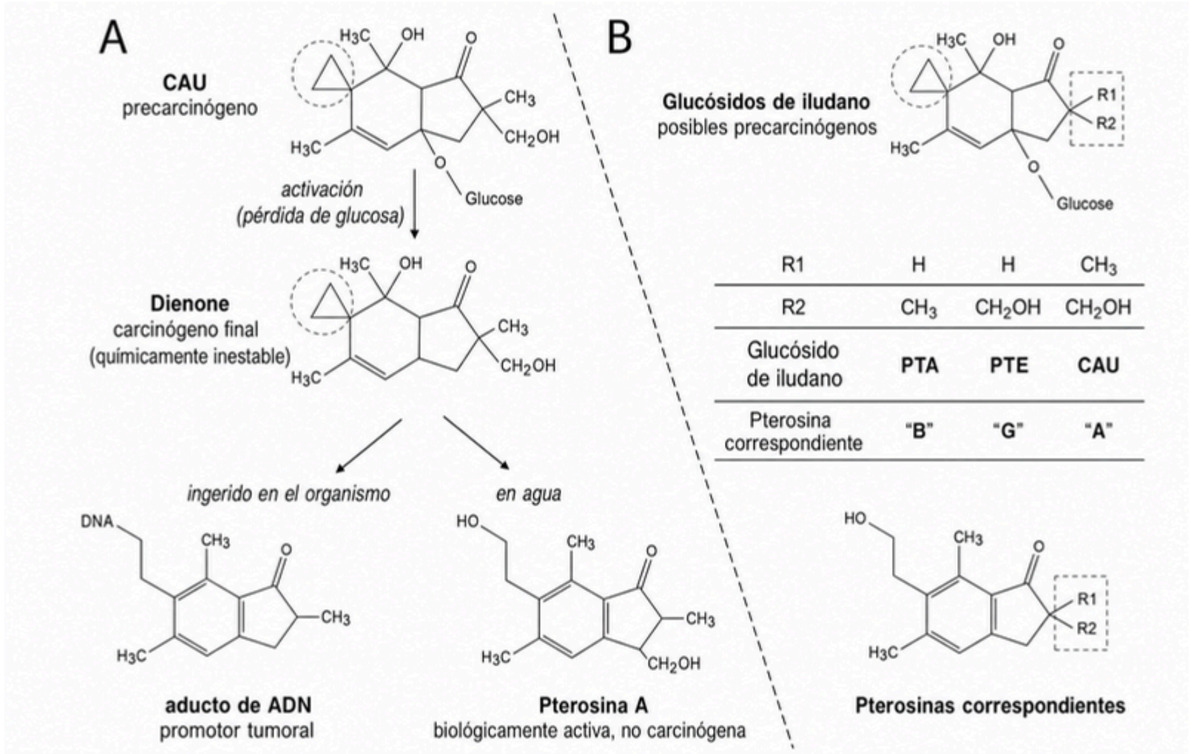
Fuente: Fotografías de campo: elaboración propia (2026).

01. Introducción

Toxicidad en el helecho macho y hematuria enzoótica bovina



- Prunasina
- Antiaminasa
- Glucósidos Illudanos





Cuando el daño genético causado por los aductos ,persiste esto genera lesiones y tumores

Fuente: Esquema adaptado de Kisielius et al. (2024); imágenes de HEB tomadas de Bulnes y Calderón Tobar (2014); fotografías de campo, archivo personal (2026).

01. Introducción

Importancia del estudio



Ganadería rural

Sequía





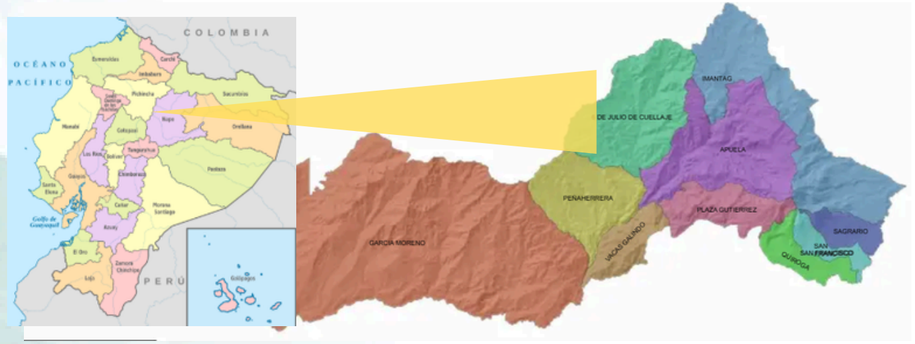
Helecho macho

Consumo por necesidad





Impacto productivo



La investigación busca aportar en tres aspectos:

Vacío Local

Línea base

Proyección

02. 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 Cuellaje.

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 Cuellaje.

03. Preguntas de investigación



- ¿Cuáles son las características botánicas del helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) en la zona de Cuellaje?
- ¿Existe alguna diferencia significativa entre los estados fenológicos maduros e inmaduros del helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), recolectado en fincas lecheras con alta incidencia de hematuria enzoótica bovina (HEB) en la parroquia de Cuellaje?
- ¿Existe alguna correlación entre la presencia de toxinas en el helecho macho y la incidencia de la hematuria enzoótica bovina?

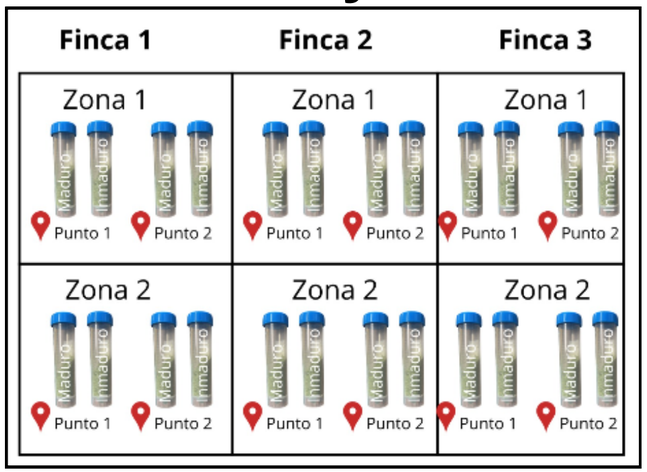
04. Metodología

1. Diseño de investigación

Aspecto	Descripción
Enfoque	Cuantitativo
Tipo	Aplicada
Alcance	Descriptivo-comparativo y correlacional
Diseño	No experimental
Temporalidad	Transversal

Las variables se observaron sin manipulación y los datos se recolectaron en un único periodo.

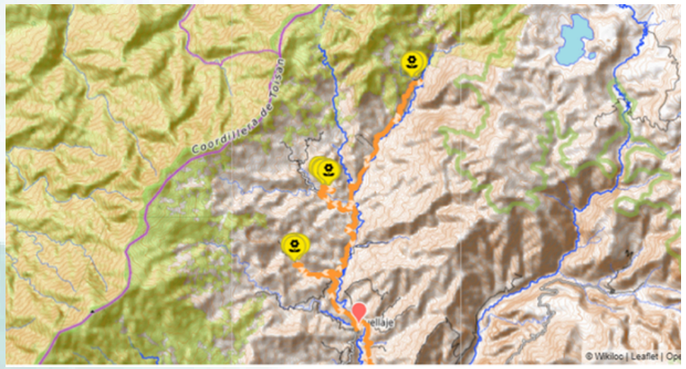
2.Población y muestra



Muestreo no probabilístico por conveniencia

Población: Comunidades de helecho en zonas ganaderas y antecedentes de HEB

3.Área de estudio



Puntos georreferenciados con Wikiloc.

Cuellaje, Cotacachi, Imbabura: tres fincas con *P. aquilinum(L.) Kuhn* en pastizales y antecedentes de HEB.

4.Fases complementarias



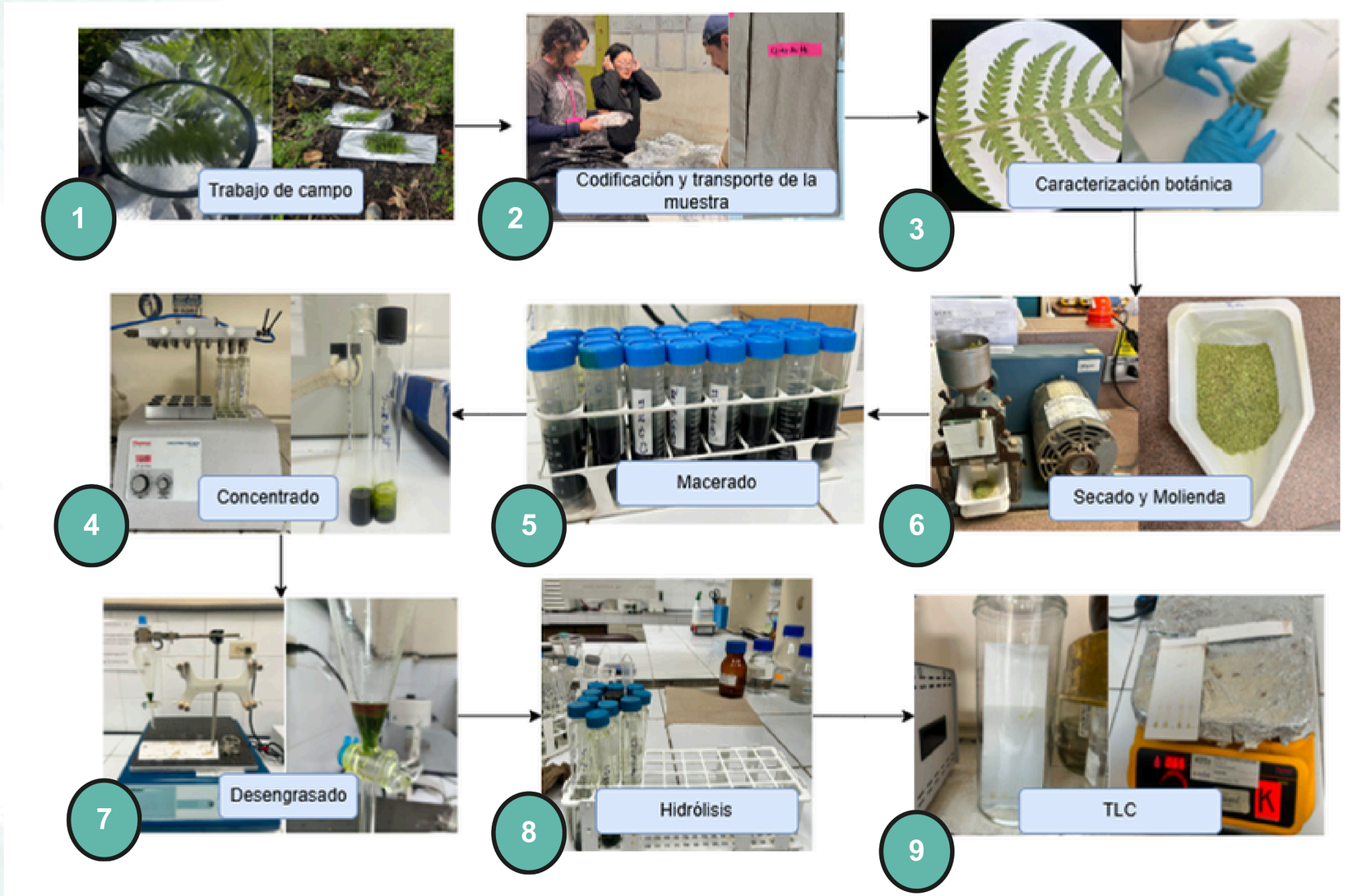


1 *FASE CAMPO*

2 *FASE LABORATORIO*

04. Metodología

Esquema general de la metodología



04. Metodología

Técnica e instrumento

Trabajo de campo, codificación y transporte



Selección de finca → Identificación del helecho → Recolección de la muestra → Georreferenciación de cada muestra → Entrevista a ganadero → Almacenamiento en aluminio → Transporte hacia el laboratorio → Almacenamiento en bolsas de papel Kraft



Fuente: Fotografías de campo: elaboración propia (2026).
Ilustraciones: elaboración propia mediante BioRender

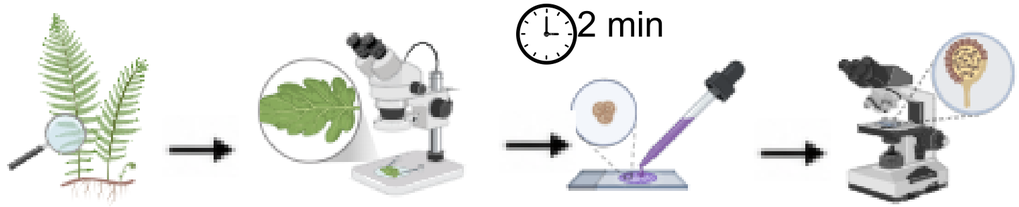
Tabla 1. Sistema de codificación utilizado durante todo el estudio para las muestras de helecho macho.

Elemento	Significado
CJ	Cuellaje
F (1,2,3)	Número de Finca
Z (1,2)	Número de zona
M (1,2)	Estado fenológico Maduro
I (1,2)	Estado fenológico Inmaduro

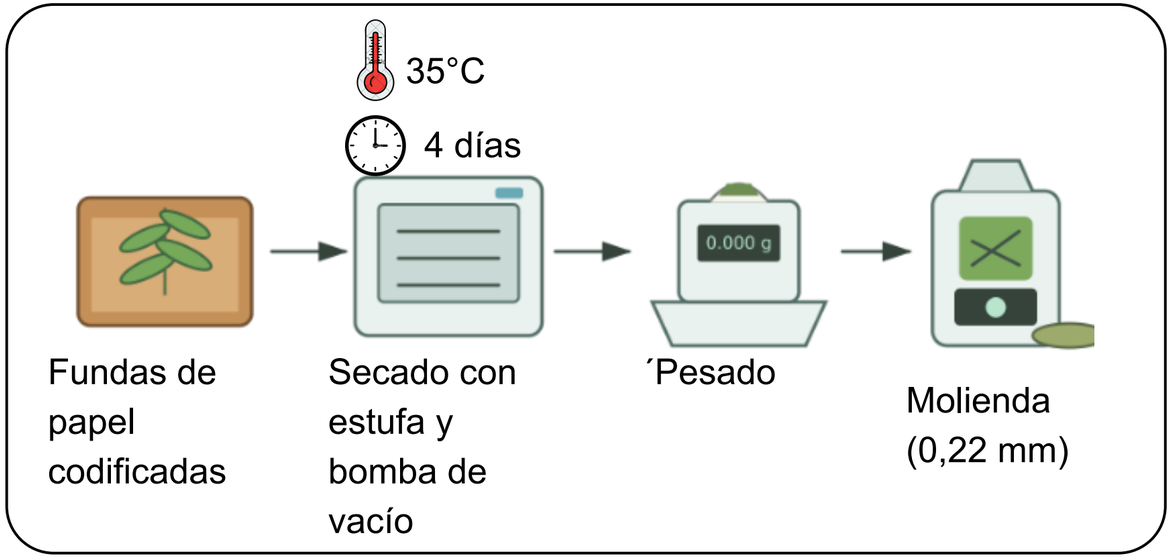
04. Metodología

Técnica e instrumento

Caracterización botánica, secado y molienda

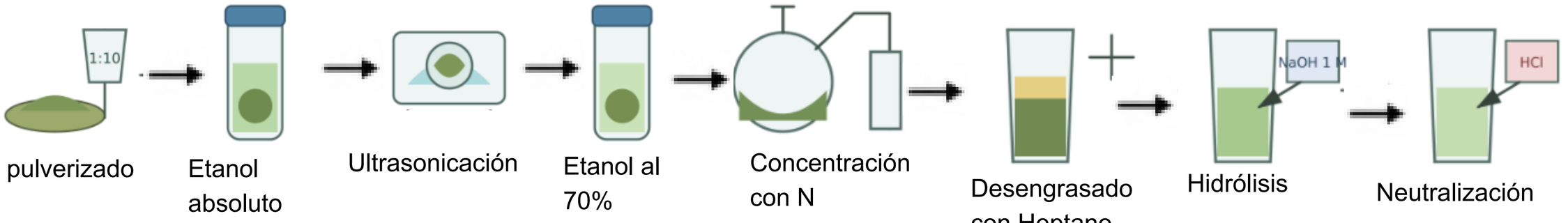


Observación macroscópica | Observación estereoscópica | Tinción con azul de toluidina | Observación microscópica (40x y 100x)



Fundas de papel codificadas | Secado con estufa y bomba de vacío | ´Pesado | Molienda (0,22 mm)

Macerado, concentrado e hidrólizado



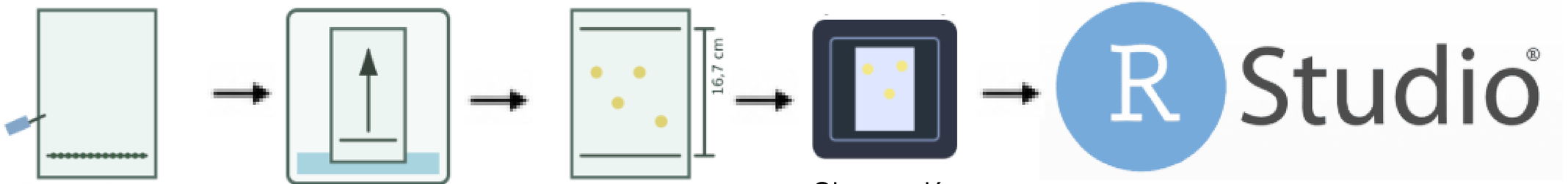
pulverizado | Etanol absoluto | Ultrasonicación | Etanol al 70% | Concentración con N | Desengrasado con Heptano | Hidrólisis | Neutralización

Ilustraciones: elaboración propia mediante BioRenderr

04. Metodología

Técnica e instrumento

Cromatografía de capa fina (TLC) y estadística



Cargar las muestras con 1,5cm de distancia

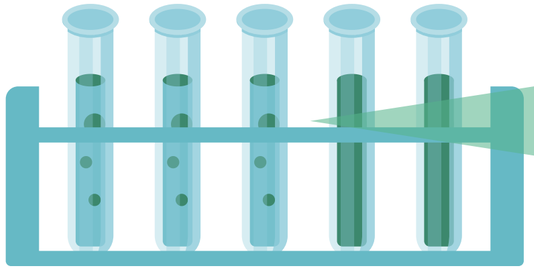
Fase móvil: DCM: Metanol (9:1)

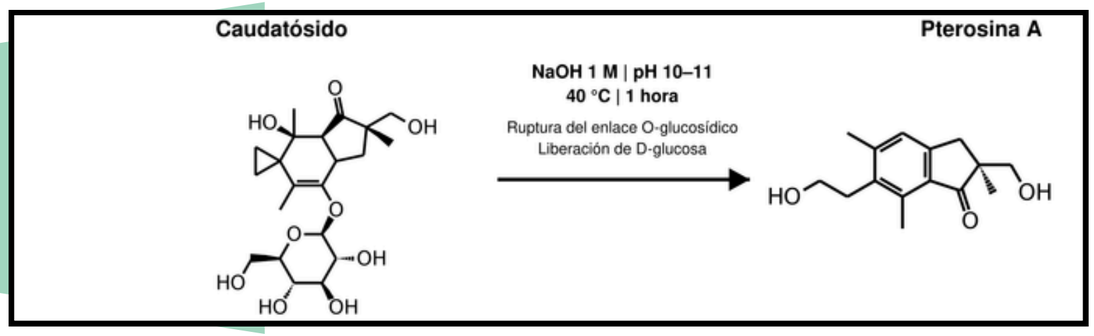
Revelado con anísaldehído y medición delas manchas

Observación bajo Luz UV

Análisis estadístico

Hidrólisis alcalina





Ilustraciones: elaboración propia mediante BioRenderr

05. Resultados y discusión

Caracterización Botánica del Helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.



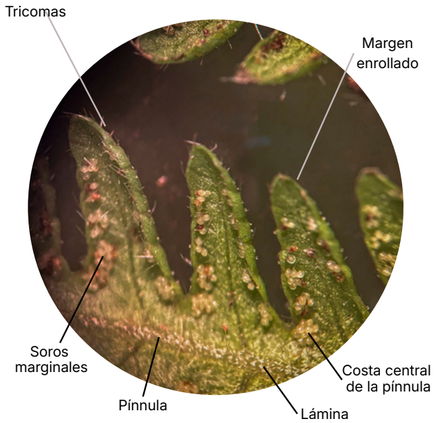


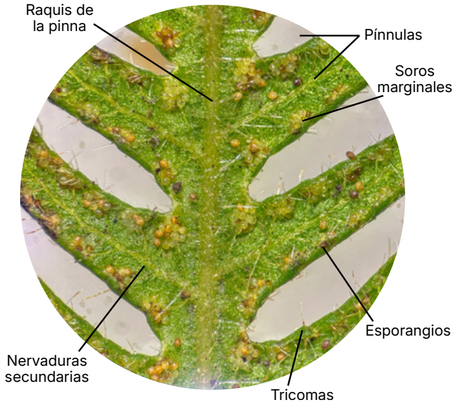
Fronda triangular y dividida en pinnas y pínnulas. En el reverso, soros lineales y continuos ubicados en los márgenes, protegidos por un falso indusio. Estas características fueron compatibles con Pteridium aquilinum.

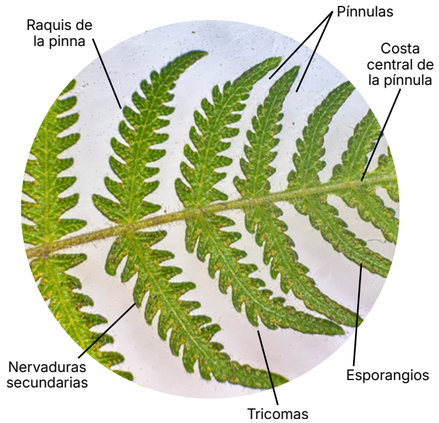
05. Resultados y discusión

Caracterización Botánica del Helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

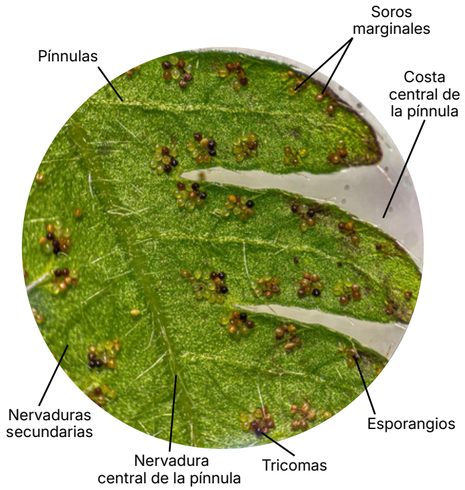
Caracterización estereoscópica del revés de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en una fronda inmadura.

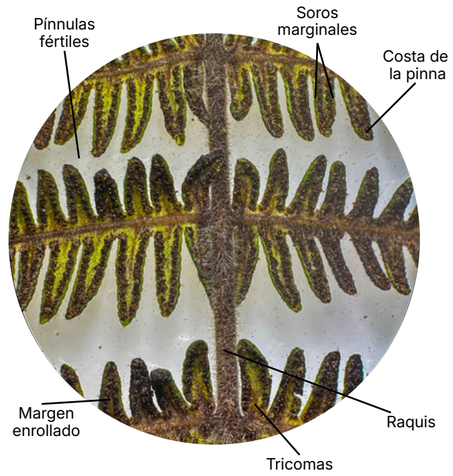


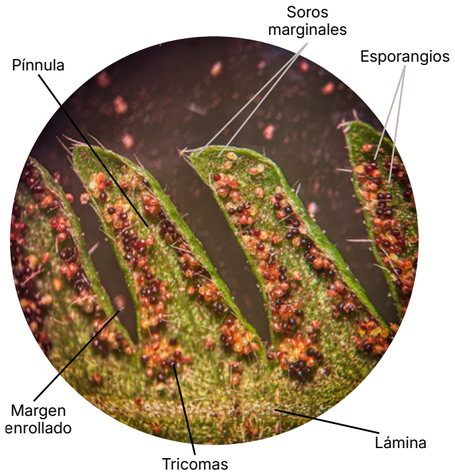




Caracterización estereoscópica del revés de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en una fronda madura.







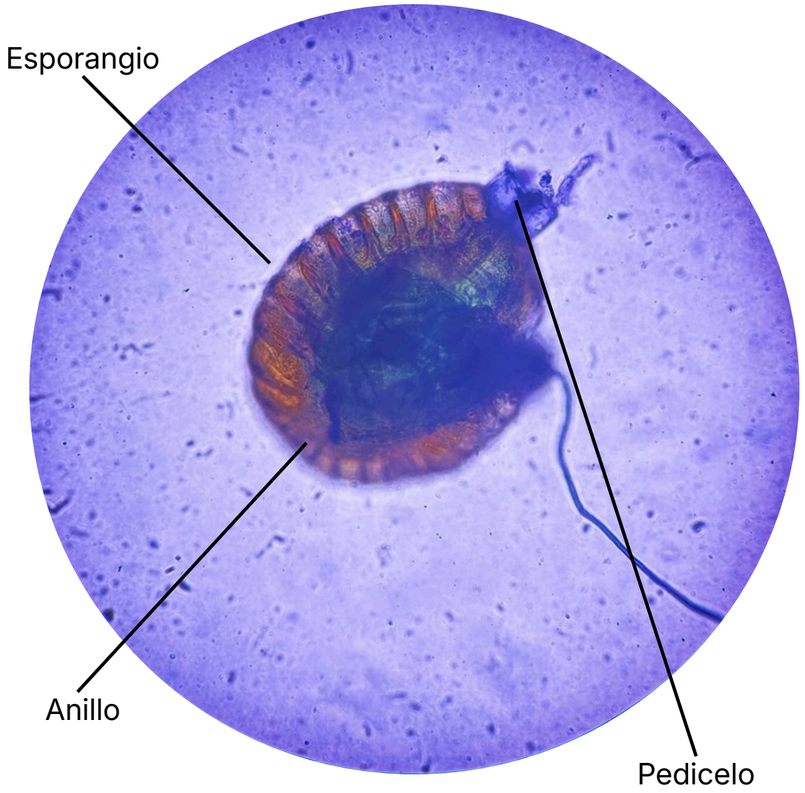
El oscurecimiento se relacionó con la maduración y acumulación de esporas, el desarrollo de sus paredes, sus pigmentos y la esporopolenina protectora. Las distintas tonalidades evidenciaron una maduración asincrónica.

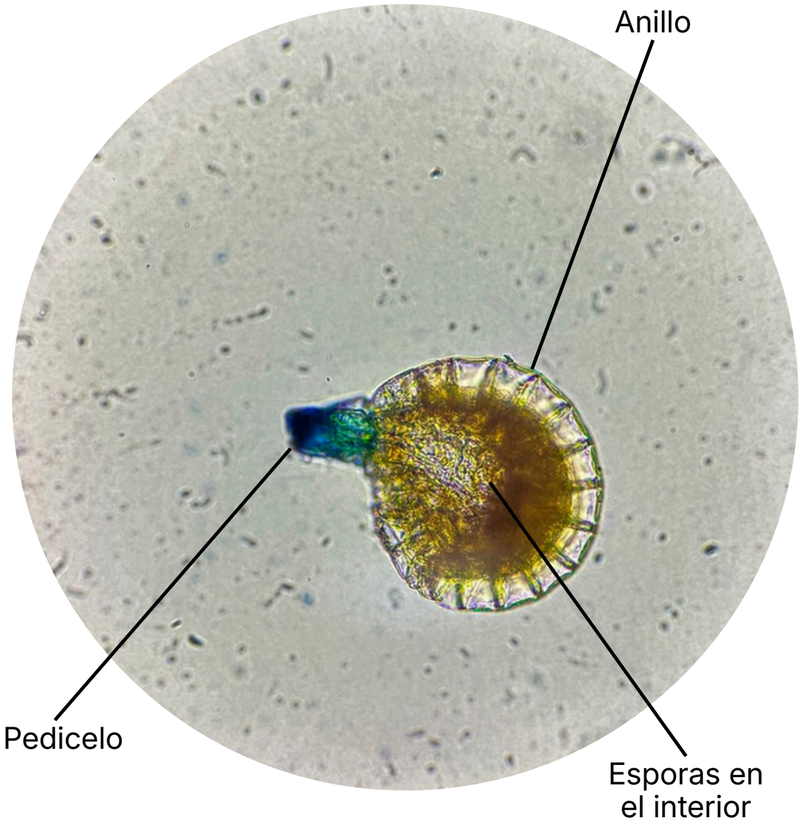
Durante la maduración también se deposita esporopolenina en la pared externa de las esporas. Wallace *et al*. (2011) señalan que este biopolímero forma una pared altamente resistente que protege las esporas frente a la desecación, la radiación y el daño físico.

05. Resultados y discusión

Caracterización Botánica del Helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.

Caracterización microscópica de esporangios de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn en estados fenológicos inmaduro y maduro.





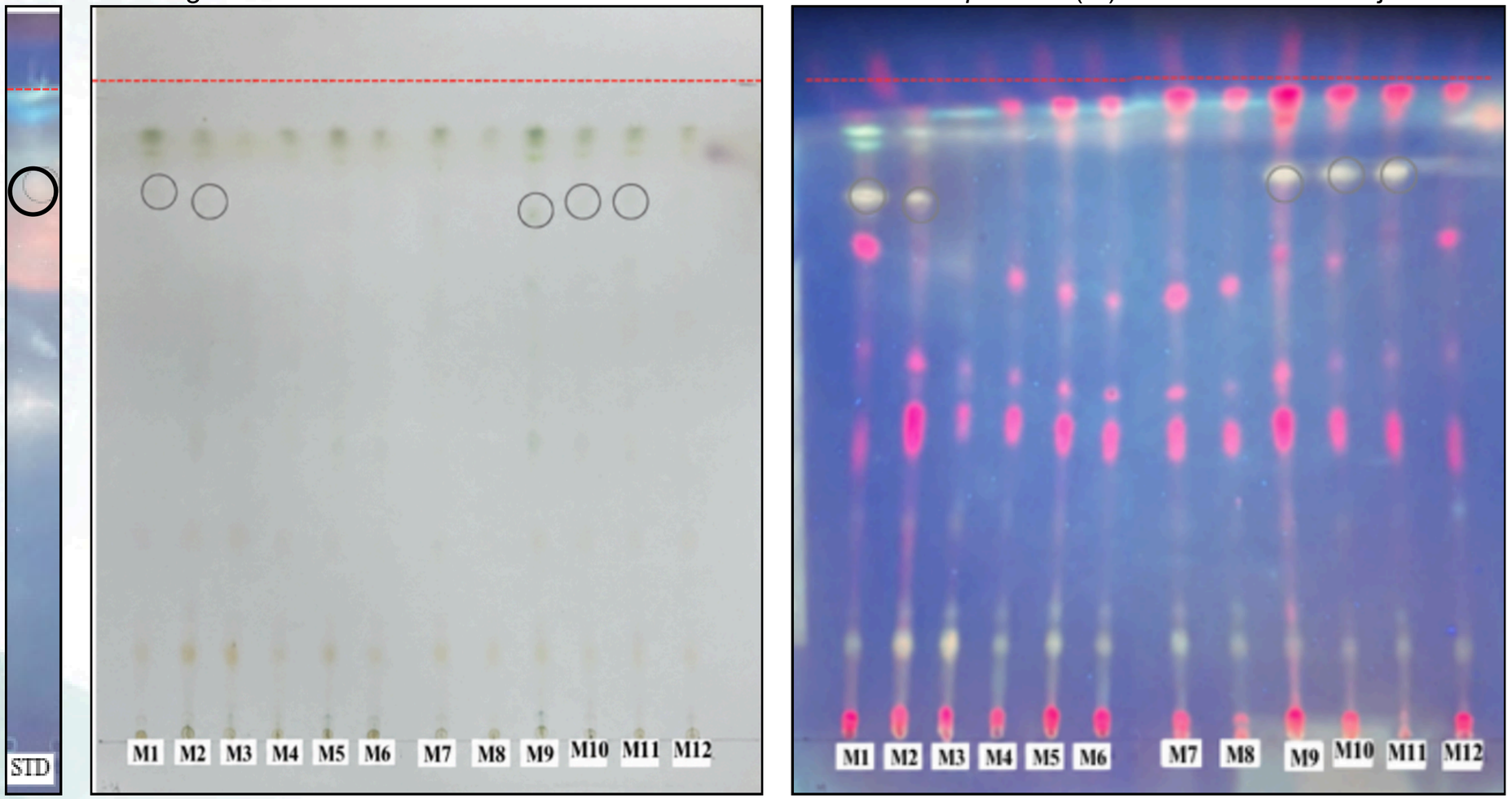
El principal hallazgo fue la presencia del anillo mecánico. Cuando el esporangio maduro pierde agua, este anillo genera tensión, provoca su apertura y facilita la dispersión de las esporas. Su observación, junto con las demás características botánicas, confirmó que las muestras eran compatibles con *Pteridium aquilinum* (L.) Kunh

05. Resultados y discusión

Evaluación de la presencia de toxinas en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Figura 1.

Perfil cromatográfico de los extractos de frondas maduras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn observado bajo la luz visible y luz UV



Distancia recorrida por el solvente: 16.7 cm

Distancia recorrida por el estándar: 13,8 cm

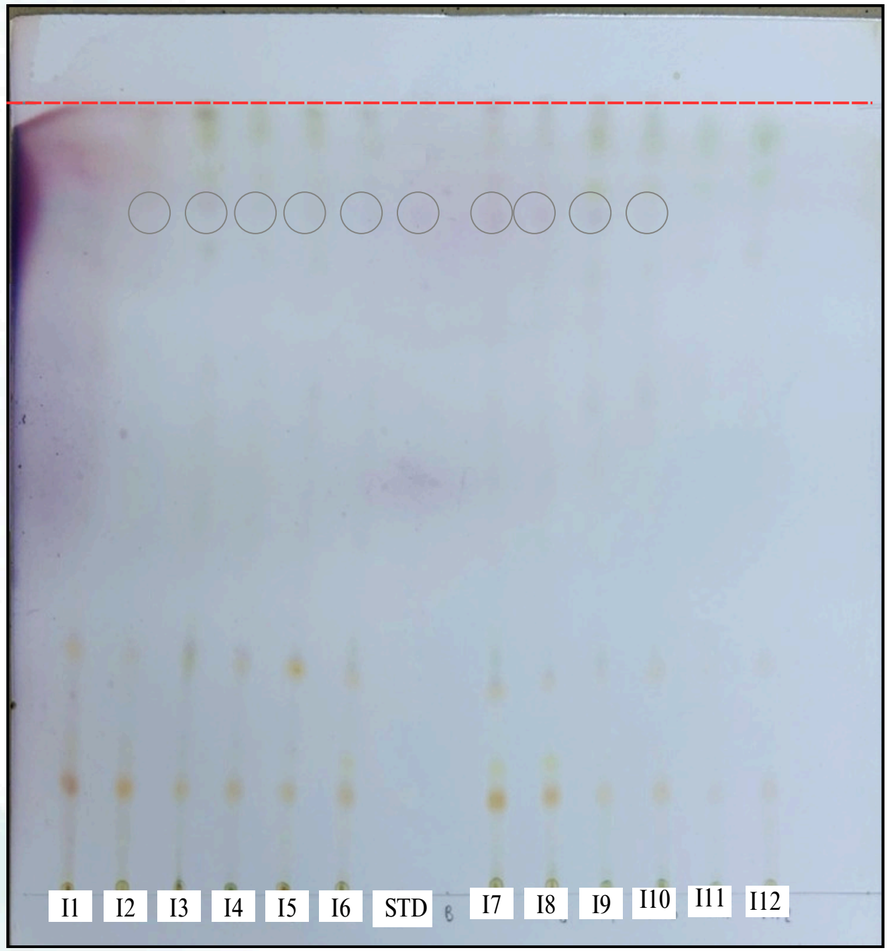
Cinco de las doce frondas maduras (41,7 %) presentaron bandas compatibles con pterosinaLa positividad parcial evidencia variabilidad química entre las frondas. La ausencia de bandas no descarta completamente el metabolito, pues su concentración pudo estar bajo el límite de detección de la TLC.

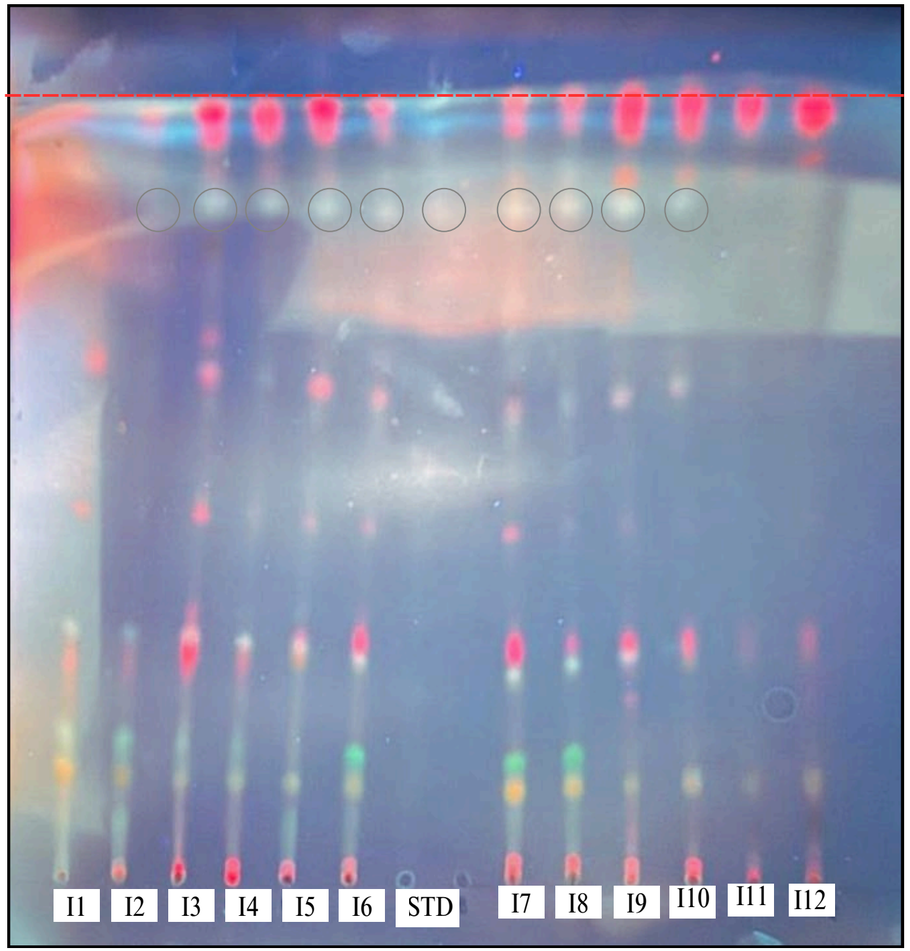
05. Resultados y discusión

Evaluación de la presencia de toxinas en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Figura 2.

Perfil cromatográfico de los extractos de frondas inmaduras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn observado bajo la luz visible y luz UV.





Distancia recorrida por el solvente: 16.7 cm

Distancia recorrida por el estándar: 13,8 cm

Nueve de doce frondas inmaduras (75 %) presentaron bandas compatibles con pterosina A . La mayor positividad podría asociarse con la función defensiva de los metabolitos en tejidos jóvenes. El efecto sonrisa produjo pequeñas variaciones en la migración, por lo que la identificación es presuntiva.

05. Resultados y discusión

Evaluación de la presencia de toxinas en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Tabla 2. Detección de Pterosina A enfrondas inmaduras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Carril	Código de muestra	Rf observado	Color aparente	Resultado cualitativo
I1	CJ-F1-Z1-I1	-	-	Ausencia
I2	CJ-F1-Z1-I2	0,826	Blanco pálido	Presencia
I3	CJ-F1-Z2-I1	0,826	Blanco pálido	Presencia
I4	CJ-F1-Z2-I2	0,826	Blanco pálido	Presencia
I5	CJ-F2-Z1-I1	0,826	Blanco pálido	Presencia
I6	CJ-F2-Z1-I2	0,826	Blanco pálido	Presencia
I7	CJ-F2-Z2-I1	0,826	Blanco pálido	Presencia
I8	CJ-F2-Z2-I2	0,826	Blanco pálido	Presencia
I9	CJ-F3-Z1-I1	0,826	Blanco pálido	Presencia
I10	CJ-F3-Z1-I2	0,826	Blanco pálido	Presencia
I11	CJ-F3-Z2-I1	-	-	Ausencia
I12	CJ-F3-Z2-I2	-	-	Ausencia

Tabla 2. Detección de Pterosina A en frondas maduras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Carril	Código de muestra	Rf observado	Color aparente	Resultado cualitativo
M1	CJ-F1-Z1-M1	0,826	Blanco	Presencia
M2	CJ-F1-Z1-M2	0,826	Blanco	Presencia
M3	CJ-F1-Z2-M1	-	-	Ausencia
M4	CJ-F1-Z2-M2	-	-	Ausencia
M5	CJ-F2-Z1-M1	-	-	Ausencia
M6	CJ-F2-Z1-M2	-	-	Ausencia
M7	CJ-F2-Z2-M1	-	-	Ausencia
M8	CJ-F2-Z2-M2	-	-	Ausencia
M9	CJ-F3-Z1-M1	0,826	Blanco	Presencia
M10	CJ-F3-Z1-M2	0,826	Blanco	Presencia
M11	CJ-F3-Z2-M1	0,826	Blanco	Presencia
M12	CJ-F3-Z2-M2	-	-	Ausencia

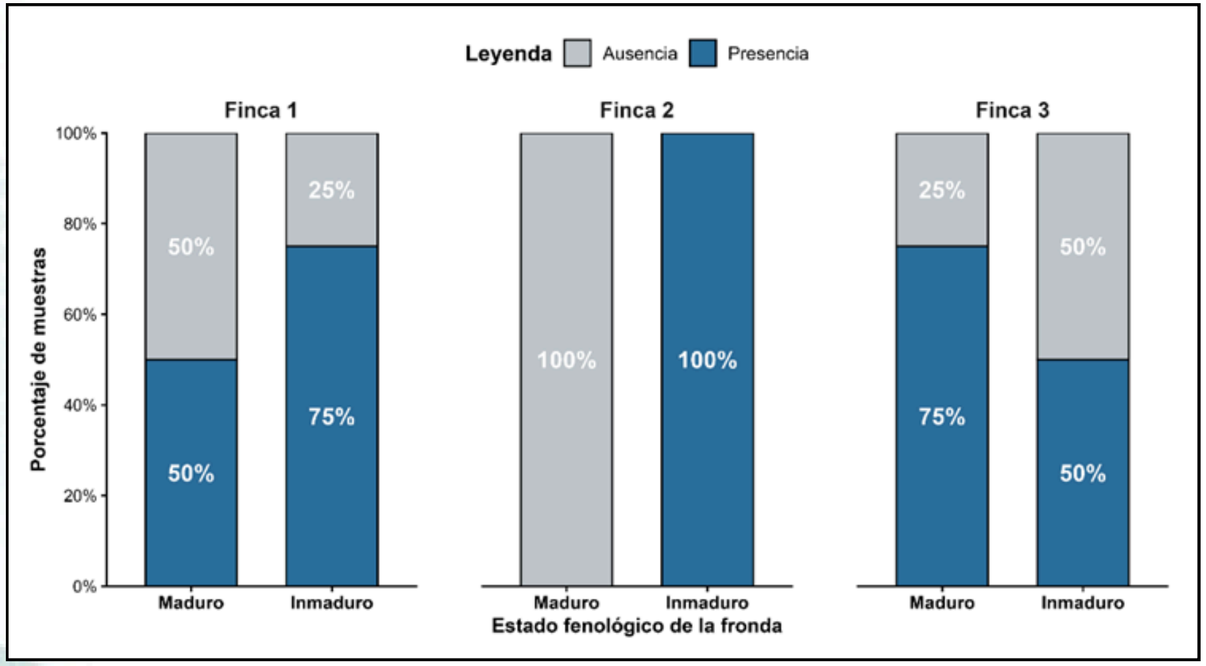
Las frondas inmaduras presentaron mayor detección presuntiva de pterosina A (75,0 %; 9/12) que las maduras (41,7 %; 5/12). Las muestras positivas mostraron un Rf de 0,826, coincidente con el estándar.

- Presencia de metabolitos secundarios en téjidos jóvenes.
- Límite de detección de la TLC
- La madurez no es el único factor involucrado, si no condiciones ambientales, procedencia de la muestra, variabilidad individual, procesamiento.
- Hidrólisis incompleta.

05. Resultados y discusión

3 Correlación entre la presencia de HEB y las toxinas presentes en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

Figura 3. Barras apiladas y estratificado por fincas de Cuellaje según el estado fenológico de las muestras de las frondas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.



Fuente: Elaboración propia mediante RStudio

Tabla 3. Distribución de vacas muestreadas y casos de posible HEB según la finca

Finca	Vacas muestreadas	Vacas con HEB	Proporción de HEB	IC 95 % de Wilson
Finca 1	13	0	0,00%	0,00–22,81 %
Finca 2	20	2	10,00%	2,79–30,10 %
Finca 3	22	3	13,64%	4,75–33,33 %
Total	55	5	9,09%	3,95–19,58 %

La posible HEB se presentó en el 0,00 % de la Finca 1, 10,00 % de la Finca 2 y 13,64 % de la Finca 3, con un porcentaje total del 9,09 %. Fisher–Freeman–Halton y dio p = 0,430.Indice Wilson el rango real probable.

"Se aplicó la prueba exacta de Fisher–Freeman–Halton porque se compararon tres fincas, existían pocos casos y una de las categorías presentó frecuencia cero. La prueba obtuvo un valor de p de 0,430, superior a 0,05; por tanto, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de posible HEB entre las fincas. Aunque descriptivamente la Finca 3 presentó el porcentaje más alto, los datos disponibles no permiten afirmar que realmente tenga una mayor proporción de casos

05. Resultados y discusión

Correlación entre la presencia de HEB y las toxinas presentes en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn

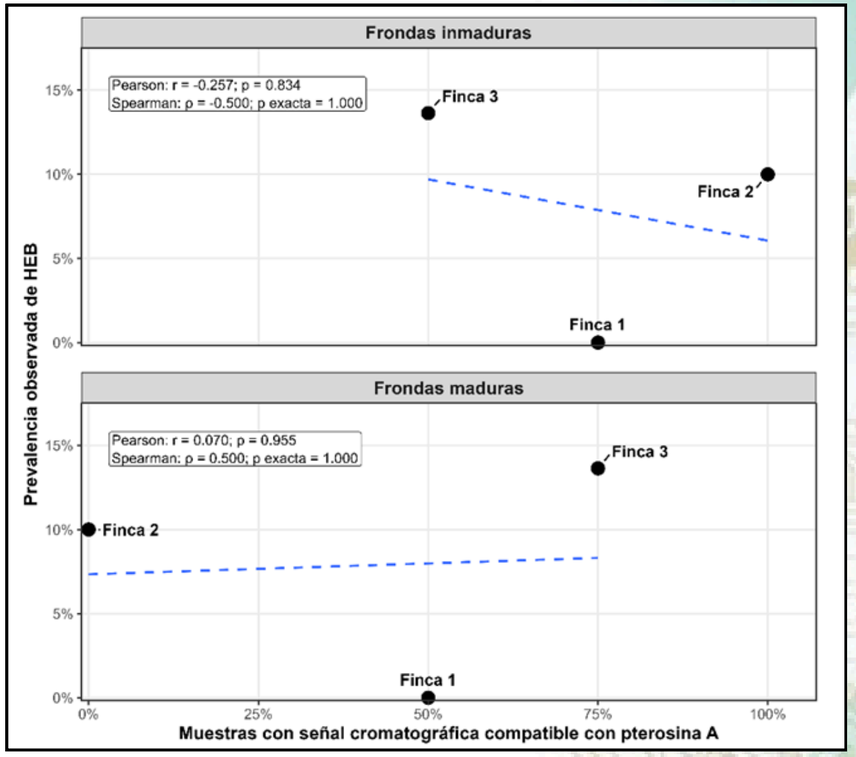
Tabla 4. Correlación entre la prevalencia observada de HEB y la presencia aparente de pterosina A en Pteridium aquilinum (L.) Kuhn.

Indicador de pterosina A	Pearson (r)	(p) paramétrico	Spearman (rho)	(p) exacto
Frondas inmaduras	−0,257	0,834	−0,500	1
Frondas maduras	0,07	0,955	0,5	1
Positividad total	−0,260	0,832	0	1
Número de fincas	3		3	

Las correlaciones fueron débiles, variables y no significativas (p > 0,05), por lo que no se evidenció una relación entre la posible presencia de pterosina A y la prevalencia de HEB. Debido al reducido número de fincas (n = 3), estos resultados son únicamente exploratorios.La HEB es un proceso crónico y multifactorial: también intervienen la cantidad y frecuencia de helecho consumido, el tiempo de exposición, la disponibilidad de alimento, la susceptibilidad individual y posibles cofactores.

Fuente: Elaboración propia mediante RStudio

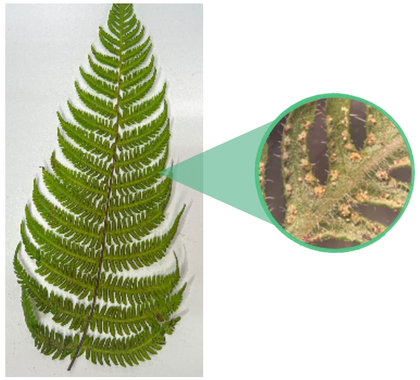
Figura 4. Relación entre la prevalencia de HEB y la presencia de pterosina A.



En consecuencia, estos resultados no permiten descartar una relación biológica. Únicamente indican que, bajo este diseño exploratorio y con tres fincas, esa relación no pudo demostrarse estadísticamente

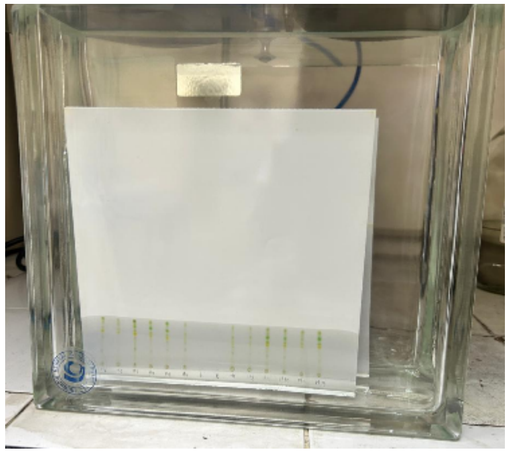
06. Conclusiones y recomendaciones

Caracterización Botánica del Helecho *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn.



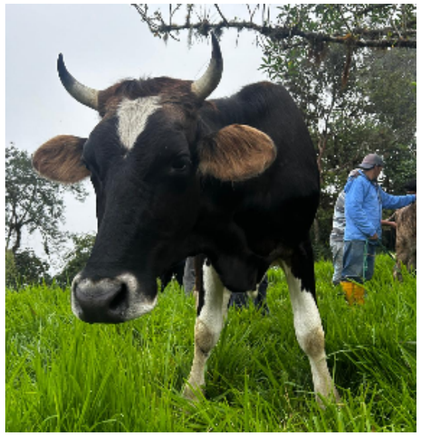
La caracterización morfológica confirmó *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. y diferenció frondas maduras e inmaduras.

Evaluación de la presencia de toxinas en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



Mayor coincidencia con pterosina A en frondas inmaduras (75,0 %) que en maduras (41,7 %). Rf = 0,826.
Método preliminar, accesible y de bajo costo.

Correlación entre la presencia de HEB y las toxinas presentes en *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn



No se evidenció correlación significativa ($p > 0,05$). La HEB responde a un proceso multifactorial.
Resultados exploratorios: n = 3 fincas.

06. Conclusiones y recomendaciones

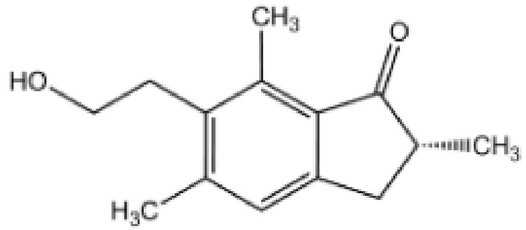
Confirmación y cuantificación

Aplicar HPLC para confirmar y cuantificar las pterosinas A y B, debido a su mayor sensibilidad, separación y reproducibilidad frente a la TLC.



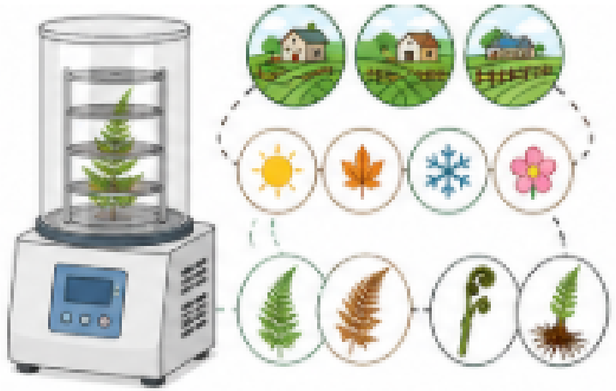
Optimización analítica

Adquirir un estándar de pterosina B y evaluar distintas concentraciones de los estándares para establecer el límite de detección y comparar la intensidad de las señales.



Ampliación del estudio

Emplear liofilización para conservar mejor los metabolitos y ampliar el muestreo considerando más fincas, épocas del año, estados fenológicos y segmentos de la planta.



07. Agradecimientos

ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

CENCINAT
Centro de Nanociencia y Nanotecnología

Ikiam
Universidad Regional Amazónica

Vinculación
ESPE













