



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

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

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR, PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA BIOTECNÓLOGA

Elaborado por: Dayanna Carolina Medina Vicente

Directora: Grace Tatiana Páez Barrera

Sangolquí, 05 de agosto de 2026





ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

ÍNDICE

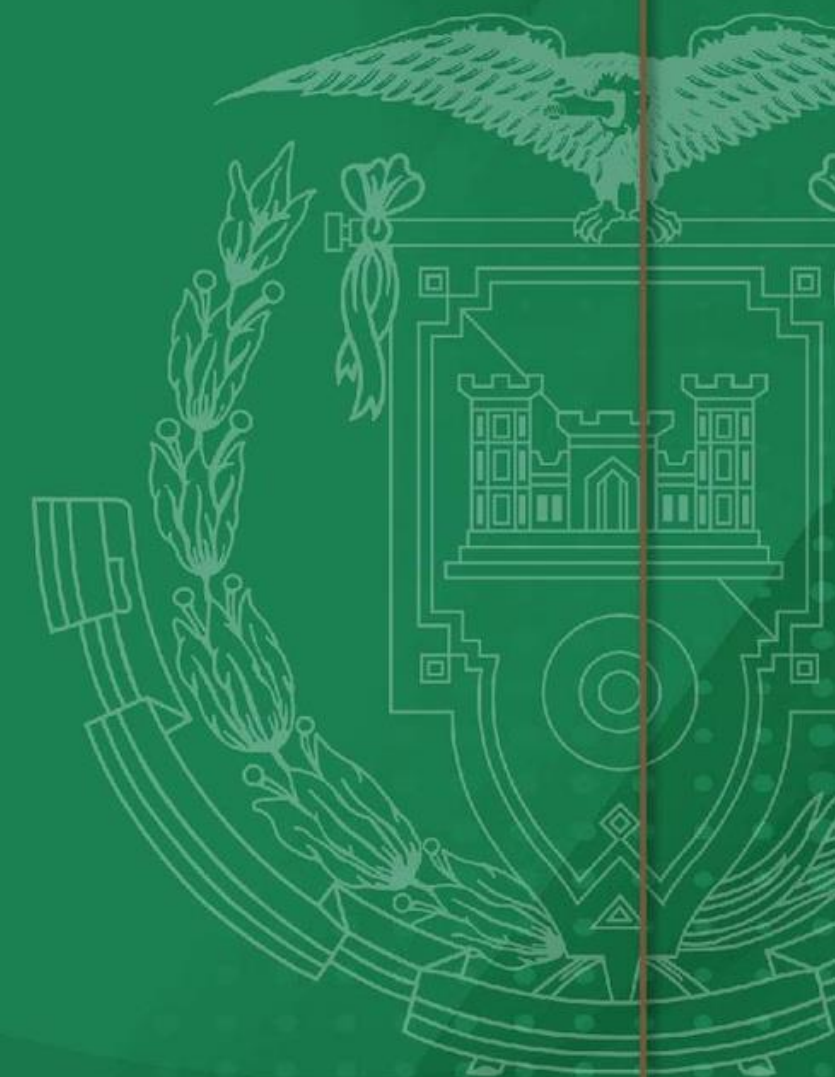
INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

METODOLOGÍA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



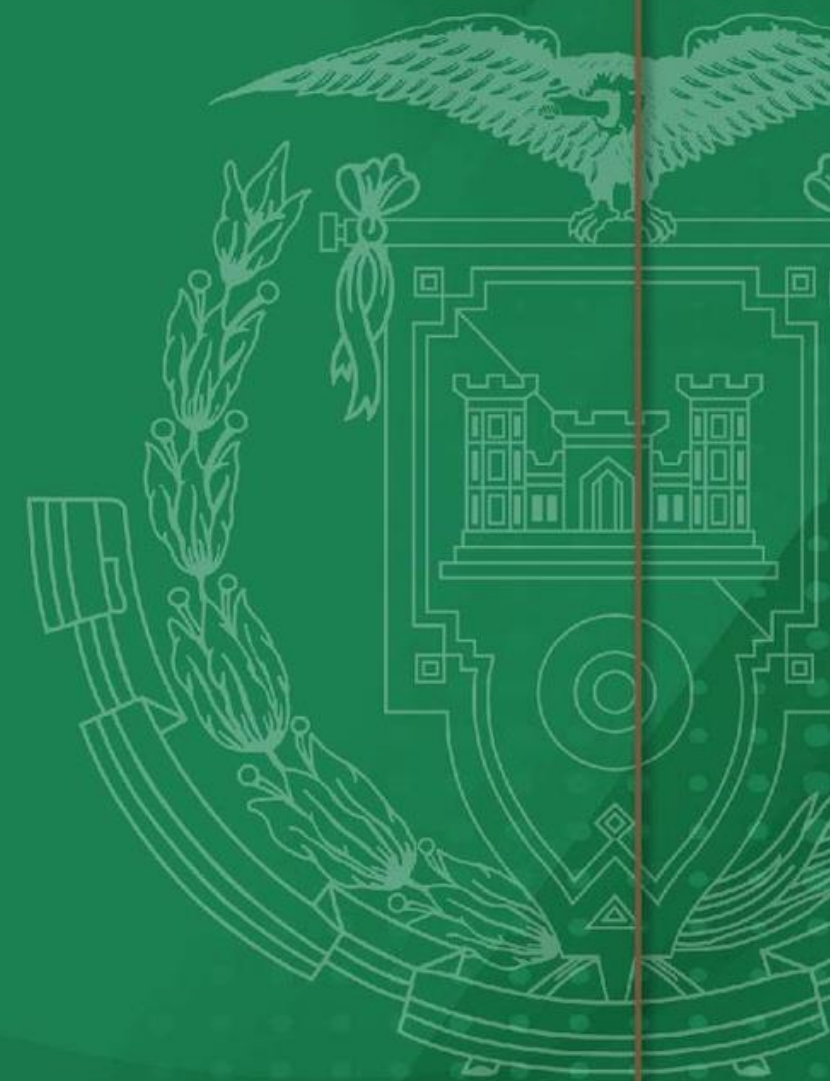


ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

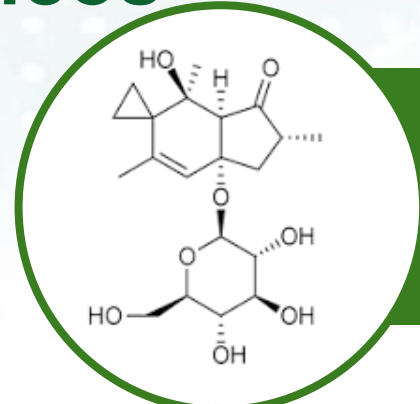
INTRODUCCIÓN



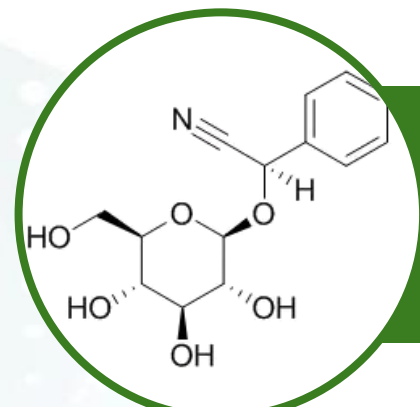
Pteridium aquilinum (L.) Kuhn:

Características, composición y distribución

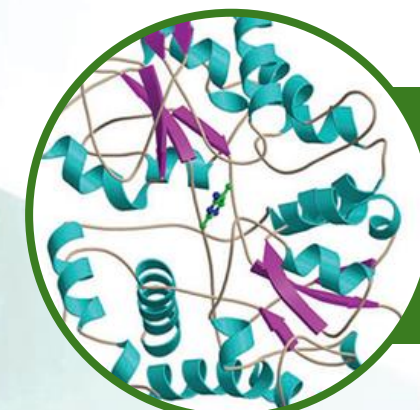
Compuestos potencialmente
tóxicos



**Glucósidos
iludanos**



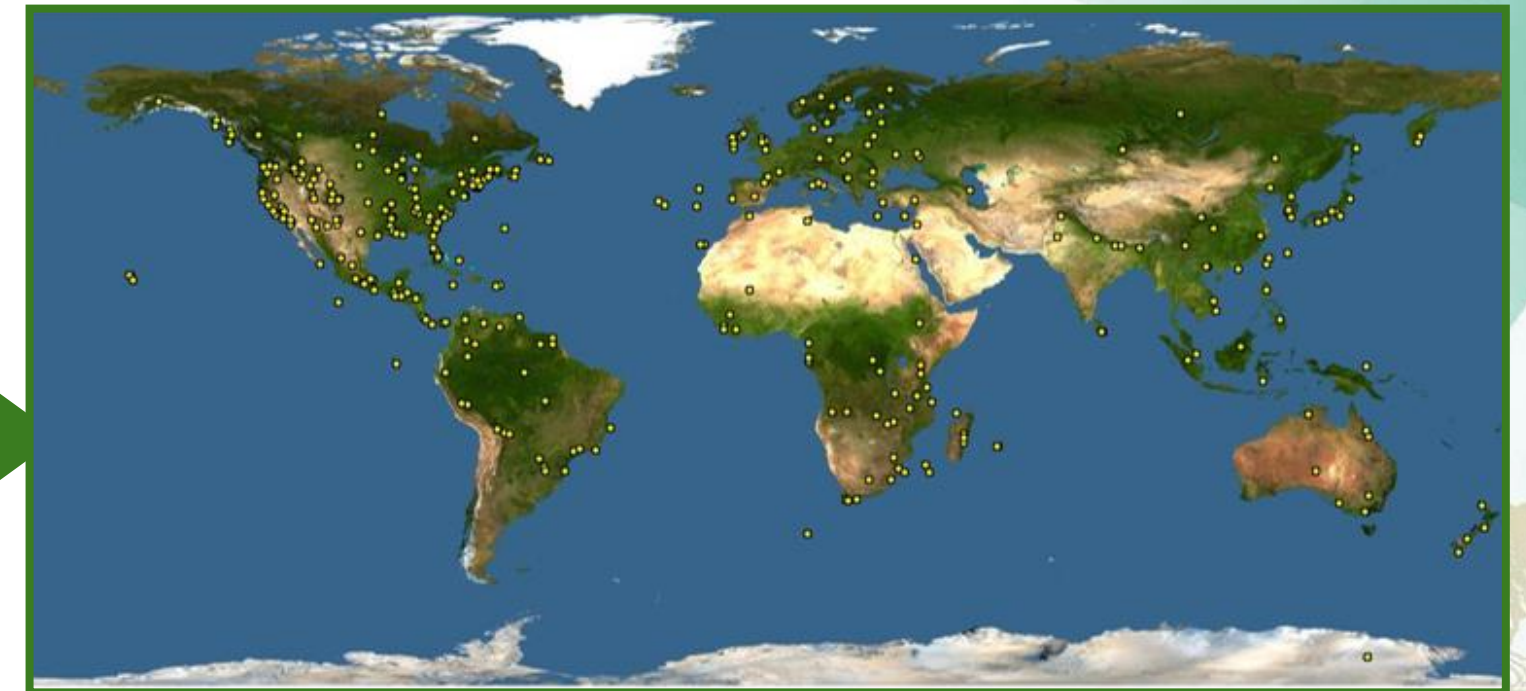
**Glucósidos
cianogénicos**



Tiaminasas



Distribución mundial



Ambientes colonizados:



**Zonas
deforestadas**



**Zonas
quemadas**



Pastizales

(Aguilar Dorantes, 2014; O'Connor et al., 2019; Valdez-Ramírez et al., 2020; Kato-Noguchi y Kato, 2026; The Polistes Corporation, 2026)

Hematuria Enzoótica Bovina:

Mecanismo de acción y manifestaciones clínicas



Manifestaciones clínicas



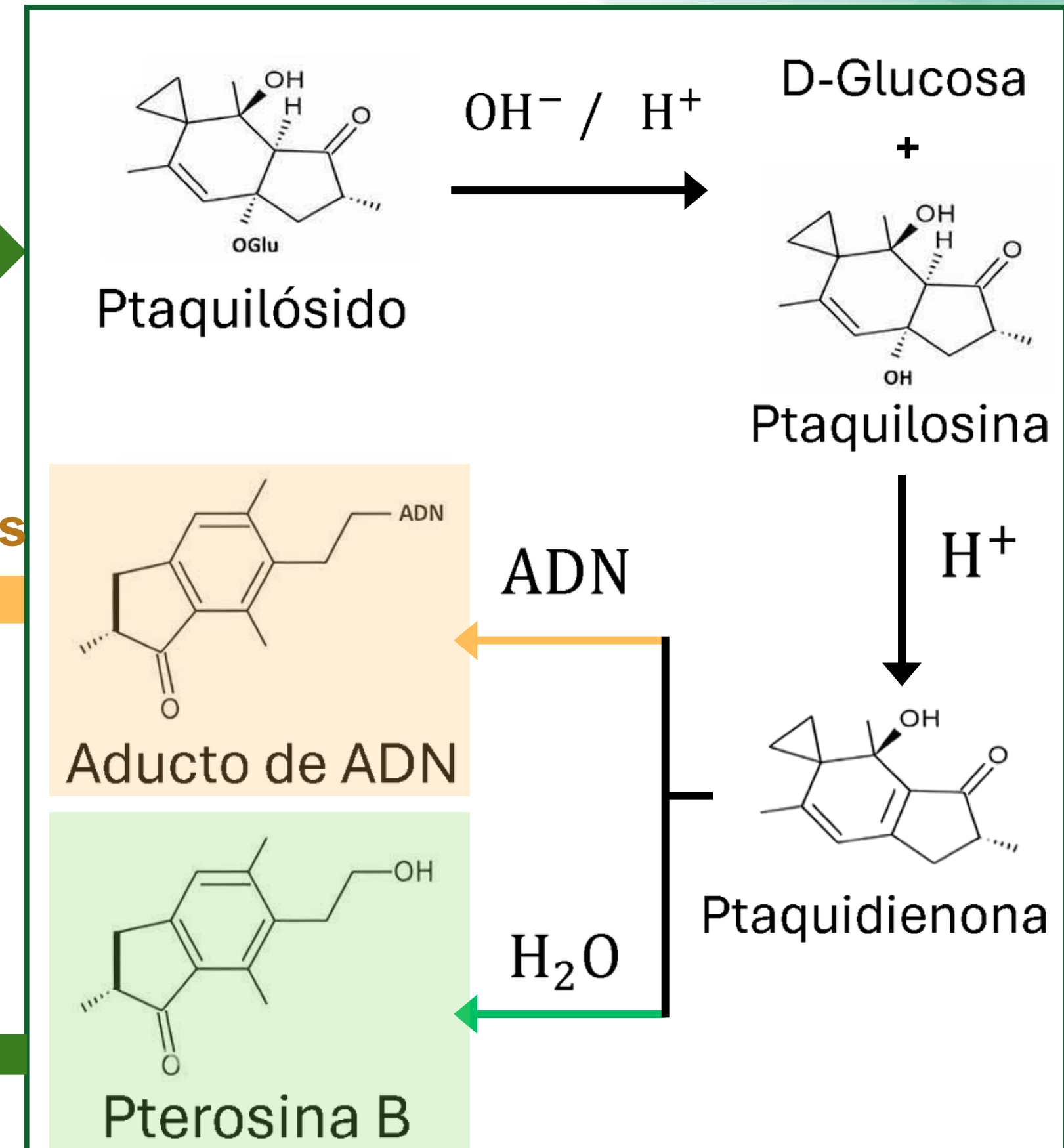
Pérdida de condición corporal

Hematuria

Lesiones vesicales proliferativas

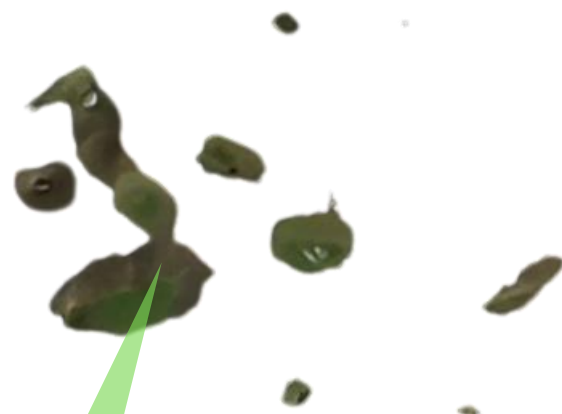
Vía de degradación estable / detoxificación

(O'Connor et al., 2019; Vetter, 2022; Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos, 2023)



Situación en Ecuador: Distribución de *Pteridium* y reportes de HEB

En Ecuador se han reportado especies del género *Pteridium* y casos de HEB en zonas invadidas; sin embargo, la evidencia directa sobre compuestos tóxicos en muestras vegetales continúa siendo limitada.

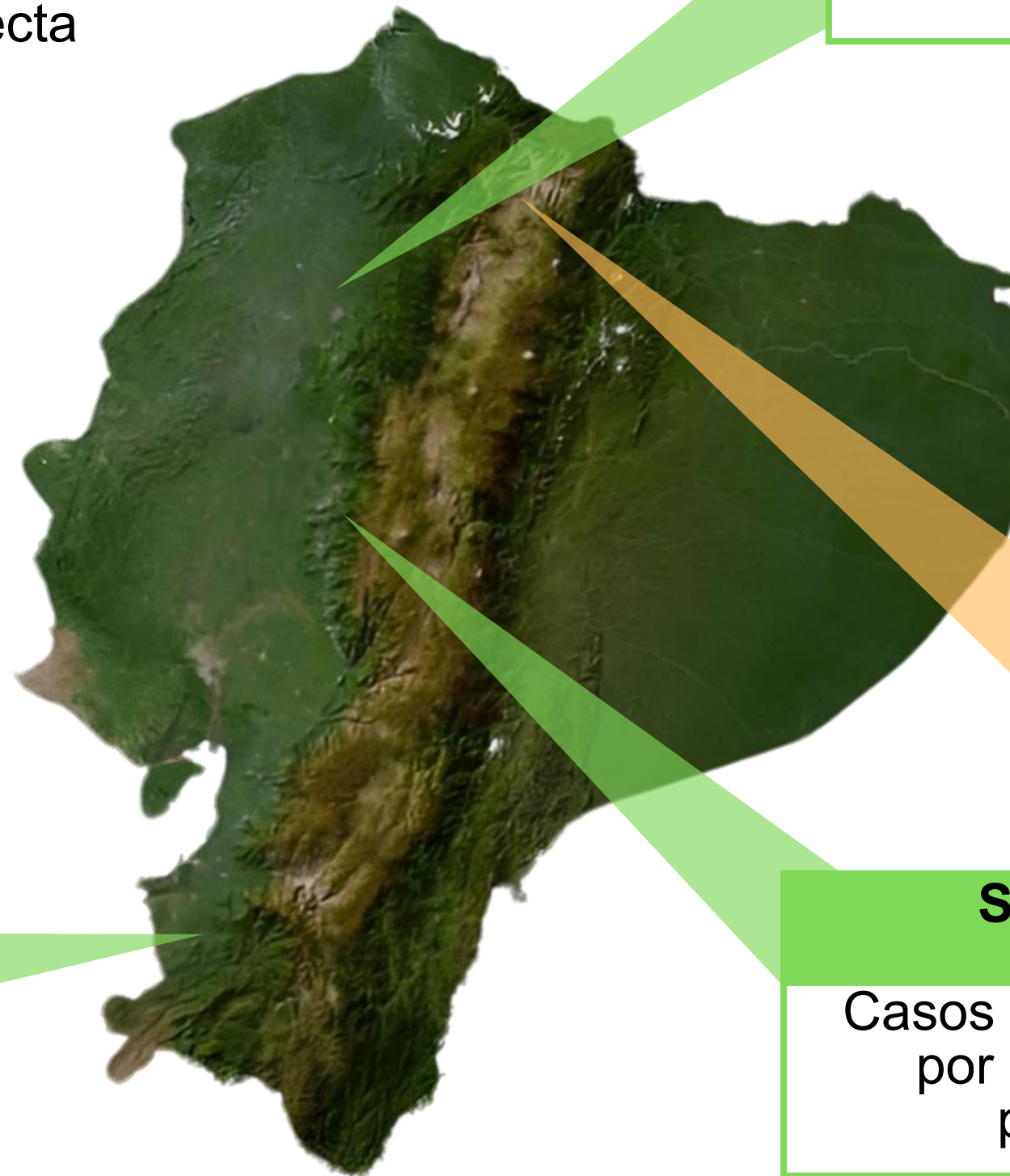


Islas Galápagos

Amplia distribución de *Pteridium*

Chillas - El Oro

Casos de HEB en zonas invadidas por *Pteridium*



Santo Domingo de los Tsáchilas

Reporte de *Pteridium* en bosques nativos

Zona de interés

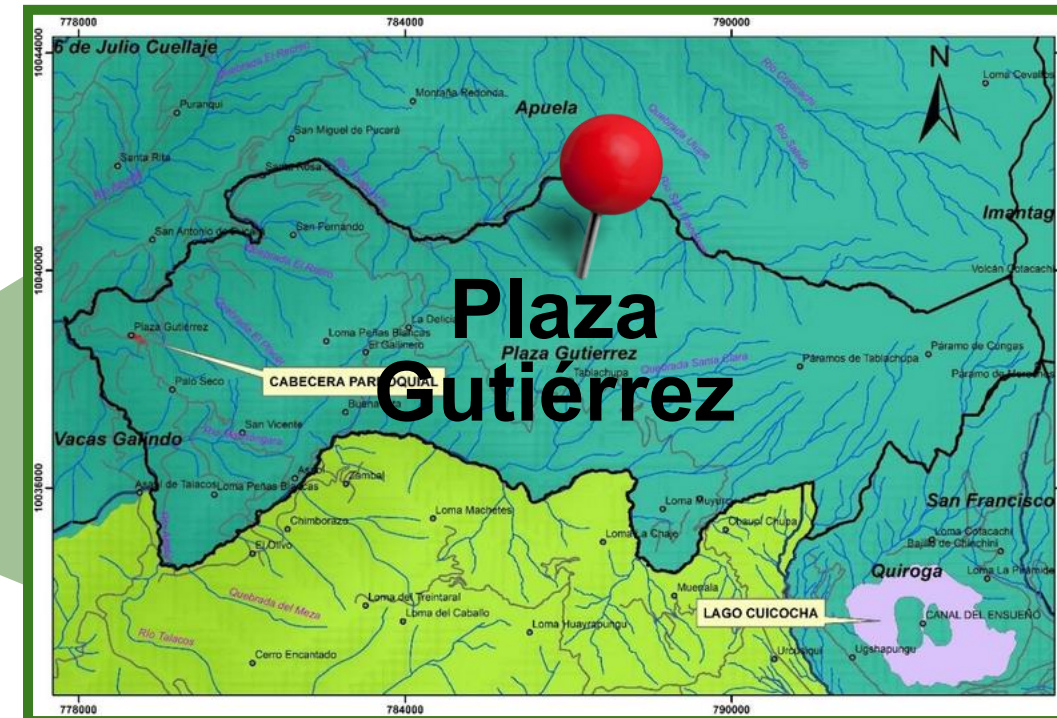
Las Delicias, Plaza Gutiérrez - Imbabura

Reporta invasión por *Pteridium* en un 38,43 % del área estudiada

San Miguel, Chimbo y Echeandía - Bolívar

Casos de HEB en zonas invadidas por *Pteridium* y detección de ptaquilósido en leche.

Plaza Gutiérrez: Contexto y situación actual



Necesidad de investigación
Vinculación | ESPE



Generar evidencia local sobre los compuestos potencialmente tóxicos de *P. aquilinum* (L.) Kuhn y su posible relación con la HEB.

Contexto social, económico y ambiental

Clima húmedo y alta precipitación

12-15 °C

HR > 70 %



Condiciones favorables para pastizales y vegetación silvestre.

Créditos de USD 1.000–5.000



Destinados principalmente a la adquisición de ganado bovino

Economía familiar



Basada principalmente en agricultura y la ganadería

Contexto territorial
328 habitantes (2022)
76 km² de superficie



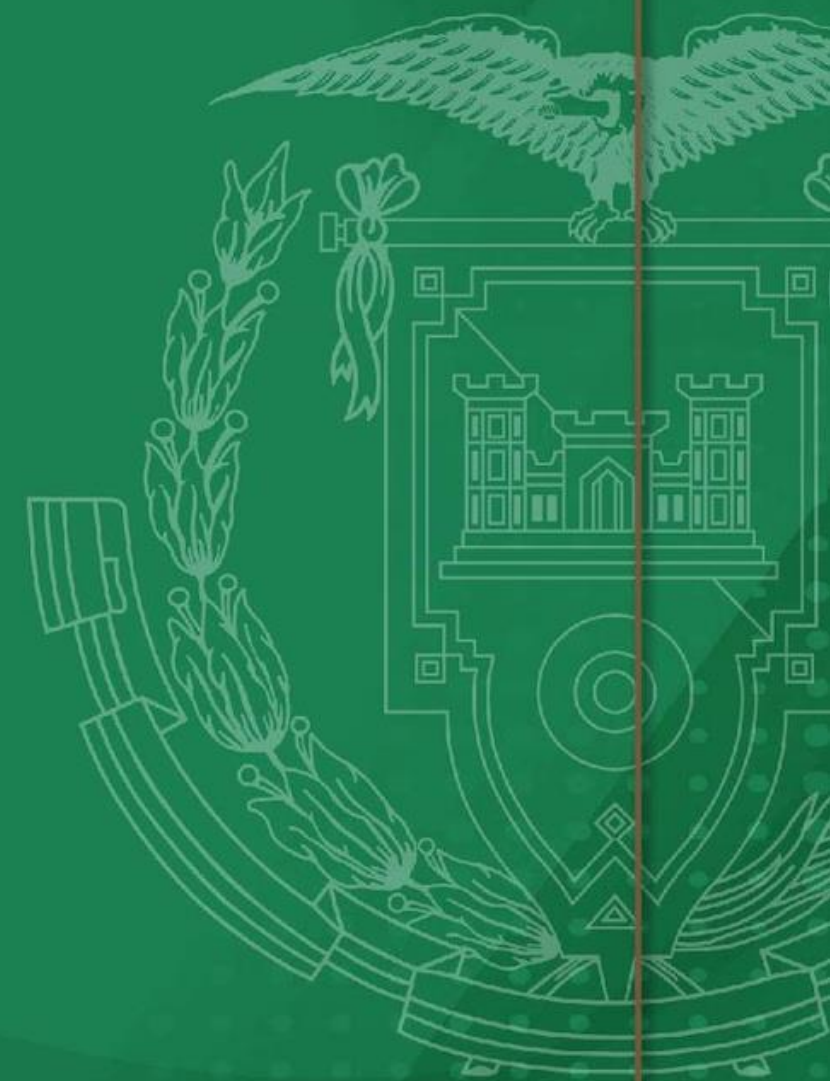
624,92 ha de pasto cultivado
8,20 % del territorio



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

OBJETIVOS



Objetivo general

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

Objetivos específicos

1

Caracterizar

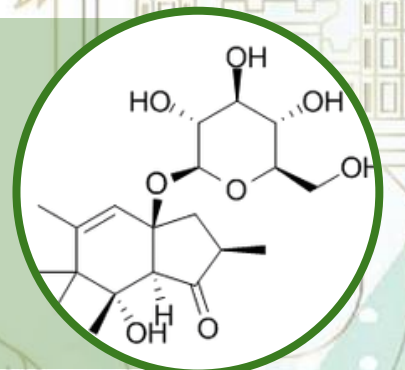
botánicamente el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn), en la zona de estudio.



2

Evaluar

la presencia de toxinas y compuestos relacionados en el helecho macho (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn).



3

Correlacionar

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

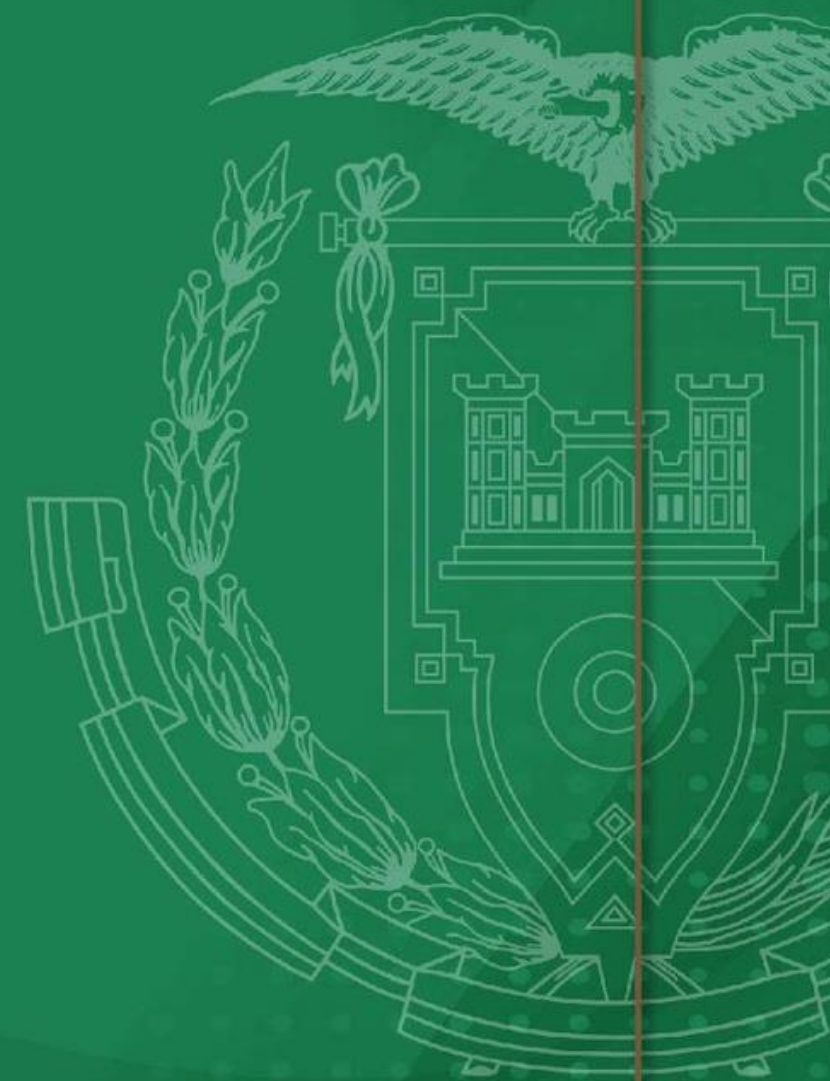




ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

METODOLOGÍA



Metodología

Flujo general de proceso



Metodología

Muestreo y caracterización botánica

Muestreo en campo

Finca

Zona 1

Zona 2

Punto 1

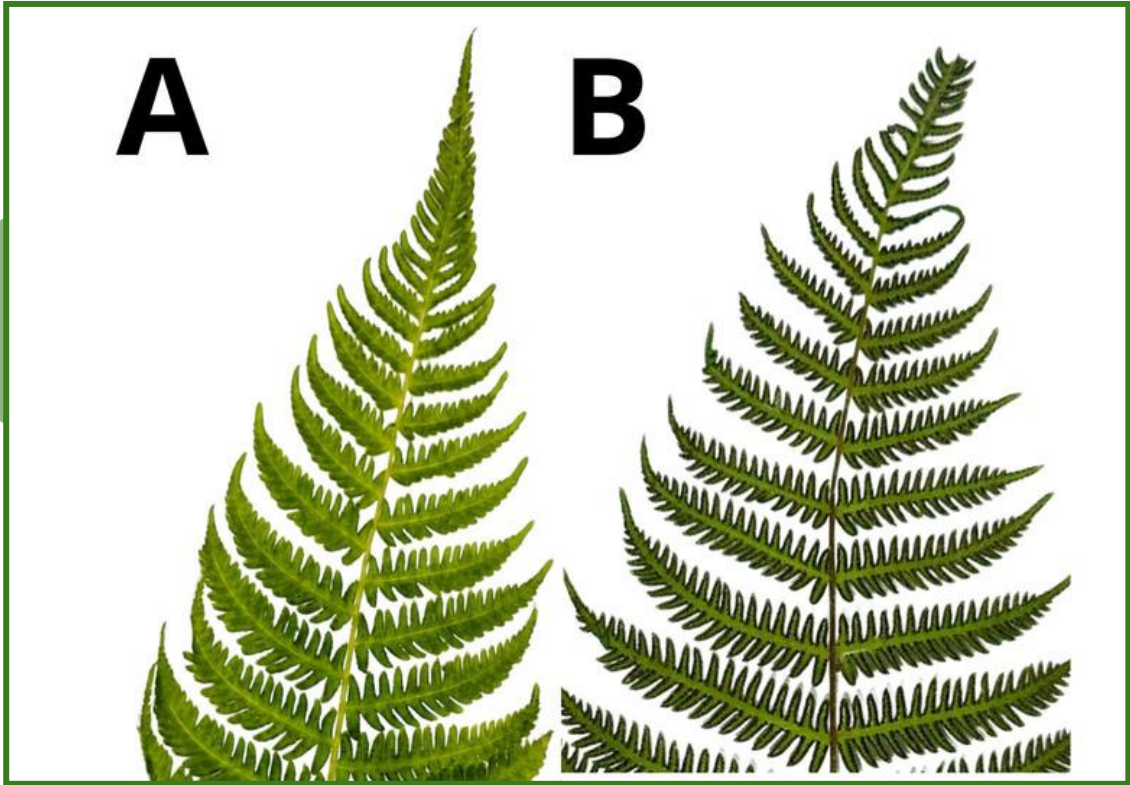
Punto 1

Punto 2

Punto 2

A

B



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



A. B. C. D.

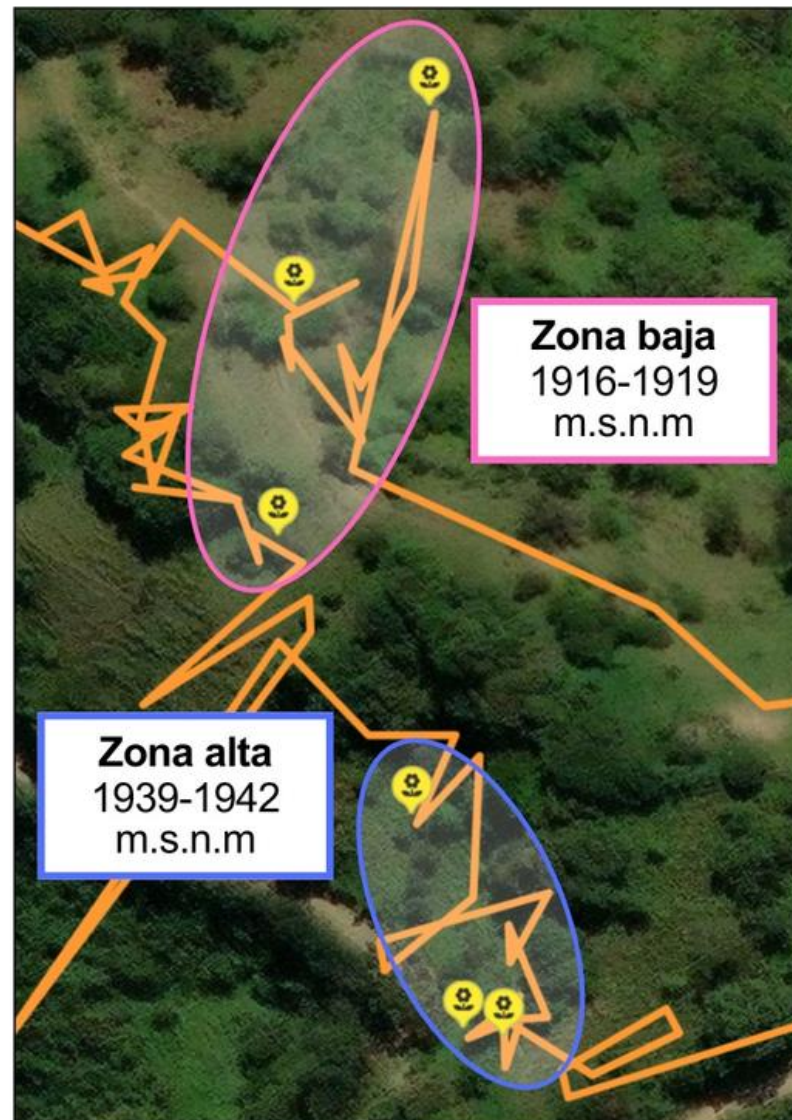
- **A:** brote joven
- **B:** fronda en expansión
- **C:** fronda madura
- **D:** fronda desarrollada

Metodología

Muestreo y caracterización botánica

Muestreo en campo

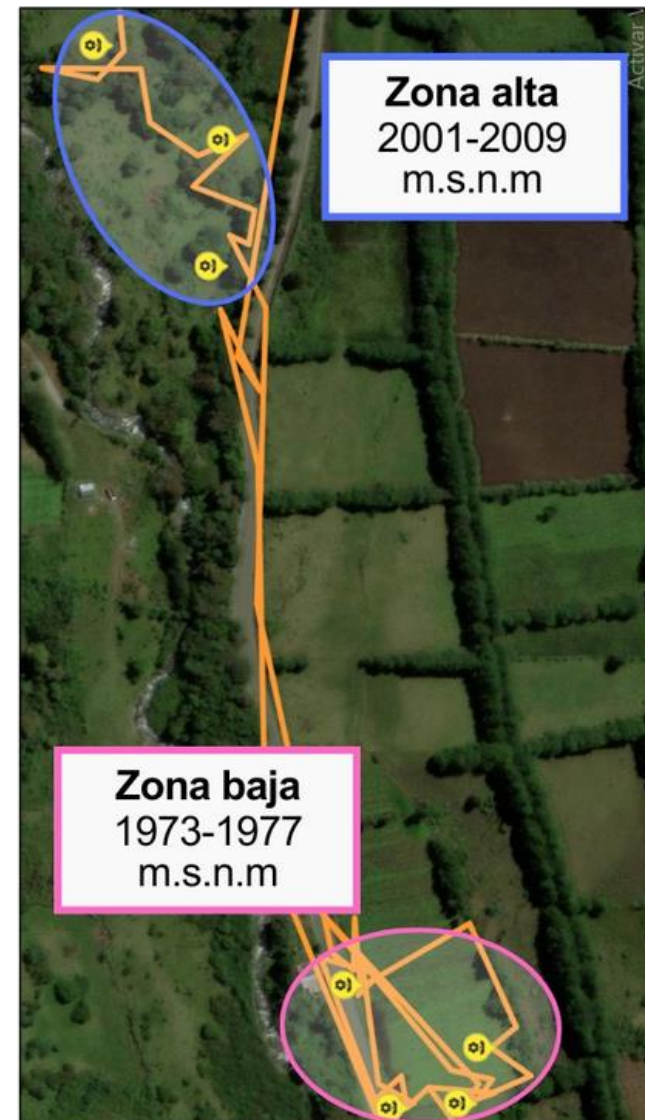
Finca 1



Finca 2



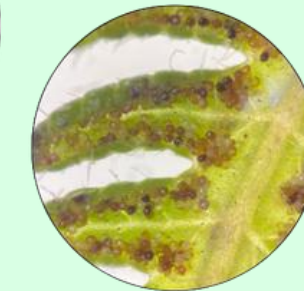
Finca 3



24 muestras recolectadas: 12 maduras y 12 inmaduras

Caracterización

Observación macroscópica

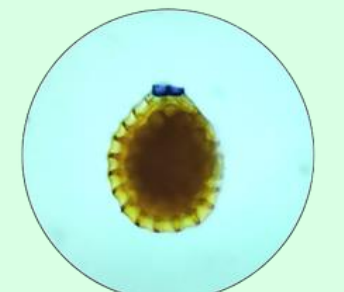


Frondas y
estructuras
reproductivas

Observación microscópica



Esporangios y
esporas



Tinción:
Azul de
toluidina



Metodología

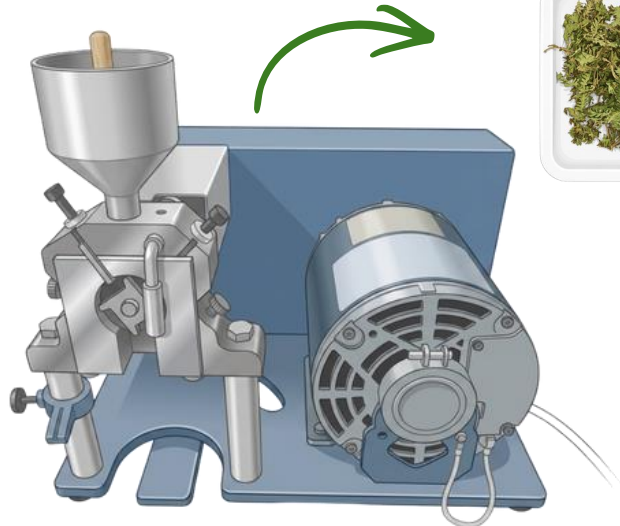
Procesamiento de muestras

Secado



Durante 5 días a 35 °C
hasta alcanzar peso
constante

Molienda



Hasta tener un
tamaño de partícula
de 0,85 mm

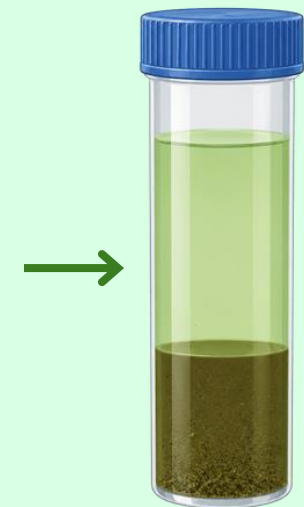
(Guo et al., 2025; Hao et al., 2021; Jensen et al., 2008; Otgonsugar et al., 2018). Elaboración propia con BioRender.com.

Maceración

1 Preparación de muestra



Ext 1: 2 g de muestra
+ 20 mL de EtOH Abs.
Ext 2: Residuo sólido +
20 mL de EtOH 70%.



Relación
1:10
(m/V)

2 Macerado

3 días en
oscuridad
con
agitación
constante



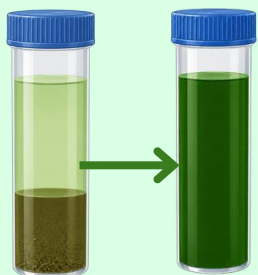
3 Ultrasonificación y centrifugación



Por 30 min a < 30 °C



Por 5 min
a 3000 g



Metodología

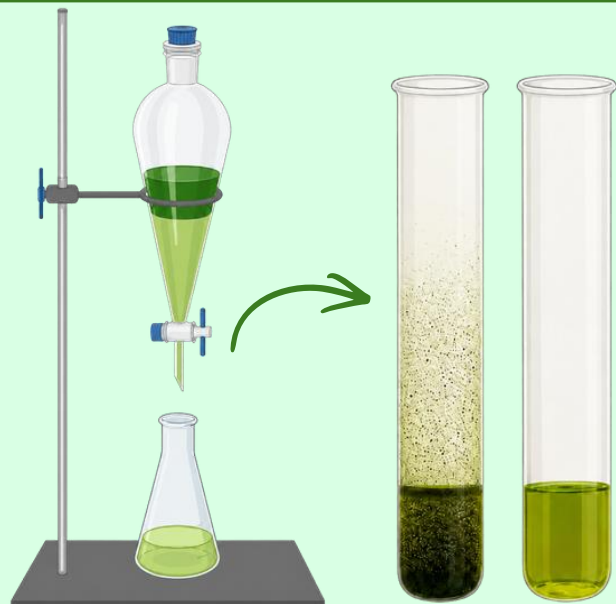
Procesamiento de muestras

Concentración



40 °C
Flujo constante de
N₂ a 2 psi
≈90 min o hasta
sequedad

Desengrasado



Resuspendido en
MeOH acuoso al
70%
Heptano 1:1 (v/v)
Agitación a 130 rpm
por 5 min
Recuperación de
fase acuosa

Hidrólisis

1 Alcalinización

Con NaOH 1M
hasta llegar a
pH 10-11



2 Incubación

A 40°C por
1 hora



3 Neutralización

Con HCl 1M
hasta llegar a
pH 6,5-7,5



(Tzima et al., 2020;
Kisielius et al., 2020;
Wu et al., 2021).
Elaboración propia con
BioRender.com.

Metodología

Métodos analíticos y estadísticos

Cromatografía de capa fina

Fase estacionaria:

Sílice gel 60 de 20×20

Fase móvil:

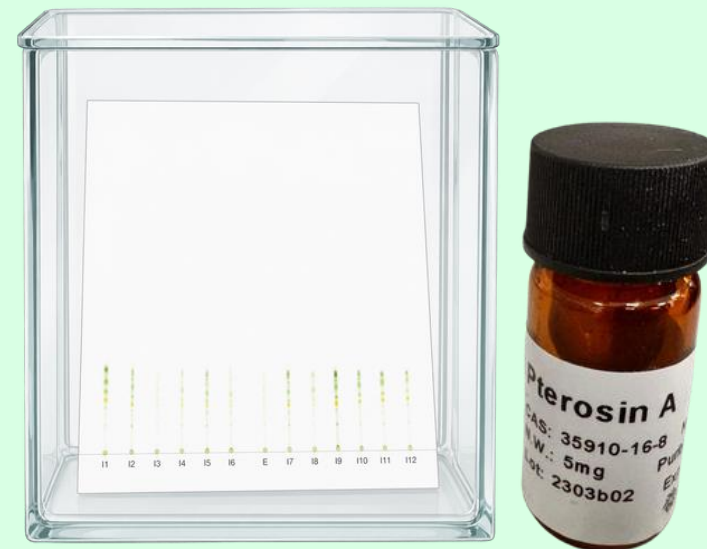
Diclorometano:Metanol; 9:1 (v/v)

Estándar:

Pterosina A

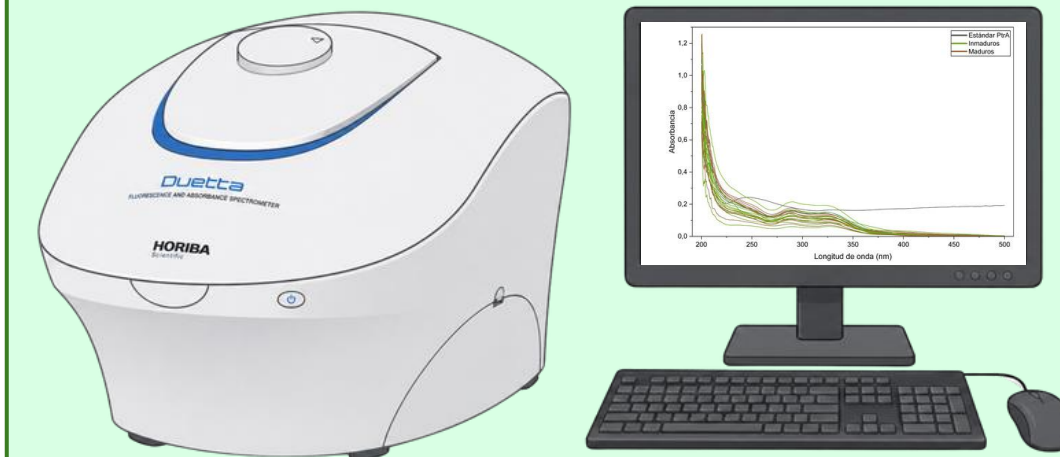
Revelador:

p-anisaldehído con H₂SO₄



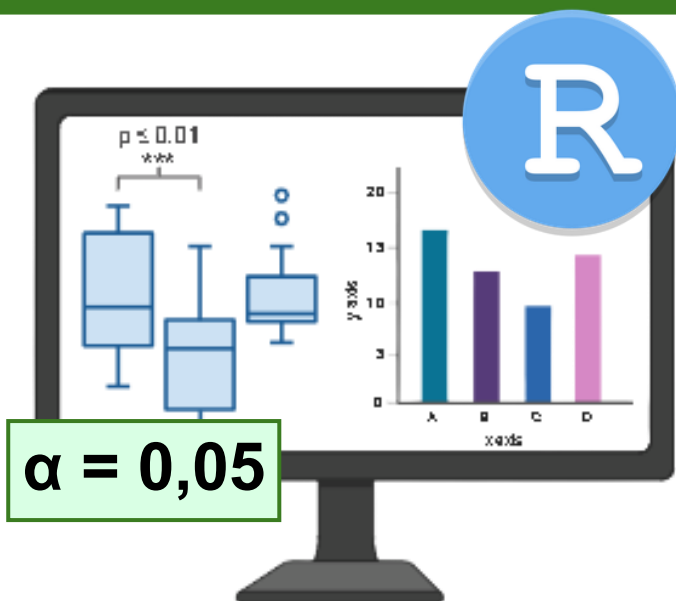
Espectrofotometría

24 extractos + estándar de PtrA
DUETTA Horiba, modo absorbancia
Intervalo: 200–500 nm



- Suavizado Savitzky-Golay
- Segunda derivada

Estadística



1

Estadística descriptiva

- Media, mediana, desviación estándar, rango intercuartílico, mínimo y máximo.

2

Riqueza cromatográfica

- # de bandas por muestra
- Wilcoxon exacta pareada
- Inmaduros vs. maduros

3

Banda cromatográfica de interés

- Presencia = 1 vs ausencia = 0
- McNemar exacta: comparación entre estados
- Fisher exacta: asociación con finca y zona

4

HEB y correlación

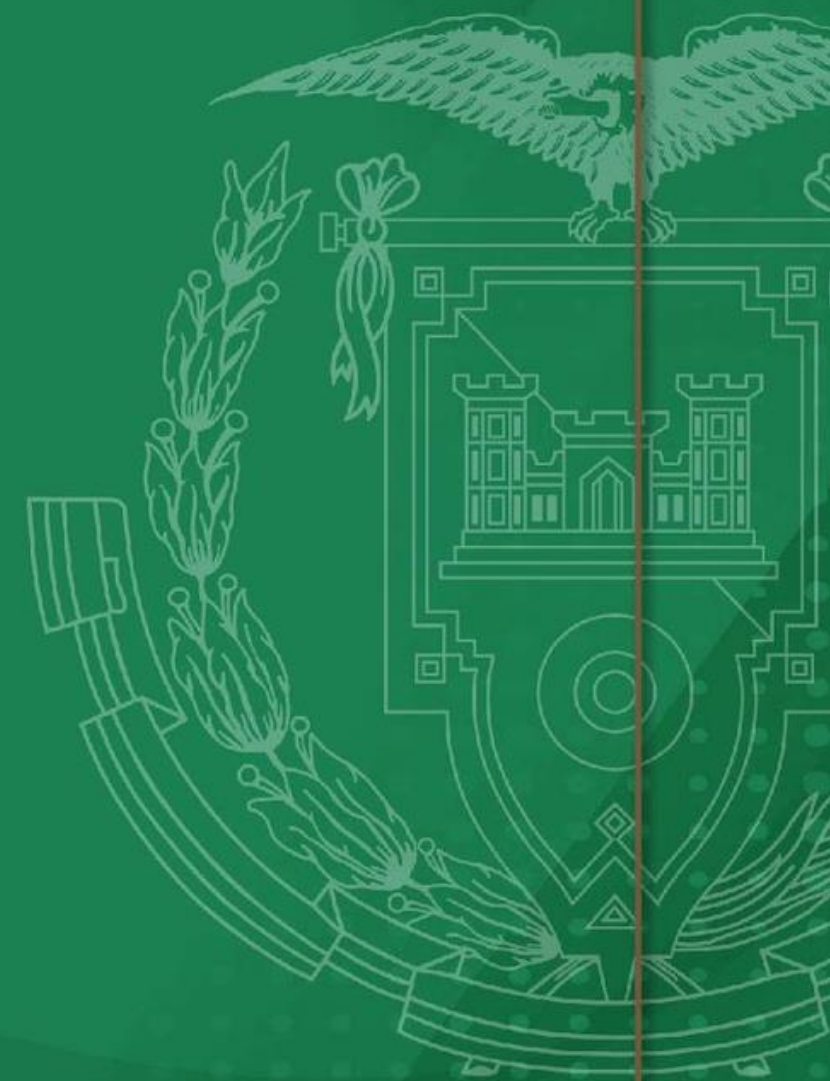
- Prevalencia clínica por finca
- IC del 95 % de Wilson
- Spearman exacta por permutaciones



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

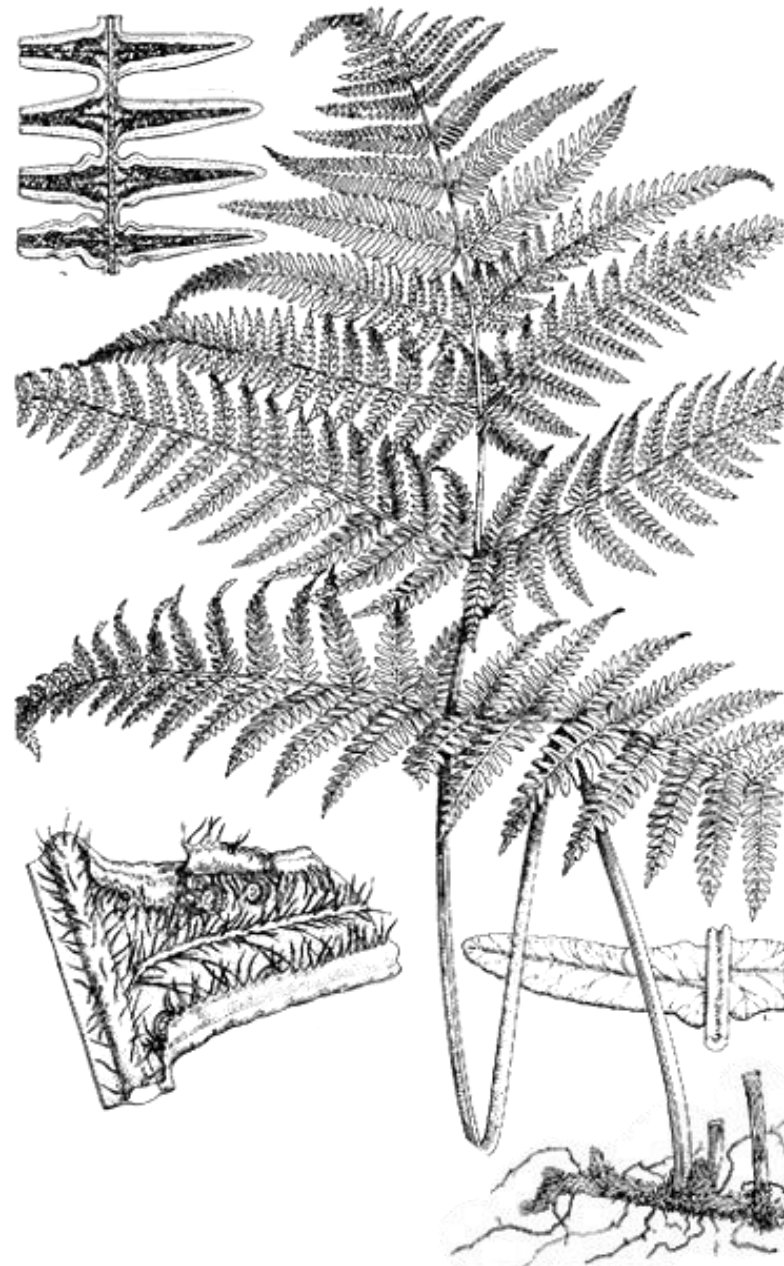


Caracterización botánica

Observación macroscópica

Referencia

Castroviejo et al. (1986)



(Castroviejo et al., 1986; Marrs y Watt, 2006; Thomson, 2014). Fotografías propias.

Inmaduros

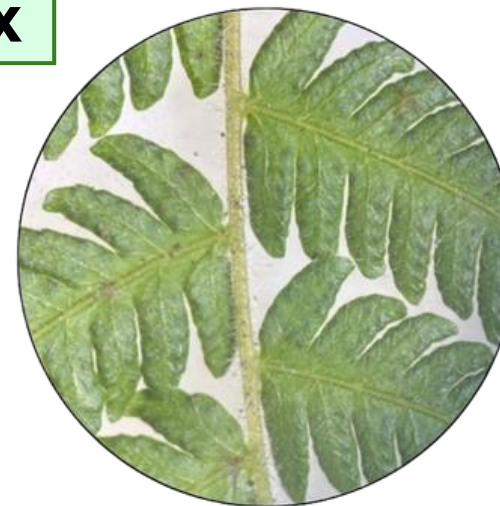
Envés



Haz

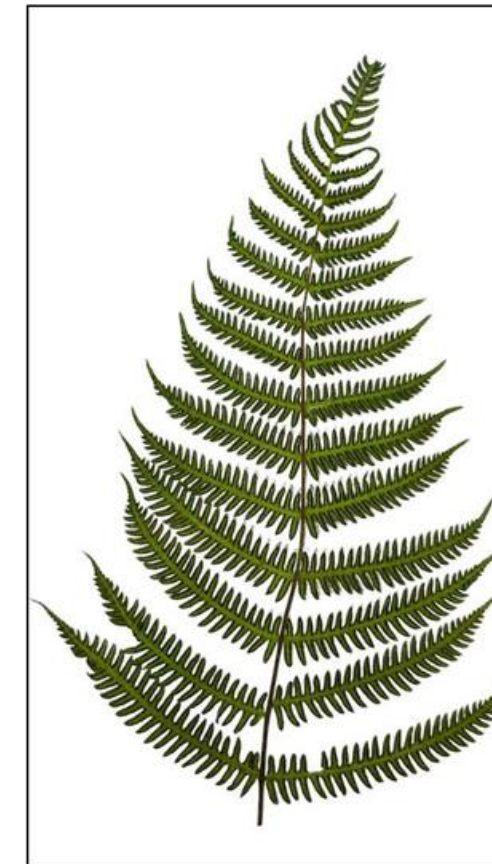


2x

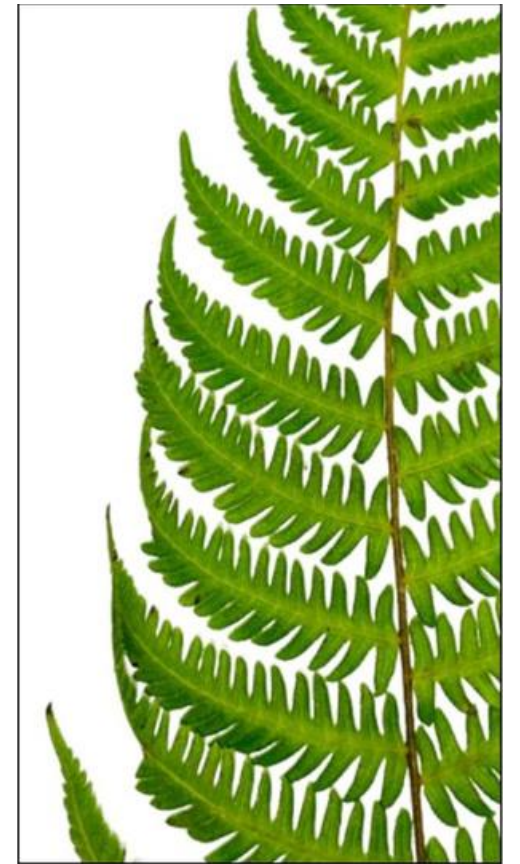


Maduros

Envés



Haz



2x



Caracterización botánica

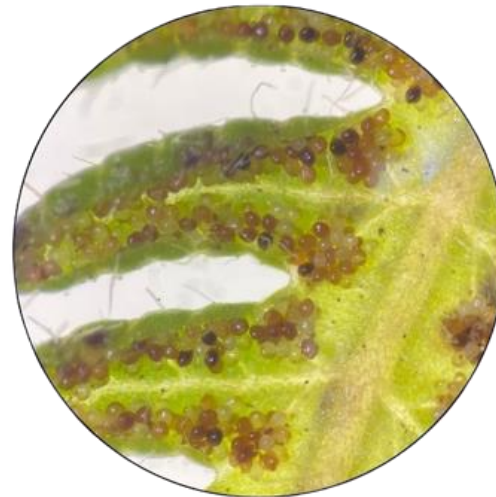
Observación de estructuras reproductivas

Macroscópico

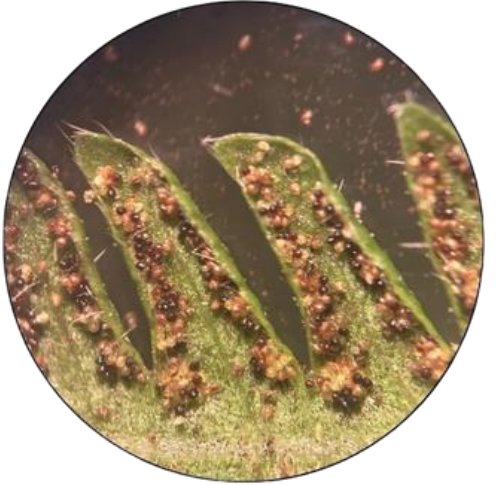
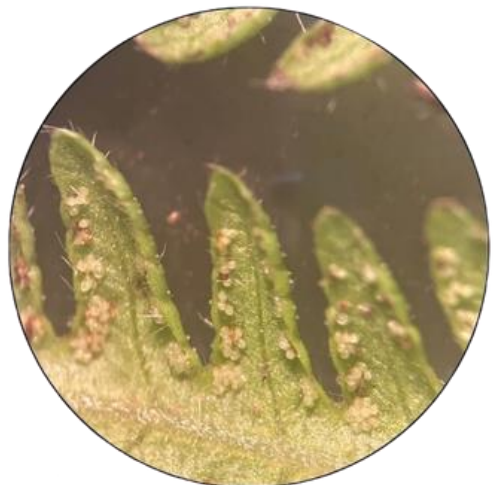
Inmaduros

Maduros

Luz transmitida, 4x

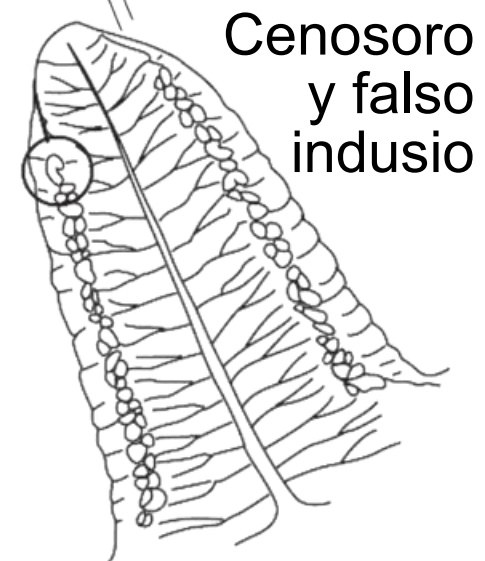


Luz incidente, 4x



Referencia

Marrs & Watt
(2006)
Pinna

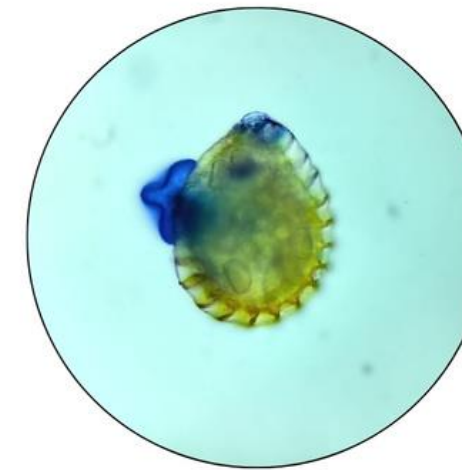


Cenosoro
y falso
indusio

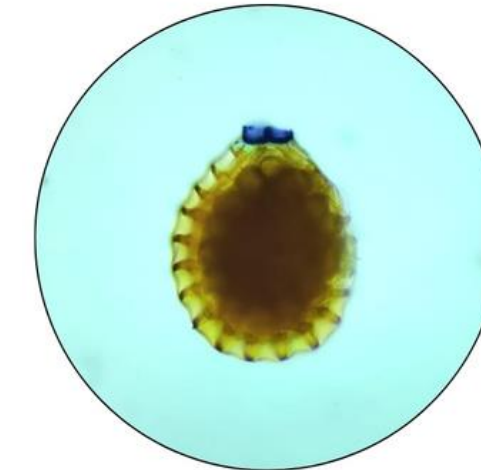
(Marrs y Watt, 2006; Rincón-Barón et al., 2020; Yañez, 2016). Fotografías propias.

Microscópico

**Esporangio
inmaduro**



**Esporangio
maduro**

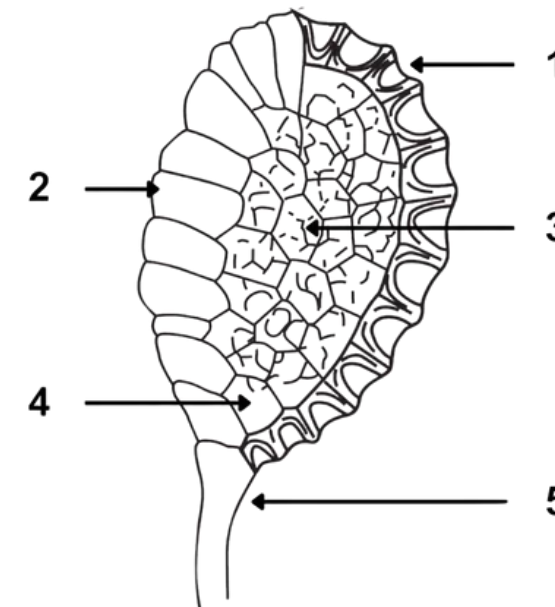


Esporas

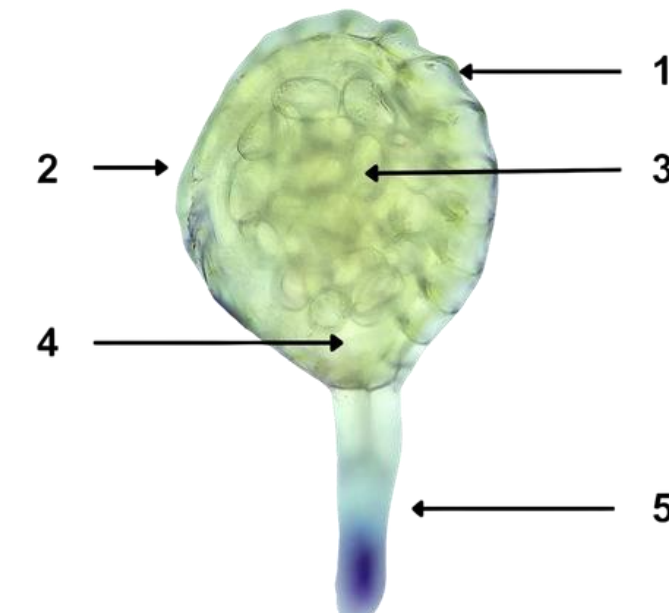


Referencia

Marrs & Watt (2006)



Observación



1. Anillo mecánico
2. Estomio
3. Esporas
4. Pared del esporangio
5. Pedicelo

Procesamiento de muestras

Resultados gravimétricos



Estado	n	Agua perdida (g)	Humedad (%)	Rendimiento de molienda (%)
Inmaduros	12	20,5 ± 6,7	63,4 ± 6,9	41,0 ± 5,6
Maduros	12	20,8 ± 4,9	57,7 ± 4,4	50,0 ± 4,7

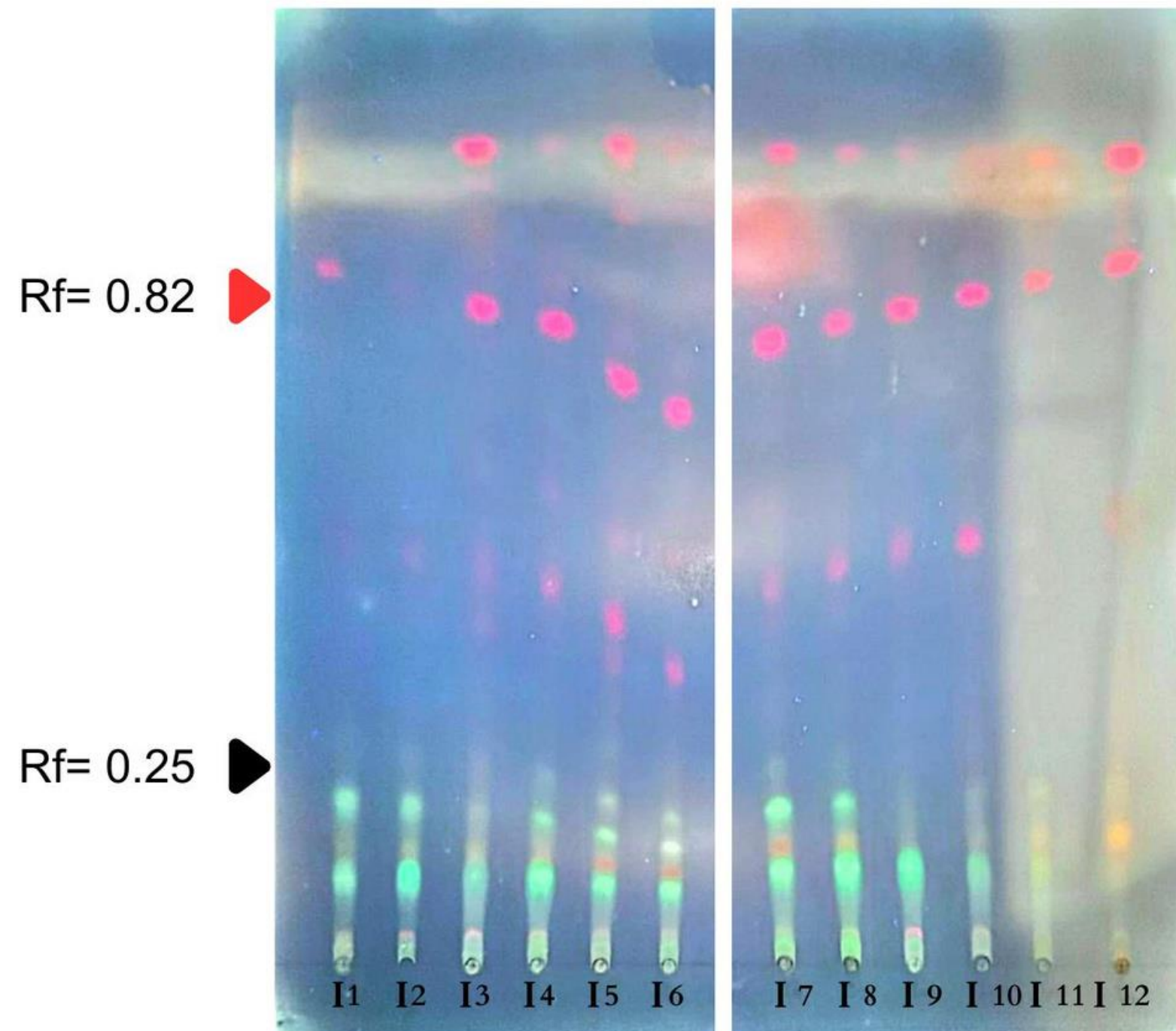
La pérdida de agua fue similar entre estados; los ejemplares inmaduros presentaron mayor humedad y los maduros una mayor recuperación de material después de la molienda.

Valores expresados como media ± desviación estándar.

Evaluación fitoquímica

Cromatografía de capa fina

Inmaduros



Muestras analizadas

12

Riqueza cromatográfica

$10,25 \pm 1,76$
bandas

Banda de interés

$R_f \approx 0,25$

Presente en 8/12 muestras (66,7 %)

Estándar de pterosina A

$R_f \approx 0,82$

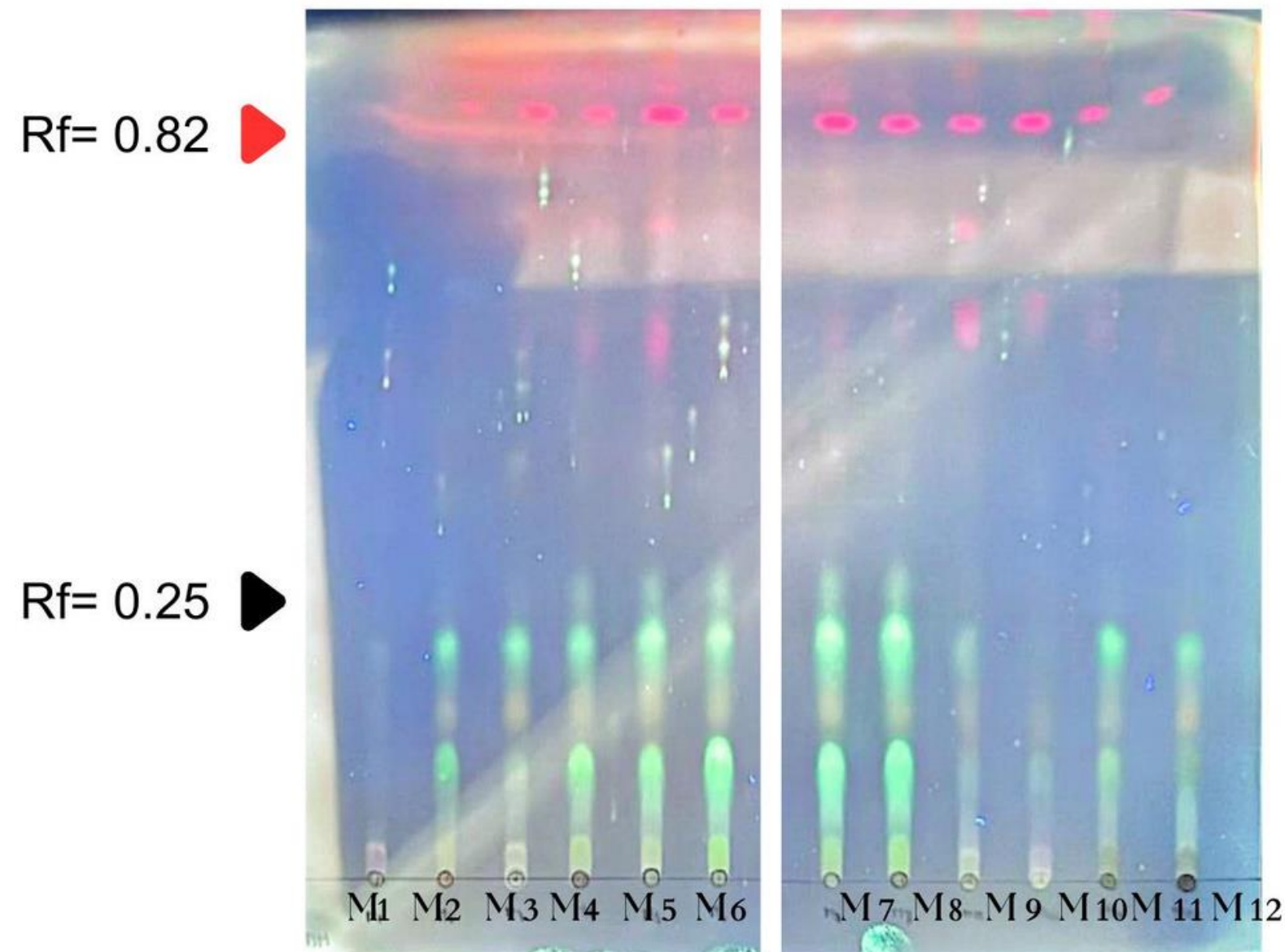
Sin bandas cromatográficas compatibles

Los ejemplares inmaduros presentaron perfiles cromatográficos ricos y una detección frecuente de la banda de interés, sin señales compatibles con el estándar de pterosina A.

Evaluación fitoquímica

Cromatografía de capa fina

Maduros



Muestras analizadas

12

Riqueza cromatográfica

$7,67 \pm 1,92$
bandas

Banda de interés

$R_f \approx 0,25$

Presente en 7/12 muestras (58,3 %)

Estándar de pterosina A

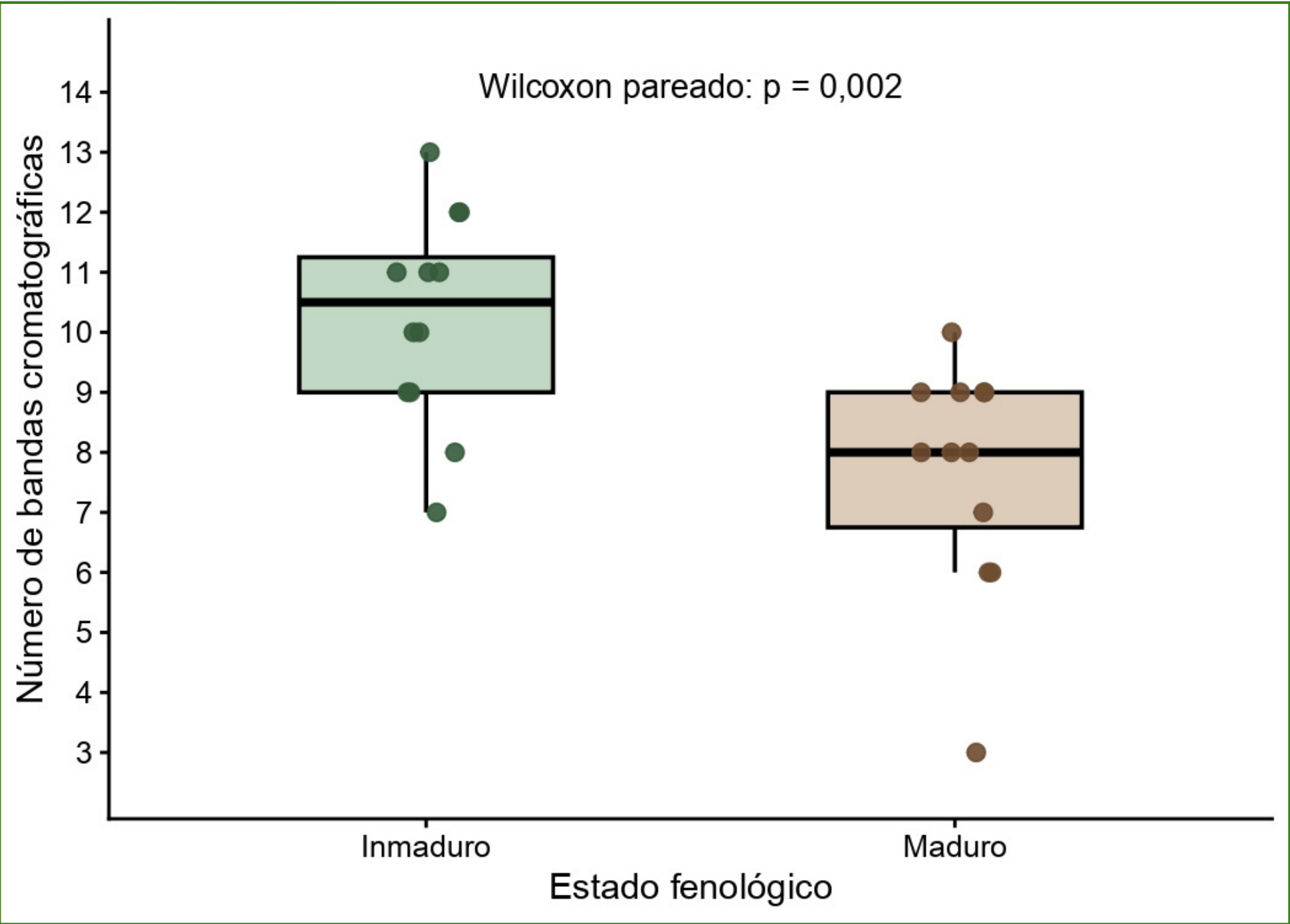
$R_f \approx 0,82$

Sin bandas cromatográficas compatibles

Los ejemplares maduros mostraron perfiles cromatográficos variables y una detección recurrente de la banda de interés, sin señales compatibles con el estándar de pterosina A.

Evaluación fitoquímica

Comparación entre estados fenológicos



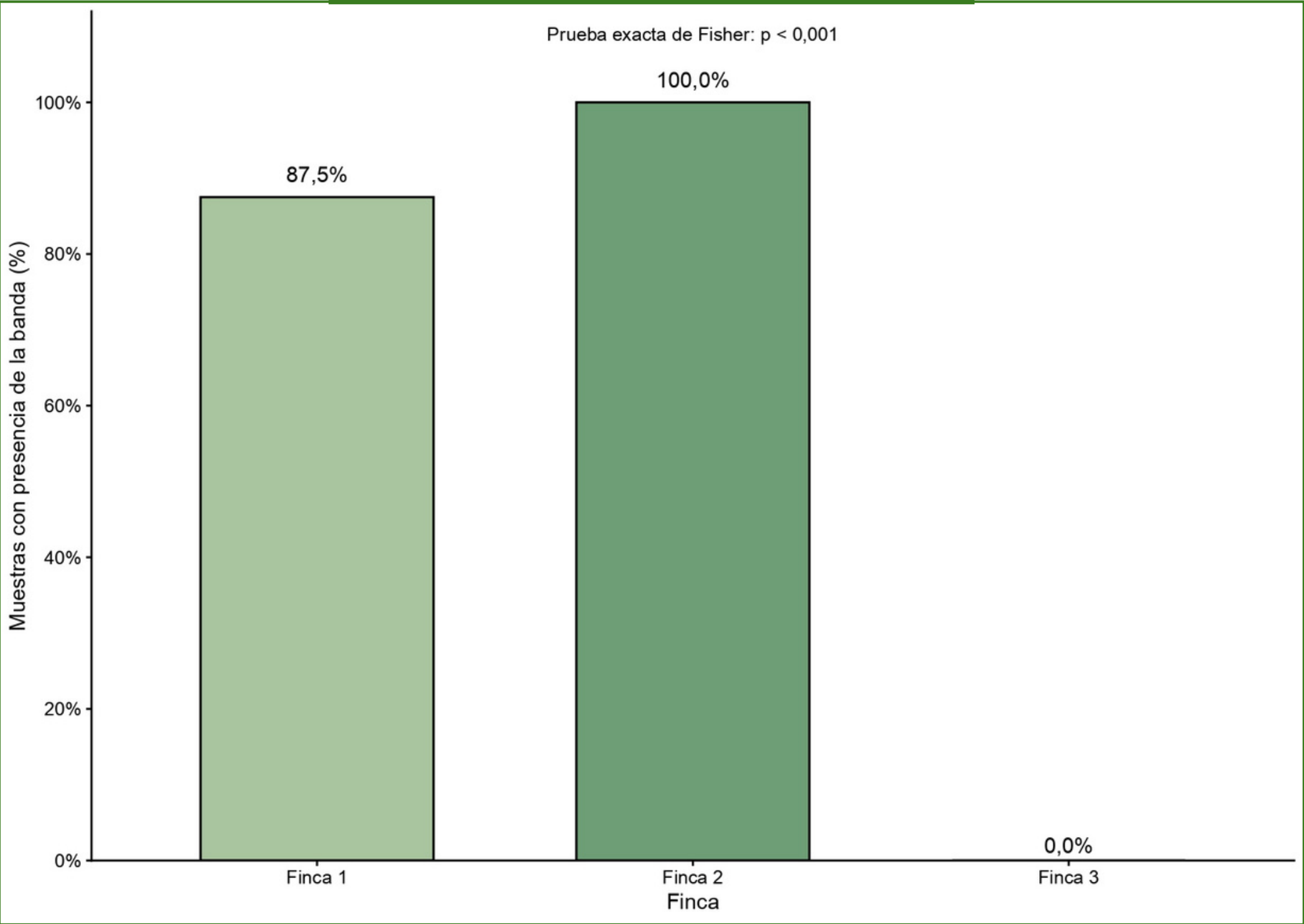
Estado fenológico	n	Media ± DE	Mediana	Mín.-máx.
Inmaduros	12	10,25 ± 1,76	10,5	7-13
Maduros	12	7,67 ± 1,92	8	3-10

Los ejemplares inmaduros presentaron una riqueza cromatográfica significativamente mayor que los maduros ($p = 0,002$), lo que evidencia perfiles con un mayor número de señales detectadas

Evaluación fitoquímica

Comparación respecto a la banda de interés

Detección según finca



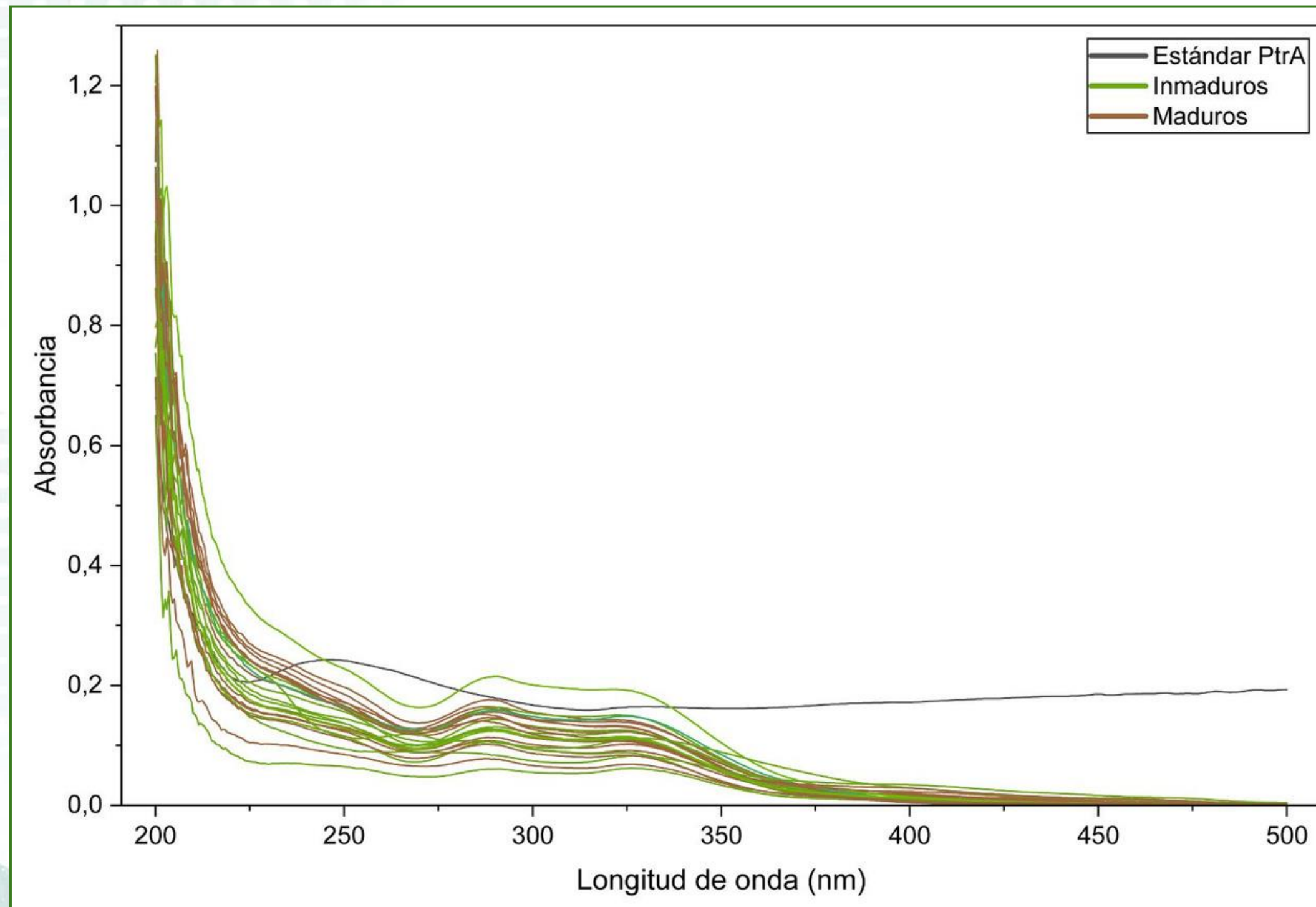
Detección según estado fenológico

Estado fenológico	Detectada, n (%)	No detectada, n (%)
Inmaduros	8 (66,7 %)	4 (33,3 %)
Maduros	7 (58,3 %)	5 (41,7 %)

- La frecuencia de detección de la banda de interés varió significativamente entre fincas (Fisher exacta, $p < 0,001$)
- Entre estados fenológicos, la frecuencia fue similar, sin diferencias estadísticamente significativas (McNemar exacta, $p = 1,000$)

Evaluación fitoquímica

Espectros UV-Vis de los extractos y el estándar



Negro

Estándar de PtrA

Verde

12 extractos inmaduros

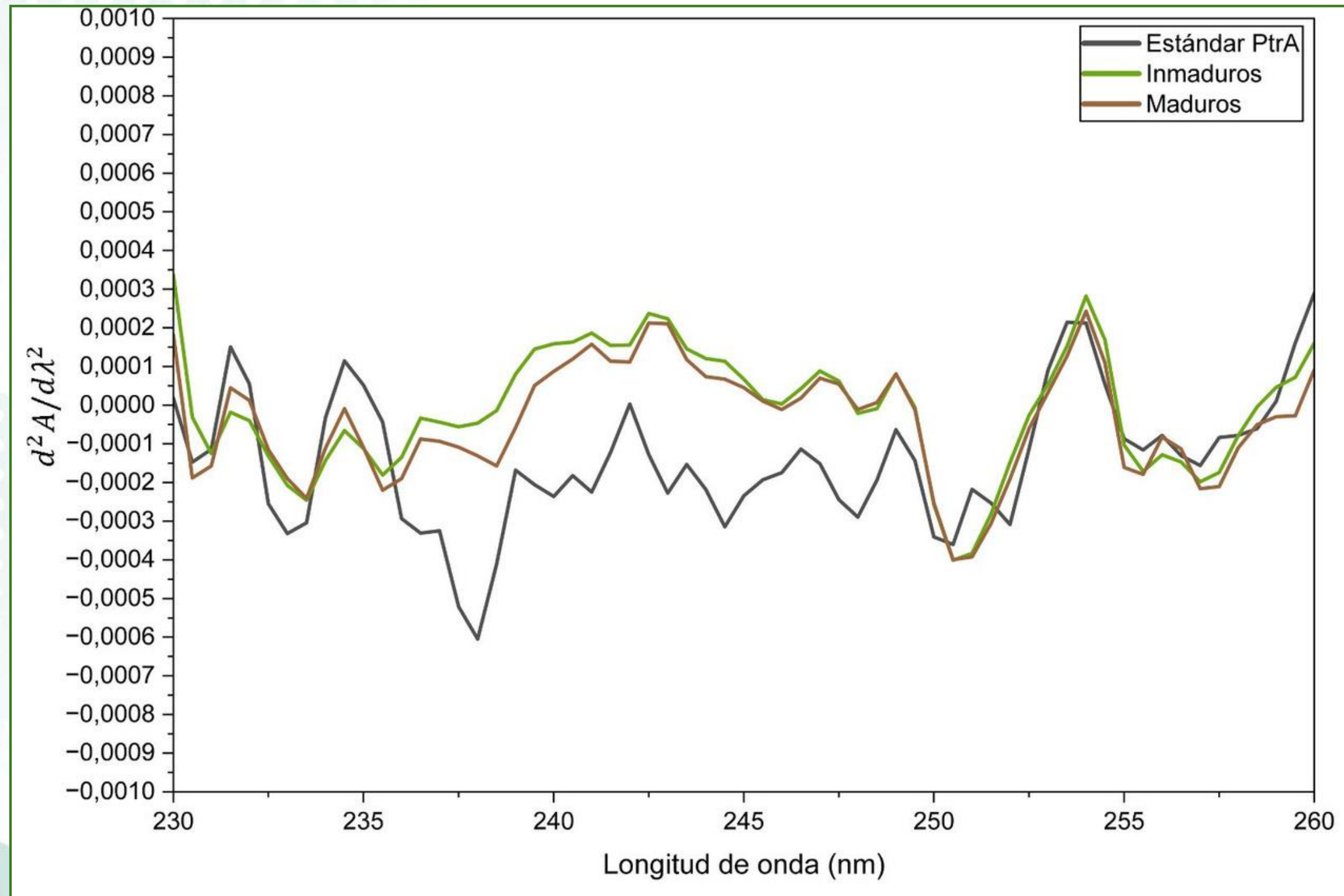
Marrón

12 extractos maduros

Los extractos presentaron una respuesta UV general comparable entre estados fenológicos, pero diferente al perfil del estándar de pterosina A.

Evaluación fitoquímica

Segunda derivada de los espectros UV



Negro

Estándar de PtrA

Verde

12 extractos inmaduros

Marrón

12 extractos maduros

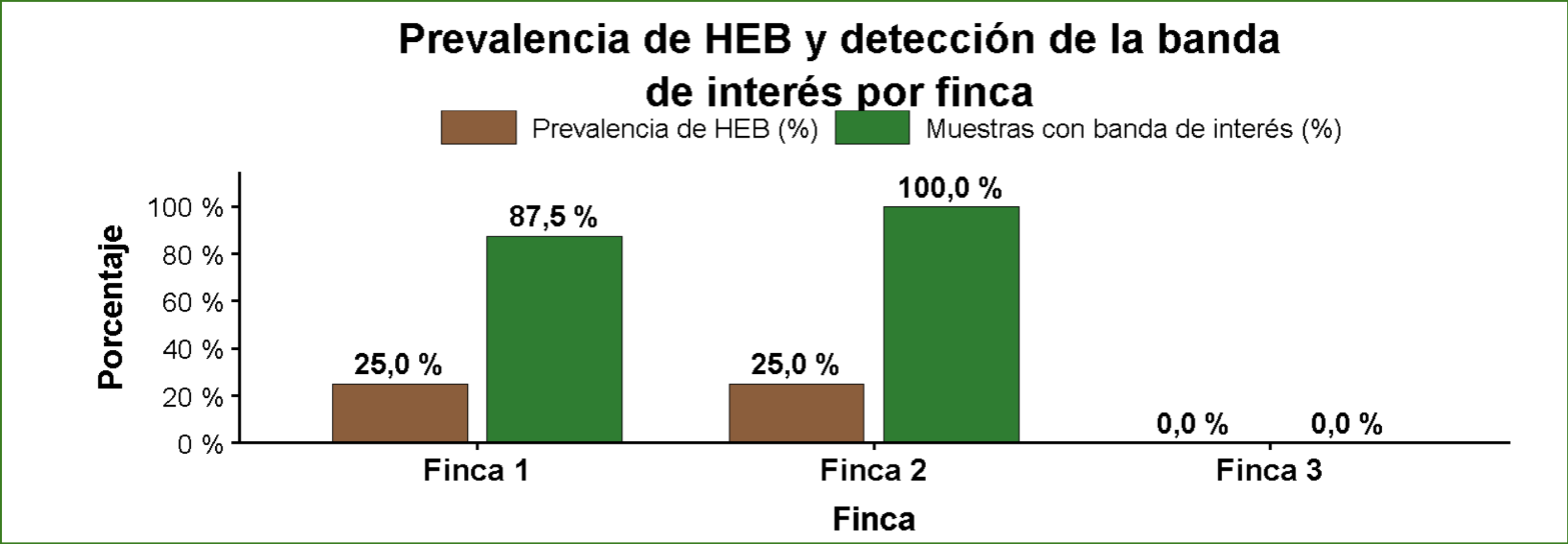
Los extractos de ambos estados fenológicos presentaron perfiles similares, pero no mostraron una señal clara que permitiera confirmar la presencia de pterosina A.

Correlación con la HEB

Prevalencia clínica y banda de interés

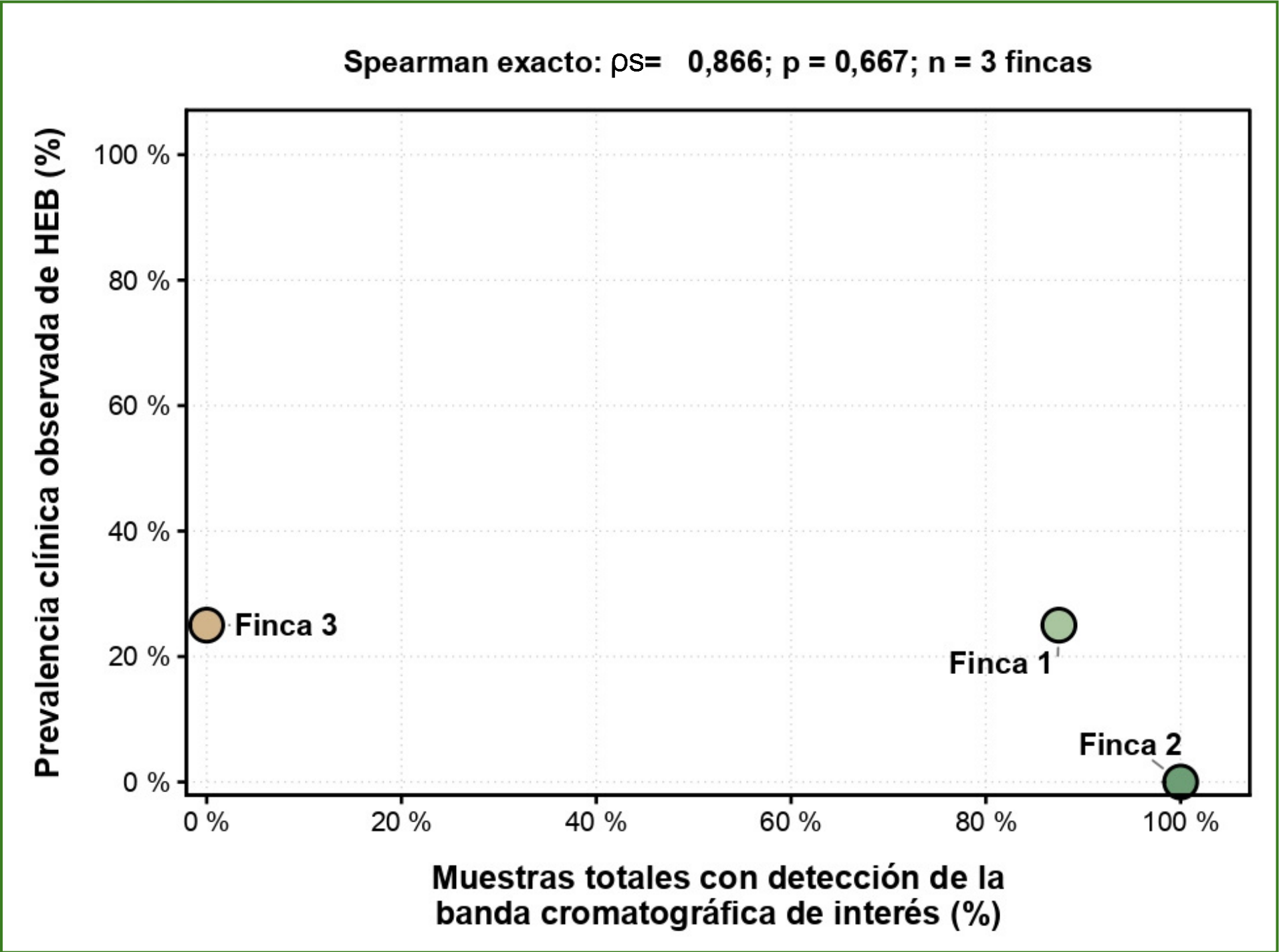
Se observó una tendencia positiva entre la prevalencia de HEB y la frecuencia de detección de la banda de interés; sin embargo, la asociación no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$)

Finca	Bovinos con HEB	Inmaduros con banda	Maduros con banda	Total con banda
Finca 1	2/8	4/4	3/4	7/8
Finca 2	2/8	4/4	4/4	8/8
Finca 3	0/5	0/4	0/4	0/8



Correlación con la HEB

Correlación de Spearman



Categoría	ρ_s	p exacto	Interpretación
Inmaduros	1	0,333	Positiva; no significativa
Maduros	0,866	0,667	Positiva; no significativa
Total	0,866	0,667	Positiva; no significativa

Se observó una tendencia positiva entre la prevalencia de HEB y la frecuencia de detección de la banda de interés; sin embargo, la asociación no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$)

(Ortega et al., 2009; O'Connor et al., 2019; Rodríguez-Salazar y Chacón-Villalobos, 2023; Rincón Alarcón et al., 2016)



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



Conclusiones

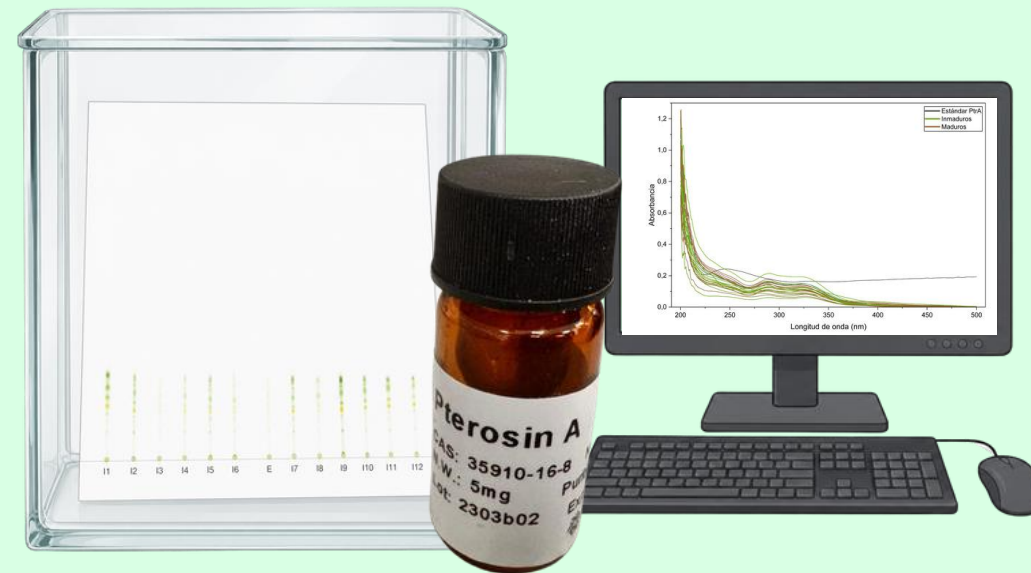
1



Los caracteres botánicos observados confirmaron la identificación de la especie y diferenciaron frondas inmaduras de maduras.

- Lámina deltoide
- Cenosoro marginal
- Falso indusio
- Leptosporangios

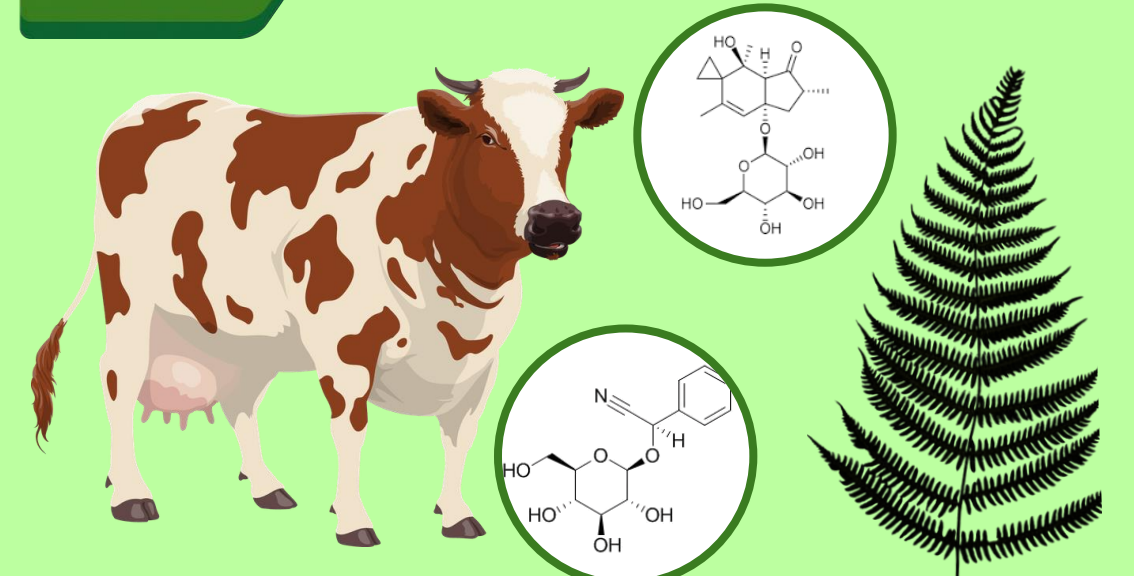
2



No se detectaron señales compatibles con el estándar de pterosina A bajo las condiciones empleadas.

- Banda de interés detectada, $R_f \approx 0,25$.
- Mayor riqueza en inmaduros, frecuencia similar entre estados.

3



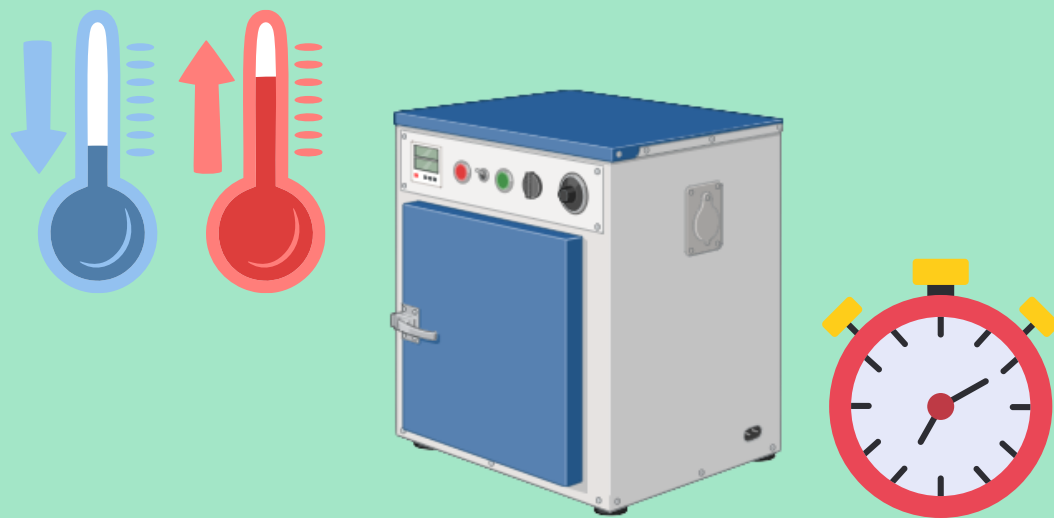
Asociación positiva, pero no significativa ($p > 0,05$, $n = 3$ fincas).

- Mayor frecuencia de banda → mayor prevalencia de HEB por finca.
- $p_s = 0,866-1,000$
- Resultado exploratorio, no confirma causalidad (muestra pequeña).

Recomendaciones

1

Optimizar



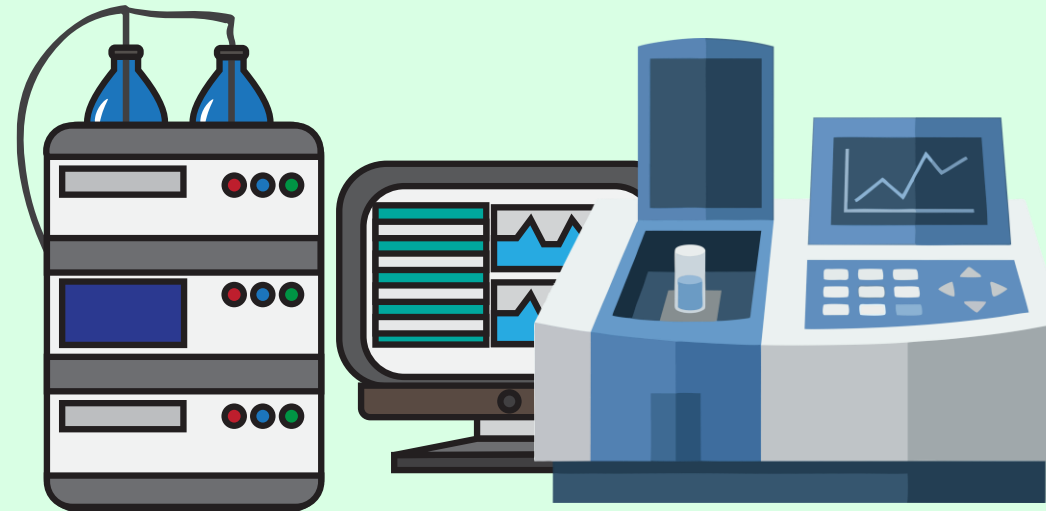
Evaluar tiempos/temperaturas de secado y liofilización.

Ajustar maceración, desengrasado e hidrólisis.

Meta: reducir degradación, mejorar recuperación.

2

Confirmar



Verificar banda $R_f \approx 0,25$ por métodos analíticos específicos.

Confirmar presencia de PtrA con mayor sensibilidad.

Detecta bajas concentraciones con más confiabilidad.

3

Ampliar



Más fincas, puntos de muestreo y réplicas.

Distintas épocas del año y rangos altitudinales.

Mejora precisión estadística y evalúa variabilidad ambiental.

Agradecimientos





ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

GRACIAS

