Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE
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 Peñaherrera.

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo

Elaborado por: Leonardo Efraín Idrovo Muñoz

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

5 de Agosto del 2026



ÍNDICE.

01 | Introducción

02 | Objetivos

03 | Hipótesis

04 | Metodología

05 | Resultados y discusión

06 | Conclusiones y recomendaciones

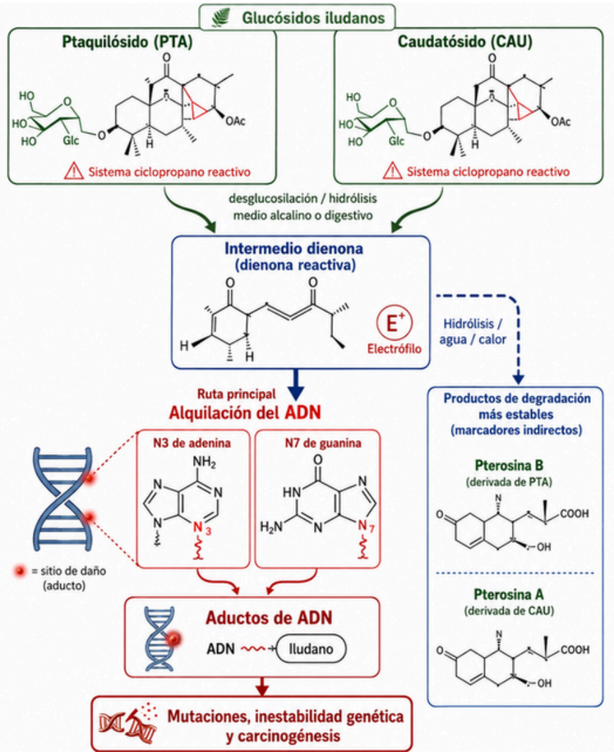
07 | Agradecimientos

1. Introducción

1 Distribución



2 Perfil tóxico



3 Relevancia



En Peñaherrera, el ganado en pastoreo entra en contacto con poblaciones abundantes de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, especialmente en épocas de sequía.

La ingestión crónica del helecho macho, se ha asociado con hematuria enzoótica bovina (HEB), enfermedad que causa sangre en orina, anemia, lesiones vesicales y muerte.



Potrero invadido

Alta presencia del helecho macho



Consumo crónico

Ingestión continua del helecho macho



Daño urinario

Generación de vesículas y tumores a nivel de vejiga



HEB

Enfermedad crónica caracterizada por sangre en orina

ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Estado fenológico



Zona de estudio



¿Cómo se relacionan las toxinas de *Pteridium aquilinum* con la hematuria enzoótica bovina en el ganado lechero de Peñaherrera?

Análisis



Relación sanitaria



2. 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 Peñaherrera.

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 Peñaherrera.

3. Hipótesis

Hipótesis Nula

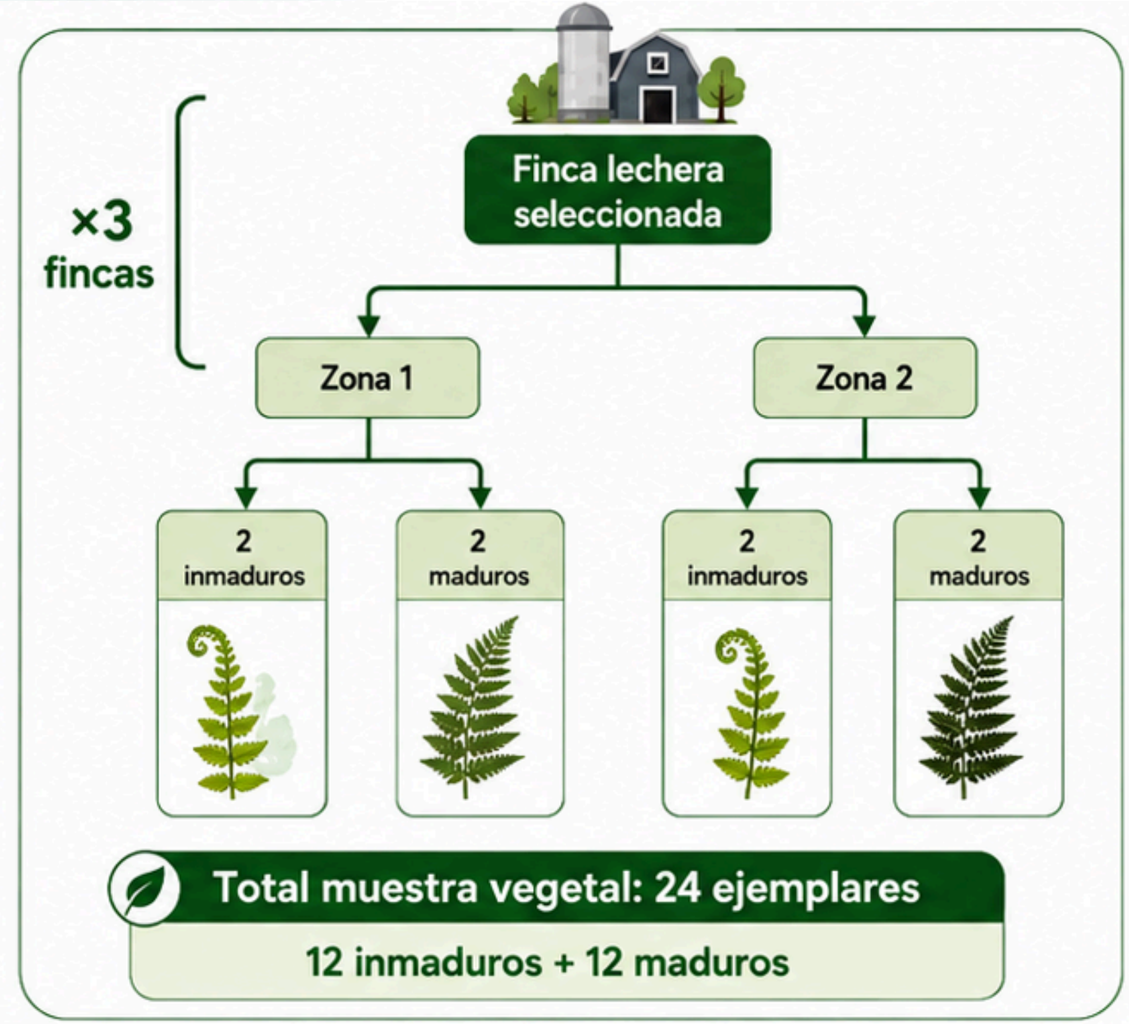
No existe una asociación estadísticamente significativa entre la proporción de muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn con señales cromatográficas compatibles con derivados de glucósidos iludanos y la prevalencia de hematuria enzoótica bovina en el ganado lechero de las fincas evaluadas en Peñaherrera.

Hipótesis Alternativa

Existe una asociación estadísticamente significativa entre la proporción de muestras de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn con señales cromatográficas compatibles con derivados de glucósidos iludanos y la prevalencia de hematuria enzoótica bovina en el ganado lechero de las fincas evaluadas en Peñaherrera.

4. Metodología.

Población de estudio





SE REALIZARON ENCUESTAS DIRECTAS A LOS DUEÑOS DE FINCAS

(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

4. Metodología.
Muestreo *in situ*

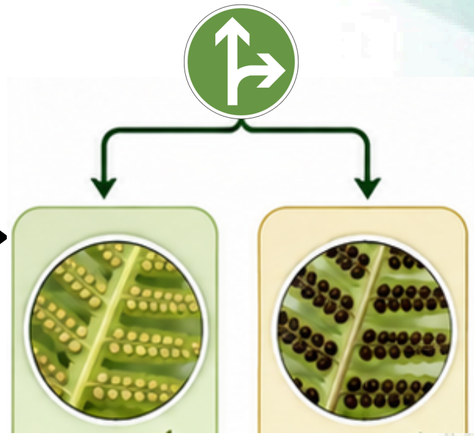
1



División de puntos y zonas en fincas escogidas.



Observación a detalle para definición de estado fenológico.



Identificación y separación por estado fenológico.

2



Recolección de frondas.



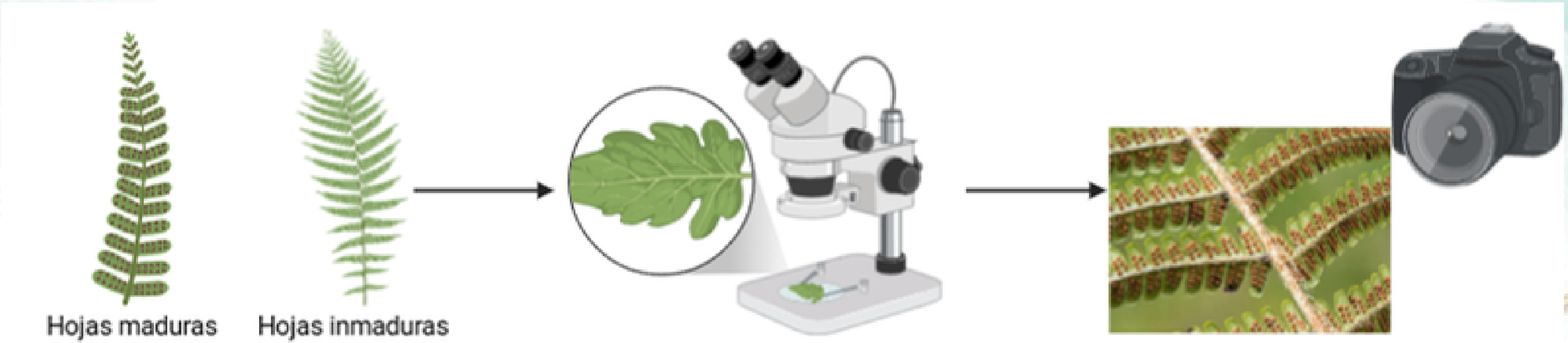
Almacenamiento de frondas en papel aluminio.



(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

Caracterización botánica

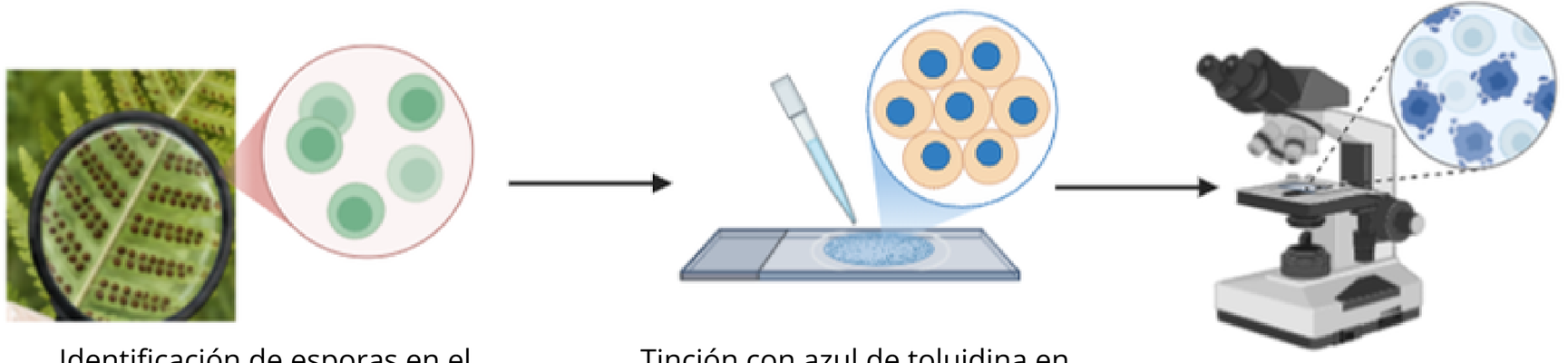
1



Observación mediante esteroscopio de muestras obtenidas.

Toma de fotografías a detalle y de distintas zonas.

2



Identificación de esporas en el envés de la fronda.

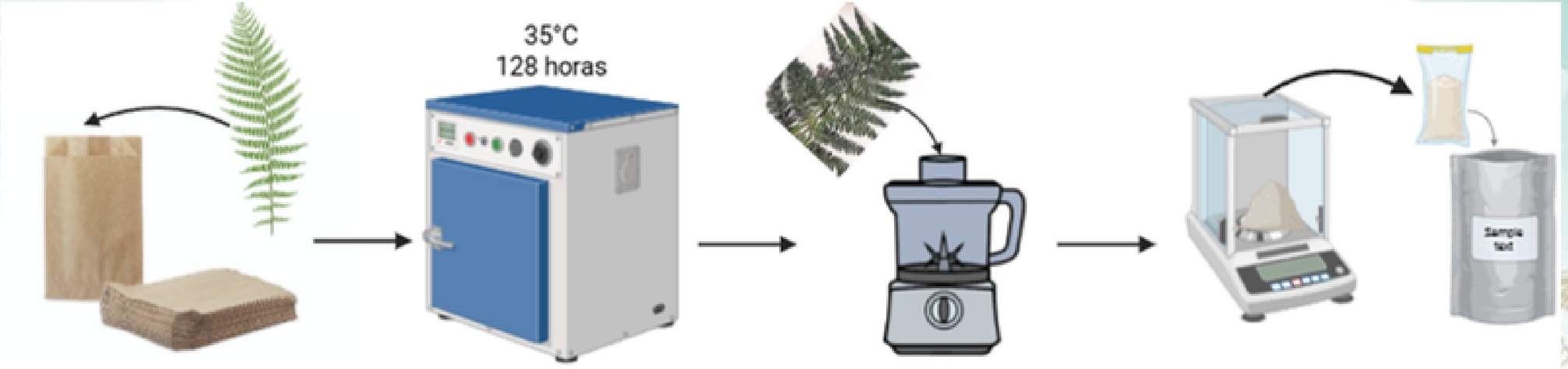
Tinción con azul de toluidina en portaobjetos.

Observación a microscópio (40x)

(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

Secado y macerado de muestras

1



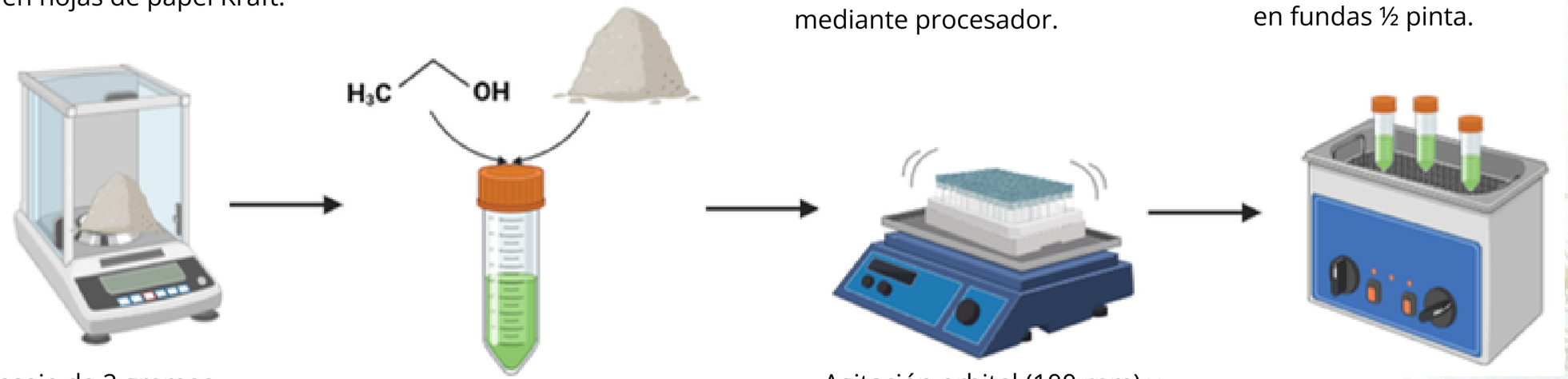
Las frondas fueron almacenadas en hojas de papel Kraft.

Secado mediante estufa.

Trituración de muestras, mediante procesador.

Pesaje de triturado y almacenado en fundas ½ pinta.

2



Pesaje de 2 gramos de triturado

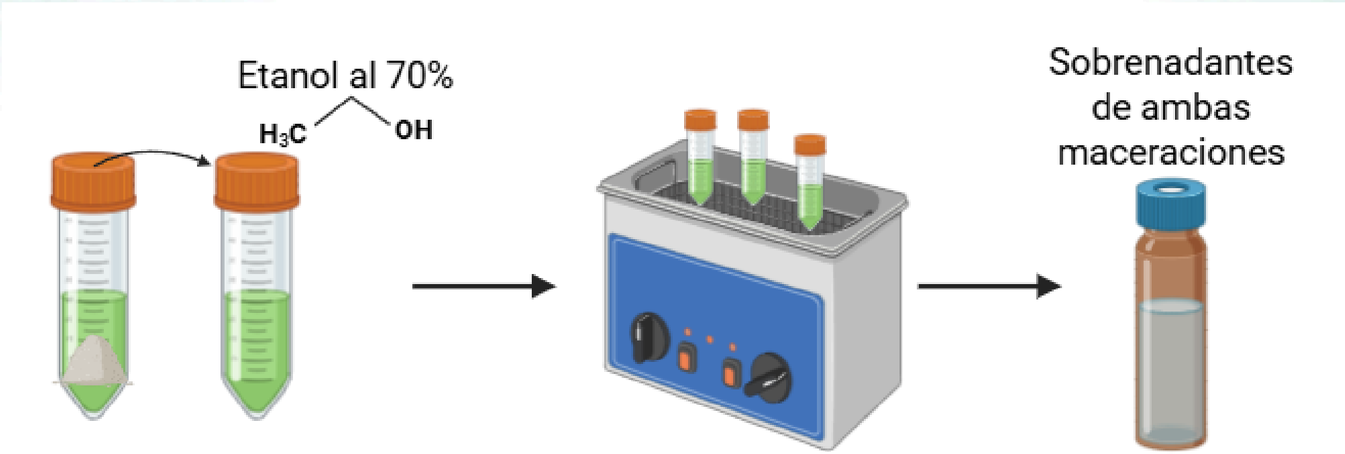
Se colocaron 20 mL de etanol absoluto, relación 1:10.

Agitación orbital (100 rpm) y macerado continuo durante 48 horas.

Baño ultrasonicador durante 30 minutos.

(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

3

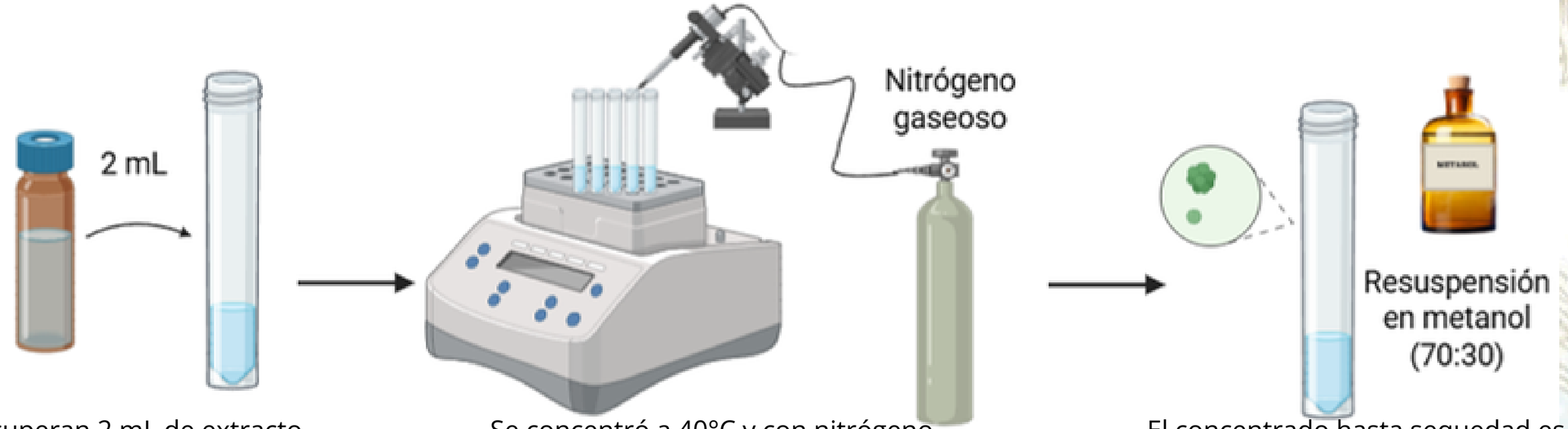


Se recuperó el sobrenadante y se añadió 20 mL de etanol al 70%.

Se volvió a ultrasonicar durante 30 minutos.

Extracción a partir del macerado

1



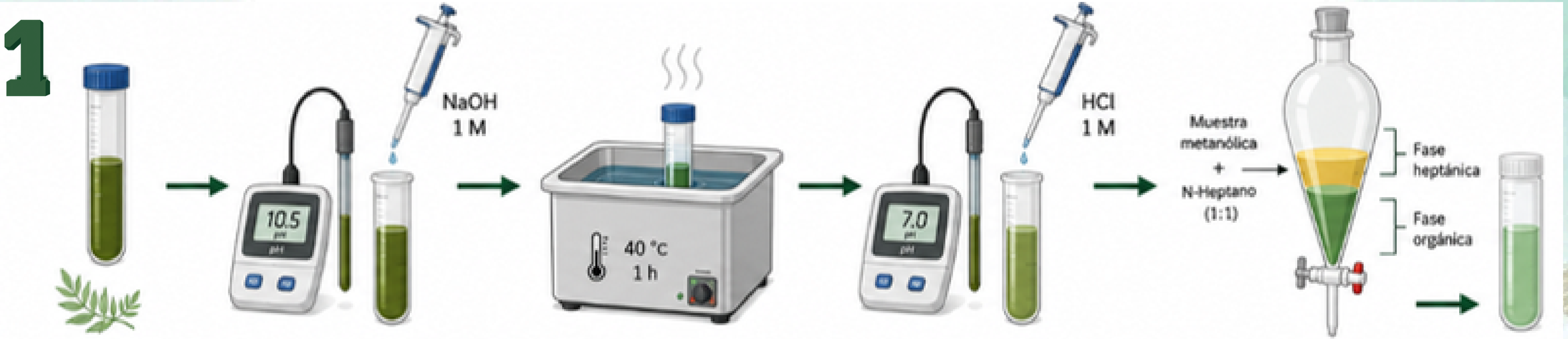
Se recuperan 2 mL de extracto en un tubo de ensayo.

Se concentró a 40°C y con nitrógeno gaseoso continuo durante 90 minutos.

El concentrado hasta sequedad es resuspendido en metanol (70:30)

(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

Cromatografía de capa fina.

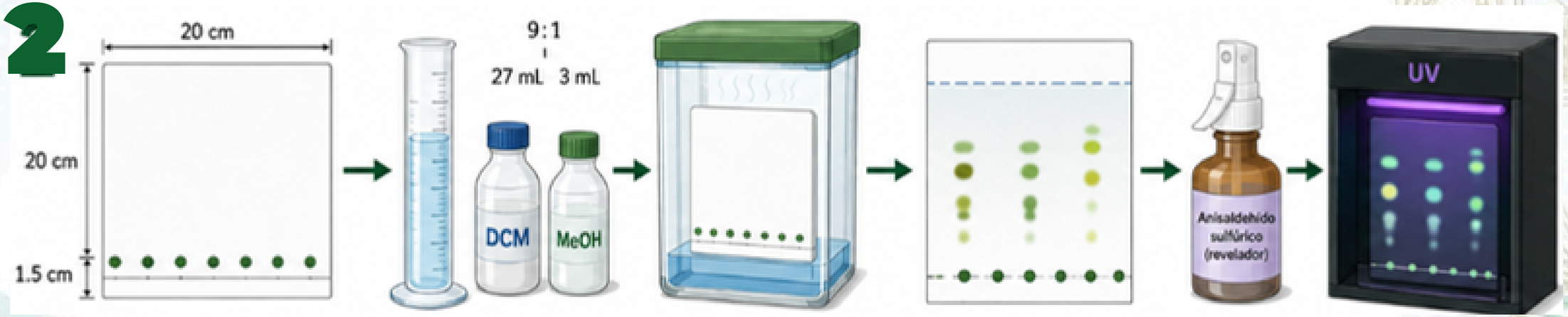


El extracto metanolico fue llevado a pH básico.

Baño maría a 40°C durante 1 hora.

Se neutralizó el pH en rango 6.5-7.0

Se realizó la extracción de clorofila.



Preparación de la placa de sílica TLC.

La fase móvil se preparó en proporción 9:1 y se saturó la cámara cromatográfica.

Se dejó correr durante 1 hora y 15 minutos.

Mediante revelador químico, se observó bajo UV.

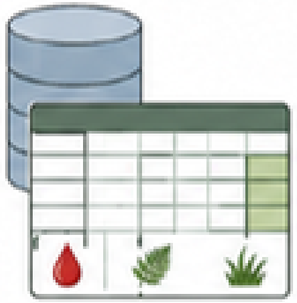
(Realizado por Idrovo, L., en BioRender 2026)

Correlación epidemiológica.

1



Encuestas
a dueños o encargados de las fincas



Base de datos
- Estado HEB
- Abundancia de helecho
- Manejo y pastoreo



Depuración
Selección de variables relevantes

Prevalencia



$$\text{Prevalencia por finca} = \frac{\text{vacas positivas HEB}}{\text{total vacas examinadas}} \times 100$$

$$\text{Prevalencia global} = \frac{\text{total positivas}}{\text{total examinadas}} \times 100$$

IC Wilson



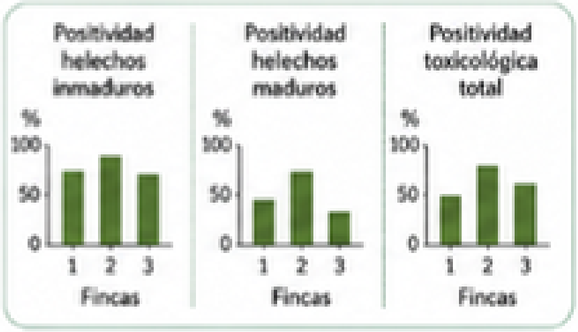
IC 95% Wilson

$$\frac{\hat{p} + \frac{z^2}{2n} \pm z\sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n} + \frac{z^2}{4n^2}}}{1 + \frac{z^2}{n}}$$

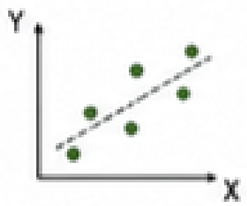
$\hat{p}$ = prevalencia; n = total examinadas; z = 1.96 (95%)

2

Variables (vs. prevalencia HEB)

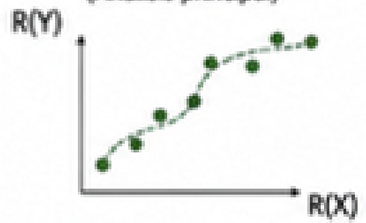


Pearson
(descriptivo)



$$r = \frac{\text{cov}(X, Y)}{\sigma_x \sigma_y}$$

Spearman
(Análisis principal)



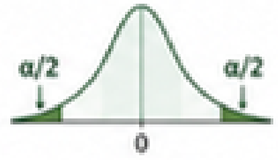
$$\rho_s = 1 - \frac{6\sum d_i^2}{n(n^2-1)}$$

Permutación
Prueba exacta de permutación



$3! = 6$

Significancia



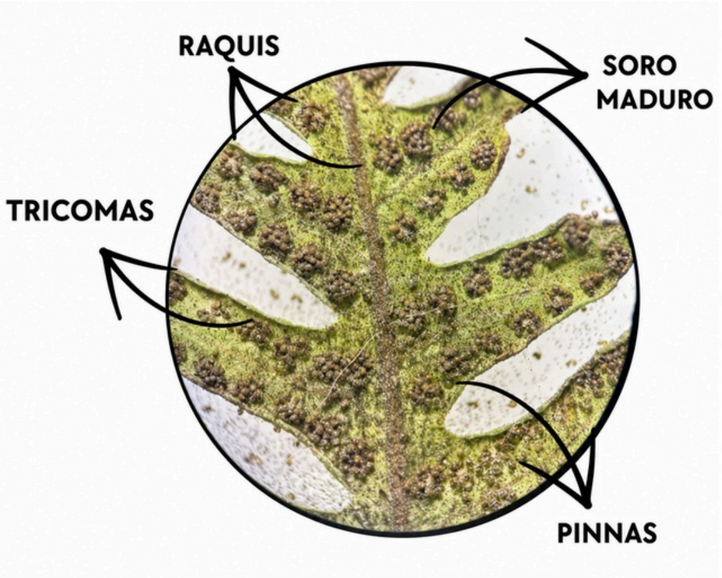
Bilaterales
$\alpha = 0.05$
$p < 0.05$

(Realizado por Idrovo, L., en Miro 2026)

5. Resultados y discusión.

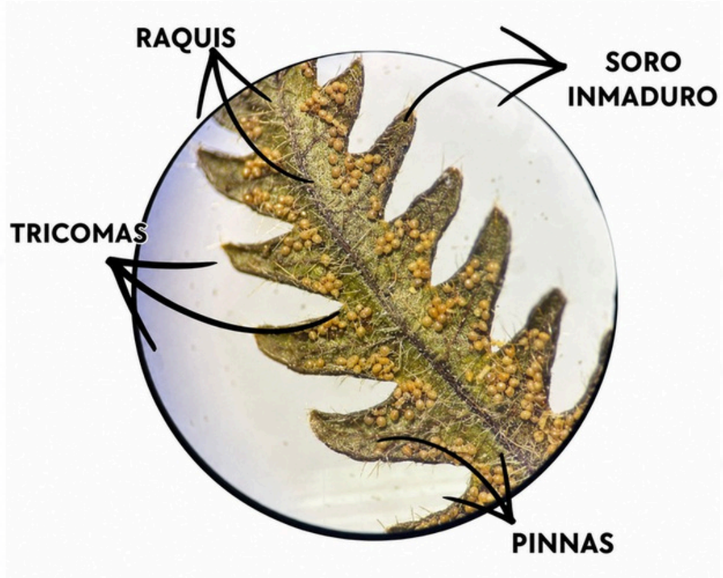
Caracterización botánica mediante esteroscopio.

Fronda madura



- Raquis bien definida
- Pinnas desarrolladas
- Soros oscuros en cara abaxial
- Tricomas dispersos

Fronda inmadura



- Raquis y tricomas constantes
- Soros amarillentos iniciales
- Patrón morfológico similar
- Superficie menos definida

Discusión

1. La disposición de los soros, el raquis prominente y las pinnas alternas coinciden con las características morfológicas descritas para *Pteridium aquilinum* en un estadio reproductivo avanzado (Malík et al., 2024).
2. La coloración amarillenta de los soros y la menor definición de la superficie sugieren un estado fenológico temprano o intermedio, en concordancia con descripciones previas (Rincón et al., 2016; Malík et al., 2024).

- Malík et al. (2024). Plants, 13(1), 18. https://doi.org/10.3390/plants13010018
- Rincón et al. (2016). Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 11(1), 72–77. https://scielo.org.co/scielo.php?pid=S1900-96072016000100007

5. Resultados y discusión.

Soros observados en microscopio (40x)



Discusión

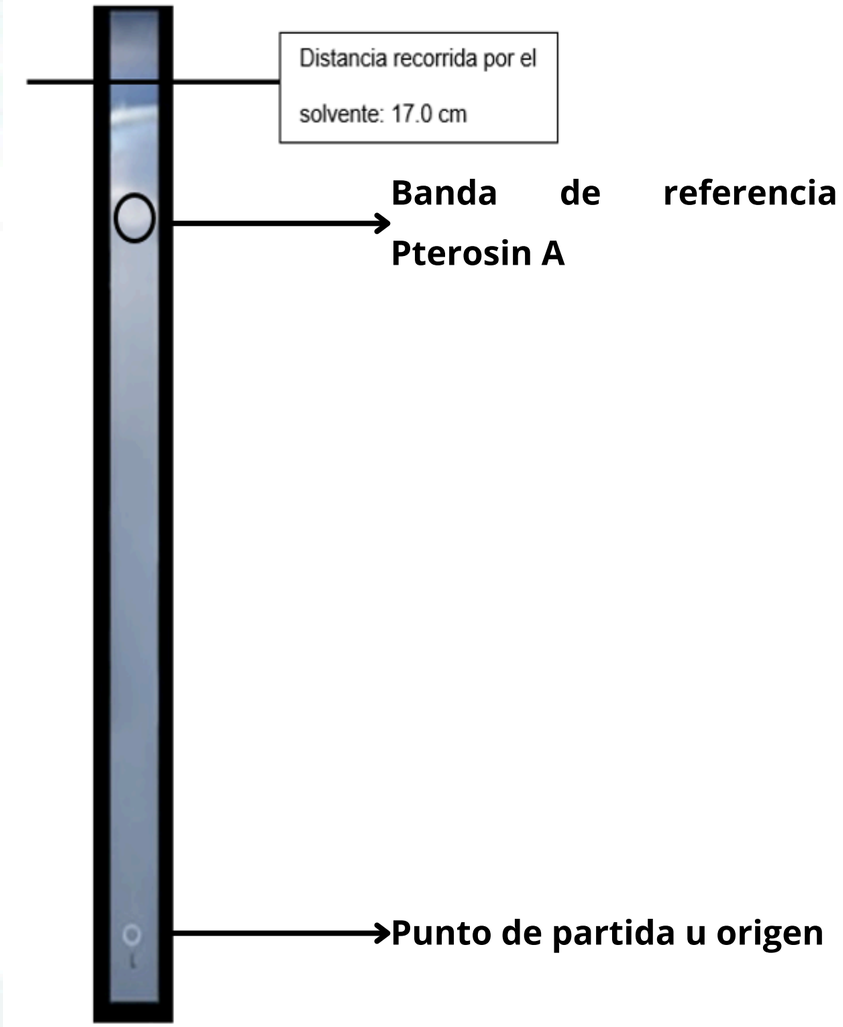
1. La definición de la exina, la perina, la apertura y la ornamentación indica un mayor grado de maduración estructural en el soro procedente de frondas maduras (Štefanić et al., 2022).
2. La menor nitidez del cuerpo interno y de las paredes sugiere un estadio temprano de maduración esporal, coherente con el estado fenológico inmaduro de la fronda (Štefanić et al., 2022).

- Štefanić et al. (2022). Zbornik Veleučilišta u Rijeci, 10(1), 467–478. https://doi.org/10.31784/zvr.10.1.26

Cromatografía de capa fina (TLC).

Estándar a detalle.

Figura 1. Corrida del estándar de Pterosina A, en concentración 6 ppm (Idrovo, L., 2026)



RESULTADOS

Rf estándar = **0,825**

Distancia solvente = **17,0 cm**

Compuesto: **Pterosina A**

$$Rf = \frac{Distancia\ recorrida\ por\ el\ compuesto}{Distancia\ recorrida\ por\ el\ solvente}$$

Placas cromatográficas obtenidas de extractos para P*teridium aquilinum* (L.) Kuhn inmaduro.

Figura 2. Resultado de primera placa cromatográfica (inmaduro), vista bajo UV lejano (Idrovo, L., 2026).

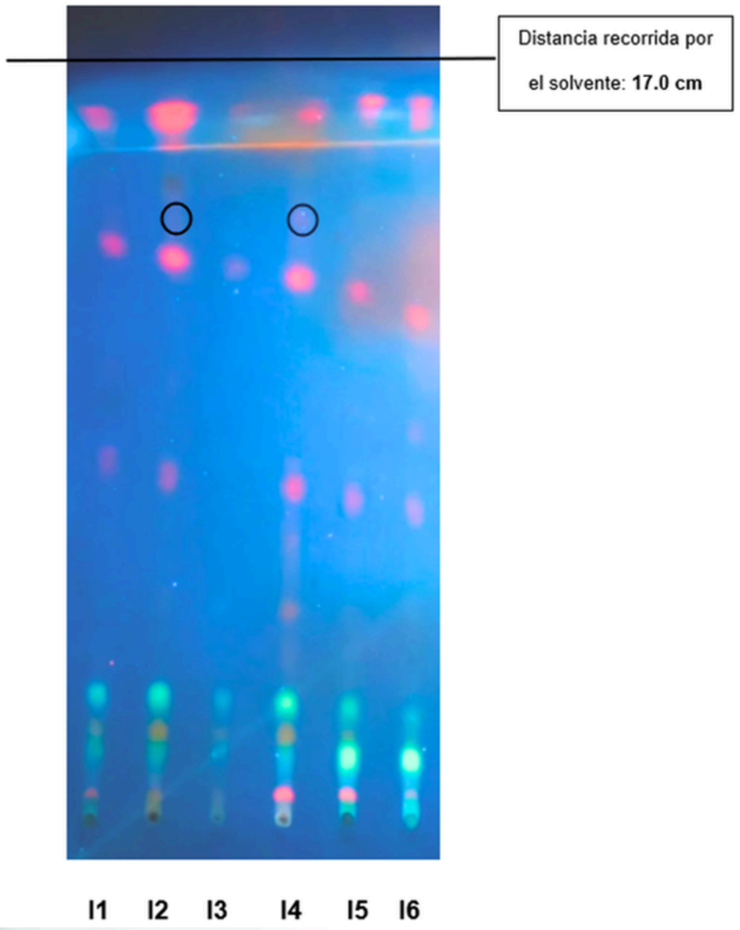
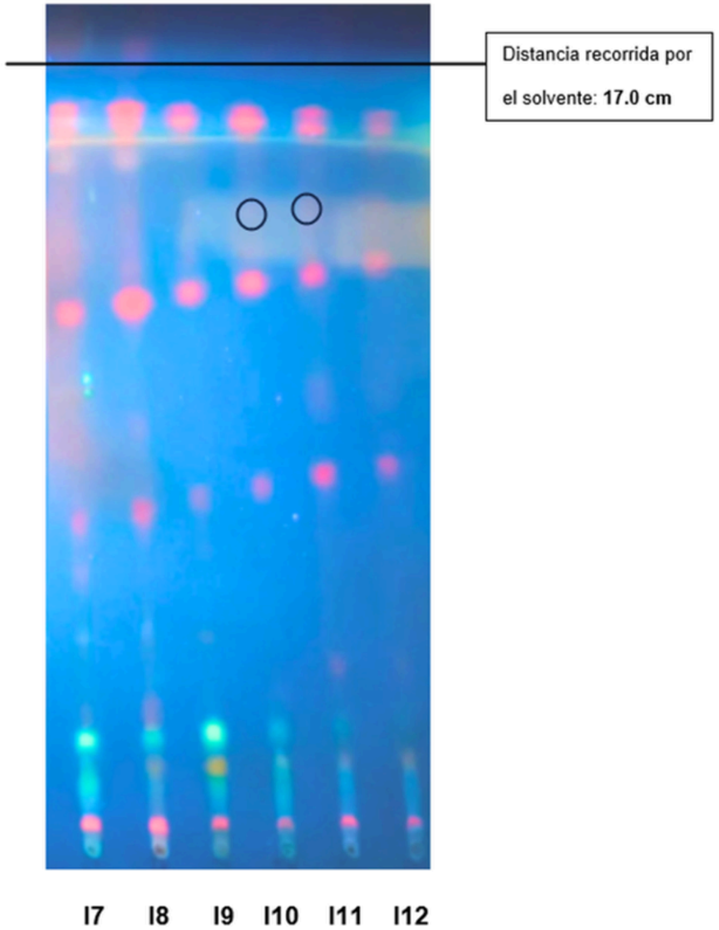


Figura 3. Resultado de segunda placa cromatográfica (inmaduro), vista bajo UV lejano (Idrovo, L., 2026).



Rf y compuesto tentativo

Tabla 1. Resumen de Rfs obtenidos en la cromatografía de capa fina TLC, correspondiente a muestras biológicas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn inmaduras.

Nro. Muestra	Color bajo UV	Rf	Compuesto tentativo
1	-	-	N/A
2	Rojo	0.823	Pterosina A
3	-	-	N/a
4	Rojo	0.824	Pterosina A
5	-	-	N/A
6	-	-	N/A
Estándar	Blanco	0.825	Pterosina A
7	-	-	N/A
8	-	-	N/A
9	-	-	N/A
10	Rojo	0.836	Pterosina A
11	Rojo	0.841	Pterosina A
12	-	-	N/A

Nota: *Elaboración propia.*

Placas cromatográficas obtenidas de extractos para P*teridium aquilinum* (L.) Kuhn maduro.

Figura 3. Resultado de primera placa cromatográfica (maduro), vista bajo UV lejano (Idrovo, L., 2026).

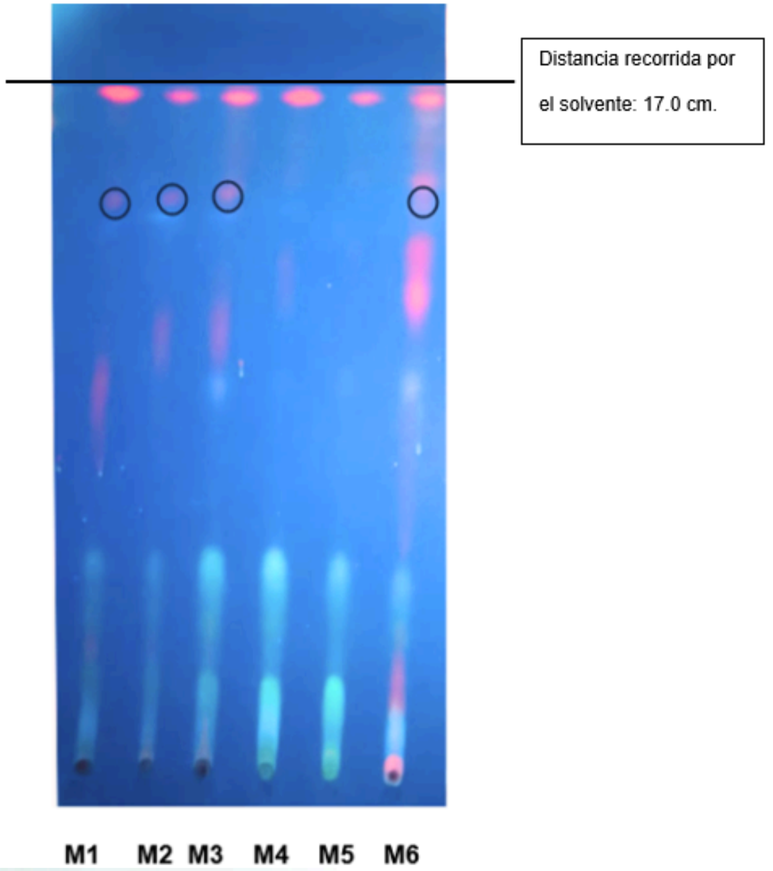
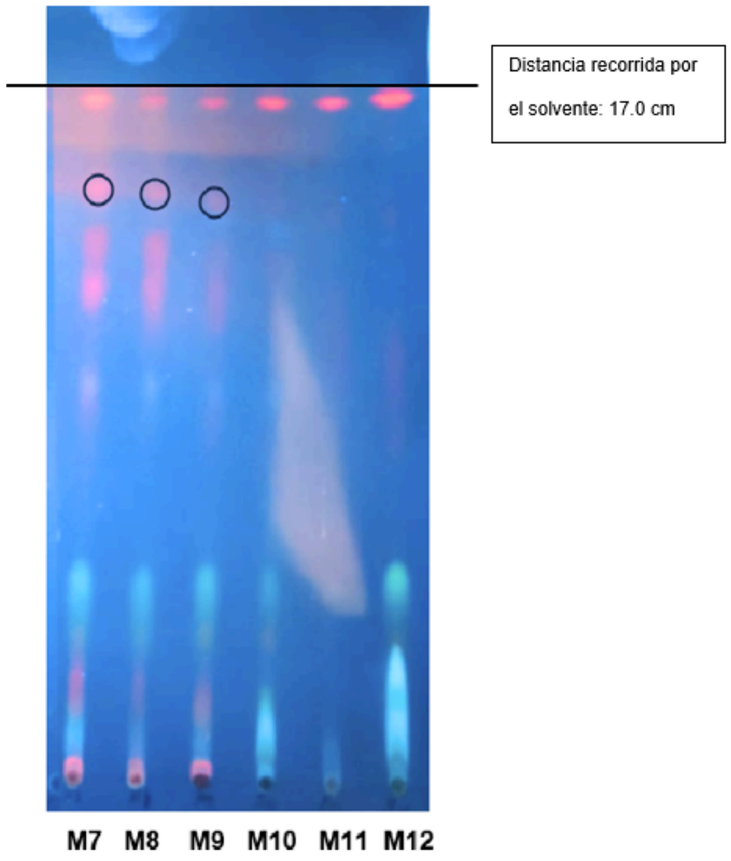


Figura 4. Resultado de segunda placa cromatográfica (maduro), vista bajo UV lejano (Idrovo, L., 2026).



Rf y compuesto tentativo

Tabla 2. Resumen de Rfs obtenidos en la cromatografía de capa fina TLC, correspondiente a muestras biológicas de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn maduras.

Nro. Muestra	Color bajo UV	Rf	Compuesto tentativo
1	Rojo	0.801	Pterosina A
2	Rojo	0.804	Pterosina A
3	Rojo	0.805	Pterosina A
4	-	-	N/A
5	-	-	N/A
6	Rojo	0.799	Pterosina A
Estándar	Blanco	0.825	Pterosina A
7	Rojo	0.807	Pterosina A
8	Rojo	0.802	Pterosina A
9	Rojo	0.795	Pterosina A
10	-	-	N/A
11	-	-	N/A
12	-	-	N/A

Nota: *Elaboración propia.*

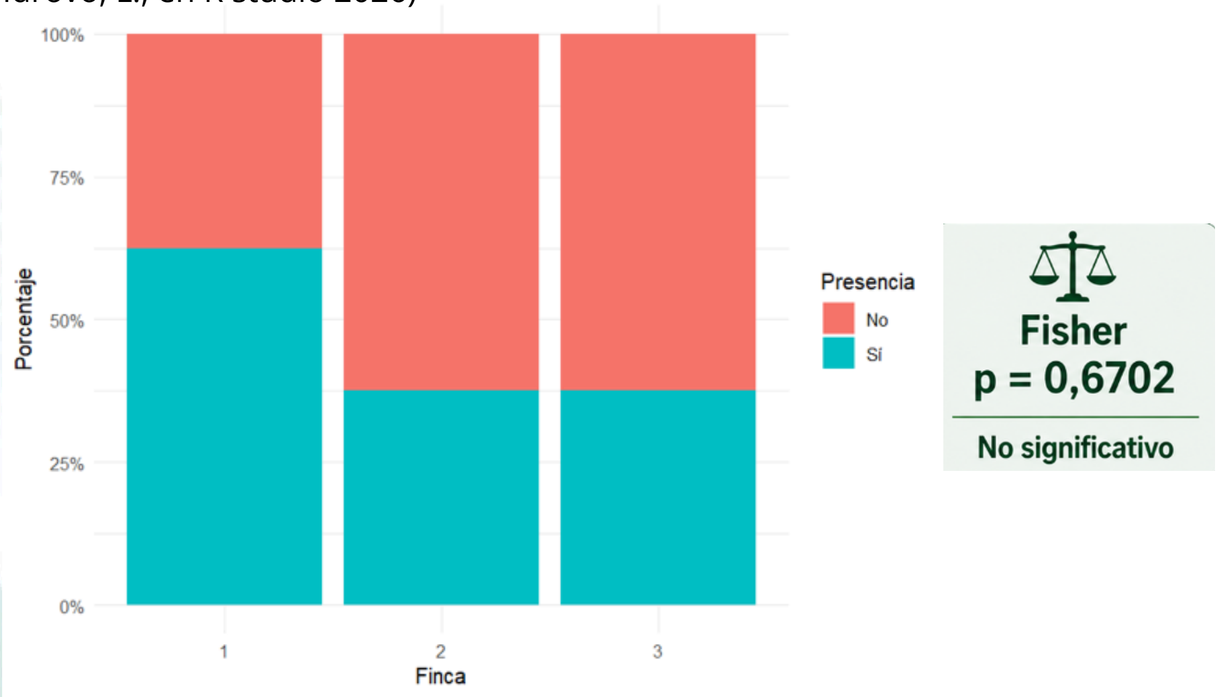
Toxicidad reportada por TLC relacionada con fincas muestreadas.

Tabla 3. Porcentaje en cada finca, de presencia de Pterosina A.

Finca	Negativo (%)	Positivo (%)
1	37.50	62.50
2	62.50	37.50
3	62.50	37.50

Nota: *Elaboración propia.*

Figura 5. Presencia porcentual de Pterosina A, según la finca (Realizado por Idrovo, L., en R studio 2026)



Análisis estadístico.

- La finca 1 presentó mayor positividad presuntiva, pero sin asociación significativa.
- Tanto finca 2 como 3, tienen muy baja positividad.

Discusión.

- La variabilidad entre fincas podría responder a factores ambientales y poblacionales; sin embargo, los resultados no permiten confirmar un efecto de la finca (Kisielius et al., 2024).

- Kisielius et al. (2024). Environmental Sciences Europe, 36, 186. https://doi.org/10.1186/s12302-024-01012-6

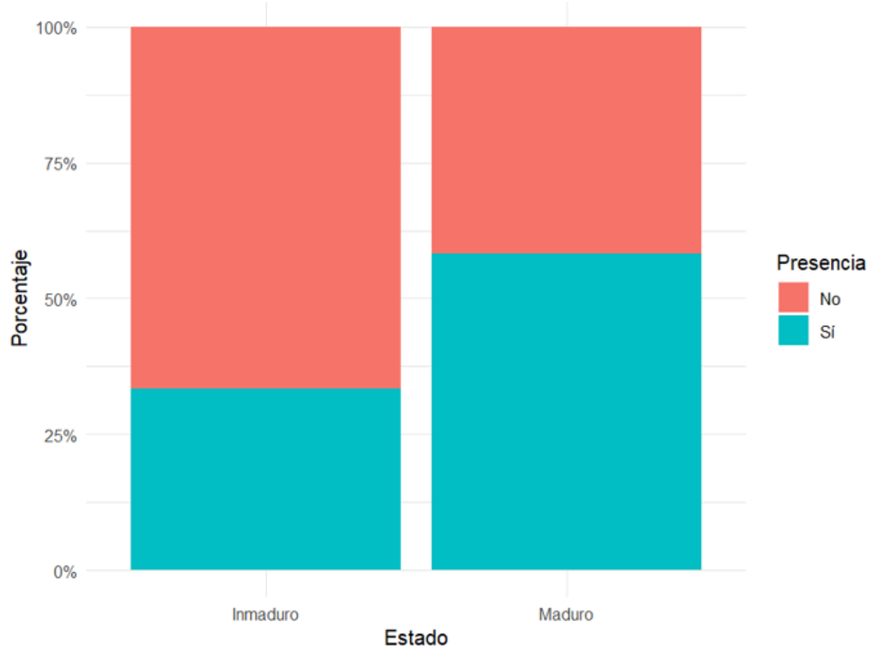
Toxicidad reportada por TLC relacionada con fincas muestreadas.

Tabla 4. Porcentaje según estado fenológico, de presencia de Pterosina A.

Estado fenológico	Negativo (%)	Positivo (%)
Inmaduro	66.67	33.33
Maduro	41.67	58.33

Nota: *Elaboración propia.*

Figura 6. Presencia porcentual de Pterosina A, según el estado fenológico. (Realizado por Idrovo, L., en R studio 2026)



p = 0,4136

No significativo

Análisis estadístico.

- Las frondas maduras mostraron mayor positividad presuntiva que las inmaduras, 58,33 % frente a 33,33 %, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa

Discusión.

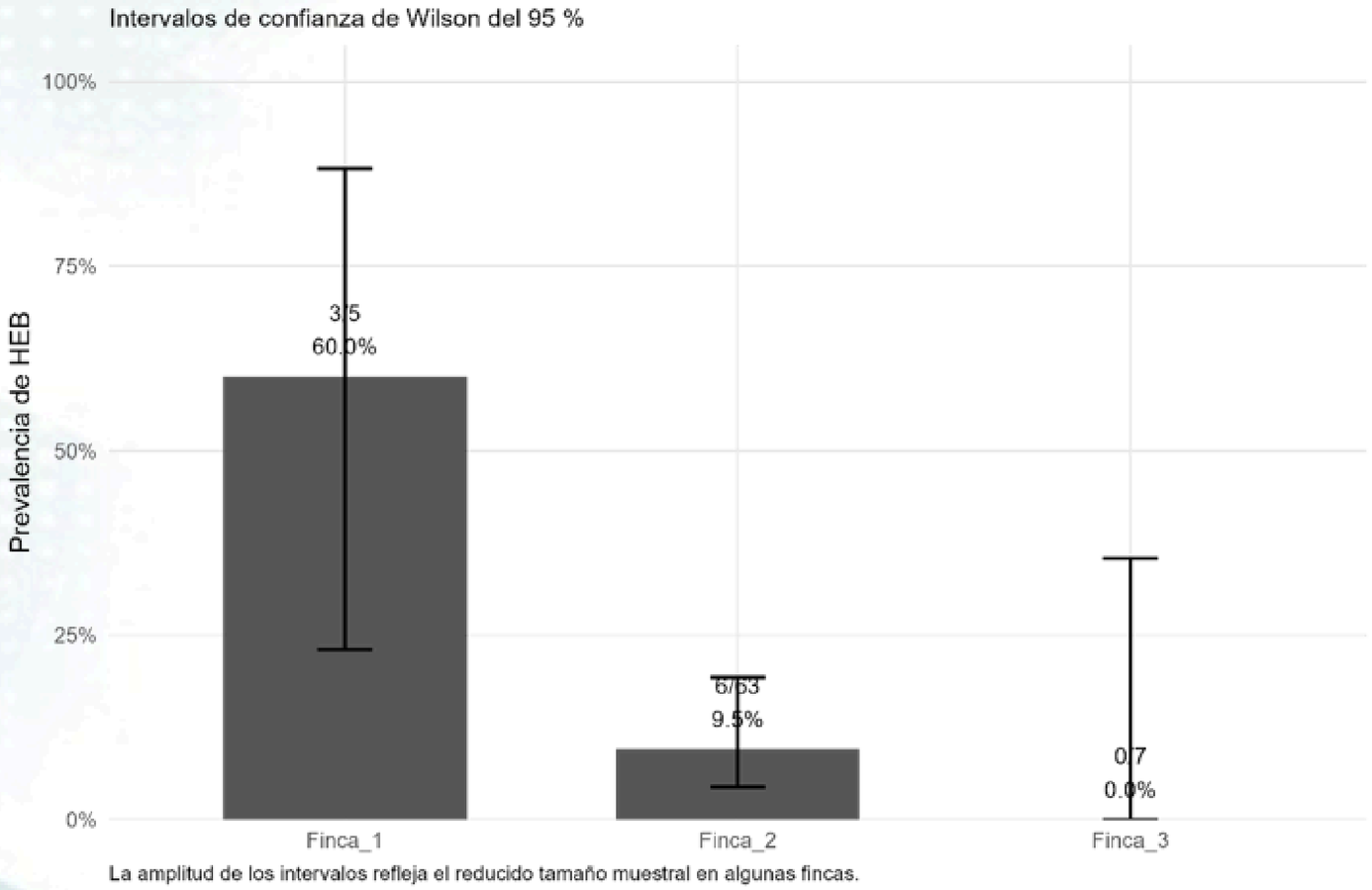
- Aunque las frondas maduras mostraron mayor positividad presuntiva, la tendencia no fue significativa (Ribeiro et al., 2020; Sierra et al., 2025).

- Ribeiro et al. (2020). Toxins, 12(5), 288. https://doi.org/10.3390/toxins12050288
- Sierra et al. (2025). International Journal of Molecular Sciences, 26(15), 7157. https://doi.org/10.3390/ijms26157157

Correlación: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y la incidencia de HEB por finca.

Figura 7. Prevalencia observada de hematuria enzoótica bovina por finca analizada-

(Realizado por Idrovo, L., en R studio 2026)



Análisis de resultados.

- De las 75 vacas examinadas, 9 fueron positivas a HEB, lo que corresponde a una prevalencia global de 12,00 %.
- Intervalo de confianza de Wilson del 95 % entre 6,44 y 21,26 %.
- La distribución fue marcadamente diferente entre fincas, debido al reducido tamaño muestral.

Discusión,

- La heterogeneidad podría relacionarse con diferencias en la exposición acumulativa a *Pteridium*. La amplitud de los intervalos exige interpretar los resultados como evidencia local y no como una estimación definitiva para toda Peñaherrera (De Falco et al., 2024; Galindo Chenard et al., 2025; Feito et al., 2026).

- De Falco et al. (2024). Veterinary Quarterly, 44(1), 1–7. https://doi.org/10.1080/01652176.2024.2387072
- Galindo Chenard et al. (2025). The Veterinary Journal, 314, 106461. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2025.106461
- Feito et al. (2026). Environmental Research, 305, 124917. https://doi.org/10.1016/j.envres.2026.124917

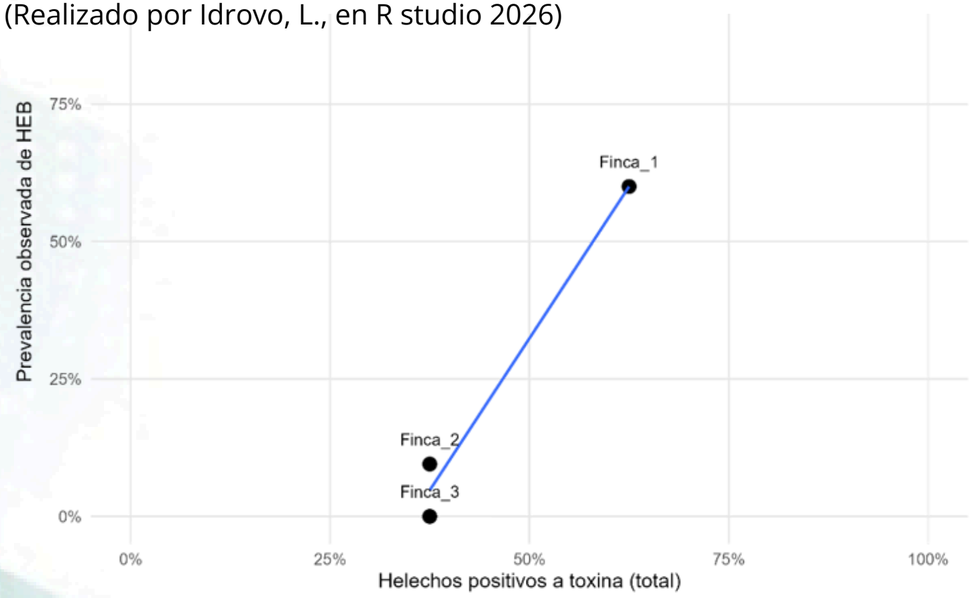
Correlación: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn y la incidencia de HEB.

Tabla 5. Correlación entre toxicidad del helecho macho y prevalencia de HEB.

Variable	Pearson r	Valor p	Spearman rho	Valor p por permutación	Interpretación
Toxicidad total del helecho	0.989	0.094	0.866	0.667	No significativa

Nota: *Elaboración propia.*

Figura 8. Relación entre positividad toxicológica y prevalencia de HEB.
(Realizado por Idrovo, L., en R studio 2026)



Análisis de resultados.

- La positividad total mostró una tendencia lineal positiva muy alta con la prevalencia de HEB (r=0,989).
- Spearman también indicó una asociación positiva alta (ρ=0,866).
- Ninguna correlación fue estadísticamente significativa.
- La prueba exacta tiene únicamente seis posibles permutaciones.

Discusión,

- Se observó una tendencia positiva compatible con el vínculo biológico entre la exposición a glucósidos iludanos y la HEB; sin embargo, el reducido número de fincas y la participación de factores ambientales, diagnósticos y virales impidieron confirmar estadísticamente la asociación (De Falco et al., 2024; Galindo Chenard et al., 2025; Feito et al., 2026).

- De Falco et al. (2024). Veterinary Quarterly, 44(1), 1–7. https://doi.org/10.1080/01652176.2024.2387072
- Galindo Chenard et al. (2025). The Veterinary Journal, 314, 106461. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2025.106461
- Feito et al. (2026). Environmental Research, 305, 124917. https://doi.org/10.1016/j.envres.2026.124917

6. Conclusiones.

CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA

- La caracterización morfológica y microscópica mostró rasgos compatibles con *Pteridium aquilinum*
- Se diferenciaron frondas inmaduras y maduras por soros.

CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (TLC)

- Se estandarizó un protocolo de secado, maceración, hidrólisis y TLC.
- La TLC fue útil como tamizaje, pero no como prueba confirmatoria.



HEB Y TOXICIDAD

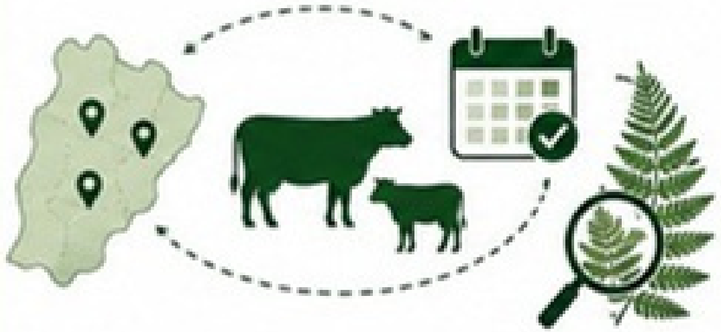
- La prevalencia observada de HEB fue del 12% (9/75), con distribución heterogénea entre fincas.
- Señales compatibles con pterosina A.
- La HEB es multifactorial.

CORRELACIÓN

- No se encontró asociación estadísticamente significativa entre positividad toxicológica y HEB.
- Se acepta la hipótesis nula propuesta en la investigación.

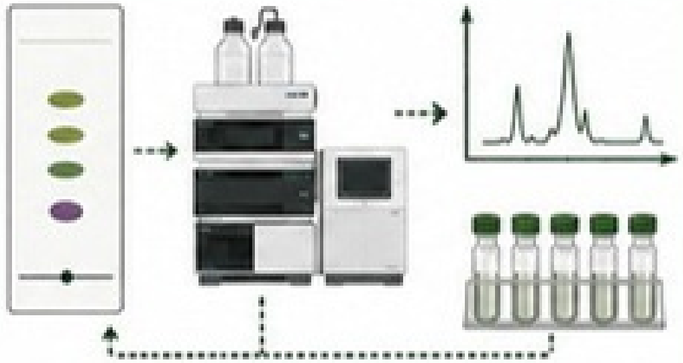
6. Recomendaciones.

1. Ampliar el muestreo



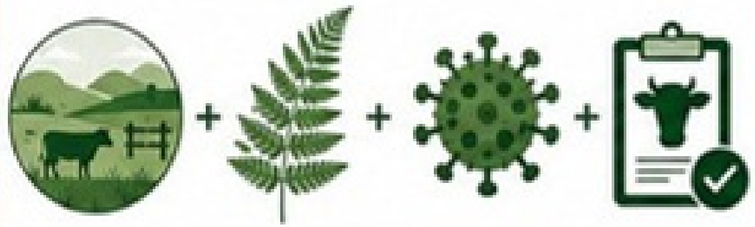
- Más fincas y más bovinos
- Muestreo en distintas épocas del año

2. Confirmar y cuantificar



- Validar la TLC como tamizaje
- Confirmar por HPLC-DAD o LC-MS/MS

3. Integrar factores de riesgo



Manejo del pastoreo | Abundancia de *Pteridium aquilinum* | Infección por BPV | Evaluación clínica

- Evaluar pastoreo, abundancia del helecho y BPV
- Relacionar toxicidad vegetal con datos clínicos

7. Agradecimientos.



- Ing. Tatiana Páez M.Sc.
- Alexis Debut, Phd.
- Dra. Blanca Naranjo
- Ing. Geovanna Herrera
- Ing. Katherine Garay
- Ing. Wilson Navas