

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” frente al ADN de *Escherichia coli*,
Ayacucho 2024.**

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGO, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:
Bach. Jose Luis ÑAÑA VELASQUEZ

ASESOR:
Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH

AYACUCHO - PERÚ

2026

A Dios, por guiarme cada día y darme la fortaleza necesaria. A mis padres, Antonia y Walter, por haberme dado la vida, su amor incondicional, y por ser un ejemplo constante de perseverancia, humildad y sacrificio. A mis hermanos, por su apoyo y motivación a lo largo de este proceso.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más sincero agradecimiento a mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por la formación integral que recibí en sus aulas. Agradezco a los docentes de la Escuela Profesional de Biología por su invaluable contribución a mi formación, compartiendo sus conocimientos y experiencias.

Agradezco al Dr. Miranda Tomasevich, Tomás Yuret mi asesor de tesis, por su guía, consejos y valiosas contribuciones durante el desarrollo de esta investigación. A la Mg Moreno Hinojosa, Miriam. por su paciencia y enseñanza en el proceso de ejecución de la investigación, consejos y recomendaciones que me brindó.

Agradezco a los miembros del jurado evaluador, Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi, Mg. Jimi Jack Rivera Villar y Dr. Saturnino Martin Tenorio Bautista, por sus valiosos aportes y recomendaciones durante el proceso de realización de la presente tesis.

Finalmente, mi más profundo agradecimiento a mis padres y a mis hermanos por su incondicional apoyo durante mi formación profesional y por su valiosa colaboración en la realización de este estudio de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE TABLAS	V
ÍNDICE FIGURAS	Vii
ÍNDICE DE ANEXOS	Viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.1.1. Antecedentes internacionales	4
2.1.2. Antecedentes locales	9
2.2. Bases teóricas	11
2.2.1. Características generales del género <i>Tillandsia</i>	11
2.2.2. <i>Tillandsia usneoides</i> descripción botánica y geográfica	12
2.2.3. Clasificación taxonómica	14
2.2.4. Composición química	14
2.2.5. Usos tradicionales y farmacológicos	15
2.3. Aspecto microbiológico	15
2.3.1. Microorganismos	15
2.3.2. <i>Escherichia coli</i>	15
2.3.3. Características del ADN bacteriano	17
2.3.3.1. Estructura del ADN bacteriano	17
2.3.4. Extracción de ADN bacteriano	18
2.3.5. Toxicidad y genotoxicidad	19
2.3.5.1. Toxicidad	19
2.3.5.2. Genotoxicidad	19
2.3.5.3. Agente genotóxico	20
2.3.5.4. Mecanismo de genotoxicidad	21
2.3.5.5. Evaluación genotóxica	22
2.3.6. Electroforesis en gel de agarosa	23
2.3.7. Espectrofotometría	24
2.3.8. Evaluación de la genotoxicidad mediante ensayos <i>in vitro</i>	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Lugar de ejecución	27
3.1.1. Ubicación política	27
3.1.2. Ubicación geográfica	27
3.2. Tipo de investigación	27
3.3. Población y muestra	27
3.3.1. Población	27
3.3.2. Muestra	28
3.4. Metodología y recolección de datos	28
3.4.1. Recolección de muestra	28
3.4.2. Preparación de muestra	28
3.4.3. Preparación del extracto hidroalcohólico	28

3.4.4.	Análisis fitoquímico	29
3.5.	Preparación de cultivo de <i>Escherichia coli</i> y extracción de ADN genómico	29
3.5.1.	Ensayo de genotoxicidad in vitro	30
3.5.2.	Fase I cuantificación de ADN genómico de <i>Escherichia coli</i>	30
3.5.3.	Fase II Prueba de genotoxicidad “in vitro” en ADN genómico en estudio	30
3.5.4.	Fase III Electroforesis para la detección de genotoxicidad	31
3.5.5.	Fase IV Radiación UV para la visualización de genotoxicidad	31
3.5.6.	Fase V Interpretación y clasificación del registro visual de genotoxicidad	31
3.5.7.	Análisis estadístico	32
IV.	RESULTADOS	33
V.	DISCUSIÓN	39
VI.	CONCLUSIÓN	44
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	ANEXO	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación taxonómica de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”	14
Tabla 2.	Tipos de daño al ADN detectados mediante el ensayo cometa según el pH de electroforesis.	26
Tabla 3.	Preparación de las mezclas de reacción para la evaluación de la genotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico <i>Tillandsia usneoides</i> , sobre ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706	30
Tabla 4.	Preparación de soluciones de carga para electroforesis en gel de agarosa de muestras tratadas con extracto hidroalcohólico <i>Tillandsia usneoides</i> .	31
Tabla 5.	Escala de clasificación de los niveles de fragmentación del ADN mediante evaluación visual en gel de agarosa.	32
Tabla 6.	Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, Ayacucho 2024.	34
Tabla 7.	Valores de fragmentación del ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> por diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> incubado a 37 °C durante una hora.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Características morfológicas de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”.	13
Figura 2.	Representación esquemática de la formación de la cola de cometa bajo condiciones alcalinas.	26
Figura 3.	Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1% del primer ensayo de genotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> a diferentes concentraciones sobre el ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706.	35
Figura 4.	Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1% del segundo ensayo de genotoxicidad in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> a diferentes concentraciones sobre el ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706	36
Figura 5.	Prueba de Kruskal-Wallis; del efecto de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, sobre la fragmentación del ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706.	38

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Recolección, secado y molienda de las hojas de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, Ayacucho 2024	53
Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, Ayacucho 2024	54
Anexo 3. Procesos del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, Ayacucho 2024.	55
Anexo 4. Flujograma de la evaluación de la genotoxicidad <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo”, a partir del extracto hidroalcohólico frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> , Ayacucho 2024.	60
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Tillandsia usneoides</i> Ayacucho, 2024	61
Anexo 6. Procedimiento de cultivo de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706, Ayacucho 2024.	62
Anexo 7. Procedimiento de electroforesis en gel de agarosa, para la detección de la genotoxicidad, Ayacucho 2024	63
Anexo 8. Fase de lectura por radiación UV, Ayacucho 2024	64
Anexo 9. Matriz de consistencia	65

RESUMEN

Las plantas medicinales han adquirido gran relevancia en los últimos años debido a sus múltiples aplicaciones terapéuticas. Sin embargo, es importante evaluar el posible daño que sus metabolitos secundarios podrían ocasionar a nivel del ADN de las células expuestas a tratamientos con estos productos o derivados vegetales. En este contexto, se seleccionó una especie ampliamente utilizada en la medicina alternativa.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tillandsia usneoides*, conocida como “barba de viejo”, sobre el ADN genómico de *Escherichia coli*. El estudio se desarrolló en el laboratorio de Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, bajo un enfoque experimental.

Las muestras de *Tillandsia usneoides* fueron recolectadas en la comunidad de La Colpa, distrito de Acos Vinchos, Ayacucho. Posteriormente, se realizó el proceso de secado y preparación del extracto hidroalcohólico utilizando una mezcla etanol: agua en proporción 3:1. El efecto genotóxico se evaluó frente al ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706, además de efectuarse diversos análisis fitoquímicos para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto. Las pruebas de fragmentación *in vitro* del ADN genómico de *Escherichia coli*, a una concentración de 1500 mg/mL, se realizaron utilizando concentraciones del extracto hidroalcohólico de 5, 10, 25, 50 y 100 mg/mL. Para la evaluación del daño genético se empleó el método de Tomasevich, basado en electroforesis en gel de agarosa al 1 %, teñido con bromuro de etidio al 1 % y visualizado bajo luz ultravioleta mediante el registrador de imágenes Biometra UVsolo TS®.

Entre los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* destacaron los compuestos fenólicos, taninos y flavonoides en concentraciones abundantes; las aminas en concentración moderada; y coumarinas, quinonas, alcaloides y azúcares reductores en cantidades traza. Los mayores niveles de fragmentación *in vitro* del ADN genómico de *Escherichia coli* se observaron en las concentraciones de 50 y 100 mg/mL del extracto hidroalcohólico. Asimismo, la prueba estadística de Kruskal-Wallis evidenció que el daño al ADN es directamente proporcional a la concentración del extracto hidroalcohólico. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* produce fragmentación *in vitro* del ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706. Además, el estudio confirmó que esta planta constituye una fuente importante de compuestos fenólicos, taninos y flavonoides, lo que podría respaldar su uso tradicional en la medicina herbaria peruana. No obstante, se requieren investigaciones adicionales para profundizar en sus propiedades biológicas y su posible aplicación terapéutica.

Palabras clave: *Tillandsia usneoides*, genotóxico, *Escherichia coli*, *in vitro*, ADN genómico.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú alberga una gran variedad de plantas medicinales nativas que forman la base de la medicina tradicional, empleadas por sus propiedades terapéuticas para el cuidado y la recuperación de la salud. En los últimos años, los análisis de genotoxicidad han cobrado gran relevancia, con el objetivo de identificar posibles daños al ADN de la célula que esté recibiendo el tratamiento con estos productos o derivados vegetales, se han detectado extractos de plantas medicinales con actividad embriotóxica y/o teratogénica, además de reportarse actividad mutagénica y carcinogénica en productos de origen vegetal (García *et al.*, 2010).

La *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, una planta con una larga tradición medicinal en América, ha sido utilizada para tratar diversas afecciones, como hemorroides, gastritis, hernias, artritis, úlceras, epilepsia, incluyendo enfermedades como la diabetes y enfermedades del aparato respiratorio, además, es comúnmente utilizado como adorno en fiestas navideñas y decoración de jardines, sin embargo, a pesar de su abundancia en los ecosistemas peruanos y de los estudios realizados con otras especies del género *Tillandsia*, su potencial uso farmacológico en el tratamiento del cáncer aún no ha sido explorado a fondo. Este estudio busca contribuir al conocimiento de la química y la genotoxicidad de la *Tillandsia usneoides* en Perú, y evaluar su potencial genotóxico para determinar si los metabolitos secundarios de la planta pueden causar daño al ADN, un aspecto crucial para evaluar su seguridad y eficacia como potencial agente terapéutico, también caracterizar su composición química se busca identificar los compuestos químicos presentes en la planta, incluyendo la posibilidad de descubrir nuevas moléculas, algunos estudios fitoquímicos que han revelado la composición química de la planta reportando la presencia de una variedad de compuestos químicos incluyendo triterpenos (en su forma libre y esterificada), esteroides, flavonoides, ácidos (como el cítrico y el succínico) y compuestos glicosilados (Castillo *et al.*, 2009).

Escherichia coli es una bacteria que habita comúnmente en el intestino de humanos y animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas e incluso beneficiosas para la digestión, algunas pueden causar enfermedades graves, siendo una problemática de salud pública para determinar la calidad microbiológica de los alimentos para ser consideradas aptas para consumo humano (Madigan *et al.*, 2015).

El ensayo cometa, una técnica de electroforesis que se ha desarrollado en las últimas dos décadas, permite detectar daños en el ADN a nivel individual de una célula, su versatilidad radica en la capacidad de analizar células sin necesidad de que estén en división, ampliando su utilidad en diversos escenarios. El proceso del ensayo cometa se basa en la liberación del ADN de las células mediante detergentes y altas concentraciones de sal, que rompen las membranas celulares. El ADN liberado se somete a un campo eléctrico a pH neutro, lo que separa los fragmentos de ADN según su tamaño y carga, las células con mayor daño en su ADN presentan fragmentos más pequeños que migran con mayor facilidad hacia el ánodo (polo positivo) durante la electroforesis, formando una "cola del cometa" cuya longitud es proporcional al daño en el ADN, la coloración con bromuro de etidio, un colorante que se une al ADN, permite visualizar estos fragmentos como pequeños cometas, donde la longitud de la cola refleja el nivel de daño en el ADN. Debido a su alta sensibilidad y capacidad para detectar daños a nivel celular, el ensayo cometa se ha convertido en una herramienta fundamental para evaluar la genotoxicidad, es un método rápido y eficaz para determinar el impacto de diferentes agentes sobre la integridad del ADN celular. (Collins, 2005).

El objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto genotóxico que causa el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* "barba de viejo" frente al ADN genómico de *Escherichia coli*, la estimación del daño genotóxico *in vitro* se realizó empleando el "método Tomasevich". Este método consiste en exponer el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706 a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides*. Posteriormente, se realizó electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio al 1% y se visualiza bajo radiación de luz ultravioleta en el sistema de registrador de imágenes Biometra UVsolo TS y así como proponer su uso en la medicina tradicional.

Objetivo general

- Evaluar el efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* "barba de viejo" frente al ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706, Ayacucho 2024.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de la *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”.
- Determinar el grado de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” frente al ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Escobar, S. (2013) realizó la investigación titulada “estudio sobre el efecto hipoglucémico, antioxidante y antiinflamatorio de *Tillandsia usneoides* en ratones CD1.” Se realizaron pruebas con extracto de *Tillandsia usneoides* en ratones, administrando dosis de 50 y 100 mg/kg de peso durante 30 días. La dosis de 50 mg/kg no mostró actividad antioxidante en el plasma, pero sí redujo los niveles de glucosa, confirmando su efecto hipoglucémico. La dosis de 100 mg/kg también mostró un efecto hipoglucémico, aunque no presentó una actividad antioxidante significativa. Sin embargo, en estudios agudos, la dosis de 100 mg/kg causó toxicidad, provocando ceguera en algunos ratones. Se necesitan más investigaciones para determinar la dosis letal mínima, ya que el uso tradicional de esta planta podría conllevar riesgos para la salud si no se utiliza con precaución. Es importante investigar a fondo la seguridad de la *Tillandsia usneoides* para garantizar su uso responsable en la medicina tradicional.

Rojas (2021) desarrolló una investigación orientada a evaluar la actividad citotóxica de *Tillandsia usneoides*. Para ello, obtuvo un extracto etanólico de la especie mediante maceración, el cual fue posteriormente fraccionado por cromatografía líquida al vacío utilizando solventes de polaridad creciente. La composición química del extracto crudo y de las fracciones obtenidas fue analizada mediante diferentes técnicas cromatográficas, entre ellas HPTLC, UPLC-DAD y UHPLC-MS-TQ. Posteriormente, se llevó a cabo un proceso de purificación guiado por bioensayos con la finalidad de identificar y aislar los metabolitos relacionados con la actividad biológica. Para ello, se emplearon técnicas como cromatografía en columna, cromatografía de exclusión molecular con Sephadex LH-20 y cromatografía de partición centrífuga.

La actividad citotóxica del extracto, sus respectivas fracciones y los compuestos aislados fue evaluada en líneas celulares tumorales de cáncer de mama, específicamente 4T1 y MCF-7, además de la línea no tumoral 3T3. El efecto citotóxico fue determinado mediante el ensayo colorimétrico MTT, mientras que el mecanismo de muerte celular, particularmente apoptosis y necrosis, fue analizado en la línea celular 4T1.

Los resultados de la caracterización química preliminar evidenciaron que los principales grupos de metabolitos presentes en el extracto crudo y en sus fracciones correspondían a triterpenos y flavonoides, incluyendo ácidos fenólicos y otros compuestos polifenólicos. Asimismo, el extracto etanólico sin fraccionar y las fracciones de diclorometano, acetato de etilo e hidroetanólica mostraron actividad citotóxica selectiva sobre las líneas celulares tumorales de mama. De manera particular, se observó que el efecto producido por el extracto y sus fracciones en las células 4T1 estaba relacionado con la inducción de apoptosis.

El fraccionamiento y subfraccionamiento permitieron concentrar los metabolitos bioactivos en determinadas fracciones. La fracción de diclorometano presentó una mayor presencia de triterpenos, mientras que las fracciones de acetato de etilo e hidroetanólica estuvieron constituidas principalmente por polifenoles. En la fracción de diclorometano se identificaron diversos triterpenos del grupo de los cicloartanos, entre ellos cicloartano-23-eno-3 β ,25-diol, cicloeucalenol acetato y 9,19-ciclolanostano-23-ene-3,25-diol,3-acetato, (3 β ,23E). En la fracción de acetato de etilo se detectaron los triterpenos (23E)-25-hidroperoxicicloartano-23-en-3-ona e hidroxicicloartano-23-en-3-ona, además del flavonoide 5,7,4'-trihidroxi-3,6,3',5'-tetrametoxiflavona. Por su parte, en la fracción hidroetanólica se identificó principalmente el compuesto 5,4'-dihidroxi-3,7,3',5'-tetrametoxiflavona.

En conclusión, el estudio determinó que la actividad citotóxica del extracto crudo no estaría asociada exclusivamente con un único metabolito, sino con la acción conjunta de varios compuestos de polaridad media y alta. Los hallazgos sugieren que *Tillandsia usneoides* presenta potencial antitumoral frente a células de cáncer de mama, destacando la participación de triterpenos y flavonoides. No obstante, los autores señalan la necesidad de realizar investigaciones adicionales para identificar y purificar los metabolitos responsables de la actividad y esclarecer sus mecanismos de acción.

Asimismo, estos resultados plantean la posibilidad de que *Tillandsia usneoides* constituya una fuente potencial de compuestos para el desarrollo de nuevos agentes

anticancerígenos. Sin embargo, se requieren estudios posteriores que permitan establecer su seguridad, eficacia y posible aplicación terapéutica en seres humanos.

Carreño (2011), en su investigación titulada “Estudio químico de la epífita *Tillandsia recurvata*”, realizó la recolección de muestras en la Ciudad Universitaria de la UNAM. El estudio permitió aislar e identificar diversos compuestos químicos, entre ellos un flavonoide y dos diésteres del glicerol. La elucidación estructural de estos compuestos se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas, principalmente resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono (RMN de ^1H y ^{13}C), empleando experimentos unidimensionales y bidimensionales como DEPT, COSY, HSQC y HMBC, además de espectrometría de masas.

Entre los compuestos identificados se encontraron 5,7,3'-trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona, 1,3-di-O-cinamoil glicerol y 1-cinamoil-3-feruloil glicerol. Asimismo, se aislaron compuestos previamente descritos para esta especie, como 1,2-di-O-cinamoil glicerol y 24-metilencicloartanona, además de una mezcla de ésteres grasos del 24-metilencicloartanol, correspondientes a hexadecanoato, octadecanoato, eicosanoato y docosanoato de 24-metilencicloartanilo, así como ciclobranol. También se identificó una mezcla de fitoesteres constituida por β -sitosterol y estigmasterol.

Finalmente, el estudio incluyó la síntesis de 1,2-di-O-cinamoil glicerol y 1,3-di-O-cinamoil glicerol. En conjunto, los resultados contribuyeron a ampliar el conocimiento de la composición química de *Tillandsia recurvata*, al permitir la identificación de nuevos compuestos y corroborar la presencia de metabolitos previamente reportados en esta especie.

Gonzales (2018) realizó un estudio titulado “Efecto tóxico *in vitro* de los extractos polares de nueve plantas utilizadas en medicina tradicional” en la Comarca Lagunera, España. Los resultados mostraron que *Calea ternifolia* presentó el mayor rendimiento en la obtención del extracto acuoso, mientras que *Prosopis glandulosa* destacó por su rendimiento en el extracto metanólico. Asimismo, se evidenció una importante diversidad de metabolitos secundarios en especies como *Loeselia mexicana*, *Eryngium heterophyllum* y *Gnaphalium oxyphyllum*.

En *Loeselia mexicana* se identificaron flavonoides, carbohidratos, esteroides, triterpenos, cumarinas, alcaloides y saponinas; *Eryngium heterophyllum* presentó flavonoides, carbohidratos, cumarinas, saponinas y sesquiterpenlactonas; mientras que *Gnaphalium oxyphyllum* mostró taninos, flavonoides, carbohidratos, triterpenos, cumarinas, saponinas y sesquiterpenlactonas. Mediante HPLC también se detectaron

compuestos como rutina, ácido gálico, ácido sirínico, quercetina, epicatequina y catequina en distintas especies vegetales.

Respecto a los efectos biológicos, los extractos acuosos ocasionaron alteraciones en los eritrocitos, incluyendo eriptosis, cambios en el Volumen Corpuscular Medio (VCM) y peroxidación lipídica. En contraste, los extractos metanólicos no evidenciaron una producción significativa de peróxido de hidrógeno frente a los extractos acuosos. Además, se observó toxicidad sobre *Artemia salina* en los extractos de *Gnaphalium oxyphyllum*, *Tillandsia recurvata*, *Sphaeralcea angustifolia* y *Eryngium heterophyllum*. Finalmente, se identificó citotoxicidad en células VERO para los extractos de *Tillandsia recurvata* y *Loeselia mexicana*.

En términos de parámetros bioquímicos en un modelo animal, la administración de extractos de *Prosopis glandulosa* y *Calea ternifolia* causó alteraciones en las plaquetas y enzimas hepáticas, así como cambios histológicos en el tejido renal y hepático. Además, la mayoría de las plantas estudiadas demostraron inhibición de CYP3A4 en baculosomas humanos. Este estudio resalta la importancia de investigar los efectos de las plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional, tanto en términos de su composición química como de sus efectos biológicos y posibles implicaciones para la salud.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Alvarado, B. (2017), en su investigación titulada “Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra”, tuvo como propósito evaluar las propiedades antioxidantes y citotóxicas de 35 especies medicinales mediante la aplicación de métodos de carácter no experimental y experimental. El estudio se desarrolló en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas, Medicina y Farmacia, y Bioquímica. En la fase no experimental, se aplicaron encuestas a los pobladores de la Cordillera Negra con la finalidad de recopilar información relacionada con el uso tradicional de las especies medicinales. Asimismo, se realizó un tamizaje fitoquímico para determinar la presencia de metabolitos secundarios en las plantas analizadas. En la fase experimental, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos vegetales en concentraciones de 100, 50 y 25 µg/mL. Del mismo modo, se determinó la actividad citotóxica empleando huevos fértiles de erizo de mar (*Tetrapygus niger*), sometidos a concentraciones de 166 y 333 µg/mL durante períodos de exposición de 24 y 48 horas.

Los resultados mostraron que los pobladores de la Cordillera Negra poseen un amplio conocimiento tradicional sobre las propiedades medicinales de las especies estudiadas.

El análisis fitoquímico evidenció la presencia de diversos metabolitos secundarios en las 35 plantas evaluadas. Respecto de la actividad antioxidante, el 74,29 % de las especies presentó actividad a una concentración de 100 µg/mL, mientras que el 14,28 % mostró actividad a 50 µg/mL y el 5,71 % a 25 µg/mL. Además, se determinó el IC₅₀ en especies como *Tecuar*, lengua de perro, Santa Lucía y aliso, debido a su elevada capacidad para captar radicales libres. En cuanto a la actividad citotóxica, se observó una mortalidad del 28,57 % a 166 µg/mL y del 40 % a 333 µg/mL después de 24 horas de exposición. A las 48 horas, estos valores aumentaron ligeramente hasta 28,57 % y 42,85 %, respectivamente. Los autores concluyeron que el conocimiento etnofarmacológico de los pobladores constituye una fuente importante para la identificación y aprovechamiento de especies medicinales. Asimismo, la presencia de metabolitos secundarios y la actividad antioxidante y citotóxica observadas en gran parte de las plantas estudiadas evidencian un potencial para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de productos naturales con posibles aplicaciones terapéuticas.

En relación con *Tillandsia walteri* Mez, el estudio señala que esta especie ha sido escasamente investigada en cuanto a sus propiedades antioxidantes y citotóxicas. En esta investigación se reportó la presencia de metabolitos secundarios, entre ellos antraquinonas, flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y taninos. Asimismo, el extracto metanólico de *Tillandsia walteri* presentó una elevada actividad antioxidante, alcanzando un 91,94 % de captación de radicales libres a una concentración de 100 µg/mL. Sin embargo, en la evaluación citotóxica realizada sobre huevos fértiles de erizo de mar no se observó un efecto letal, lo que indica que, bajo las condiciones de este modelo experimental, el extracto no evidenció una toxicidad significativa.

Vílchez, E. Rojas, K. Mayo C. (2024) Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia maculata* (Bromeliaceae) sobre *Streptococcus mutans*. contiene compuestos químicos que podrían influir en el desarrollo de *Streptococcus mutans*, la bacteria principal que causa las caries dentales, el trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia maculata* para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*. La metodología se realizó un estudio experimental *in vitro*, comparando el efecto del extracto de *Tillandsia maculata* con controles como agua desionizada, etanol al 70 % y clorhexidina al 0,12 %. Se utilizaron 56 placas de agar Müller-Hinton, divididas en 7 grupos con 8 placas cada uno, con diferentes concentraciones del extracto de *Tillandsia maculata* (25 %, 50 %, 75 % y 100 %). Se empleó el método de difusión en disco para evaluar la actividad antibacteriana, utilizando *Streptococcus mutans* ATCC 25175 como bacteria de prueba. Los resultados del análisis de la composición química del extracto revelaron la presencia de taninos,

flavonoides, glicósidos cardiotónicos y lactonas. Se observó que el extracto de *Tillandsia maculata* al 100 % inhibió el crecimiento de *Streptococcus mutans* de manera similar a la clorhexidina al 0,12 %. las conclusiones el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia maculata* al 100% demostró un efecto antibacteriano *in vitro* contra *Streptococcus mutans*, con una efectividad comparable a la clorhexidina.

Cedrón (2022), en su investigación titulada “Biomonitoreo de elementos de traza Cd, Ni, Pb, Sb y As en el área metropolitana de Huancayo-Perú, utilizando *Tillandsia capillaris* trasplantada como un biomonitor”, evaluó la presencia de elementos traza en la contaminación atmosférica mediante el uso de *Tillandsia capillaris* como especie bioindicadora. El estudio consideró como zonas de análisis las áreas urbanas de Huancayo y Tambo, así como las áreas periurbanas de Chupaca y San Agustín de Cajas.

Para desarrollar la investigación, se recolectaron ejemplares de *Tillandsia capillaris* en una zona de referencia sin contaminación, los cuales posteriormente fueron trasplantados y expuestos durante tres meses en las áreas seleccionadas. En total, se analizaron 32 muestras con el propósito de determinar las concentraciones de cadmio (Cd), níquel (Ni), plomo (Pb), antimonio (Sb) y arsénico (As), empleando un espectrofotómetro de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Asimismo, se calculó la relación Exposed to Baseline (EB) para determinar el nivel de acumulación de estos elementos en los biomonitores. Para los elementos que presentaron valores de EB superiores a 1,75, se elaboraron mapas de distribución y se aplicó un análisis de clúster jerárquico (HCA) con el objetivo de identificar posibles fuentes de contaminación.

Los resultados evidenciaron una acumulación importante de arsénico (As) y cadmio (Cd) principalmente en las áreas periurbanas, mientras que en las zonas urbanas se registraron mayores concentraciones de plomo (Pb) y antimonio (Sb). Mediante el análisis HCA se identificaron dos posibles grupos de fuentes contaminantes: el primero, asociado con As y Cd y relacionado con actividades agrícolas; y el segundo, correspondiente a Pb y Sb, posiblemente vinculado con fuentes vehiculares.

En conclusión, el estudio determinó que *Tillandsia capillaris* constituye una herramienta eficaz para el biomonitoreo de elementos traza presentes en la atmósfera. Los hallazgos sugieren una mayor presencia de As y Cd en las áreas periurbanas, posiblemente asociada a actividades agrícolas, mientras que los niveles de Pb y Sb encontrados en las áreas urbanas podrían estar relacionados con el tránsito vehicular. Estos resultados evidencian la necesidad de implementar medidas orientadas a reducir y controlar la

contaminación atmosférica por elementos traza, principalmente en las zonas periurbanas donde se registró una mayor acumulación de As y Cd.

2.1.3. Antecedentes locales

Medina (2022) realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto genotóxico *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* Hook. sobre el ADN genómico humano, así como identificar los principales compuestos químicos presentes en esta especie. *Synadenium grantii* Hook., denominada comúnmente “planta de la vida”, es un arbusto empleado tradicionalmente por sus propiedades medicinales, especialmente mediante el uso de sus tallos y hojas en la preparación de remedios. Las muestras fueron recolectadas entre abril y noviembre de 2020 en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

Para el estudio se obtuvo el látex del tallo de la planta y posteriormente se efectuó su caracterización fitoquímica. El potencial genotóxico fue evaluado exponiendo el ADN genómico humano a diferentes concentraciones del látex, utilizando la técnica de electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio al 1 %. El daño producido en el material genético fue observado mediante luz ultravioleta empleando un sistema de registro de imágenes Biometra UVsolo TS.

Los resultados del análisis fitoquímico mostraron una presencia significativa (+++) de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y/o taninos, así como quinonas; en tanto que las lactonas y/o cumarinas estuvieron presentes en menor concentración (++). Respecto al efecto genotóxico, se evidenció que el látex de *Synadenium grantii* Hook. ocasionó una fragmentación del ADN genómico humano que aumentó conforme se incrementó su concentración. Con el 5 % de látex, la fragmentación fue aproximadamente de 5 a 40 %; al 10 %, alcanzó entre 20 y 40 %; mientras que al 25 % se incrementó hasta un rango de 40 a 95 %. Por su parte, las concentraciones de 50 % y 100 % produjeron una fragmentación superior al 95 %.

En conclusión, Medina (2022) determinó que el látex de *Synadenium grantii* Hook. posee efecto genotóxico *in vitro* sobre el ADN genómico humano, observándose una relación entre el incremento de la concentración del látex y el grado de fragmentación del material genético.

Lagos (2020) desarrolló una investigación titulada “Ensayos de degradación *in vitro* del ADN de *Escherichia coli* frente al extracto hidroalcohólico y zumo de *Origanum vulgare* L. ‘orégano’”, ejecutada entre febrero y octubre de 2019 en el Centro de Investigación de Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas y en el

Laboratorio de Farmacognosia de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho.

Para el estudio, se preparó un extracto hidroalcohólico de orégano empleando etanol y agua en una proporción de 3:1, a partir de hojas y tallos secos sometidos a maceración durante cinco días. De manera paralela, se obtuvo el zumo de hojas y tallos frescos. Ambas preparaciones fueron sometidas a un análisis fitoquímico para determinar los metabolitos secundarios presentes.

La actividad degradativa sobre el ADN de *Escherichia coli* fue evaluada *in vitro* mediante diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico y del zumo. Para identificar el daño ocasionado al material genético, se empleó el método de Tomasevich, basado en electroforesis en gel de agarosa al 1 %, tinción con bromuro de etidio al 1 % y observación mediante radiación ultravioleta, utilizando un sistema de registro de imágenes Biometra UV solo TS®.

Los resultados del análisis fitoquímico mostraron que el extracto hidroalcohólico presentó abundante presencia de fenoles y/o taninos, flavonoides y catequinas, además de lactonas y/o cumarinas en concentración regular y alcaloides en cantidades traza. En el zumo, se identificó una presencia abundante de fenoles y/o taninos, mientras que los flavonoides y alcaloides se encontraron en concentraciones moderadas.

En cuanto al efecto sobre el ADN, se observó que las concentraciones más altas del extracto hidroalcohólico, especialmente 500, 400 y 300 mg/mL, produjeron los mayores niveles de degradación. Del mismo modo, el zumo mostró mayor efecto degradativo a concentraciones de 100, 50 y 25 %. El análisis estadístico mediante la prueba de Kruskal-Wallis evidenció una relación directa entre el aumento de la concentración de las preparaciones y el nivel de daño producido en el ADN.

Finalmente, el estudio concluyó que tanto el extracto hidroalcohólico como el zumo de *Origanum vulgare* L. poseen capacidad para degradar *in vitro* el ADN genómico de *Escherichia coli*, incrementándose este efecto conforme aumentó la concentración utilizada.

Quispe (2017) realizó una investigación cuyo objetivo fue evaluar *in vitro* el efecto genotóxico del látex y del extracto hidroalcohólico de semillas de papaya sobre el ADN genómico humano, además de determinar los metabolitos secundarios presentes en ambos preparados. La especie estudiada fue *Carica papaya* L., planta ampliamente reconocida por sus usos alimenticios y medicinales, cuyas diferentes partes, como flores, hojas, frutos y semillas, son empleadas en la medicina tradicional.

Las muestras fueron recolectadas en el distrito de San Francisco, provincia de La Mar, región Ayacucho, mientras que la fase experimental se desarrolló entre abril y diciembre de 2016 en el Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática de la UNSCH. El látex fue obtenido directamente de la planta; en cambio, las semillas fueron secadas a temperatura ambiente, pulverizadas y sometidas a maceración con una mezcla hidroalcohólica de etanol y agua en proporción 3:1. Posteriormente, el solvente fue evaporado hasta obtener una preparación concentrada utilizada para el análisis fitoquímico y las pruebas de genotoxicidad.

Para determinar el daño sobre el ADN, se emplearon diferentes concentraciones de ambos extractos, los cuales fueron puestos en contacto con ADN genómico obtenido de linfocitos humanos. La evaluación de la fragmentación genética se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa con bromuro de etidio al 1 %, observándose los resultados bajo luz ultravioleta mediante un sistema de registro de imágenes Biometra UVsolo TS.

En el análisis fitoquímico, el látex presentó principalmente alcaloides y aminoácidos en alta concentración (+++), además de lactonas y/o cumarinas en concentración moderada (++) y saponinas en baja concentración (+). Por su parte, el extracto hidroalcohólico de semillas mostró fenoles y/o taninos y saponinas en alta concentración (+++); asimismo, se encontraron alcaloides, azúcares reductores, aminoácidos, quinonas y glicósidos cardiotónicos en concentración moderada (++) , mientras que flavonoides, catequinas y triperpenos-esteroides estuvieron presentes en baja concentración (+).

Los resultados evidenciaron que el látex de papaya produjo un marcado efecto genotóxico sobre el ADN genómico humano desde concentraciones de 5 % hasta 100 %. En contraste, el extracto hidroalcohólico de semillas mostró un comportamiento inverso, debido a que la fragmentación del ADN disminuyó conforme aumentó la concentración del extracto. Se observó una mayor fragmentación en las concentraciones más bajas, específicamente de 5 mg/mL y 10 mg/mL.

En conclusión, el estudio determinó que tanto el látex como el extracto hidroalcohólico de semillas de *Carica papaya* L. generan un efecto genotóxico in vitro sobre el ADN genómico humano, aunque con un comportamiento diferente según la concentración utilizada.

2.2. Bases teóricas.

2.2.1. Características generales del género *Tillandsia*

El género *Tillandsia*, perteneciente a la familia Bromeliaceae, es considerado uno de los grupos más antiguos y especializados en la adaptación a condiciones xerofíticas dentro de esta familia. Su denominación fue establecida por Carl Linnaeus en homenaje al botánico finlandés Elías Tillands, quien destacó la capacidad de estas plantas para desarrollarse y sobrevivir en ambientes caracterizados por una limitada disponibilidad de agua (Vasconcelos, Vasconcelos, Ximénez, & Randau, 2013).

Actualmente, el género *Tillandsia* incluye más de 649 especies, las cuales presentan una amplia diversidad de características morfológicas y botánicas. La mayoría corresponde a plantas vasculares de hábito epífita o saxícola, capaces de desarrollarse sobre árboles, superficies rocosas, laderas e incluso estructuras artificiales, como cables del tendido eléctrico (Gardner, 1983).

Desde el punto de vista morfológico, las especies de *Tillandsia* presentan generalmente hojas estrechas, enteras y de forma ensiforme, mientras que sus flores se disponen en inflorescencias terminales simples o compuestas. Una característica importante de numerosas especies es la ausencia o reducción de las raíces como estructuras principales para la absorción de recursos. En su lugar, poseen tricomas epidérmicos especializados que facilitan la captación de agua atmosférica, minerales y determinados nutrientes orgánicos (Papini, Tani, Di Falco, & Brighigna, 2010).

En el continente americano, el género *Tillandsia* presenta una amplia distribución, principalmente en la región neotropical. Su presencia se extiende desde diversos países de América del Sur, entre ellos Chile, Brasil, Argentina y Perú, pasando por América Central, particularmente México, hasta alcanzar zonas del sudeste de América del Norte (Benzing & Bennett, 2000).

En relación a la composición química del género, se ha reportado la presencia de:

- Triterpenoides de tipo cicloartano
- Esteroles
- Metil y etil ésteres
- Flavonoles de tipo glucósidos
- Flavonoides (Henry IC, Charah T, Simone, Ngeh J, & Joseph, 2012).

En la medicina tradicional americana, las especies pertenecientes al género *Tillandsia* han sido empleadas con fines terapéuticos mediante el uso de sus estructuras aéreas, principalmente hojas y tallos. Estas partes de la planta se utilizan en la elaboración de

preparaciones tradicionales destinadas al tratamiento de diversas afecciones, entre ellas hemorroides, trastornos digestivos y cardiovasculares, reumatismo, hernias, epilepsia, diabetes, bronquitis, gastritis, artritis, fiebre, quemaduras y úlceras (Castillo y Juárez et al., 2009).

Respecto a su potencial farmacológico relacionado con el cáncer, se han desarrollado diversos estudios *in vitro* principalmente con *Tillandsia recurvata*. Los resultados han evidenciado actividad citotóxica tanto en extractos vegetales, como los obtenidos con metanol y cloroformo, como en metabolitos aislados, entre ellos triterpenos de tipo cicloartano, flavonoides y diésteres. Estos compuestos han mostrado efectos frente a diferentes líneas celulares tumorales correspondientes a leucemia, pulmón, colon, sistema nervioso central, melanoma, ovario, próstata y cáncer de mama.

Los efectos citotóxicos observados se han relacionado con mecanismos que incluyen la alteración del ciclo celular y la inducción de apoptosis, acompañada de un incremento en la actividad de las caspasas 3 y 9. Asimismo, se ha informado la presencia de fragmentación del ADN en células tumorales de próstata y la inhibición de determinadas quinasas, entre ellas CSNK2A2, MEK5, GAK, FLT y DRAK1 (Henry et al., 2012).

Por otro lado, investigaciones *ex vivo* realizadas mediante un modelo de anillo aórtico de rata han demostrado que *Tillandsia recurvata* puede inhibir el proceso de angiogénesis. Este mecanismo resulta relevante en el contexto tumoral, debido a que la formación de nuevos vasos sanguíneos permite proporcionar oxígeno y nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los tumores (Pineda, 2006).

2.2.2 *Tillandsia usneoides* descripción botánica y geográfica

Tillandsia usneoides presenta una morfología distintiva, debido principalmente a la falta de raíces funcionales. Su estructura está conformada por tallos largos, delgados, filiformes y de hábito colgante, sobre los cuales se distribuyen sus hojas de manera dispersa, con una longitud aproximada de 2 cm. Sus flores son solitarias y cuentan con pedúnculos reducidos. Las brácteas florales poseen márgenes sin pelos y una superficie dorsal cubierta de tricomas escamosos. Los sépalos miden aproximadamente 7 mm, mientras que los pétalos presentan una coloración amarillenta (Flórez y Arango, 2010).

Desde el punto de vista vegetativo, esta especie se desarrolla formando cadenas o frondas colgantes que pueden superar los 6 metros de longitud. Su reproducción puede darse mediante semillas o a través de fragmentos que se desprenden de la estructura original. Debido a la ausencia de raíces, la planta no requiere suelo para desarrollarse y obtiene los nutrientes necesarios directamente del ambiente. Además, produce flores

pequeñas y aromáticas, y su superficie está cubierta por numerosas escamas que le confieren una tonalidad grisácea o pardo-ferruginosa (Flórez y Arango, 2010).

Las hojas de *Tillandsia usneoides* son curvadas y delgadas, con forma de filamento, y presentan una longitud de entre 2 y 7 cm y un ancho aproximado de 1 a 2 mm. Estas están recubiertas por tricomas escamosos que les proporcionan su característico aspecto gris plateado. Las vainas son de forma elíptica e involuta y alcanzan hasta 8 mm de longitud, mientras que las láminas son filiformes y tienen un diámetro inferior a 1 mm. El escapo es prácticamente inexistente y la inflorescencia está constituida por una sola flor. La bráctea floral puede ser ovada, apiculada o caudada, presenta abundantes escamas y es más corta que los sépalos. Las flores son subsésiles, con sépalos ovados y agudos de aproximadamente 7 mm de longitud, de consistencia membranácea, superficie glabra y unidos ligeramente en la base. Los pétalos son estrechos, miden cerca de 1 cm y generalmente presentan una tonalidad verde pálida, aunque ocasionalmente pueden ser azulados. Los estambres se encuentran profundamente incluidos y son de mayor longitud que el pistilo. Finalmente, el fruto corresponde a una cápsula cilíndrica de hasta 2,5 cm de longitud, que termina de manera abrupta en un pequeño pico (Rasal, 2011).

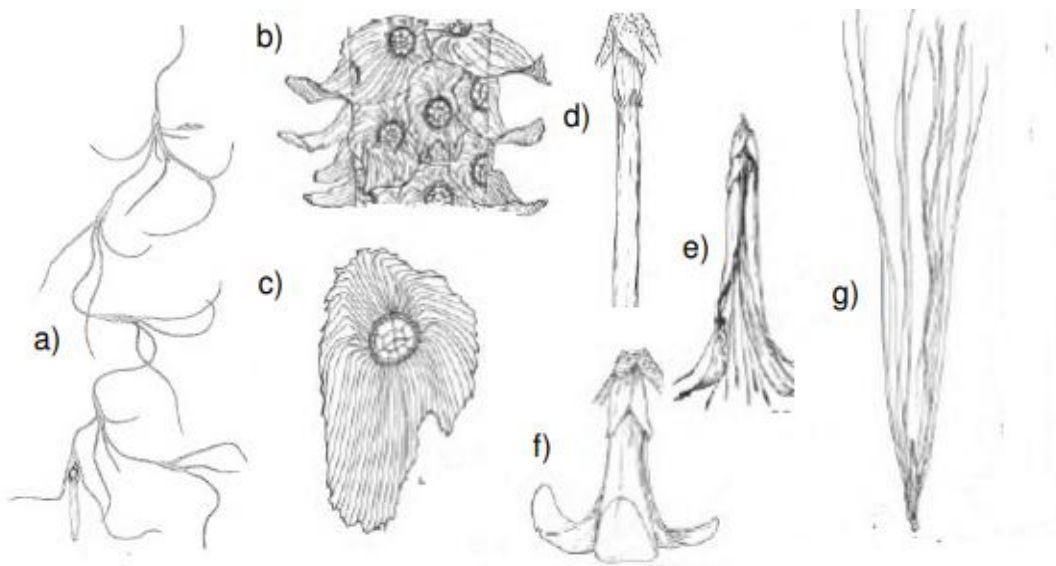


Figura 1. Características morfológicas de *Tillandsia usneoides* ("barba de viejo").

a) hojas lineares y filiformes, de 2- 7 cm de largo, b) y c) tricomas, d) y e) vainas elípticas, f) flor, g) estambres. Modificado de Hansford et al., 1973. Nota: Figura tomada de Hansford (1973).

Tillandsia usneoides no presenta una xilema funcional debido a la ausencia de raíces. La absorción de agua se realiza mediante escamas o tricomas distribuidos prácticamente por toda la superficie de la planta, excepto en algunas estructuras florales. Estas estructuras especializadas pueden ser unicelulares o multicelulares y presentan una forma semejante a un clavo, formando un escudo dispuesto horizontalmente sobre la superficie foliar, acompañado de un eje vertical que se introduce en el mesófilo.

Cuando la planta pierde humedad, sus hojas adquieren una tonalidad grisácea, debido a que el aire queda retenido entre las escamas. En cambio, al hidratarse, el aire es sustituido por agua y las hojas adquieren una coloración verde oscuro (Wagner et al., 2004).

2.2.2. Clasificación taxonómica

Tabla 1. Clasificación Taxonómica de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”

Reino	: Vegetal
Subreino	: Spermatophyta
Phyllum	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida (Monocotiledóneas)
Sub clase	: Zingiberidae
Orden	: Bromeliales
Familia	: Familia: Bromeliaceae
Género	: <i>Tillandsia</i> L.
Especie	: <i>Tillandsia usneoides</i>
Nombres comunes	: En Perú: barba del viejo, pelo de bruja, barbasco, salvajina y huayhuaco. En Cuba: heno, paste, salvajino, guajaca, cuarque. En Colombia barba del viejo y pelo de bruja. En México: agavepalo, en Chile: barbón o heno (Rundel & Dillon, 1998)

2.2.3. Composición química

Los primeros trabajos científicos destinados a conocer la composición química de *Tillandsia usneoides* se realizaron en 1927. En ese año, Schorger reportó la presencia de clorofila y de un compuesto de naturaleza esterólica en un extracto etanólico de esta especie. Posteriormente, Djerassi y McCrindle (1962) identificaron 15 triterpenoides pertenecientes al grupo de los cicloartanos, hallazgo que más adelante fue confirmado por Atallah y Nicholas (1971).

Más adelante, en 1977, Lewis y Mabry comunicaron el aislamiento del primer flavonoide identificado en *T. usneoides*, correspondiente al compuesto 3,6,3',5'-tetrametoxi-5,7,4'-trihidroxi-flavona. Este resultado fue posteriormente corroborado por Williams (1978). Asimismo, Wollenweber et al. (1992) contribuyeron a ampliar el conocimiento de los flavonoides presentes en la especie al identificar la miricetina 3,7,3'-tetrametil éter. En conjunto, las investigaciones realizadas permitieron establecer que *T. usneoides* presenta una composición química en la que destacan principalmente los triterpenoides de tipo cicloartano y diversos flavonoides. Estos hallazgos constituyeron una base para el desarrollo de posteriores estudios destinados a evaluar sus propiedades biológicas y su posible aplicación farmacológica. De igual manera, las investigaciones realizadas por Cabrera et al. (1995, 1996 y 1997) corroboraron la presencia de triterpenoides pertenecientes al grupo de los cicloartanos.

2.2.4. Usos tradicionales y farmacológicos

La *Tillandsia usneoides* se utiliza en América del Norte, Central y del Sur para el tratamiento de hemorroides, gastritis, hernias, artritis, úlceras, epilepsia, dolor de garganta y diabetes. En Colombia, los indígenas Senúes de la región de Urabá la utilizan para el resfriado (Flórez Márquez & Arango, 2010).

Además de sus usos terapéuticos, *Tillandsia usneoides* también se utiliza como adorno en pesebres y como planta ornamental en jardines.

2.3. Aspecto microbiológico

2.3.1. Microorganismos

Los microorganismos son seres vivos diminutos, invisibles a simple vista, que poseen una estructura biológica básica y una actividad metabólica propia. Su tamaño microscópico los define como organismos unicelulares con una organización biológica elemental (Castillo y Andino, 2010).

En general, los microorganismos asociados con productos de origen animal son mesófilos, es decir, que se desarrollan óptimamente a temperaturas moderadas. El rango de temperatura ideal para su crecimiento varía según el tipo de microorganismo. Por ejemplo, *Salmonella* crece entre 7 y 45 °C, *Clostridium perfringens* entre 15 y 50 °C, y los *Staphylococcus* entre 10 y 45 °C (Madigan et al., 2015).

2.3.2. Escherichia coli

La *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa de tamaño mediano (0,3-1,0 x 1,0-6,0 µm), generalmente móvil con flagelos, que no forma esporas. Puede crecer en presencia o ausencia de oxígeno y normalmente se observa crecimiento después de 18 a 24 horas de incubación en diversos medios selectivos. Esta bacteria tiene necesidades

nutricionales simples, fermenta la glucosa, reduce el nitrato y es catalasa y oxidasa positiva. *Escherichia coli* es una de las bacterias más abundantes en el intestino de los mamíferos. Aunque normalmente es inofensiva, algunas cepas de *Escherichia coli* pueden causar enfermedades alimentarias, ya sea por infección directa o por la producción de toxinas una vez que invaden el intestino del huésped (Madigan *et al.*, 2015).

Estas cepas patógenas se clasifican según sus factores de virulencia únicos y cada grupo provoca enfermedades mediante mecanismos diferentes. Sus propiedades de adherencia a las células epiteliales del intestino delgado y grueso están codificadas por genes ubicados en plásmidos, al igual que la producción de toxinas.

Las principales cepas patógenas de *Escherichia coli* son:

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC): Responsable de la "diarrea del viajero", causa diarrea acuosa y poca fiebre, coloniza la parte superior del intestino delgado (Matthews y Montville, 2009).
- *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): Causa diarrea acuosa en lactantes. Produce vómitos, fiebre y diarrea acuosa con moco, pero sin sangre. Coloniza las microvellosidades del intestino, produciendo la lesión característica de "adhesión y erosión" en el borde de las vellosidades.
- *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC): Provoca diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopenia. Dentro de este grupo se encuentra *E. coli* verotoxígeno (VTEC), también conocido como *Escherichia coli* productor de toxina Shiga o (STEC), con serotipos O157, O26, O111 (Matthews y Montville, 2009).
- *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC): Causa diarrea acuosa persistente, especialmente en niños, que dura más de 14 días. Se cree que EAEC se adhiere a la mucosa intestinal y produce enterotoxinas y citotoxinas que causan diarrea y lesiones en la mucosa (Matthews y Montville, 2009).
- *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC): Provoca fiebre y diarrea profusa con heces que contienen moco y sangre.
- *Escherichia coli* difusivamente adherente (DAEC): Algunos estudios la asocian, aunque no siempre, con diarrea en niños.
- *Escherichia coli* O157:H7 surgió como patógeno en 1982. Los primeros casos se relacionaron con el consumo de productos de origen vacuno, pero recientemente, algunas cepas patógenas se han asociado con frutas y verduras contaminadas. Los factores ambientales, como el agua y la procedencia, o las

prácticas de gestión de las granjas, como la manipulación del abono, pueden influir en la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7. Esta bacteria puede sobrevivir durante semanas o meses en los excrementos de bovinos y en el agua (Matthews y Montville, 2009).

- *Escherichia coli* ATCC-13706 es una cepa específica de *Escherichia coli* que destaca por su uso como huésped para la propagación de bacteriófagos, especialmente el bacteriófago Phi X174 (ATCC 13706-B1) y el bacteriófago E1 (ATCC-13706-B4). Esta cepa se utiliza en investigaciones que se centran en el estudio de la interacción entre bacteriófagos y bacterias, la caracterización de nuevos bacteriófagos, el desarrollo de terapias antibacterianas basadas en fagos, y la investigación de mecanismos de resistencia a antibióticos.
- La capacidad de ATCC-13706 para servir como huésped para la propagación de bacteriófagos se debe a su susceptibilidad a la infección por estos virus. Esto la convierte en una herramienta invaluable para la investigación en bacteriología y virología. Además, la cepa ATCC-13706 se utiliza en pruebas con películas de polietileno y en la detección de coliformes en el agua, lo que amplía su relevancia en campos como la seguridad alimentaria y la salud pública. En resumen, las características especiales que hacen que *Escherichia coli* ATCC-13706 sea relevante para la investigación son:
- Su uso en diversas aplicaciones: Se utiliza en pruebas con películas de polietileno, detección de coliformes en el agua y como huésped para la propagación de bacteriófagos (Nada, et al, 2018).

Es importante destacar que la cepa ATCC-13706 no es patógena y se utiliza en investigación científica, mientras que otras cepas de *Escherichia coli* pueden ser patógenas y causar enfermedades en humanos. Estas características hacen de ATCC-13706 una herramienta valiosa en la investigación científica, especialmente en los campos de la bacteriología, virología, seguridad alimentaria y salud pública (Nada, et al, 2018).

2.3.3. Características del ADN bacteriano

Las bacterias se caracterizan por presentar una elevada capacidad de adaptación frente a diversas condiciones del entorno. Esta característica está determinada por sus bases genéticas, las cuales permiten comprender los procesos relacionados con la regulación y expresión de sus genes, la organización de su material genético y los mecanismos mediante los cuales pueden producirse modificaciones genéticas. En el caso de las bacterias patógenas, su capacidad para provocar infecciones depende de la información genética que poseen, ya que esta les permite invadir los tejidos del huésped y producir

sustancias capaces de generar enfermedades. No obstante, el conocimiento de sus mecanismos genéticos, sumado a su rápido crecimiento y a la facilidad para ser manipuladas en el laboratorio, permite aprovecharlas en el desarrollo de productos de utilidad médica, especialmente en la prevención y diagnóstico de enfermedades (Betancor, 1996).

2.3.3.1. Estructura del ADN bacteriano

En las bacterias, la información genética se encuentra principalmente en una molécula de ADN circular de doble cadena, cerrada mediante enlaces covalentes, denominada cromosoma bacteriano. Además, muchas especies bacterianas contienen material genético adicional fuera del cromosoma, conocido como ADN plasmídico, el cual está presente en estructuras llamadas plásmidos. Desde el punto de vista bioquímico, los ácidos nucleicos bacterianos presentan una composición y organización semejantes a las de otras células. El primer grupo fosfato se enlaza al nucleósido mediante un enlace éster con el grupo hidroxilo ubicado en el carbono 5' de la pentosa. Posteriormente, los nucleótidos se unen entre sí mediante enlaces fosfodiéster, originando cadenas de polinucleótidos. Este enlace se forma entre el fosfato unido al carbono 5' de un nucleótido y el grupo hidroxilo del carbono 3' del nucleótido siguiente (Rojas, 2018).

El ADN está formado por dos cadenas de nucleótidos que contienen cuatro bases nitrogenadas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Estas bases presentan un apareamiento específico mediante puentes de hidrógeno: la adenina se une con la timina y la guanina con la citosina. La unión entre adenina y timina se produce mediante dos puentes de hidrógeno, mientras que entre guanina y citosina se establecen tres. Estas asociaciones forman los denominados pares de bases.

Cada nucleótido está compuesto por una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato. La unión sucesiva de estos elementos origina dos cadenas largas que se enrollan entre sí y forman la característica doble hélice del ADN. Esta estructura puede representarse de manera semejante a una escalera, en la que los pares de bases corresponden a los peldaños, mientras que las cadenas de azúcar y fosfato constituyen los laterales.

Químicamente, las bases nitrogenadas se dividen en purinas, representadas por la adenina y la guanina, y pirimidinas, constituidas por la citosina y la timina. En el ARN, la timina es sustituida por uracilo (U).

Los pares de bases también permiten expresar y medir el tamaño de las moléculas de ADN, especialmente en organismos cuyo material genético es extenso. En este sentido,

el ADN cromosómico de *Escherichia coli* constituye un ejemplo de molécula cuya longitud puede describirse utilizando pares de bases.

El genoma de *Escherichia coli* presenta aproximadamente 4,2 millones de pares de bases (pb), lo que corresponde a cerca de 4.200 kilobases (Kb) (Rojas, 2018).

En las células bacterianas, el ADN genómico se encuentra ubicado en una región especializada denominada nucleoide, donde el material genético permanece organizado y compactado. En *Escherichia coli*, el cromosoma bacteriano está conformado principalmente por ADN, el cual se encuentra asociado con moléculas de ARN y diferentes proteínas. La estructura del nucleoide se establece mediante la compactación y organización de una molécula única de ADN cromosómico, proceso en el que participan proteínas asociadas al cromosoma, ARN y el superenrollamiento del ADN. Estos mecanismos permiten que el material genético se mantenga adecuadamente condensado dentro del reducido espacio celular, sin perder su funcionalidad.

Con la finalidad de ampliar el conocimiento sobre las características genéticas y moleculares de esta bacteria, se llevó a cabo la secuenciación del genoma de *Escherichia coli* O157, una cepa reconocida por su importancia patogénica. El estudio de su genoma permitió detectar 1.387 genes anteriormente no identificados, entre los cuales se encontraron posibles elementos relacionados con la virulencia, nuevas rutas o capacidades metabólicas, secuencias correspondientes a distintos profagos y otras funciones genéticas que no habían sido descritas previamente. Estos hallazgos representan elementos de interés para investigaciones orientadas a la vigilancia, caracterización y seguimiento de esta bacteria (Verma et al., 2019).

2.3.4. Extracción del ADN bacteriano

La extracción de ácidos nucleicos, particularmente del ADN, constituye una técnica esencial dentro de la biología molecular, ya que permite separar este material genético de los demás componentes celulares con el propósito de realizar análisis o procedimientos posteriores. En el presente estudio se llevó a cabo la extracción de ADN a partir de una cepa pura de *Escherichia coli*. Para ello, se realizaron cultivos en caldo Müller Hinton con la finalidad de obtener un banco de ADN genómico destinado a diversas evaluaciones. Esta metodología permite obtener de manera rápida ADN de adecuada calidad a partir de la cepa estudiada.

El procedimiento comienza con la homogeneización de la cepa, etapa en la que se busca facilitar la ruptura de las estructuras celulares. Posteriormente, se emplean detergentes que permiten alterar y romper la membrana celular, favoreciendo la liberación de los ácidos nucleicos. Este proceso requiere una acción suficientemente

intensa para conseguir la fragmentación del tejido y la lisis celular, procurando al mismo tiempo conservar la integridad del material genético (Rojas, 2018).

A continuación, los componentes celulares restantes y las proteínas son eliminados mediante la incorporación de una solución destinada a su precipitación. Después de realizar la centrifugación, se recupera el sobrenadante que contiene los ácidos nucleicos. Estos son posteriormente precipitados utilizando isopropanol, sometidos a un lavado con etanol al 70 % y, finalmente, hidratados para su conservación y utilización posterior. En conjunto, el aislamiento de ácidos nucleicos comprende una secuencia de etapas cuidadosamente desarrolladas que permiten obtener ADN de buena calidad para su aplicación en estudios de biología molecular (Rojas, 2018).

2.3.5. Toxicidad y genotoxicidad

2.3.5.1. Toxicidad

La toxicidad es la capacidad que tiene una sustancia, ya sea de origen natural o artificial, para generar efectos perjudiciales en un organismo vivo cuando este entra en contacto con ella. Por ello, se considera tóxica cualquier sustancia capaz de provocar alteraciones o daños en los seres vivos como consecuencia de dicha exposición (AETOX, 2024).

2.3.5.2. Genotoxicidad

La genotoxicidad hace referencia a cualquier alteración o daño que afecta al material genético de las células. Las mutaciones genéticas se originan a partir de modificaciones en el ADN que, una vez fijadas, pueden ser transmitidas a las siguientes generaciones. Estas alteraciones pueden presentarse tanto a nivel numérico como estructural en los cromosomas. Debido a ello, los cambios cromosómicos constituyen un factor relevante en la aparición de alteraciones hereditarias, entre ellas diversas enfermedades genéticas humanas y procesos relacionados con el desarrollo del cáncer. Asimismo, las mutaciones pueden generar efectos adversos sobre la salud, incluyendo alteraciones durante el desarrollo, enfermedades cutáneas, envejecimiento, trastornos hematológicos y óseos, además de problemas relacionados con la fertilidad. Por otra parte, las mutaciones somáticas pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de procesos cancerígenos. En este contexto, determinadas sustancias químicas pueden favorecer la aparición de alteraciones genéticas, razón por la cual se han desarrollado numerosos ensayos destinados a evaluar su potencial genotóxico (Paz et al., 2002).

Las características físicas y químicas de los agentes genotóxicos no solo les permiten interactuar con el ADN, sino también reaccionar con el ARN, las proteínas y otras moléculas nucleofílicas presentes en las células. Por esta razón, sus efectos no se

limitan al ámbito genético, sino que también pueden provocar alteraciones fisiológicas y efectos tóxicos en el organismo. Debido a la diversidad de respuestas que pueden generar estos agentes, su evaluación suele abordarse desde una perspectiva de riesgo comparativo o relativo, en lugar de plantear únicamente una caracterización probabilística asociada con una enfermedad específica (Paz et al., 2022).

2.3.5.3. Agente genotóxico

Se consideran agentes genotóxicos aquellos de naturaleza química, física y biológica.

Los daños que afectan al material genético pueden clasificarse en diferentes categorías:

- a) Mutaciones puntuales o génicas:
Son alteraciones que afectan la secuencia de nucleótidos en uno o pocos segmentos codificantes de un gen. Estos cambios pueden presentarse de las siguientes formas:
 - Sustitución de pares de bases: puede producirse debido a la incorporación de análogos de bases durante la replicación del ADN, modificaciones químicas de las bases nitrogenadas, unión de sustancias químicas a estas o alteraciones espontáneas.
 - Adición o delección de bases: estos cambios pueden originarse de manera espontánea o ser inducidos por procesos mutagénicos y por mecanismos de reparación del ADN (Peña y cols., 2012).
- b) Mutaciones cromosómicas:
Corresponden a alteraciones en la estructura y organización normal de los cromosomas. Generalmente, se originan como consecuencia de rupturas, deleciones, intercambios o reorganizaciones del material cromosómico durante el ciclo celular. Entre sus principales manifestaciones se encuentran las inversiones de segmentos cromosómicos y las translocaciones, que consisten en el desplazamiento de material genético de un cromosoma a otro (Peña y cols., 2012).
- c) Mutaciones genómicas:
Se caracterizan por modificaciones en el número de cromosomas que conforman un genoma. En una célula diploide, la incorporación de un cromosoma adicional da lugar a una trisomía, mientras que la pérdida de uno produce una monosomía. Estas alteraciones pueden originarse por la pérdida de cromosomas durante la división celular, como consecuencia de aberraciones cromosómicas o debido a una distribución irregular de las cromátidas entre las células hijas (Peña y cols., 2012).

d) Otros efectos sobre el ADN:

Además de las mutaciones, existen otros tipos de lesiones primarias que pueden afectar al ADN, entre las que se incluyen:

- Reparación del ADN: Mecanismos celulares para corregir errores en la secuencia de ADN.
- Recombinaciones mitóticas: intercambio de material genético entre cromosomas durante la mitosis.
- Conversión génica en mitosis: Transferencia de información genética de un cromosoma a otro durante la mitosis.
- Intercambio de cromátidas hermanas: intercambio de material genético entre cromátidas hermanas durante la mitosis (Peña y Cols, 2012).

2.3.5.4. Mecanismos de genotoxicidad

Las sustancias genotóxicas pueden provocar daños en el ADN mediante dos mecanismos principales: por interacción directa con la molécula de ADN o mediante la alteración de las enzimas que intervienen en su replicación. Estas alteraciones pueden generar mutaciones y, en determinadas circunstancias, favorecer el desarrollo de procesos cancerígenos (Bello, 2001).

Por su parte, los compuestos carcinógenos y mutágenos son sustancias químicas altamente reactivas que presentan una marcada afinidad por el ADN. Entre ellos se encuentran derivados de compuestos orgánicos, como los epóxidos, las lactonas y diversos compuestos nitrogenados o halogenados; asimismo, existen compuestos inorgánicos como el uranio, el cromo y el níquel.

Las sustancias genotóxicas pueden inducir mutaciones a través de diferentes modificaciones en los nucleótidos, entre las que se pueden mencionar:

- Sustitución de una base púrica por otra base púrica.
- Sustitución de una base pirimidínica por otra pirimidínica, o de una base púrica por una pirimidínica y viceversa.
- Sustitución de una base por un nucleótido análogo que no resulta funcional para la replicación del ADN.
- Incorporación de grupos químicos a las bases nitrogenadas del ADN mediante enlaces covalentes, dando lugar a la formación de aductos, así como modificaciones químicas de las bases ocasionadas por procesos de oxidación o desaminación.

- Adición o pérdida de bases nitrogenadas, lo que puede ocasionar errores durante la lectura y replicación del código genético (Bello, 2001).

Asimismo, las sustancias genotóxicas pueden ocasionar aberraciones cromosómicas, entre las cuales se incluyen:

- Alteraciones en el número de cromosomas.
- Daño estructural de los cromosomas, manifestado mediante deleciones, roturas, translocaciones o reorganizaciones del material cromosómico (Bello, 2001).

Después de que el ADN se daña, la célula puede seguir tres caminos:

- Transmisión de la mutación: La replicación del ADN con nucleótidos alterados puede transmitir la mutación, lo que puede llevar a cáncer o malformaciones congénitas en el recién nacido, y aumentar la susceptibilidad a ciertas enfermedades congénitas.
- Reparación del daño: La célula puede reparar el daño molecular del ADN, evitando la mutación.
- Muerte celular: La célula puede morir por apoptosis, impidiendo la replicación. (Bello, 2001).

Los agentes capaces de desencadenar las etapas iniciales del proceso de carcinogénesis se denominan carcinógenos genotóxicos, debido a su capacidad para generar alteraciones en el material genético, incluso cuando el daño se produce inicialmente en una sola célula. Estas alteraciones pueden surgir durante el metabolismo de un xenobiótico, proceso en el que una sustancia procarcinógena puede convertirse en un compuesto con potencial carcinogénico. Asimismo, estos agentes pueden alterar los mecanismos responsables de la reparación del ADN o estimular la proliferación celular.

Esta fase inicial del desarrollo carcinogénico se conoce como iniciación y se caracteriza por la aparición de modificaciones genéticas que pueden persistir en las células afectadas. Entre los principales carcinógenos genotóxicos se encuentran diversas sustancias químicas, entre ellas las nitrosaminas, las especies reactivas de oxígeno, los agentes alquilantes, las aflatoxinas y algunos productos derivados de la combustión, entre otros.

El mecanismo genotóxico de determinados compuestos consiste en su interacción directa con el ADN mediante la formación de enlaces covalentes con las bases nitrogenadas, especialmente con el nitrógeno ubicado en la posición 7 de la guanina. Esta interacción puede provocar la formación de aductos de ADN, generando modificaciones estructurales que, cuando no son reparadas de manera adecuada,

pueden originar mutaciones permanentes y contribuir al proceso de transformación celular.

Entre las principales características de los carcinógenos genotóxicos destaca su capacidad para interactuar con el ADN, generar lesiones o modificaciones en el material genético y favorecer la aparición de mutaciones. Por ello, pueden estar involucrados en las primeras etapas de la carcinogénesis.

Entre las principales características de los carcinógenos genotóxicos se encuentran:

- Correlación estructura-actividad: permite identificar o predecir su actividad mediante diferentes ensayos experimentales.
- Procarcinógenos: la mayoría de los carcinógenos genotóxicos corresponden a procarcinógenos, entre ellos los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las aminas aromáticas y las micotoxinas. Su mecanismo de acción requiere, en muchos casos, una biotransformación metabólica que permita generar especies capaces de reaccionar con el ADN. Este proceso puede desarrollarse durante la Fase I o la Fase II del metabolismo (Carballo, 2011).

2.3.5.5. Evaluación genotóxica

La genotoxicología es la rama de la toxicología que estudia los efectos que producen los agentes genotóxicos, como determinadas sustancias químicas y radiaciones, sobre el material genético. Estos agentes pueden ocasionar diferentes tipos de alteraciones, entre las que se encuentran:

- Mutaciones génicas: modificaciones en la secuencia del ADN, que pueden producirse por sustitución, adición o delección de bases nitrogenadas.
- Aberraciones cromosómicas: cambios en la estructura o en el número de los cromosomas, como translocaciones, delecciones, inversiones, aneuploidías y poliploidías.
- Daño directo al ADN: alteraciones químicas de la molécula de ADN, entre ellas la alquilación de bases, la intercalación y la formación de aductos.
- Alteraciones en los mecanismos de reparación del ADN: afectación de los sistemas celulares encargados de reparar el material genético, lo que puede incrementar la sensibilidad de las células frente a agentes mutagénicos.
- Eventos de recombinación mitótica: procesos de intercambio de material genético entre cromosomas durante la mitosis que pueden ser inducidos por agentes genotóxicos (Miranda, 2013).

Los estudios de genotoxicidad tienen como finalidad identificar el daño ocasionado por un determinado compuesto, establecer el nivel de organización del material genético que resulta afectado y determinar las posibles consecuencias que la exposición a

agentes mutagénicos puede generar sobre la salud humana. En este contexto, se reconocen cuatro niveles de daño:

- Nivel I: mutación génica.
- Nivel II: mutación cromosómica.
- Nivel III: daño primario del ADN.
- Nivel IV: transformaciones celulares.

Para la evaluación de estos niveles de daño se emplean protocolos estandarizados y validados internacionalmente, en los cuales se consideran factores como la dosis, el tipo de exposición y la vía de administración del agente genotóxico (Miranda, 2013).

En la actualidad, la identificación de alteraciones genéticas y de compuestos con potencial genotóxico puede realizarse mediante diferentes tipos de ensayos, entre ellos:

- Pruebas con microorganismos: permiten determinar la capacidad de un compuesto para inducir mutaciones.
- Pruebas in vitro: se desarrollan utilizando células cultivadas para analizar los efectos de los compuestos sobre el ADN.
- Pruebas bioquímicas: permiten identificar modificaciones en la estructura o composición del ADN.
- Pruebas in vivo con animales: se emplean para evaluar los efectos de determinados compuestos en organismos vivos.
- Pruebas con células o vegetales: permiten analizar los efectos de los agentes genotóxicos en distintos tipos celulares y organismos vegetales.
- Pruebas con roedores: se utilizan para estudiar las posibles consecuencias de la exposición a determinados compuestos sobre la salud de estos animales (Miranda, 2013).

En conjunto, estas pruebas permiten identificar y caracterizar el daño molecular ocasionado por los agentes genotóxicos, contribuyendo a la evaluación de sus posibles efectos biológicos y riesgos para la salud.

2.3.6. Electroforesis en gel de agarosa

La electroforesis es una técnica ampliamente empleada para el análisis y la caracterización de ácidos nucleicos provenientes de diversas fuentes. Su fundamento consiste en separar moléculas con carga eléctrica mediante su migración a través de un gel de agarosa sometido a un campo eléctrico. De esta manera, las moléculas de ADN se desplazan a diferentes velocidades en función de sus características, principalmente de su tamaño. Para estimar la longitud de los fragmentos obtenidos, se utilizan marcadores de peso molecular con tamaños previamente conocidos (Guzmán, 2008).

Durante el proceso de electroforesis, las moléculas atraviesan una matriz porosa bajo la acción de un campo eléctrico, lo que permite su separación de acuerdo con su tamaño o peso molecular. Posteriormente, los fragmentos son teñidos con colorantes que facilitan su visualización, permitiendo identificar y analizar el patrón de bandas generado. La electroforesis horizontal se emplea principalmente para el estudio de ADN y ARN, mientras que la modalidad vertical puede utilizarse para el análisis de ácidos nucleicos y proteínas. Asimismo, existen otras modalidades, como la electroforesis bidimensional, utilizada principalmente en estudios especializados de proteínas, y la electroforesis en campo pulsado, que resulta particularmente útil para la separación de fragmentos grandes de ADN genómico.

Además, la electroforesis puede combinarse con técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la hibridación, ampliando sus aplicaciones en el campo de la salud y la investigación científica. Entre sus principales utilidades se encuentran la visualización de fragmentos de ADN y ARN de determinados patógenos, la identificación de proteínas y la detección de mutaciones o modificaciones genéticas, entre otras aplicaciones relevantes para el diagnóstico y la investigación (Guzmán, 2008).

2.3.7. Electroforesis en gel de agarosa

La electroforesis es una técnica ampliamente utilizada para analizar y caracterizar ácidos nucleicos de diferentes fuentes. Esta técnica se basa en la separación de moléculas cargadas en un gel de agarosa mediante la aplicación de un campo eléctrico, lo que permite separar las moléculas de acuerdo a su tamaño y carga eléctrica. Las moléculas de ADN se desplazan de manera diferente en el gel durante la electroforesis, y el tamaño del ADN se puede determinar utilizando marcadores de peso molecular de tamaño conocido (Guzmán, 2008).

En la electroforesis, las moléculas se separan en función de su tamaño o peso molecular al migrar a través de un gel poroso bajo la influencia de un campo eléctrico. Para monitorear la separación de las moléculas, se tiñen con colorantes y se establece un patrón de fragmentos para facilitar la visualización y posterior análisis e interpretación de las bandas resultantes. La electroforesis horizontal se utiliza comúnmente para el análisis de ADN y ARN, mientras que la electroforesis vertical permite analizar tanto moléculas de ADN como proteínas. Además, existen variantes de la técnica, como la electroforesis bidimensional para el análisis avanzado de proteínas y la electroforesis en campo pulsado, especialmente útil para separar fragmentos grandes de ADN genómico. La electroforesis, al combinarse con otras técnicas como PCR e hibridación, resulta muy beneficiosa en aplicaciones de salud. Permite visualizar bandas de ARN o ADN de patógenos, identificar nuevas proteínas, detectar mutaciones genéticas y

cambios, entre otras aplicaciones significativas en investigación y diagnóstico (Guzmán, 2008).

2.3.8. Espectrofotometría

La espectrofotometría UV-Visible es una técnica analítica basada en la capacidad de las moléculas para absorber radiación electromagnética a determinadas longitudes de onda. La cantidad de radiación absorbida guarda una relación directamente proporcional con la concentración de la sustancia presente en una solución, lo que permite determinar cuantitativamente la concentración de diversos compuestos. Para efectuar estas mediciones se emplea un espectrofotómetro, equipo que permite seleccionar la longitud de onda de la radiación que atraviesa la muestra y cuantificar la cantidad de luz absorbida (Lock, 1994).

El ADN presenta la particularidad de absorber radiación principalmente a una longitud de onda de 260 nm, propiedad que permite estimar su concentración en una muestra. Una densidad óptica (OD) de 1 a 260 nm equivale aproximadamente a una concentración de 50 µg/mL de ADN. Por ello, la concentración del ADN puede determinarse mediante la medición de su absorbancia a 260 nm, sin necesidad de elaborar una curva patrón. Asimismo, la relación entre las absorbancias obtenidas a 260 y 280 nm constituye un indicador de la pureza del ADN. Los valores comprendidos entre 1,8 y 2,0 son considerados indicativos de una muestra de ADN con un adecuado grado de pureza. En cambio, valores inferiores pueden sugerir la presencia de sustancias contaminantes, principalmente proteínas, debido a que estas presentan una absorción máxima cercana a 280 nm, asociada especialmente a los residuos de triptófano. En este sentido, la espectrofotometría constituye uno de los métodos más utilizados para la cuantificación inicial del ADN (Lock, 1994).

2.3.9. Evaluación de la genotoxicidad mediante ensayos *in vitro*.

Existen diversos ensayos empleados para determinar la capacidad de una sustancia de producir alteraciones o daños en el ADN, es decir, para evaluar su potencial genotóxico. Estas pruebas se fundamentan en distintos mecanismos y pueden realizarse utilizando diferentes tipos de células.

- Test de Ames: Este ensayo emplea cepas de la bacteria *Salmonella typhimurium* que presentan mutaciones que les impiden desarrollarse en determinados medios de cultivo. Cuando la sustancia evaluada posee actividad genotóxica, puede inducir una reversión de dicha mutación, permitiendo el crecimiento bacteriano. El número de colonias que se desarrollan permite estimar el potencial mutagénico de la sustancia evaluada (Bailón, 2005).

- **Ensayo de micronúcleos:** Se realiza principalmente en células de mamíferos y permite identificar alteraciones cromosómicas. Cuando se producen fragmentaciones del ADN o una segregación cromosómica incorrecta durante la mitosis, pueden formarse estructuras nucleares pequeñas denominadas micronúcleos. Un incremento en la frecuencia de estos micronúcleos puede indicar la presencia de daño genotóxico ocasionado por la exposición a un determinado agente (Bailón, 2005).
- **Ensayo de mutación génica en células de mamífero:** Esta prueba comparte ciertos principios con el test de Ames, pero se desarrolla utilizando células de mamíferos que presentan mutaciones en genes como *hprt* o *xprt*. La exposición a una sustancia genotóxica puede generar modificaciones en el material genético que permiten la aparición de células mutantes detectables mediante condiciones de cultivo específicas (Bailón, 2005).
- **Ensayo cometa:** También denominado electroforesis de células individuales, constituye una técnica rápida, sensible y relativamente sencilla para detectar daños en el ADN a nivel de células individuales. El procedimiento se fundamenta en la migración del ADN, que posee carga eléctrica negativa, a través de un gel de agarosa cuando se encuentra sometido a un campo eléctrico. El grado de migración del material genético está relacionado con la magnitud del daño producido en el ADN (Bailón, 2005).

En conjunto, estos ensayos constituyen herramientas relevantes para la evaluación del potencial genotóxico de diversas sustancias, ya que permiten identificar alteraciones en el material genético y aportar información sobre sus posibles efectos biológicos y riesgos asociados para la salud humana (Bailón, 2005).

Tabla 2. Tipos de daño al ADN detectados mediante el ensayo cometa según el pH de electroforesis

PH	Medición del ensayo
7-8	Rotura de doble cadena, entrecruzamiento
12,1	Rotura de simple cadena, sitios de escisión de reparación, entrecruzamiento
12,5	Rotura de simple cadena, sitios de escisión de reparación, sitios álcalis débil, entrecruzamiento
>13	Rotura de simple cadena, sitios de escisión de reparación, sitios álcalis débil, entrecruzamiento

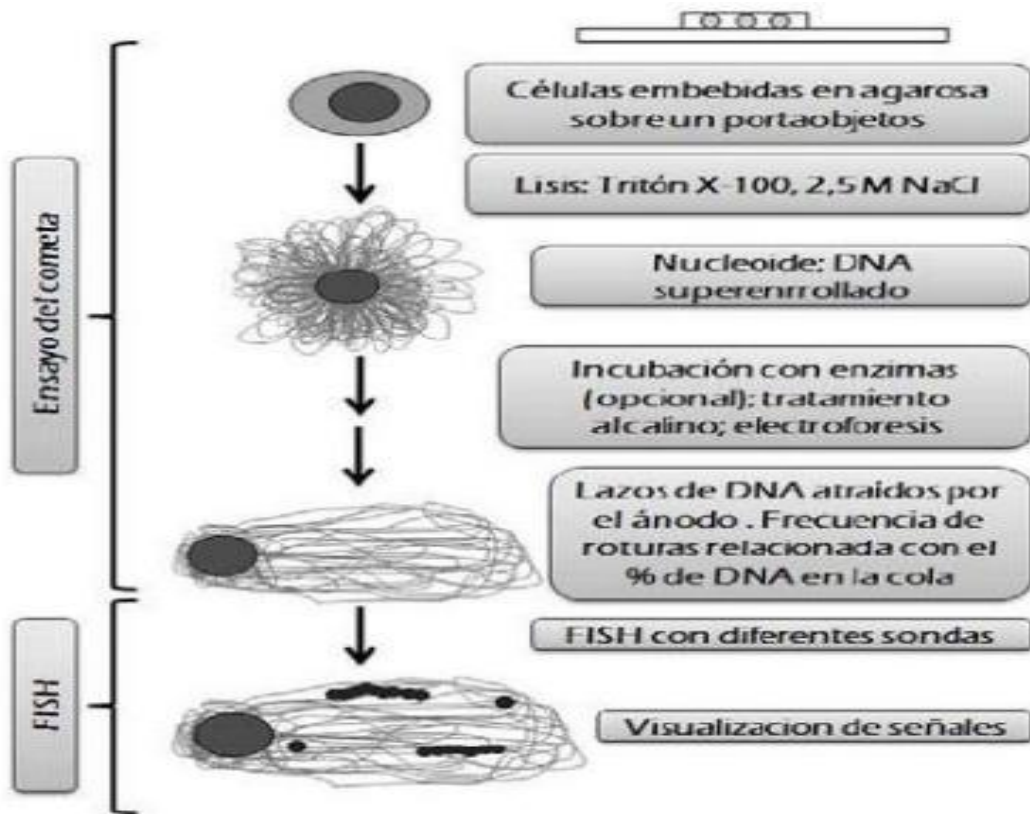


Figura 2 Representación esquemática de la formación de la cola del cometa en condiciones alcalinas. **Nota:** Figura tomada de Shaposhnikov (2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Este trabajo de investigación se desarrolló en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante el período comprendido entre diciembre de 2024 y mayo de 2025. El análisis de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la planta en estudio se realizó en el Laboratorio de Bioquímica. Asimismo, la obtención del ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706 y la realización de los ensayos de genotoxicidad se llevaron a cabo en el Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas.

3.1.1. Ubicación política

País	: Perú
Región	: Ayacucho
Provincia	: Huamanga
Distrito	: Acos Vinchos

3.1.2. Ubicación geográfica

Latitud sur	: 13° 5' 35"
Longitud oeste	: 74° 6' 33"
Altitud	: 2710 msnm

3.2. Tipo de investigación

Experimental

3.3. Población y muestra

3.3.1. Población

Todas las plantas de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” de la Comunidad de La Colpa a 2710 m.s.n.m., distrito de Acos Vinchos, de la provincia Huamanga, de la región de Ayacucho.

3.3.2. Muestra

Toda la planta de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” en cantidad de 2 Kg, obtenidos de la Comunidad de La Colpa.

3.3.3. Unidad experimental

Acido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano de *Escherichia coli* ATCC-13706 en concentración de 1,500 mg/mL para el ensayo.

3.4. Metodología y recolección de datos

3.4.1. Recolección de muestra

Las muestras de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” fueron recolectadas en la comunidad de La Colpa distrito de Acos Vinchos a 2710 msnm en el año 2024, se recogió la planta empleando un muestreo no probabilístico por conveniencia (buenas plantas). Estas muestras fueron conservadas en un ambiente adecuado a temperatura ambiente. La identificación de la especie vegetal *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) fue realizada por la bióloga Laura Aucasime Medina (Anexo 2).

3.4.2. Preparación de la muestra

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Biología Molecular y Bioinformática de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Las plantas de *Tillandsia usneoides*, conocida como “barba de viejo”, fueron previamente limpiadas, desinfectadas y secadas a la sombra, a temperatura ambiente, durante un período de dos semanas. Para el proceso de secado se utilizó papel kraft, el cual fue renovado diariamente. Una vez completamente secas, las muestras seleccionadas fueron trituradas en un mortero hasta obtener un material pulverizado. Finalmente, el polvo vegetal obtenido fue almacenado en frascos de vidrio estériles de color ámbar para su posterior procesamiento (Anexo 1).

3.4.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

Para obtener el extracto hidroalcohólico, se utilizó 1 kg de la planta de *Tillandsia usneoides* previamente secos y en buen estado, estos se trituraron en un mortero esterilizado en autoclave hasta obtener un polvo fino, se pesaron 100 g de este polvo y se colocaron en un frasco de vidrio ámbar, se añadió 1 litro de solvente etanol: agua (3:1), que se preparó mezclando 750 ml de etanol de 96° con 250 ml de agua destilada estéril, la mezcla cubrió la muestra por aproximadamente 1 cm, el frasco se agitó durante 15 minutos, dos o tres veces al día, durante 5 días para asegurar una distribución homogénea del solvente, el proceso de maceración se llevó a cabo en un

ambiente frío y oscuro, finalmente, la mezcla se filtró con papel filtro y se evaporó en un evaporador rotatorio, el extracto se secó en una estufa a 37°C. Este extracto se utilizó para la determinación cualitativa fitoquímica y para preparar diferentes concentraciones para la prueba de degradación del ADN (Anexo 1).

3.4.4. Análisis fitoquímico

Se realizó un análisis fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de la *Tillandsia usneoides* para identificar los distintos metabolitos secundarios presentes en la planta. Los resultados de este análisis se encuentran en el (Anexo 3).

3.5. Preparación de cultivo de *Escherichia coli* y extracción de ADN genómico

Para la obtención del ADN genómico de *Escherichia coli*, se inició con el rejuvenecimiento de la cepa en caldo EC a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente, se realizó la siembra por agotamiento en superficie en agar Müller-Hinton (MH) y se incubó nuevamente a 37 °C durante 24 horas, con el propósito de obtener biomasa bacteriana. Aproximadamente 100 mg de dicha biomasa fueron transferidos a un tubo Eppendorf de 2 mL que contenía 400 µL de buffer TE 1X. Seguidamente, se adicionaron 60 µL de lisozima (10 mg/mL) y se incubó a 37 °C durante 2 horas en baño María. Luego, se incorporaron 75 µL de SDS al 10 % y 5 µL de proteinasa K (10 mg/mL), manteniendo la muestra a 65 °C durante 15 minutos. Posteriormente, se agregaron 100 µL de NaCl 5 M y 5 µL de CTAB, incubándose nuevamente a 65 °C durante 15 minutos. A continuación, se añadieron 750 µL de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), se homogenizó cuidadosamente durante 5 minutos y se centrifugó a 14 000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante obtenido fue recuperado y transferido a un nuevo tubo Eppendorf, al cual se adicionaron 600 µL de isopropanol al 100 % previamente enfriado, dejando la muestra a -20 °C durante toda la noche. Posteriormente, se centrifugó a 14 000 rpm durante 15 minutos y se descartó el sobrenadante. El sedimento fue lavado con 1 mL de etanol al 70 % y centrifugado a 14 000 rpm durante 10 minutos. Finalmente, se eliminó el sobrenadante, se rehidrató el sedimento con 50 µL de agua bidestilada estéril y se añadió 1 µL de ARNasa (20 mg/µL), incubándose a 37 °C durante 1 hora. El ADN obtenido fue almacenado a -20 °C hasta su posterior utilización.

3.5.1. Ensayo de genotoxicidad *in vitro*.

Se desarrollo siguiendo el “Método de electroforesis” con las siguientes fases.

3.5.2. Fase I: cuantificación de ADN genómico de *Escherichia coli*.

Se cuantificó el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706 utilizando un espectrofotómetro UV Eppendorf BioPhotometer plus, se ajustó la concentración de cada muestra a 1500 mg/mL (Miranda, 2013).

3.5.3. Fase II: Prueba de genotoxicidad “*in vitro*” en ADN genómico en estudio.

Se prepararon soluciones del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides*, "barba de viejo", de la planta medicinal en estudio, se utilizaron cinco concentraciones: 5 mg/mL, 10 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL, diluidas en agua bidestilada estéril, posteriormente, se prepararon las soluciones para la prueba de *genotoxicidad in vitro* utilizando ADN genómico, siguiendo los protocolos específicos.

Tabla 3. Preparación de las mezclas de reacción para la evaluación de la genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* sobre ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706.

Condiciones	Soluciones para prueba de genotoxicidad <i>in vitro</i>							
N.º de tubo	1	2	3	4	5	6 B	7 C	8 c/pk
Stock de ADN (1500 mg/mL)								
Volumen en µL	14	14	14	14	14	-	20	14
Concentración								
Extracto (mg/mL)	5	10	25	50	100	100	-	100
Volumen (µL)	6	6	6	6	6	20	-	6
Proteinasa K	-	-	-	-	-	-	-	3
Volumen total (µL)	20	20	20	20	20	20	20	23
Incubación en baño María a 37°C	1 hora							

3.5.4. Fase III: Electroforesis para la detección de genotoxicidad

Preparación del “gel de agarosa a 1% y se dispuso en una cámara de electroforesis marca Biometra. Para el volumen de carga en los pocillos del gel de agarosa”, las cantidades utilizadas, se describen a continuación:

Tabla 4. Preparación de las soluciones de carga para electroforesis en gel de agarosa de muestras tratadas con extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides*.

Condiciones		Soluciones para prueba de genotoxicidad <i>in vitro</i>							
N.º de carril del gel		1	2	3	4	5	6	7	8
Concentración									
Extracto (mg/mL)		Marcador molecular 1kb	5	10	25	50	100	c/PK	B
Volumen (µL)		5	8	8	8	8	8	8	8
Loading (µL)		2	2	2	2	2	2	2	2
Volumen total (µL)		7	10	10	10	10	10	10	10

Seguidamente se instaló la cámara de electroforesis a la fuente de poder y se programó el corrido a 30 voltios (V) durante 3 horas.

3.5.5. Fase IV: Radiación UV para la visualización de genotoxicidad.

Una vez concluido el proceso de electroforesis, el gel de agarosa fue sumergido en una solución de bromuro de etidio al 1 % durante 10 minutos, con la finalidad de teñir el ADN. Posteriormente, el gel fue enjuagado con agua corriente y los fragmentos de ADN fueron visualizados mediante un sistema de registro de imágenes Biometra UVsolo TS, bajo radiación ultravioleta (UV). Para mejorar la visualización de las bandas, se realizaron registros fotográficos con una cámara digital Canon, empleando un transiluminador UV de la marca Ultra Lum (Miranda, 2013).

3.5.6. Fase V: Interpretación y clasificación del registro visual de genotoxicidad.

Los niveles de fragmentación del ADN ocasionados por la genotoxicidad fueron expresados mediante una escala numérica y evidenciados a través de registros fotográficos. Posteriormente, se establecieron categorías de clasificación de acuerdo con el método del “ensayo cometa” descrito por Speit (1995) y Collins (2004).

Tabla 5. Escala de clasificación de los niveles de fragmentación del ADN mediante evaluación visual en gel de agarosa.

Clase Valor numérico	Genotoxicidad
0	fragmentación de ADN < 5%
1	fragmentación de ADN entre 5 a 20%
2	fragmentación de ADN entre 20 a 40%
3	fragmentación de ADN entre 40 a 95%
4	fragmentación de ADN > 95%

Fuente: Larrea Poma M., 2007

Se ha realizado cuatro repeticiones de los ensayos de genotoxicidad, con las mismas condiciones en cada uno de los casos.

3.5.7. Análisis estadístico.

La información recopilada fue organizada y sistematizada en tablas, complementándose con imágenes y gráficos, con la finalidad de facilitar la presentación, el análisis y la interpretación de los resultados. Para evaluar el daño genotóxico, se empleó el programa estadístico SPSS y se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar más de dos grupos independientes. Asimismo, se estableció como nivel de significancia estadística un valor de $p \leq 0,05$ (Hernández, 2022).

IV. RESULTADOS

Tabla 6. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la planta *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, Ayacucho 2024.

Ensayos	Metabolitos secundarios	Resultados	Observaciones
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos	+++	Coloración verde intenso
Baljet	Cumarinas	+	Coloración rojo vino y formación de precipitado
Kedde	Glicósidos cardiotónicos	+	Coloración purpura o violácea
Shinoda	Flavonoides	+++	Coloración amarilla. Naranja o rojo
Determinación de resinas	Resinas	-	Formación de precipitado lechoso
Espuma	Saponinas	-	Formación de espuma
Determinación de catequinas	Catequinas	-	Coloración verde amarillenta a la luz UV
Ninhidrina	Aminoácidos y aminas	++	Coloración azul violáceo
Borntrager	Quinonas	+	Coloración roja violácea en la fase superior
Dragendorff	Alcaloides	+	Formación de opalescencia o precipitado
Benedict	Azúcares reductores	+	Precipitado rojo ladrillo
Liebermann Burchard	Triterpenos y/o esteroides	-	Coloración rosado azul, verde intenso, verde oscuro

Leyenda:

(+++): Abundante

(++): Moderado

(+): Leve

(-): Ausente

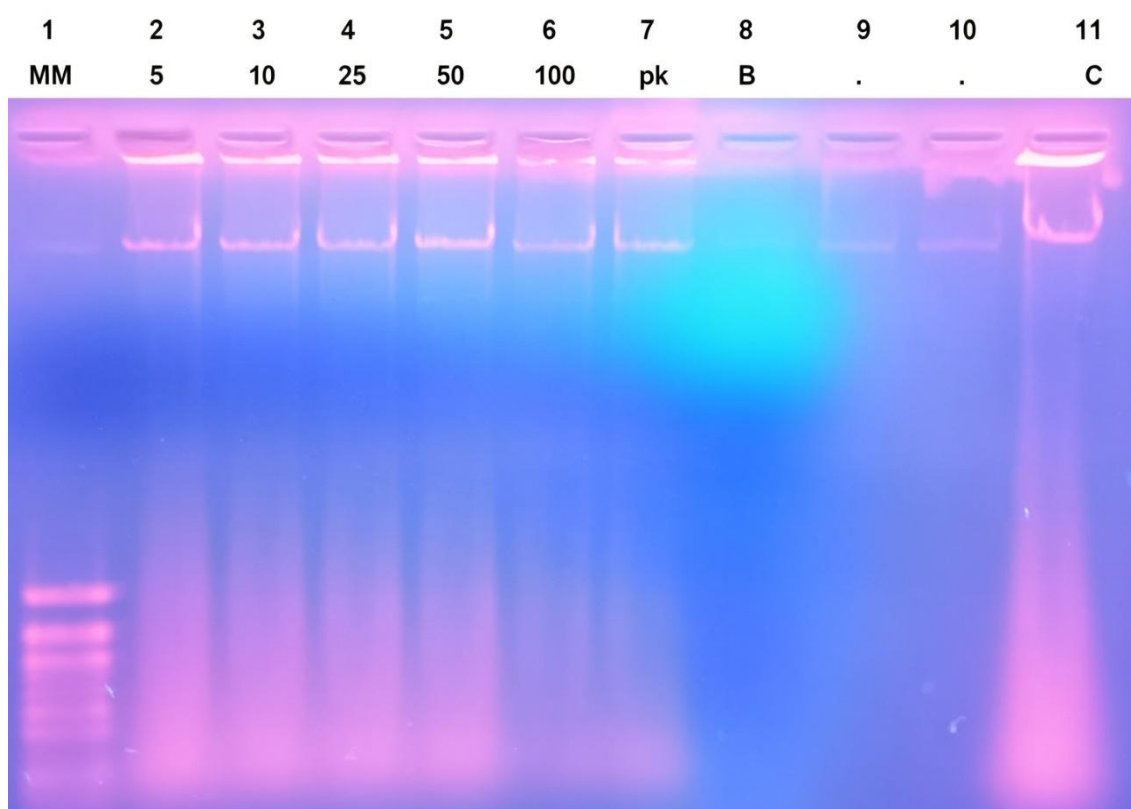


Figura 3. Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1 % del primer ensayo de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* a diferentes concentraciones sobre ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706.

Leyenda:

Carril 1: Marcador de tamaño molecular de 1kb

Carril 2: Con 5.0mg/mL de extracto.

Carril 3: Con 10 mg/mL de extracto.

Carril 4: Con 25 mg/mL de extracto.

Carril 5: Con 50 mg/mL de extracto.

Carril 6: Con 100 mg/mL de extracto.

Carril 7: ADN + Proteinasa K.

Carril 8: Blanco

Carril 11: Control

Volumen de carga:

Muestra (8µL) + colorante (1 µL) + agua bidestilada estéril (1µL) = 10 µL. Condiciones de electroforesis: 30 voltios por tres horas.

Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1% por 15 minutos

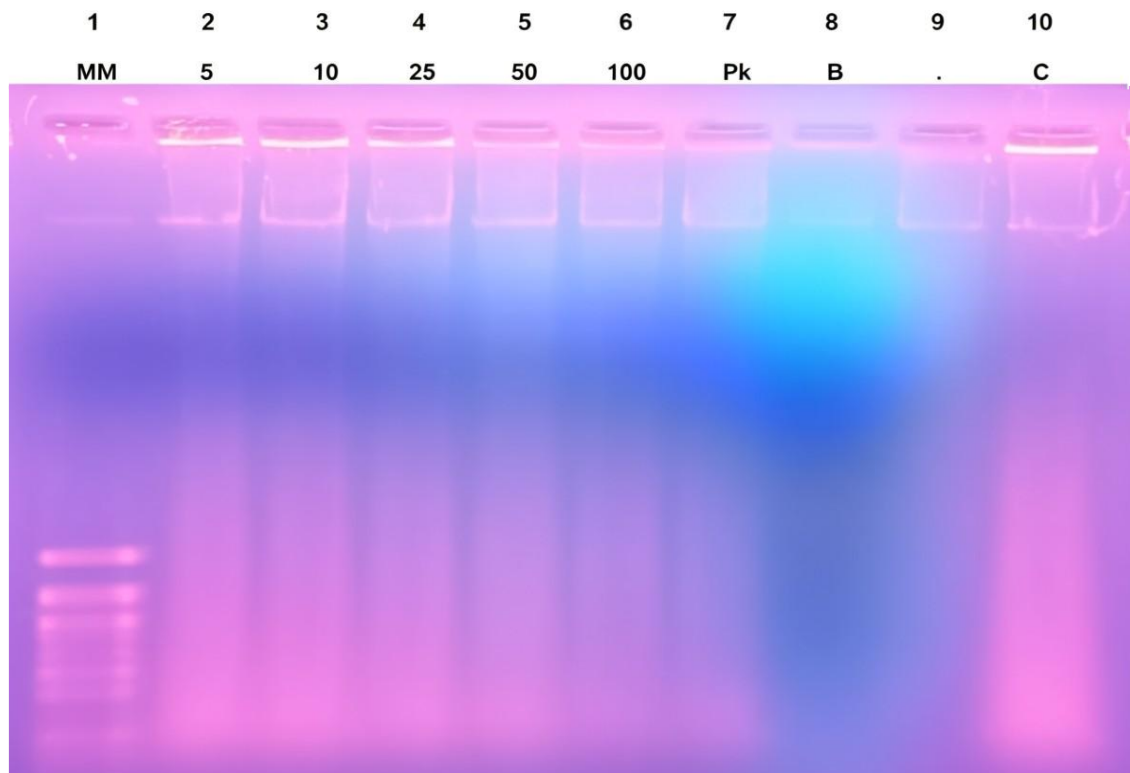


Figura 4. Registro fotográfico de electroforesis en gel de agarosa al 1 % del segundo ensayo de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* a diferentes concentraciones sobre ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706.

Leyenda:

Carril 1: Marcador de tamaño molecular de 1kb

Carril 2: Con 5.0mg/mL de extracto.

Carril 3: Con 10 mg/mL de extracto.

Carril 4: Con 25 mg/mL de extracto.

Carril 5: Con 50 mg/mL de extracto.

Carril 6: Con 100 mg/mL de extracto.

Carril 7: ADN + Proteinasa K.

Carril 8: Blanco

Carril 10: Control

Volumen de carga:

Muestra (8µL) + colorante (1 µL) + agua bidestilada estéril (1µL) = 10 µL. Condiciones de electroforesis: 30 voltios por tres horas.

Coloración de ADN: Bromuro de etidio al 1% por 15 minutos

Tabla 7. Valores de fragmentación del ADN genómico de *Escherichia coli* inducidos por diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* incubado a 37 °C durante una hora.

Condiciones de la incubación		<i>Tillandsia usneoides</i> “baba de viejo”				
Temperatura	Tiempo	Extracto hidroalcohólico				
°C	Hora	Concentración en mg/mL				
		5	10	25	50	100
37	1	2	2	3	3	3
		2	2	3	3	3
		2	2	3	3	3
		2	2	3	3	3

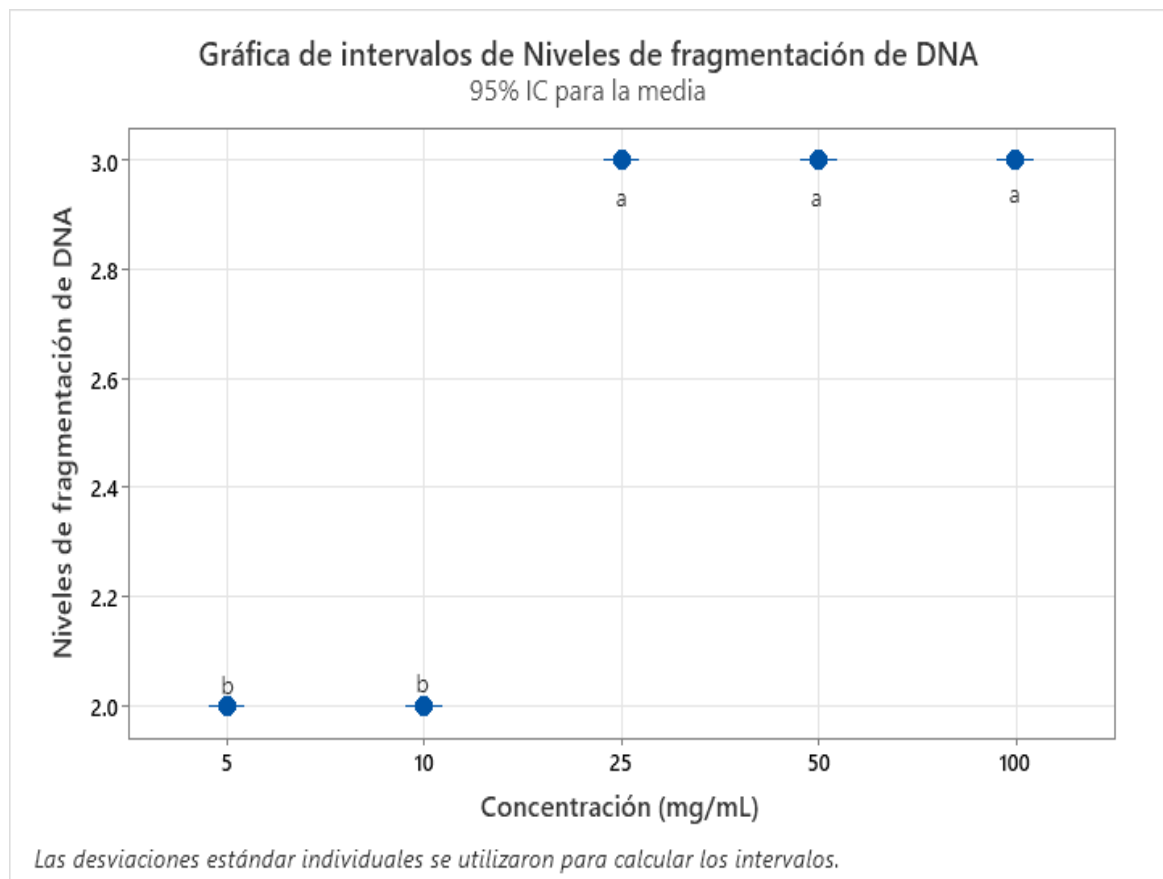


Figura 5. Análisis de Kruskal-Wallis del efecto de las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* sobre la fragmentación del ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706.

V. DISCUSIÓN

De acuerdo con los procedimientos desarrollados durante la ejecución del estudio, los resultados obtenidos permitieron determinar el efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”).

La Tabla 6 presenta la identificación fitoquímica de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”), destacándose la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos, flavonoides, en cantidad regular (+++); mientras que los aminoácidos y aminos se detectaron en menor proporción (++); mientras que las quinonas, alcaloides, coumarinas, glicósidos y azúcares reductores en trazas (+).

Nuestros resultados son concordantes con los hallazgos reportados en investigaciones previas, como el estudio realizado por Rojas, L. (2021), titulado “Caracterización química y evaluación de la actividad biológica sobre las líneas celulares tumorales de extracto de hojas de *Tillandsia usneoides* (barba de viejo)”. En dicha investigación, la caracterización química del extracto evidenció la presencia de triterpenos y flavonoides, entre los que se identificaron ácidos fenólicos y polifenoles, como principales metabolitos presentes tanto en el extracto crudo como en sus diferentes fracciones. Asimismo, el extracto etanólico crudo y las fracciones de diclorometano, acetato de etilo e hidroetanólica presentaron actividad citotóxica selectiva frente a líneas celulares tumorales de mama. Además, se determinó que la inducción de la muerte celular en la línea 4T1 se produjo mediante un mecanismo apoptótico.

De forma similar, Escobar, S. (2013) evaluó el “Efecto hipoglucémico, antioxidante y antiinflamatorio de *Tillandsia usneoides* en ratones CD1”. En este estudio, la dosis de 50 mg/kg no mostró actividad antioxidante en plasma, pero sí redujo los niveles de glucosa, lo que confirmó su efecto hipoglucémico. La dosis de 100 mg/kg también evidenció dicho efecto, aunque no presentó una actividad antioxidante significativa. Sin embargo, en ensayos agudos, esta misma dosis provocó toxicidad, llegando a causar ceguera en algunos ratones.

Por tanto, los resultados obtenidos en esta investigación permiten inferir que los alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, así como las cumarinas, serían los principales responsables del efecto genotóxico, ya sea de manera individual o conjunta.

La **Figura 3** presenta el registro fotográfico de la electroforesis en gel de agarosa al 1 %, correspondiente al primer ensayo de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) sobre el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706. La observación del gel mediante un transiluminador de radiación ultravioleta permitió identificar variaciones en la integridad del ADN en función de la concentración del extracto. Las muestras tratadas con concentraciones de 5 y 10 mg/mL presentaron una fragmentación moderada del ADN; en cambio, las concentraciones de 25, 50 y 100 mg/mL evidenciaron una degradación de mayor intensidad, caracterizada por una menor definición de las bandas y la presencia de material genético disperso. En conjunto, estos hallazgos sugieren un efecto genotóxico asociado al incremento de la concentración del extracto, lo que indicaría que los metabolitos secundarios presentes en *Tillandsia usneoides* podrían estar relacionados con alteraciones estructurales del ADN.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación coinciden con lo reportado por Lagos (2020), quien evaluó la actividad genotóxica de extractos vegetales sobre ADN genómico de *Escherichia coli* mediante electroforesis en gel de agarosa. El autor observó que el incremento de la concentración de los extractos ocasionó una mayor degradación de las bandas de ADN, atribuyendo este efecto a la acción de compuestos fenólicos y flavonoides capaces de interactuar con los ácidos nucleicos. Esta similitud sugiere que los metabolitos fenólicos identificados en *Tillandsia usneoides* podrían desempeñar un papel importante en la fragmentación observada.

Asimismo, los hallazgos concuerdan con los resultados descritos por Rojas (2021), quien realizó la caracterización química y evaluación biológica de extractos de *Tillandsia usneoides*. Dicho autor reportó una elevada presencia de flavonoides, polifenoles y compuestos fenólicos con actividad citotóxica selectiva sobre células tumorales, induciendo procesos apoptóticos asociados con fragmentación del ADN. Aunque el modelo biológico empleado fue diferente, ambos estudios sugieren que los metabolitos secundarios de *Tillandsia usneoides* poseen capacidad para alterar la integridad genética celular.

De otro modo, el carril correspondiente al tratamiento con extracto más proteinasa K mostró persistencia de la fragmentación del ADN, demostrando que el daño observado no se debe a la presencia de nucleasas contaminantes sino a la acción directa de los

metabolitos secundarios presentes en el extracto vegetal. Este resultado respalda la interpretación propuesta por Medina (2022), quien señaló que la fragmentación del ADN inducida por extractos vegetales ricos en flavonoides, alcaloides y quinonas se relaciona con mecanismos de estrés oxidativo y daño molecular directo sobre las cadenas de ADN.

La Figura 4 presenta el segundo ensayo de genotoxicidad in vitro realizado mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, con el propósito de corroborar la capacidad del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) para inducir daño sobre el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706. Los resultados evidencian una disminución progresiva de la integridad de las bandas de ADN conforme aumenta la concentración del extracto. Las concentraciones de 5 y 10 mg/mL produjeron una fragmentación moderada, mientras que las concentraciones de 25, 50 y 100 mg/mL ocasionaron una degradación mucho más marcada del material genético, observándose bandas difusas y pérdida de definición, características típicas de daño genético inducido.

La reproducibilidad observada entre el primer y segundo ensayo constituye un aspecto relevante desde el punto de vista experimental, ya que demuestra la consistencia del efecto genotóxico del extracto. La repetición de los resultados bajo las mismas condiciones de incubación fortalece la validez interna del estudio y permite afirmar que la fragmentación del ADN no corresponde a un evento aleatorio, sino a una acción biológica atribuible a los metabolitos secundarios presentes en la planta.

Los resultados obtenidos son concordantes con los reportados por Rojas (2021), quien identificó en extractos de *Tillandsia usneoides* una elevada concentración de flavonoides, polifenoles y compuestos fenólicos con actividad citotóxica sobre líneas celulares tumorales. Dicho autor demostró que estos metabolitos inducen apoptosis celular, proceso caracterizado por la fragmentación del ADN. Aunque el presente estudio utilizó ADN bacteriano aislado y no células tumorales, ambos trabajos coinciden en señalar que los metabolitos presentes en *Tillandsia usneoides* poseen capacidad para alterar la estabilidad genética y promover daño molecular.

Asimismo, los resultados guardan similitud con los hallazgos de Lagos (2020), quien evaluó la acción genotóxica de extractos vegetales ricos en flavonoides y compuestos fenólicos sobre ADN genómico de *Escherichia coli*. El autor reportó que el incremento de la concentración del extracto produjo una mayor degradación del ADN observada mediante electroforesis en gel de agarosa, estableciendo una relación dosis-dependiente entre la concentración del extracto y el nivel de fragmentación genética. Esta tendencia es consistente con la observada en la presente investigación.

Por otra parte, el carril correspondiente al tratamiento con extracto más proteinasa K mostró una degradación total del ADN, confirmando que el daño genético no fue ocasionado por la acción de nucleasas presentes en el extracto, sino por los metabolitos secundarios de la planta. Este resultado coincide con lo señalado por Medina (2022), quien atribuyó la fragmentación del ADN observada en sus ensayos a la acción combinada de flavonoides, alcaloides, quinonas y compuestos fenólicos capaces de generar estrés oxidativo y rupturas en las cadenas de ADN.

Desde una perspectiva molecular, la abundante presencia de flavonoides y compuestos fenólicos detectada en el tamizaje fitoquímico podría explicar el efecto observado. Estos metabolitos pueden comportarse como agentes prooxidantes en determinadas condiciones, promoviendo la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales pueden provocar alteraciones en las bases nitrogenadas y rupturas en las cadenas del ADN. Asimismo, la presencia de alcaloides, quinonas y cumarinas podría ejercer un efecto sinérgico, contribuyendo al daño genético observado.

En conclusión, los resultados de la Figura 4 confirman y reproducen la evidencia obtenida en el primer ensayo, demostrando que el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* posee actividad genotóxica *in vitro* sobre el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706. La intensidad del daño observado aumenta conforme se incrementa la concentración del extracto, lo que sugiere una respuesta dosis-dependiente asociada a la acción de sus metabolitos secundarios bioactivos.

La Tabla 7 presenta los valores numéricos obtenidos en cuatro repeticiones del ensayo de genotoxicidad *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) a concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 mg/mL, frente al ADN genómico de *Escherichia coli* incubado a 37 °C durante una hora. En todos los casos se aprecia una tendencia claramente diferenciada, lo que ratifica, en primer lugar, la reproducibilidad del método empleado y, en segundo lugar, el comportamiento del extracto frente al ADN genómico de *Escherichia coli*.

Tomando como referencia la Tabla 5, correspondiente a la clasificación de los niveles de fragmentación del ADN por registro visual, se observa que con el extracto hidroalcohólico a concentraciones de 5 y 10 mg/mL la fragmentación se situó entre el 20 % y el 40 %, mientras que, a concentraciones de 25, 50 y 100 mg/mL alcanzó entre el 40 % y el 95 % del ADN.

En consecuencia, y tomando como referencia los datos consignados en la Tabla 7, se aplicó la prueba estadística de Kruskal-Wallis con la finalidad de determinar si existían diferencias en el grado de fragmentación del ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-

13706 frente a las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”), expresadas en porcentaje (mg/mL), cuyos resultados se presentan en la Figura 5. El porcentaje de fragmentación del ADN tratado constituye un indicador del grado de genotoxicidad. Para el análisis estadístico, se planteó como hipótesis nula (H_0) que las medianas de los grupos evaluados eran iguales, lo que implicaría que las diferentes concentraciones del extracto producían efectos similares. Por otro lado, la hipótesis alterna (H_1) estableció que, al menos, una de las medianas difería de las demás, indicando la existencia de un efecto diferente entre las concentraciones evaluadas.

De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 5, se obtuvo un valor de $p = 0,008$, el cual es inferior al nivel de significancia establecido ($\alpha = 0,05$). Por tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, concluyéndose que existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas. En consecuencia, el grado de fragmentación del ADN presenta variaciones según la concentración del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”). Estos resultados guardan relación con lo reportado por Rojas, L. (2021), quien señaló que *Tillandsia usneoides* presenta potencial anticancerígeno, particularmente frente a células tumorales de mama, atribuyendo esta actividad principalmente a la presencia de triterpenos y flavonoides.

En términos generales, los resultados obtenidos en el presente estudio evidencian que el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) presenta actividad genotóxica in vitro, lo que podría representar una propiedad biológica adicional de esta planta de uso medicinal. Este efecto podría estar relacionado con la presencia de diversos metabolitos secundarios identificados en la especie, entre los que se encuentran los flavonoides, fenoles y/o taninos, quinonas, alcaloides, cumarinas y aminas, los cuales, de manera individual o conjunta, podrían participar en los efectos observados sobre el ADN.

Asimismo, la actividad genotóxica observada no estaría relacionada con una acción directa de las nucleasas presentes en el extracto hidroalcohólico, debido a que, durante el periodo de incubación de los ensayos, las enzimas nucleasas habrían sido degradadas por acción de la proteinasa K. Por consiguiente, la fragmentación del ADN observada en los tratamientos podría estar asociada principalmente con la acción de los metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Tillandsia usneoides*.

VI. CONCLUSIÓN

1. El extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* presentó actividad genotóxica in vitro sobre el ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706, evidenciada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %, observándose fragmentación del ADN en todas las concentraciones evaluadas (5, 10, 25, 50 y 100 mg/mL). Las concentraciones de 5 y 10 mg/mL produjeron una fragmentación moderada del ADN, correspondiente a valores numéricos de genotoxicidad de 2 (20–40 % de degradación), mientras que las concentraciones de 25, 50 y 100 mg/mL ocasionaron una fragmentación más severa, con valores numéricos de 3 (40–95 % de degradación), demostrando una mayor intensidad del daño genético.
2. El tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) permitió identificar la presencia de diversos metabolitos secundarios, destacando los compuestos fenólicos y/o taninos y los flavonoides en concentración abundante (+++), aminoácidos y aminas en concentración moderada (++) , así como coumarinas, glicósidos cardiotónicos, quinonas, alcaloides y azúcares reductores en concentración leve (+). Asimismo, se determinó la ausencia de saponinas, resinas, catequinas y triterpenos y/o esteroides.
3. El análisis estadístico mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas ($p = 0,008$; $p < 0,05$), evidenciando que el grado de fragmentación del ADN depende de la concentración del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides*. Estos resultados obtenidos permitieron confirmar la hipótesis de investigación, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* (“barba de viejo”) presenta efecto genotóxico in vitro frente al ADN genómico de *Escherichia coli* ATCC-13706, efecto que se incrementa conforme aumenta la concentración del extracto y que estaría asociado a la acción de sus metabolitos secundarios, principalmente flavonoides, compuestos fenólicos y taninos.

VII. RECOMENDACIONES

- Profundizar las investigaciones sobre la genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* ("barba de viejo"), evaluando de manera individual los metabolitos secundarios fraccionados, tales como alcaloides, flavonoides, fenoles y/o taninos, quinonas, así como coumarinas, quinonas y los azúcares reductores.
- Desarrollar estudios toxicológicos más específicos y completos que permitan determinar niveles seguros para su consumo humano y aplicación con fines medicinales.
- Llevar a cabo análisis cuantitativos utilizando técnicas como cromatografía de gases y espectrofotometría infrarroja y ultravioleta.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AETOX, (2024). Mir Glosario de términos Toxicológicos. Asociación Española de Toxicología. <https://es.aetox.es/glosario-toxicologico/>

Agra, M. de F., Baracho, G. S., Nurit, K., Basílio, I., & Coelho, V. P. M. (2007). Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 383–395. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874106006386?via%3Dihub>

Agra, M. de F., Silva, K. N., Basílio, I. J. L. D., Freitas, P. F. de, & Barbosa-Filho, J. M. (2008). Survey of medicinal plants used in the região Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(3), 472–508. <https://www.scienceopen.com/document?vid=11e55cc4-7288-40c1-b5b3-877bc53ae47b>

Arambarri, A. M., & Mandrile, E. L. (1997). *Tillandsia L.* (Bromeliaceae): Anatomy and ethnopharmacology. In II WOCMAP Congress Medicinal and Aromatic Plants, Part 4: Industrial Processing, Standards & Regulations, Quality, Marketing, 503 (pp. 133–140)

Bailón NC (2005). Análisis de la actividad antigenotóxica de la savia de *Musa paradisiaca* en células de ovario de hámster chino mediante intercambio de cromátidas hermanas y ensayo cometa. Universidad de cuenca, Facultad de ciencias químicas, Escuela de bioquímica y farmacia. Cuenca- Ecuador. <https://dspace.ucuenca.edu.ec/items/e55588da-ddcf-47ac-a19d-7a25b978ee72>

Bello J, López A (2001). Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Madrid: Díaz de Santos. https://books.google.com.pe/books/about/Fundamentos_de_Ciencia_Toxicol%C3%B3gica.html?id=EwQk094_IKcC&redir_esc=y

Benzing, D. H., & Bennett, B. (2000). Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/core/books/bromeliaceae/0C7C6C97A8C262E92528DB48A0D62614>

Benzing, D. H., & Bennett, B. (2000). Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/core/books/bromeliaceae-profile-of-an-adaptive-radiation/AF1A3FBA7285F99E6C7A4C932B4CD1E0>

Betancor, M. Gadea KF (1996). Genética bacteriana. Vol. 9, Genética Bacteriana. 215-226 p.

Carballo A, Cortada C, Gadano A. (2005). Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Citogenética humana y genética toxicológica. Departamento de Bioquímica clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Argentina., 14 (2): 95-108.

Carballo M (2011) Centro de Análisis Programas Sanitarios (CAPS). Biomarcadores de genotoxicidad. Barcelona Universidad de Buenos Aires. <https://studylib.es/doc/6050445/biomarcadores-de-genotoxicidad.-alcances-y-limitaciones>

Carreño, A. (2011) Estudio químico de la epífita *Tillandsia recurvata*. Programa de maestría y doctorado en ciencias químicas, universidad nacional autónoma de México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/63562>

Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. of ethnopharmacology. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders, 402– 405.

Castillo-Juárez, I., González, V., Jaime-Aguilar, H., Martínez, G., Linares, E., Bye, R., & Romero, I. J. of ethnopharmacology. (2009). Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders, 122(2), 402– 405.

Cedrón, E. (2022) “Biomonitoreo de elementos de traza Cd, Ni, Pb, Sb y As en el area de metropolitana de Huancayo. Facultad de ingeniería química. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo- Perú. <https://repositorio.uncp.edu.pe/items/02b95ae6-0a9d-4e03-b99f-2a10592cb37d>

Checa Rojas, A. (2018) Extracción de ADN, Bioquímica y biología molecular. Conogasi.org Sitio web: <http://conogasi.org/articulos/extraccion-de-adn-2>.

Cueva, A. (2003). plantas medicinales: Propiedades y usos. 1er, edición, Editorial A.F.A., Lima Perú.

De la Peña y Cols. (2012) Mutagénesis y carcinogénesis química. En M, Repetto (ed) postgrado en Toxicología. Ilustre Colegio Oficial de Químicos. Sevilla. Depósito legal: SE-1047-08.

<https://agris.fao.org/search/ar/records/679ba5e9969e37f4376f0f8a>

Escobar, S. (2013) Estudio sobre el efecto hipoglucémico, antioxidante y antiinflamatorio de *Tillandsia usneoides* en ratones CD1. Instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, departamento de ingeniería química y bioquímica, México. <https://repositorio.tecnm.mx/>

Flórez Márquez, A., & Arango, J. (2010). Reconocimiento e identificación de la flora etnomedicinal de las comunidades indígenas Senú de Necoclí (Urabá, noroccidente colombiano). *Botánicas complutenses*, 34, 71–81. Retrieved from <http://revistas.ucm.es/index.php/BOCM/article/view/BOCM1010110071A>

Gardner, C. S. (1983). *A systematic study of Tillandsia subgenus Tillandsia* (Tesis doctoral, Texas A&M University). Texas A&M University, College Station, Texas. <https://bromeliad.nl/encyclopedia/brome.php?action=showLitRef&id=665>

Gonzales, G. (2018) Efecto toxico *in vitro* de los extractos polares de nueve plantas utilizadas en medicina tradicional, facultad de ciencias biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León-España. <https://eprints.uanl.mx/16685/1/1080290317.pdf>

Guzmán Cano A (2008). Estudio del potencial genotóxico del E-5842, un fármaco experimentalmente antipsicótico con afinidad por el receptor sigma, y del mecanismo de inducción de eritrocitos micronucleados en ratón mediante hipotermia tesis doctoral. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona. <https://portalrecerca.uab.cat/es/studentTheses/estudio-del-potencial-genot%C3%B3xico-del-e-5842-un-f%C3%A1rmaco-experiment/>

Henry IC, L., Charah T, W., Simone, B., Ngeh J, T., & Joseph, B. (2012). Isolation, purification and partial characterization of a glycoside from the Jamaican ball moss plant (*Tillandsia recurvata* L.). *Advances in Biological Chemistry*, 2012. <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=21813>

Henry IC, L., Charah T, W., Simone, B., Ngeh J, T., & Joseph, B. (2012). Isolation, purification and partial characterization of a glycoside from the Jamaican ball moss plant (*Tillandsia recurvata* L.). *Advances in Biological Chemistry*, 2012. <https://pdfs.semanticscholar.org/539c/217741f2203363ee5e0ff21f79290833626f.pdf>

Kozacinski Lidija, Hadziosmanović M, y Zdolec N. (2006). Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinary*, 76: 305-313. <https://wwwi.vet.hr/vetarhiv/papers/2006-76-4-4.pdf>

Kuklinski C. (2003). *Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Ediciones Omega.

<https://www.academia.edu/38448862/Farmacognosia%20Estudio%20De%20Las%20Drogas%20y%20Sustancias%20Medicamentosas%20de%20Origen%20Natural%20pdf>

Lock O. (1994) Investigación Fotoquímica. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
https://repositorio.pucp.edu.pe/items/676110bf-80f4-4336-b3d4-b54e9569f8ed?utm_source=chatgpt.com

Madigan, M., Markinto, J., Bender, K., Buckley, D., Sthal., D- (2015) Biología de los macroorganismos 14ª edición, Pearson educación.
<https://portalrecherche.uab.cat/es/publications/brock-biolog%C3%ADa-de-los-microorganismos/>

Medina, R. (2022) Efecto genotóxico in vitro del látex de *Synadenium grantii* Hook, sobre el ADN genómico humano, Facultad de ciencias biológicas, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. Ayacucho-Perú.
<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/a5db292b-e088-4814-b6c4-50bcfc338da0/content>

Miranda T, Valer G. (2016). Protocolos de Biología molecular. Editorial Multiservicios Infante EIRL. Universidad Nacional de san Cristóbal de Huamanga.
<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/4b923ea3-5bb2-4947-abe3-4c98ebb6c322/content>

Monteith D. Vanstone J. (1995). Comparision of the microgel electrophoresis assay and other assays for genotoxicity in the detecction of ADN damage. Mutation Research 345:97-103.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0165121895900454?via%3Dihub>

Montville, T. y Matthews, K. (2009). Microbiológica de los alimentos (2daEd.). España. Editorial Acribia, 107-436. <https://www.sennutricion.org/index.php>

Nada Al-Jassim, David Mantilla-Calderon, Giantommaso Scarascia, Pei-Ying Hong (2018). Bacteriófagos para sensibilizar a una *Escherichia coli* patógena de Nueva Delhi metalo β -lactamasa positiva a la desinfección solar. Ciencia y tecnología ambientales, (24), 14331-14341. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04501L>

Papini, A., Tani, G., Di Falco, P., & Brighigna, L. (2010). The ultrastructure of the development of *Tillandsia* (Bromeliaceae) trichome. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 205(2), 94–100.

Paz C, Creus A, Oriol C, Leone P. (2002) Genética Toxicológica y Carcinogénesis. Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://portalrecherche.uab.cat/es/publications/gen%C3%A9tica-toxicol%C3%B3gica-y-carcinog%C3%A9nesis-3/>

Pineda, A. G. (2006). *Flora útil: Etnobotánica de Nicaragua* (1.^a ed.). Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARENA). https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/training_material/docs/Flora%20Util%20en%20Nicaragua.pdf?utm_source=chatgpt.com .

Quispe, C. (2017) Efecto genotóxico *in vitro* del látex y el extracto hidroalcohólico de semillas de papaya sobre el ADN genómico humano. Facultad de ciencias biológicas, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. Ayacucho-Perú. <https://repositorio.unsch.edu.pe/items/7b68ebc2-e55a-4b07-99b2-10e4a70a1027>

Rasal Sánchez, María, Troncos Castro, J., Lizano Durán, C., Parihuamán Granda, O., Quevedo Calle, D., Rojas Idrogo, C., & Delgado Paredes, G. E. %J E. A. (2011). Características edáficas y composición florística del bosque estacionalmente seco La Menta y Timbes, Región Piura- Perú, 10(2), 61–74. [https://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/VEGETACION TERRESTRE DE LA MENTA Y TIMBES.htm?utm_source=chatgpt.com](https://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/VEGETACION_TERRESTRE_DE_LA_MENTA_Y_TIMBES.htm?utm_source=chatgpt.com)

Rojas, L (2021) Caracterización química y evaluación de la actividad biológica sobre líneas celulares tumorales de extracto de hojas de *Tillandsia usneoides* (barba de viejo)” Faculta de ciencias biológicas, Pontifica Universidad Javeriana, Bogotá Colombia.

Rundel, P. W., & Dillon, M. O. (1998). Ecological patterns in the Bromeliaceae of the lomas formations of Coastal Chile and Perú. *Plant Systematics and Evolution*, 212(3–4), 261– 278. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01089742>

USDA, & United States Departament of Agriculture. (n.d.). Plants profile for *Tillandsia usneoides* (Spanish moss). Retrieved June 27, 2020, from [https://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=TIUS&mapType=large&photoID=tiu s_001_ahp.jpg](https://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=TIUS&mapType=large&photoID=tiu_s_001_ahp.jpg). <https://plants.sc.egov.usda.gov/home/plantProfile?symbol=TIUS>

Vasconcelos, A. L., Vasconcelos, A. L., Ximénez, E. A., & Randau, K. P. (2013). *Tillandsia recurvata* L.(Bromeliaceae): aspectos farmacognósticos. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, 34(2). https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/download/209/207?utm_source=chatgpt.com

Verma SC, Qian Z, Adhya SL (2019). Architecture of the *Escherichia coli* nucleoid. *plus Genet*; 15(12):1-35. <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1008456>

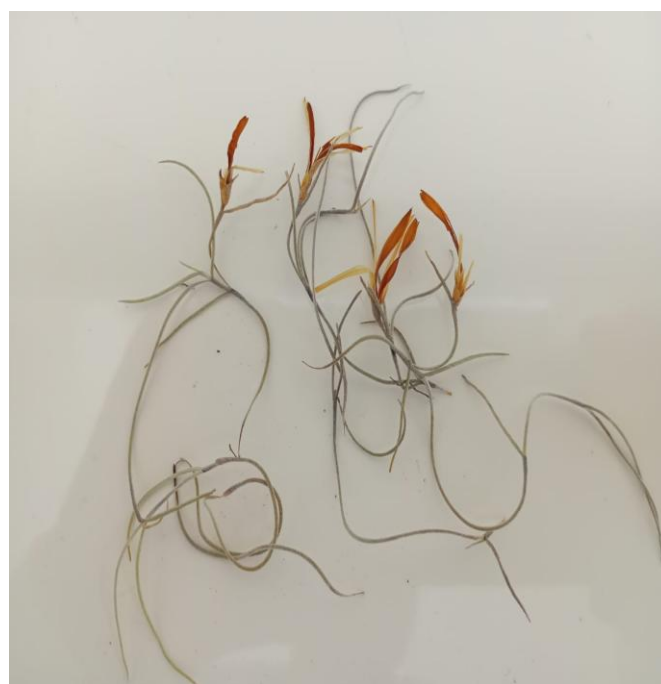
Vílchez, E. Rojas, K. Mayo C. (2024) Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia musculata* (Bromeliaceae) sobre *Streptococcus mutans*. Revista cubana de medicina militar. Universidad inca Garcilaso de la vega. Lima- Perú. <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2828>

Wagner, H., & Blatt, S. (1996). Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media. https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-00574-9?utm_source=chatgpt.com

wis, D. S., & Mabry, T. J. (1977). 3, 6, 3', 5'-Tetramethoxy-5, 7, 4'-trihydroxyflavone from *Tillandsia usneoides*, leaves and stems. *Phytochemistry* (UK). <https://eurekamaq.com/research/103/929/103929190.php>

ANEXOS

Anexo 1. Recolección, secado y molienda de la planta *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, Ayacucho 2024.



Proceso de secado de la planta en estudio.



Proceso de preparación del extracto hidroalcohólico

Anexo 2. Constancia de identificación taxonómica de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, Ayacucho 2024.

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el Bachiller en biología. Sr. Jose Luis, Ñaña Velasquez, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. Siendo su taxonomía el siguiente:

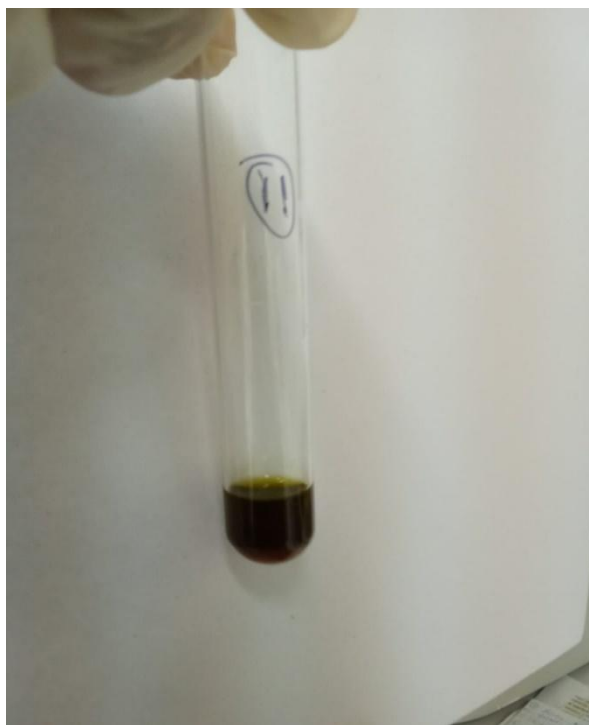
DIVISION	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: LILIOPSIDA
SUB CLASE	: ZINGIBERIDAE
ORDEN	: BROMELIALES
FAMILIA	: BROMELIACEAE
GENERO	: <i>Tillandsia</i>
ESPECIE	: <i>Tillandsia usneoides</i>
N.V.	: “Barba del viejo”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 04 de octubre del 2024.


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 663 CR - XII

Anexo 3. procesos del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, Ayacucho 2024



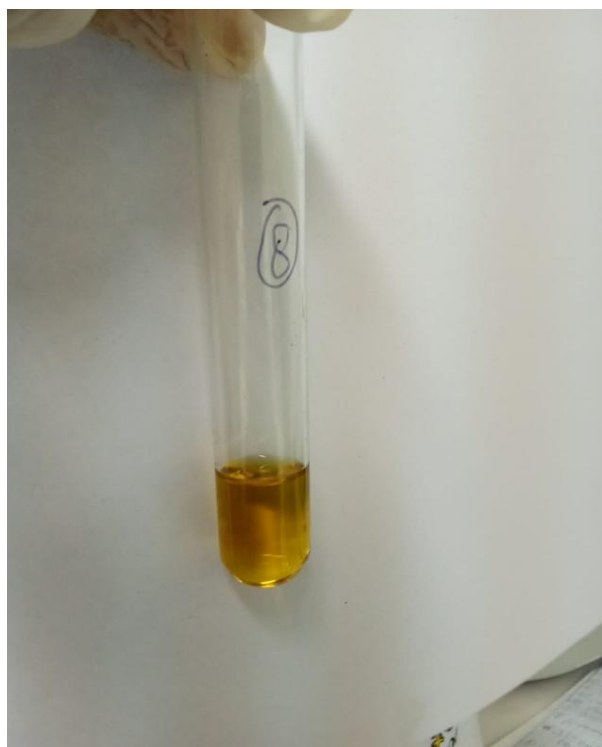
Determinación de azúcares reductores positivo (+)



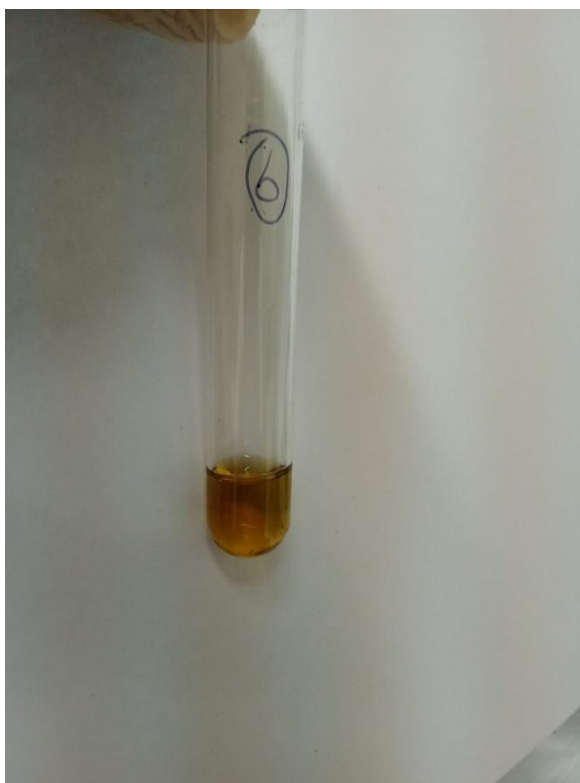
Tamizaje de Catequinas negativo (-)



Tamizaje de flavonoides (+++)



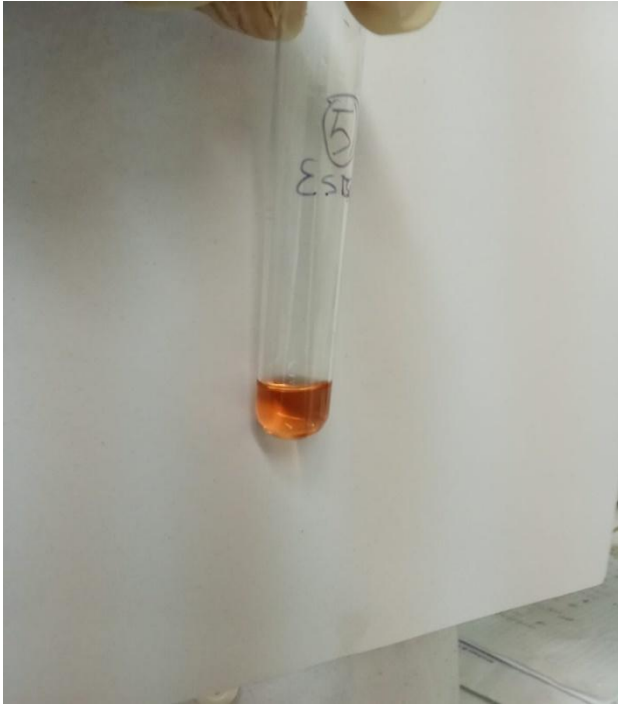
tamizaje de glucósidos (+)



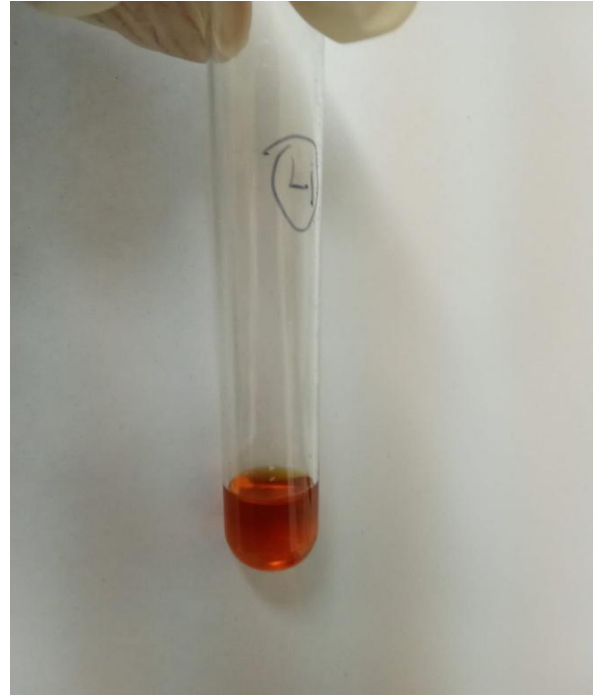
Aminoácidos (++)



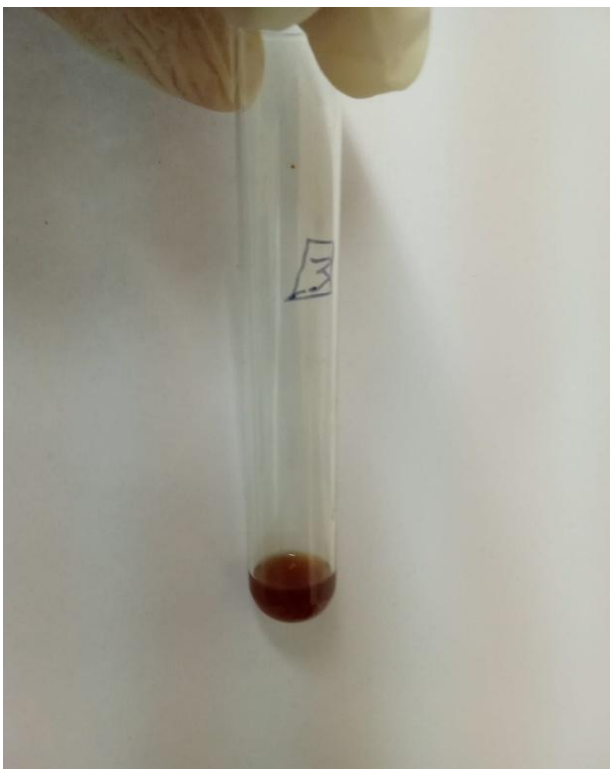
compuestos fenólicos y/o taninos (+++)



Triterpenos (-)



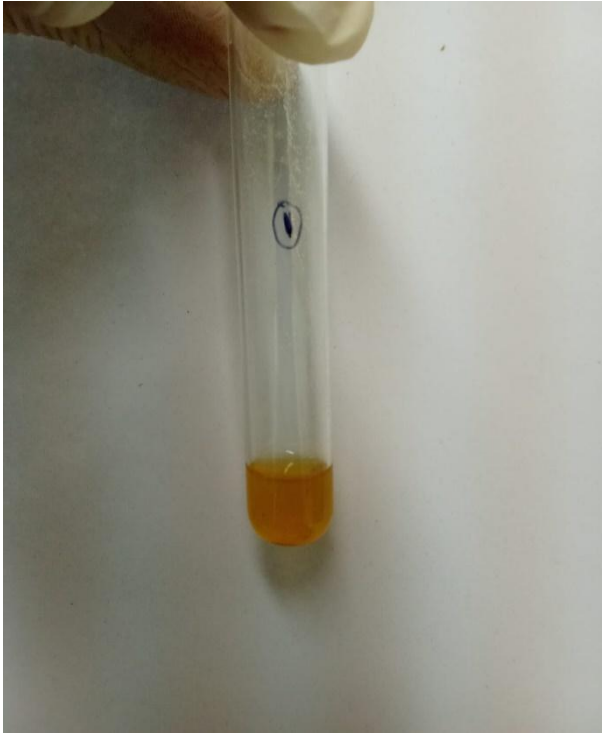
Quinonas (+)



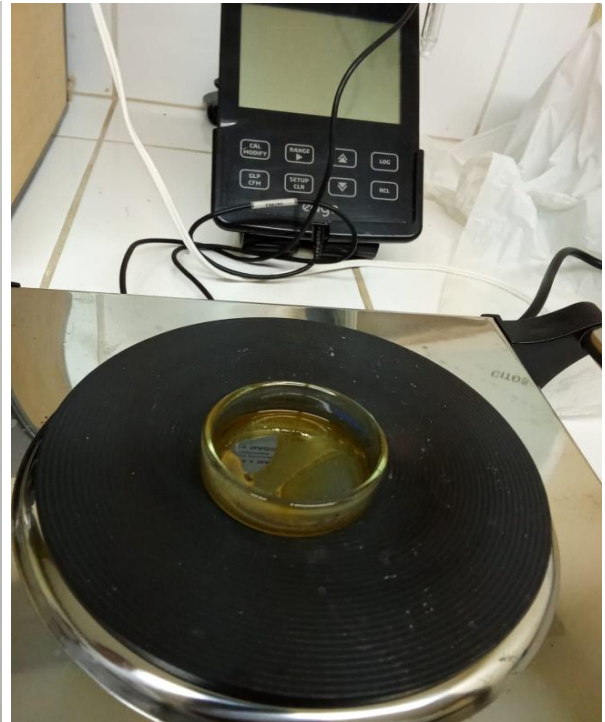
Coumarinas 1 (+)



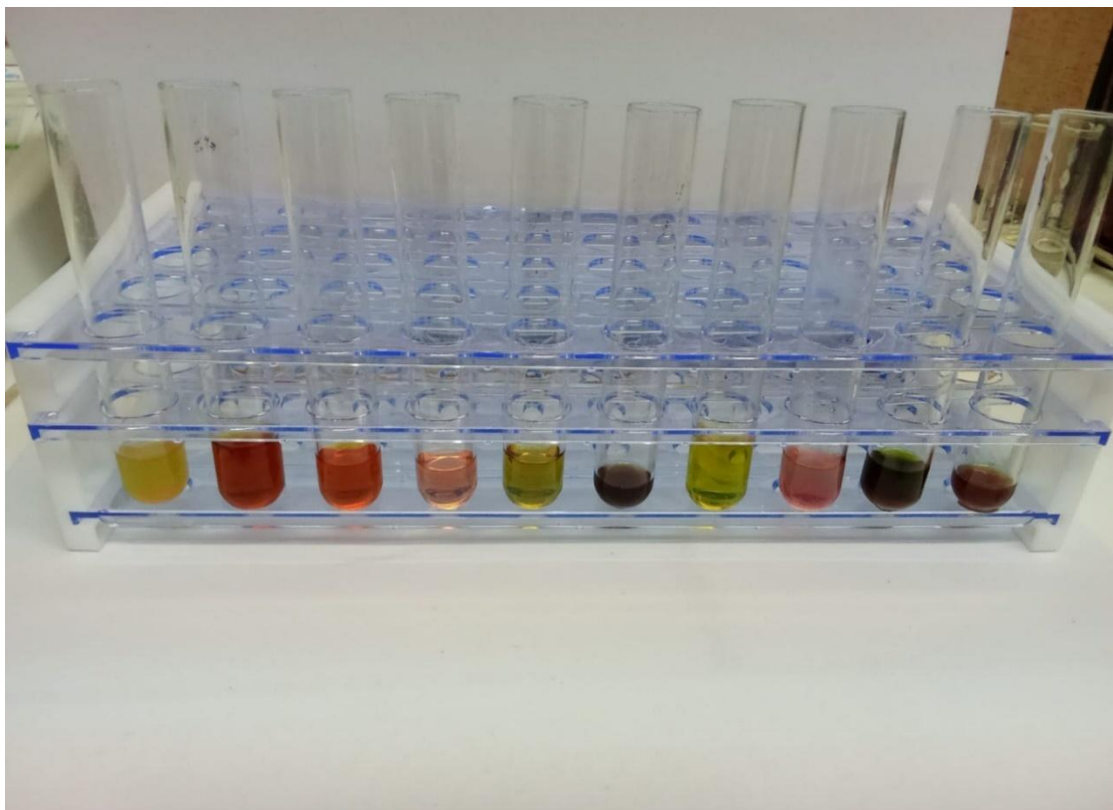
Coumarinas 2 (+)



Alcaloides (+)

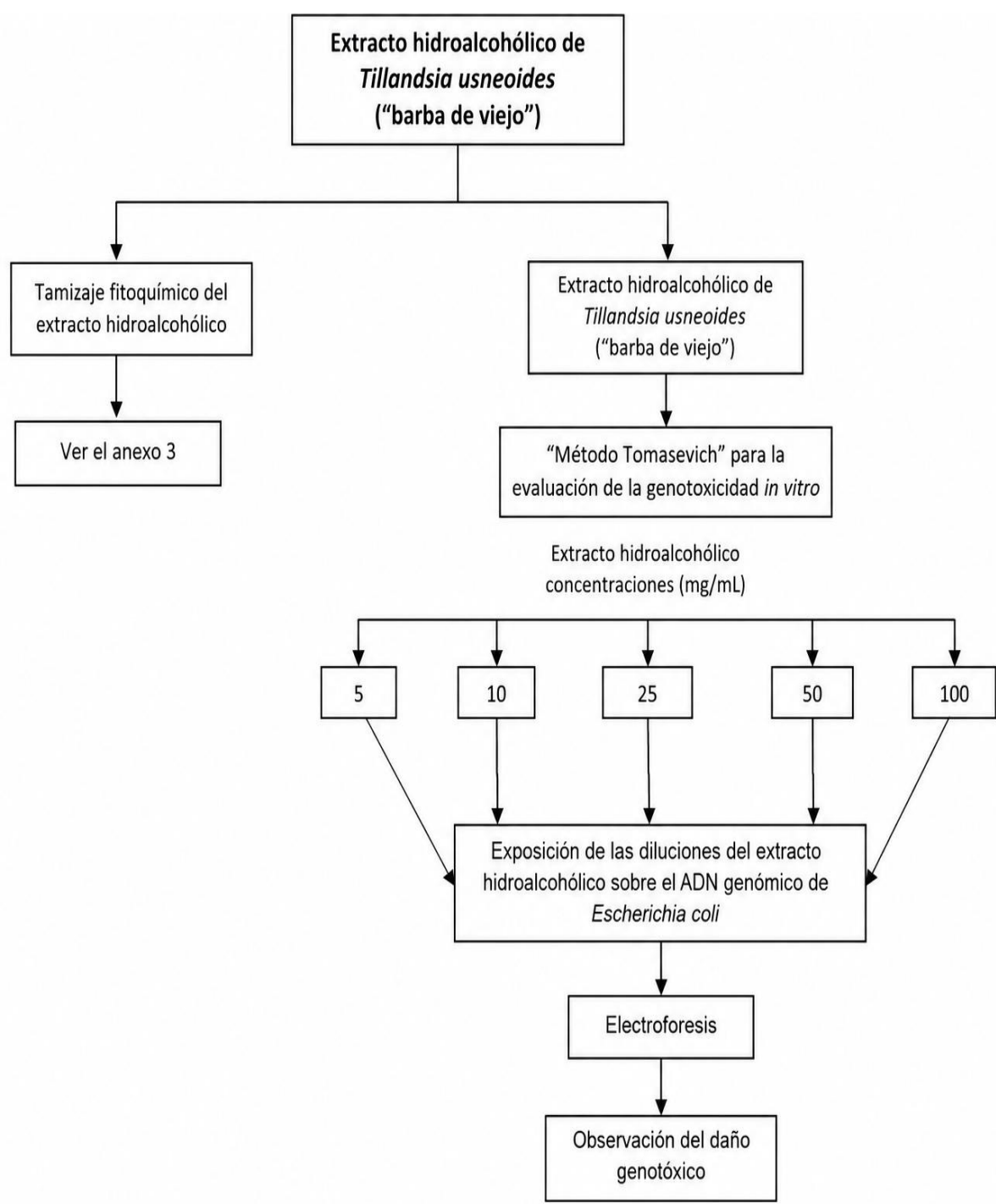


prueba de hidroxamato férrico



Tamizaje fitoquímico

Anexo 4. Flujograma de la evaluación de la genotoxicidad *Tillandsia usneoides* “barba de viejo”, a partir del extracto hidroalcohólico frente al ADN genómico de *Escherichia coli*, Ayacucho 2024.



Fuente. Propia

Anexo 5.

Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la planta *Tillandsia usneoides* Ayacucho, 2024.

Ensayos	Metabolitos secundarios	Resultados	Observaciones
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos	+++	Coloración verde intenso
Baljet	Coumarinas	+	Coloración rojo vino y formación de precipitado
Kedde	Glicósidos cardiotónicos	+	Coloración purpura o violácea
Shinoda	Flavonoides	+++	Coloración amarilla. Naranja o rojo
Determinación de resinas	Resinas	-	Formación de precipitado lechoso
Espuma	Saponinas	-	Formación de espuma
Determinación de catequinas	Catequinas	-	Coloración verde amarillenta a la luz UV
Ninhidrina	Aminoácidos y aminas	++	Coloración azul violáceo
Borntrager	Quinonas	+	Coloración roja violácea en la fase superior
Dragendorff	Alcaloides	+	Formación de opalescencia o precipitado
Benedict	Azucares reductores	+	Precipitado rojo ladrillo
Liebermann Burchard	Triterpenos y/o esteroides	-	Coloración rosado azul, verde intenso, verde oscuro

Leyenda:

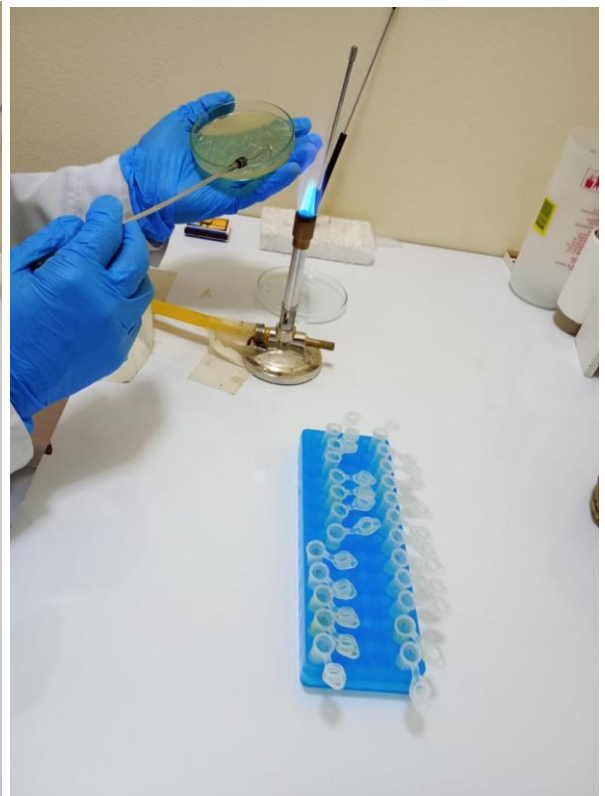
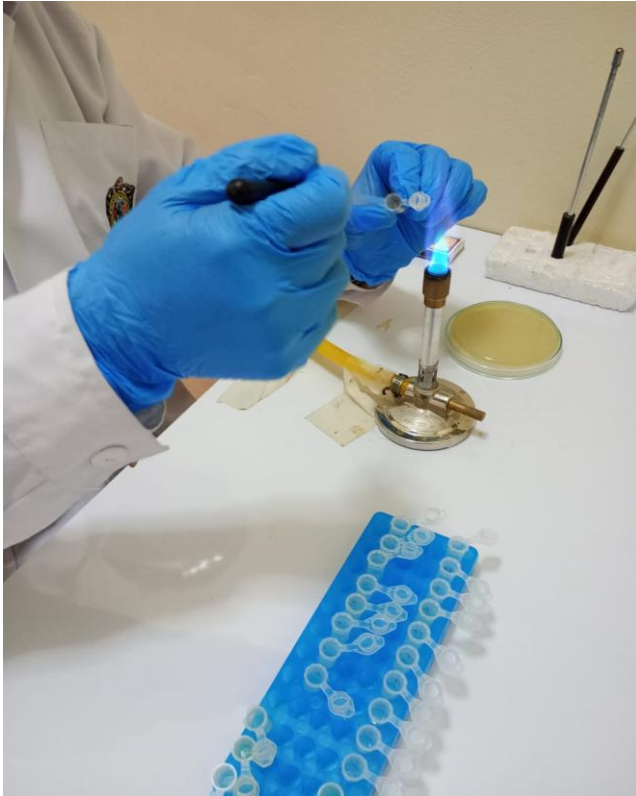
(+++): Abundante

(++): Moderado

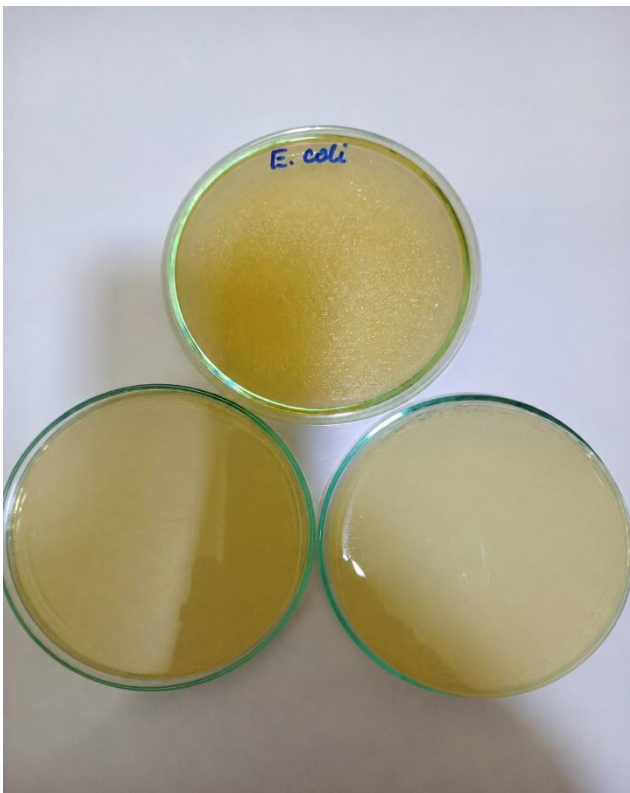
(+): Leve

(-): Ausente

Anexo 6. Procedimiento de cultivo de *Escherichia coli* ATCC-13706, Ayacucho 2024.

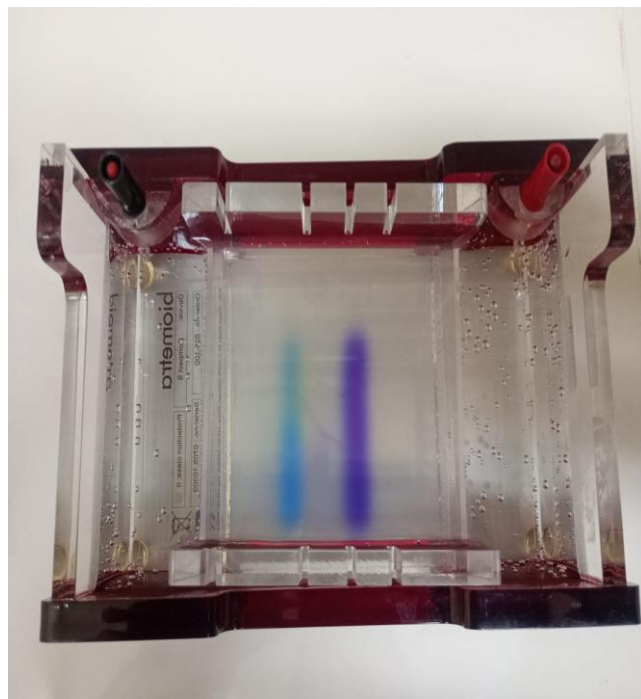


siembra en agar Muller Hilton por agotamiento en superficie



Se incubo a 37° C por 24 horas.

Anexo 7. Procedimiento de electroforesis en gel de agarosa, para la detección de la genotoxicidad, Ayacucho 2024.



Cámara de electroforesis cargada con las soluciones de digestión.



Instalación y programación de la cámara de electroforesis a 30 V por 3 horas.

Anexo 8. Fase de lectura por radiación UV, Ayacucho 2024.



Equipo trans iluminador UV.

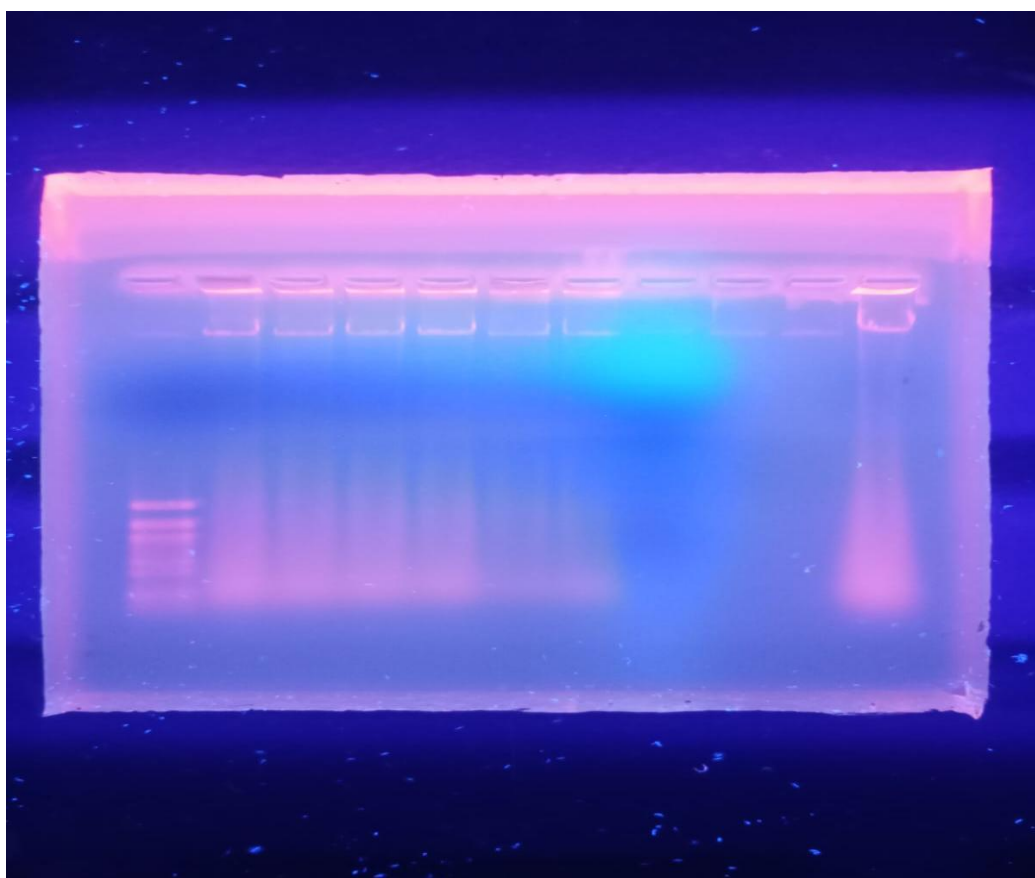


Imagen capturada con la cámara digital sobre el equipo trans iluminador UV.

ANEXO N°9 Matriz de consistencia

Título: Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* “barba de viejo” frente al ADN de *Escherichia coli*, Ayacucho 2024

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
Problema general ¿Cuál es el efecto genotóxico del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706?	Objetivo general Evaluar el efecto genotóxico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706. Objetivos específicos - Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” - Determinar el grado de genotoxicidad <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706.	Aspectos botánicos de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” Clasificación taxonómica Descripción morfológica Distribución geográfica Diversidad genética Composición química Compuestos fenólicos, polifenólicos genotoxicidad	El extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” a diferentes concentraciones presenta efecto genotóxico <i>in vitro</i> frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706	Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Tillandsia usneoides</i> Indicador: Concentración en mg/mL del extracto hidroalcohólico. Variables dependientes: Efecto genotóxico <i>in vitro</i> frente al ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706. Indicador: Grado de fragmentación del ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico de <i>Escherichia coli</i> ATCC-13706	Tipo de Investigación: Básica experimental Diseño de Investigación: Se realizo en un <i>modelo in vitro</i> para la actividad genotóxica Población: Todas las plantas de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” del centro poblado Collpa a 2710 m.s.n.m., distrito de Acos Vinchos, Ayacucho 2024. Muestra: La Planta de <i>Tillandsia usneoides</i> “barba de viejo” en cantidad de dos Kg, obtenidos del centro poblado Collpa Unidad experimental ADN genómico de <i>Escherichia coli</i> a concentración de 1,500 mg/mL para cada ensayo Análisis estadístico Paquete estadístico de SPSS Prueba de Kruskal - Wallis

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS****Bach. Jose Luis ÑAÑA VELASQUEZ****R. D. N° 136- 2026-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes siete de agosto del año dos mil veintiséis; se reunieron los miembros del jurado evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, actuando como presidente el Dr. Saturnino Martín Tenorio Bautista, a su vez forma parte del miembro jurado el Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi (Miembro-jurado), el Mg. Jime Jack Rivera Villar (Miembro-jurado) y el Blog. Tomás Yuret Miranda Temochevich (Miembro-Asesor), actuando como secretaria docente encargada la Mg. Ana María Cancho Cuba, con Memorando N° 179-2026-UNSCH (ENU)-FCB, para presenciar la sustentación de tesis titulada **Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* "barba de viejo" frente al ADN de *Escherichia coli*, Ayacucho 2024**, presentado por la **Bach. Jose Luis Ñaña Velasquez**, el presidente luego de verificar la documentación generada indicó a la secretaria docente encargada dar lectura a la documentación que dé fe de este acto académico, luego el presidente invitó a la sustentante a exponer su trabajo de tesis para el cual se indicó que cuenta con un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos tal como se presenta en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología, luego se invitó al jurado evaluador a participar con sus preguntas, observaciones y sugerencias; luego invitó a la sustentante y público asistente abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para que el jurado evaluador pueda deliberar como corresponde y se muestra a continuación.

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Preguntas / respuesta	Promedio
Dr. Raúl Antonio Mamani Aycachi	18	17	18
Mg. Jime Jack Rivera Villar	17	17	17
Blgo. Tomás Yuret Miranda Tomasevich	18	17	18
PROMEDIO GENERAL			18

La sustentante alcanzó el promedio de dieciocho (18) aprobatorio. Acto seguido, el presidente invitó a ingresar a la sustentante y público asistente al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El presidente dio a conocer los resultados indicando de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las seis de la tarde; firmando al pie de dicho documento en señal de conformidad.

Dr. Saturnino Martín, TENORIO BAUTISTA
Presidente

Dr. Raúl Antonio, MAMANI AYCACHI
(Miembro - Jurado)

Mg. Jime Jack, RIVERA VILLAR
(Miembro - Jurado)

Blog. Tomás Yuret, MIRANDA TOMASEVICH
(Miembro - Jurado)

Mg. Ana María, CANCHO CUBA
Secretaria Docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 56-2026-FCB-D

Yo, SERAPIO ROMERO GAVILÁN, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Efecto genotóxico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Tillandsia usneoides* "barba de viejo" frente al ADN de *Escherichia coli*, Ayacucho 2024.**, por JOSE LUIS ÑAÑA VELASQUEZ; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 24%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 22 de septiembre de 2026.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología

Dr. Serapio Romero Gavilán
DIRECTOR

Efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico de Tillandsia usneoides “barba de viejo” frente al ADN de Escherichia coli, Ayacucho 2024.

por JOSE LUIS ÑANA VELASQUEZ

Efecto genotóxico in vitro del extracto hidroalcohólico de Tillandsia usneoides “barba de viejo” frente al ADN de Escherichia coli, Ayacucho 2024.

INFORME DE ORIGINALIDAD

24%	23%	2%	13%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	9%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	8%
	Fuente de Internet	
3	repository.javeriana.edu.co	3%
	Fuente de Internet	
4	hdl.handle.net	1%
	Fuente de Internet	
5	repositorio.unica.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
6	rdu.iquimica.unam.mx	1%
	Fuente de Internet	
7	repository.usta.edu.co	<1%
	Fuente de Internet	
8	www.campustudionline.com	<1%
	Fuente de Internet	
9	dgsa.uaeh.edu.mx:8080	<1%
	Fuente de Internet	
10	docs.bvsalud.org	<1%
	Fuente de Internet	
11	eprints.uanl.mx	<1%
	Fuente de Internet	
12	cd.dgb.uanl.mx	<1%
	Fuente de Internet	
13	livrosdeamor.com.br	<1%
	Fuente de Internet	
14	lexicoon.org	<1%
	Fuente de Internet	

repositorio.unjfsc.edu.pe

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 30 words
Excluir bibliografía	Activo		